SPENCER CHENG

**Punção ecoendoscópica de massas sólidas
pancreáticas por técnica de pressão negativa *versus*
capilaridade: estudo prospectivo e randomizado**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Programa de Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Everson Luiz de Almeida
Artifon

**SÃO PAULO
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cheng, Spencer

Punção ecoendoscópica de massas sólidas
pancreáticas por técnica de pressão negativa versus
capilaridade: estudo prospectivo e randomizado /
Spencer Cheng. -- São Paulo, 2018.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Clínica Cirúrgica.

Orientador: Everson Luiz de Almeida Artifon.

Descritores: 1.Diagnóstico 2.Biópsia por agulha
3.Endossonografia 4.Ultrassonografia 5.Neoplasias
pancreáticas 6.Sucção 7.Ação capilar 8.Tração
9.Biologia celular 10.Camada de esfregaço

USP/FM/DBD-231/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

“Se consegui chegar até aqui, foi porque me apoiei em ombros de gigantes.”

Sir Isaac Newton

*A Deus, pela dádiva de sua maior criação:
o tempo.*

*Ao meu pai, Simon Suhwen Cheng, e à
minha mãe, Elizabeth Ying Chu, pela minha
vida e por terem ensinado os valores do
amor, amizade e família.*

*À minha amada esposa, Adriele Gonçalves,
companheira de todos momentos e meus
filhos Kalel Cheng e Pietro Cheng, pelo
sacrifício das incontáveis horas que não
estive presente fisicamente. Mas vocês
estiveram em meu coração em cada
segundo desta jornada.*

*Aos meus irmãos, Henrique Cheng e
Isabela Cheng, por terem me acolhido
nesta vida com seu amor incondicional.*

*Aos meus avós paternos (in memoriam),
Tien-Ho Yang e Su Su Cheng, e aos
maternos, Hui-Wen Chu (in memoriam) e
Lucy Chu, pelos preciosos momentos de
felicidade infinita.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Everson Luiz de Almeida Artifon, pelo incentivo em trilhar essa jornada de tornar-me Doutor em Medicina, por ser o ícone criador de inúmeras joias científicas, teses orientadas e por estar sempre ao meu lado em todas etapas deste estudo. E, principalmente, pela grande amizade que construímos ao longo desses vinte anos de vida.

Ao Prof. Dr. Eduardo Guimarães Hourneaux de Moura, diretor do Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, grande profissional, líder ímpar, inovador e inspirador. Serei sempre grato pela honra de ser parte dessa equipe de endoscopia extraordinária.

Ao Prof. Dr. Paulo Sakai, pela dedicação incondicional à propagação do conhecimento, por ser nossa estrela de primeira grandeza no firmamento da Endoscopia Mundial e inspiração a sermos médicos melhores.

Ao professor Shinichi Ishioka, pelos ensinamentos e por tornar o Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo uma referência em ensino endoscópico e assistência aos pacientes de nosso país.

Ao amigo Dr. Sérgio Eiji Matuguma, meu mentor na ecoendoscopia, pela contribuição grandiosa na formação de inúmeros endossonografistas do Brasil e principalmente pela amizade fraternal que rege sua vida.

Ao Dr. Carlos Kiyoshi Furuya, pela contribuição inestimável à realização desta tese, pela grandiosa amizade e ensinamentos na área da Gastroenterologia.

Ao Dr André Kondo, pela amizade e gentil colaboração na revisão desta tese.

À Dra. Patrícia Frizzarini Exposito, pela riqueza da convivência diária, energia inovadora e apoio incondicional nos momentos difíceis.

À Universidade Federal do Pará, aos meus queridos professores e colegas, pelo fundamento do conhecimento e formação médica.

Ao Dr. Admar Concon Filho e toda equipe do Hospital Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Valinhos, vocês são o alicerce da minha formação cirúrgica, minha eterna gratidão.

Ao Dr. Maurício Toledo Leme, Dra. Patrícia Gisah Garest, Dra Terezinha Barcelos e toda equipe da Valinhos Medical Center pela amizade e a realização do sonho de construir um serviço de excelência em atendimento médico.

Aos Drs. Marcos Eduardo Lera dos Santos, Maurício Kazuyoshi Minata, Hugo Gonçalo Guedes e Vitor Ottoboni Brunaldi pela riqueza de informações compartilhadas e colaboração valiosa à realização deste estudo.

À Dra. Danielle Azevedo Chacon, responsável pelas análises citológicas deste protocolo, por sua paixão pela citopatologia, seus ensinamentos, apoio constante e incansável.

Aos Prof. Dr. José Celso Ardengh, Prof. Dr. Fauze Maluf Filho, Prof. Dr. Fábio Montenegro e Dr. Gustavo Andrade de Paulo, membros da banca de qualificação desta Tese de Doutorado, pelas inestimáveis colaborações ao aperfeiçoamento deste estudo.

Ao Dr. Gustavo Luís Rodela, pela gentil colaboração nas imagens artísticas apresentadas nesta tese.

Aos médicos residentes e estagiários do Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo apoio e estímulo constante ao aprendizado.

À equipe do Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: Dra. Caterina Pennachi, Dr. Christiano Makoto Sakai, Dr. Dalton Marques Chaves, Dr. Diogo Turiani Hourneaux de Moura, Dr. Édson Ide, Dr. Eduardo Turiani Hourneaux de Moura, Dra. Elisa Ryoka Baba, Dra. Eunice Komo Chiba, Dr. Gustavo de Oliveira Luz, Dra. Jeane Martins Mello, Dr. Kendi Yamazaki, Dr. Kengo Toma, Dr. Luiz Henrique Mestieri, Dr. Nelson Tomio Miyajima, Dr. Renato Baracat, Dr. Robson Kiyoshi Ishida, Dr. Rogério Kuga, Dr. Sebastião D'Antonio, Dr. Sérgio Barbosa Marques, Dr. Sérgio Shiguetoshi Ueda, Dra. Sonia Nadia Fylyk, Dr. Thiago Ferreira de Souza, Dr. Tomazo Antônio Prince Franzini e Dr. Toshiro Tomishigue, por formar essa fabulosa equipe de médicos. Obrigado pela rica convivência diária.

Aos funcionários da Enfermagem e secretaria do Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo atendimento e os cuidados prestados às pessoas necessitadas.

À senhora Maria Helena Vargas, pelas inúmeras revisões desta Tese e apoio em todos os momentos.

Ao estatístico Rogério Ruscitto do Prado, pela colaboração na análise estatística deste estudo.

À senhora Eliane Falconi Monico Gazetto, secretária do Programa de Pós-graduação da Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela disponibilidade e orientações.

Aos pacientes que participaram e seus familiares pela colaboração, paciência e tolerância em permitir a realização deste estudo. Que o fruto do conhecimento adquirido possa trazer benefícios a muitos outros.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	8
3	MÉTODO	10
3.1	Casuística.....	11
3.2	Conflito de interesse	12
3.3	Randomização.....	12
3.4	Desenho do Estudo	13
3.5	Exame Ecoendoscópico	13
3.5.1	Preparo para o exame.....	13
3.5.2	Aparelho de ecoendoscopia	15
3.5.3	Acessórios	15
3.5.4	Técnica do exame.....	16
3.5.5	Técnica de punção por PN.....	17
3.5.6	Técnica de punção por CP	19
3.5.7	Processamento e análise do produto da punção.....	20
3.5.7.1	Análise qualitativa da celularidade.....	24
3.5.7.2	Análise semi-quantitativa da celularidade	24
3.6	Complicações Imediatas e Mediatas.....	32
3.7	Amostra	33
3.7.1	Cálculo amostral.....	33
3.8	Análise Estatística	33
4	RESULTADOS	35
5	DISCUSSÃO	47
5.1	Considerações Finais	66
6	CONCLUSÕES.....	68
7	ANEXOS	70
8	REFERÊNCIAS	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMC	- Centro Médico Aurora St. Luke (<i>Aurora St. Luke's Medical Center</i>)
ASGE	- Sociedade Americana para Endoscopia Gastrointestinal (<i>American Society for Gastrointestinal Endoscopy</i>)
BAF	- Biópsia por agulha fina
BSG	- Sociedade Britânica de Gastroenterologia (<i>British Society of Gastroenterology</i>)
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CFNAT	- Técnica convencional de aspiração com agulha fina (<i>Conventional fine needle aspiration technique</i>)
CP	- Capilaridade
EA	- Solução policromática composta por eosina, verde brilhante e pardo de Bismark
EE	- Ecoendoscopia
ESGE	- Sociedade Europeia de Endoscopia Digestiva (<i>European Society of Gastrointestinal Endoscopy</i>)
HC-FMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HE	- Hematoxilina-Eosina
IC	- Intervalo de confiança
IV	- Intravenoso
PAAF	- Punção aspirativa por agulha fina
PAAF-EE	- Punção aspirativa por agulha fina guiada por ecoendoscopia
PN	- Pressão negativa
ROSE	- Avaliação rápida no local (<i>Rapid on-site evaluation</i>)
S-	- Sem sucção
S+	- Com sucção
UMN	- Centro Médico da Universidade de Minnesota (<i>University of Minnesota Medical Center</i>)
VPN	- Valor preditivo negativo
VPP	- Valor preditivo positivo
WEST	- Técnica de sucção molhada (<i>Wet suction technique</i>)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem artística representando a punção ecoendoscópica de massa sólida pancreática e abaixo, imagem do ultrassom endoscópico destacando a visibilização da agulha dentro da lesão	4
Figura 2 - Fotografia da agulha de ecopunção.....	5
Figura 3 - Tubo de ecoendoscopia linear EG530UT2 e Processadora de ultrassom SU8000	15
Figura 4 - Agulha de ecopunção Expect 22 G (A) e Sonotip 22 G (B).....	15
Figura 5 - Imagem ecoendoscópica de lesão sólida localizada em cabeça de pâncreas junto ao colédoco (COL), aspecto sonográfico arredondado, hipoeecogênico e heterogêneo	16
Figura 6 - Imagem artística demonstrando o esquema da punção em forma de leque da agulha no interior da lesão	17
Figura 7 - Imagens destacando a seringa utilizada para estabelecer a PN e a sequência de posicionamento do êmbolo e conexão à agulha de ecopunção	19
Figura 8 - Imagens demonstrando detalhes da técnica de capilaridade.....	20
Figura 9 - Imagens demonstrando detalhes do procedimento de esfregaço	21
Figura 10 - Imagem destacando os microfragmentos obtidos com a ecopunção usando a técnica de PN à esquerda e CP à direita	21
Figura 11 - Imagem detalhando a aparência da lâmina após coloração pela técnica de Papanicolaou, fixação da lamínula e pronta para a leitura	23
Figura 12 - Exemplo de escore 0 - ausência ou < 10% de células diagnósticas - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X.....	25
Figura 13 - Exemplo de escore 0 - ausência ou < 10% de células diagnósticas - embocado celular - coloração H&E - aumento de 200X.....	26

Figura 14 - Exemplo de escore 1+ - ≥ 10 - 50% de agrupamentos celulares - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X.....	26
Figura 15 - Exemplo de escore 1+ - ≥ 10 - 50% de agrupamentos celulares - emblocado celular - coloração H&E - aumento de 200X.....	27
Figura 16 - Exemplo de escore 2+ - ≥ 50 - 70% de agrupamentos celulares - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X.....	27
Figura 17 - Exemplo de escore 2+ - ≥ 50 - 70% de agrupamentos celulares - emblocado celular - coloração H&E - aumento de 200X.....	28
Figura 18 - Exemplo de escore 3+ - ≥ 70 - 90% de agrupamentos celulares - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X.....	28
Figura 19 - Exemplo de escore 3+ - ≥ 70 - 90% de agrupamentos celulares - emblocado celular - coloração H&E - aumento de 200X.....	29
Figura 20 - Exemplo de escore 1+ - Presença de hemácias em ≥ 10 - 50% - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X.....	29
Figura 21 - Exemplo de escore 1+ - Presença de hemácias em ≥ 10 - 50% - emblocado celular - coloração H&E - aumento de 200X	30
Figura 22 - Exemplo de escore 2+ - Presença de hemácias em ≥ 50 - 70% - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X.....	30
Figura 23 - Exemplo de escore 2+ - Presença de hemácias em ≥ 50 - 70% - emblocado celular - coloração H&E - aumento de 200X	31
Figura 24 - Exemplo de escore 3+ - Presença de hemácias em ≥ 70 - 90% - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X.....	31
Figura 25 - Exemplo de escore 3+ - Presença de hemácias em ≥ 70 - 90% - emblocado celular - coloração H&E - aumento de 200X	32

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação qualitativa da presença ou não de células no material do esfregaço e emblocado celular.....	24
Quadro 2 - Classificação de Chacon & Cheng para o escore de celularidade e contaminação por sangue no esfregaço e emblocado celular	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição das características da população, agulhas e tumorais de todos pacientes	37
Tabela 2 - Descrição das características da população, agulhas e tumorais dos grupos resultantes da randomização.....	38
Tabela 3 - Descrição dos acertos de diagnóstico com PN, segundo cada característica de interesse e resultado dos testes de associação	39
Tabela 4 - Descrição dos acertos de diagnóstico com CP, segundo cada característica de interesse e resultado dos testes de associação	40
Tabela 5 - Descrição dos acertos das técnicas de punção combinadas, de cada uma das técnicas isoladas e dos tempos de execução, e resultado dos testes estatísticos	41
Tabela 6 - Descrição dos resultados das técnicas de punção em relação aos resultados citopatológicos dos pacientes	42
Tabela 7 - Descrição do diagnóstico de não adenocarcinoma, adenocarcinoma e material escasso/inconclusivo, segundo cada técnica de punção e os desfechos dos pacientes aos seis meses	43
Tabela 8 - Descrição do cruzamento entre diagnóstico de não adenocarcinoma e adenocarcinoma, segundo cada técnica de punção isolada, somadas e os resultados das medidas de concordância entre eles	44
Tabela 9 - Descrição da análise qualitativa da presença de celularidade com PN e CP para o esfregaço e emblocado celular	44
Tabela 10 - Descrição da análise semi-quantitativa de celularidade e contaminação de sangue, segundo o tipo de avaliação para cada técnica de punção e os resultados dos testes comparativos.....	45
Tabela 11 - Resultado da correlação entre os graus de celularidade e de contaminação por sangue para cada técnica de punção e tipo de avaliação	46

RESUMO

Cheng S. *Punção ecoendoscópica de massas sólidas pancreáticas por técnica de pressão negativa versus capilaridade: estudo prospectivo e randomizado [tese]*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

INTRODUÇÃO: A punção aspirativa por agulha fina guiada por ecoendoscopia (PAAF-EE) é método consagrado para o diagnóstico de lesões sólidas de pâncreas. A aplicação de pressão negativa (PN) durante a PAAF-EE tem objetivo de manter o tecido junto à ponta cortante da agulha durante sua passagem através da lesão, resultando no desprendimento e retenção de células. A capilaridade (CP) é outra técnica que utiliza a retirada gradual do estilete durante a PAAF-EE e parece ser igualmente eficaz, além de evitar aspiração indesejada de hemácias e coágulos. **OBJETIVO:** Analisar o rendimento da ecopunção de lesões sólidas pancreáticas utilizando PN *versus* (vs) CP e os aspectos citológicos qualitativos e semi-quantitativos da celularidade e contaminação por sangue dos grupos estudados. **MÉTODO:** No estudo, foram randomizados 50 pacientes com lesões sólidas de pâncreas para realização de PAAF-EE. Cada paciente foi submetido a quatro punções, intercalando as duas técnicas. A ordem das punções foi randomizada por computador. O grupo A (PN, CP, PN, CP) e o grupo B (CP, PN, CP, PN). **RESULTADOS:** As sensibilidade, especificidade e acurácia da PN vs CP foram 95,2% vs 92,3%; 100% vs 100%; 95,7% vs 93%, respectivamente. Quando foi considerada a associação das duas técnicas (PN+CP), os resultados da sensibilidade, especificidade e acurácia foram 95,6%, 100% e 96%. O valor preditivo positivo (VPP) foi alto para todas técnicas (100%) e os valores preditivos negativos (VPN) para PN, CP e associação dos métodos foram de 66,7% vs 57,1% vs 66,7%, respectivamente. Não houve diferença estatística no rendimento diagnóstico

entre a PN e CP: 88% vs 80% ($p=0,344$), entretanto as técnicas somadas (PN+CP) foi superior à CP isolada: 94% vs 80% ($p=0,016$). A avaliação citológica qualitativa e semi-quantitativa de celularidade e contaminação por sangue no esfregaço e emblocado pelas técnicas de PN e CP não apresentou diferença estatística ($p>0,05$). **CONCLUSÃO:** O rendimento diagnóstico da PAAF-EE pela técnica de PN versus CP de massas sólidas de pâncreas não apresenta diferença estatística, entretanto a utilização das técnicas combinadas é superior, particularmente em relação à CP isolada. A celularidade e contaminação por sangue é semelhante independente da técnica utilizada (PN ou CP) ou do tipo de preparação citológica (esfregaço ou emblocado).

Descritores: diagnóstico; biópsia por agulha; endossonografia; ultrassonografia; neoplasias pancreáticas; sucção; ação capilar; tração; biologia celular; camada de esfregaço; inclusão em parafina.

ABSTRACT

Cheng S. *Negative pressure versus capillarity for EUS-FNA of pancreatic solid mass: a prospective and randomized trial* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

BACKGROUND: Endoscopic ultrasound fine needle aspiration (EUS-FNA) is an established diagnostic method for solid pancreatic masses. Application of negative pressure (NP) during EUS-FNA has the purpose of holding tissue against the cutting edge of the needle as it is moved through the lesion leading to cell detachment and drawing them up. Capillary (CP) sampling is another technique that removes the needle stylet gradually and continuously during the EUS-FNA and seems to have comparable results with less blood and clot aspiration. **AIM:** Analyze diagnostic yield of EUS-FNA of pancreatic solid mass using NP *versus* CP and evaluate cytological qualitative and semi-quantitative features of cellularity and blood contamination of each group. **METHOD:** A total of 50 patients were randomized for NP or CP EUS-FNA with a standard 22G needle. Each patient had four passes using NP and CP in an alternate fashion. Computer randomization generated two groups. Group A (NP, CP, NP, CP) and group B (CP, NP, CP, NP). **RESULTS:** Diagnostic yield of NP *versus* CP had no statistical difference ($p=0.344$). Both techniques (NP+CP) was superior to CP alone ($p=0.016$), but not to NP alone ($p=0.25$). Sensitivity, specificity and accuracy of NP vs CP were 95.2% vs 92.3%; 100% vs 100%; 95.7% vs 93%, respectively. Results for sensitivity, specificity and accuracy of both NP+CP were 95.6%, 100% and 96%. Positive predictive value was high for all techniques (100%) and Negative predictive value for NP, CP and both techniques were 66.7%, 57.1% and 66.7%, respectively. NP and CP smears and cell blocks had no statistical differences in qualitative and semi-quantitative citological evaluation for cellularity and bloodiness ($p>0.05$). **CONCLUSIONS:** NP

versus CP in EUS-FNA of solid pancreatic mass yielded similar overall outcomes in terms of diagnostic performance, however the combination of both techniques is superior, particularly compared to CP alone. Cellularity and bloodiness are equivalent no matter which technique (NP or CP) or type of cytological preparation (smear or cell block) is used.

Descriptors: diagnosis; biopsy, needle; endosonography; ultrasonography; pancreas neoplasms; suction; capillary action; traction; cell biology; smear layer; paraffin embedding.

1 INTRODUÇÃO

A associação do exame endoscópico com a ecografia no início da década de 1980, denominada de ecoendoscopia (EE) ou ultrassom endoscópico ou endossonografia, agregou importante ferramenta no diagnóstico loco-regional das lesões pancreáticas^{1,2,3}.

A proximidade das paredes gástrica e duodenal com o pâncreas produz imagens ecográficas com maior detalhe em relação ao ultrassom abdominal. O estreito contato do transdutor de alta frequência (5-12MHz) construído na ponta do ecoendoscópio permite um melhor estudo da morfologia da lesão, sua relação com estruturas adjacentes e a presença de linfonodomegalias⁴.

O câncer de pâncreas, apesar da evolução tecnológica das últimas décadas, persiste com prognóstico desfavorável e elevada taxa de mortalidade. A principal forma de terapia é ressecção cirúrgica, contudo apenas 20% são candidatos à pancreatectomia com intenção curativa. A sobrevida média em cinco anos é de 5% e mesmo quando submetido à ressecção curativa, essa taxa não ultrapassa 25%. O diagnóstico na fase inicial da doença é o principal fator que define o prognóstico. Todavia, ela é desprovida de sintomas específicos e lesões menores de 2 cm apresentam difícil detecção pelos métodos de imagem de ultrassonografia abdominal, tomografia e ressonância⁵⁻⁸.

Atualmente, a avaliação de lesões pancreáticas suspeitas de neoplasia é feita pela tomografia computadorizada *multislice* com protocolo para pâncreas. Essa possui sensibilidade para detecção de lesões menores de 2 cm de 70% e ampla disponibilidade. A EE completa o protocolo de investigação dessas lesões, com sensibilidade próxima de 96%. Entretanto, a maioria dos locais não tem acesso ao exame^{9,10}.

O aspecto ecográfico mais comum do câncer de pâncreas é de imagem hipoeecogênica, heterogênea e com margens mal delimitadas. Todavia, essas características não são específicas e podem ser encontradas também em lesões inflamatórias. Lesões de ecogenicidade semelhante ao parênquima normal do pâncreas podem ser, particularmente, difíceis de distinguir, sendo importante atentar para alterações indiretas como tortuosidade, estenose e dilatação dos dutos pancreático e biliar⁴.

A ressonância nuclear magnética pode ser alternativa quando os exames prévios não definem a lesão, na contraindicação para contraste venoso iodado na tomografia, envolvimento hepático pela doença ou necessidade de acompanhamento periódico. Acrescenta-se a possibilidade de informações adicionais fornecidas pela colangiorressonância¹¹⁻¹³.

As formas de estabelecer o diagnóstico patológico do câncer pancreático são por cirurgia, punção guiada por ultrassom abdominal, tomografia ou pela ecoendoscopia. Entre eles, a ecoendoscopia se destaca por apresentar menor taxa de complicações^{14,15}. Com o desenvolvimento de aparelhos de EE lineares ou setoriais, foi possível a utilização de agulhas sonograficamente visíveis para adquirir material das lesões pancreáticas. A visibilização ecográfica da agulha em tempo real, a propriedade de

identificação de vasos sanguíneos pelo *Doppler* colorido e a proximidade do local de entrada da agulha com a lesão, tornam a punção guiada pela EE em um procedimento seguro e eficaz¹⁶(Figura 1).

Figura 1 - Imagem artística representando a punção ecoendoscópica de massa sólida pancreática e abaixo, imagem do ultrassom endoscópico destacando a visibilização da agulha dentro da lesão [Fonte: Cortesia Dr. Gustavo L. Rodela]

A agulha de PAAF-EE é constituída por quatro partes: a) manopla de controle do avanço da agulha, com portal dedicado para inserção do estilete metálico e conexão da seringa de vácuo; b) capa protetora semirrígida; c) agulha metálica flexível, oca, com bisel cortante na extremidade e visível ecograficamente. d) estilete metálico, que vem de fábrica, inserido no canal da agulha e tem função de proteger a capa protetora e o canal de trabalho

do ecoendoscópio de perfuração pela ponta da agulha (Figura 2). As agulhas podem ser feitas de ligas metálicas como o aço, cobalto-crômio ou nitinol. Os calibres de agulhas disponíveis em ordem crescente de diâmetro são 25 G, 22 G e 19 G, proporcionalmente maior capacidade de reter células. A agulha de 25 G, pelo menor calibre, possui maior flexibilidade e facilidade de uso. A de 19 G possui maior calibre, porém é mais rígida, portanto de difícil utilização principalmente em punções a partir do duodeno, onde se necessita maior flexibilidade da agulha, em virtude da posição mais angulada do ecoendoscópio. A agulha 22 G possui calibre e flexibilidade intermediários, características que conferem maior versatilidade na sua utilização.

Figura 2 - Fotografia da agulha de ecopunção a) destacando os controles de avanço da agulha e da capa protetora; b) estilete metálico tracionado do canal da agulha; c) detalhe da ponta da agulha com o estilete protegendo a extremidade cortante; d) detalhe da ponta da agulha sem o estilete

Denomina-se punção aspirativa por agulha fina (PAAF) o procedimento de obtenção de grupamentos de células por meio da punção de órgão ou lesão para estudo citopatológico. A PAAF guiada por EE (PAAF-EE) foi publicada inicialmente em 1992 para diagnóstico de cistoadenoma mucinoso de pâncreas¹⁷.

A PAAF-EE possui alta acurácia e apresenta sensibilidade para diagnóstico de câncer em massas sólidas pancreáticas de 80% a 95%, com especificidade próxima de 100%^{18,19}.

As complicações decorrentes da PAAF-EE de pâncreas são raras, relatadas em menos de 2% e correspondem à sementeira de tumor no trajeto da punção, pancreatite, perfuração, hemorragia e infecção²⁰.

O diagnóstico citopatológico pela ecopunção é influenciado por variáveis como as características de textura das lesões, experiência do ecoendoscopista, propriedades da agulha, habilidade em puncionar a lesão, técnica de punção, avaliação citológica imediata, modo de preparação das amostras e habilidade de interpretação do patologista²¹.

A aplicação de pressão negativa (PN) ou sucção à agulha tem objetivo de manter o tecido junto à ponta cortante, causando maior desprendimento e retenção de células durante a punção da lesão. A PN é produzida pelo vácuo de seringas de 5 mL, 10 mL ou 20 mL conectada à agulha. Contudo, essa sucção pode causar aspiração indesejada de sangue, o que prejudica a coleta decorrente da obstrução da agulha por coágulos e impregnação da amostra com sangue. Com o objetivo de evitar essa intercorrência, duas técnicas são descritas: a) Capilaridade (CP) na qual o

estilete é tracionado progressivamente durante a entrada da agulha na lesão e b) Sem sucção (S-), que é realizada sem utilização do estilete ou vácuo^{22,23}.

A PAAF-EE ideal obtém material com celularidade adequada, ou seja, células representativas da lesão e menor contaminação com sangue, que permitam uma interpretação acurada. O modo de preparo das amostras para o estudo citológico pode ser realizado por meio de esfregaços, emblocado celular ou ambos. O preparo com melhor resultado ainda é discutido, sendo questionada a relevância do esfregaço²⁴.

As técnicas de punção para lesões sólidas de pâncreas variam conforme preferência e experiência do ecoendoscopista, não havendo até o momento particularização destacada a cada uma delas. Neste contexto, apresenta-se estudo prospectivo e randomizado comparando as técnicas de PN e CP.

2 OBJETIVOS

Analisar os resultados da ecopunção de lesões sólidas pancreáticas utilizando técnica de pressão negativa *versus* capilaridade:

a) Desfechos primários:

- Avaliar o rendimento diagnóstico das técnicas de punção.
- Avaliar aspectos qualitativos e semi-quantitativos da citopatologia dos grupos em estudo.

b) Desfechos secundários: avaliar tempo necessário para realização de cada técnica de punção e suas complicações.

3 MÉTODO

Trata-se de estudo prospectivo e randomizado, aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), parecer nº 965.420 de 25/02/2015. Consentimento informado obtido de todos participantes.

Cadastrado no *Clinical trials registry* 41620315.9.0000.0068 (NCT).

Estudo conduzido no Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do HC-FMUSP.

Pesquisador executante: Spencer Cheng.

Pesquisador responsável: Everson Luiz de Almeida Artifon.

3.1 Casuística

Foram realizadas 957 ecoendoscopias no Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do HC-FMUSP no período 01 de abril de 2015 a 30 de junho de 2016. Para o estudo, foram selecionados 50 pacientes com lesões sólidas pancreáticas com solicitação médica para a realização de ecoendoscopia com punção. Foram adotados os seguintes critérios de seleção:

a) Critérios de inclusão:

- Lesão sólida pancreática passível de ecopunção;
- Paciente ou responsável ter assinado o termo de consentimento livre e esclarecido.

b) Critérios de exclusão:

- Lesões císticas;
- Não concordância em participar do estudo;
- Vigência de uso de anticoagulantes ou defeito de coagulação conhecido.

3.2 Conflito de interesse

Declara-se como conflito de interesse que as agulhas de ecopunção utilizadas nesse estudo foram doadas pelas empresas de produtos e tecnologia médica Boston Scientific do Brasil Ltda.* e Medi-Globe Brasil Ltda.†.

3.3 Randomização

Todos 50 pacientes foram submetidos a quatro punções. Duas por pressão negativa e duas por capilaridade.

Foi utilizada randomização por computador para formar dois grupos (A e B) com 25 cada.

O grupo A obedeceu à seguinte ordem de punções: PN, CP, PN e CP. No grupo B a ordem foi invertida: CP, PN, CP e PN.

Para randomização foi utilizado o programa *Research Randomizer*²⁵.

* Rochaverá Corporate Towers. Av. Nações Unidas 14.171 Marble Tower 12º andar, São Paulo - SP, Brasil.

† Av. Do Contorno, 2090, Sala 201/202, Floresta, Belo Horizonte, Brasil.

3.4 Desenho do Estudo

Os resultados das punções realizadas por PN e CP de ambos os grupos foram compilados para análise, obtendo-se 50 punções para cada técnica.

Nos pacientes com resultado de punção não diagnóstica, definida como resultado citopatológico inconclusivo ou material escasso, outra ecoendoscopia foi agendada para nova tentativa.

O padrão ouro nos pacientes passíveis de ressecção foi a histologia cirúrgica. Nos pacientes não submetidos à cirurgia, o diagnóstico de malignidade ou benignidade foi considerado o resultado citopatológico da punção associado ao quadro clínico compatível e evolução dos exames de imagem nos seis meses de acompanhamento pós-exame.

3.5 Exame Ecoendoscópico

3.5.1 Preparo para o exame

Os pacientes ficaram oito horas de jejum previamente ao exame. As medicações de uso habitual e pertinentes a cada paciente foram mantidas, com exceção de hipoglicemiantes, anticoagulantes e anti-agregantes plaquetários.

Verificou-se pulso, pressão arterial e frequência respiratória antes de entrar na sala de exame e foram administrados 75 mg de simeticona por via oral.

Após essa avaliação inicial, os pacientes foram encaminhados para a sala de exame, onde os médicos anestesiolista e endoscopista coletaram

história da doença atual, antecedentes pessoais e revisaram indicação médica, exames de imagem e laboratoriais.

Foram administradas lidocaína *spray* via oral na dose de 4 mg/kg e o paciente foi colocado em decúbito lateral esquerdo.

Realizou-se cateterização venosa periférica e infusão de solução salina fisiológica para manter o acesso.

Instalada monitorização cardíaca, oximetria de pulso e suplementação de oxigênio 6 L/min por cateter nasal.

Conforme indicação da avaliação anestésica, o paciente foi submetido à sedação consciente com midazolam (0,05 - 0,1 mg/kg), citrato de fentanila (0,5-1 mcg/kg) e propofol (doses de titulação de 10mg para manutenção da sedação conforme a necessidade) ou anestesia geral.

Após término do procedimento, foram administradas medicações antagonistas a critério do anesthesiologista. Flumazenil 0,2 mg intravenoso (IV) e doses adicionais de 0,1 mg a cada 60 segundos até atingir efeito desejado. Naloxone 0,1 mg IV e doses adicionais de 0,1 mg a cada dois a três minutos até atingir efeito desejado.

Nos casos de dor pós-procedimento, foram administrados dipirona 1 g IV, cetoprofeno 100 mg IV e tramadol 50 mg IV. Dimenidrinato 30 mg e Metoclopramida 10 mg IV para os pacientes com náuseas e vômitos.

A liberação do paciente foi realizada após recuperação da consciência e ausência de sintomas relacionados ao procedimento.

3.5.2 Aparelho de ecoendoscopia

A ecoendoscopia foi realizada com aparelhos setoriais EG 530UT e EG 530UT2; processadora Fujinon® Ultrasound System 7000 e 8000 (Figura 3).

Figura 3 - Tubo de ecoendoscopia linear EG530UT2 e Processadora de ultrassom SU8000

3.5.3 Acessórios

As agulhas de ecopunção utilizadas foram: Expect 22 G (Boston Scientific®) e a Sonotip 22 G (Medi-Globe®) (Figura 4).

Figura 4 - Agulha de ecopunção Expect 22 G (A) e Sonotip 22 G (B)

3.5.4 Técnica do exame

Após a introdução do videoecoendoscópio setorial, a lesão foi localizada e medida em dois eixos perpendiculares por meio da régua digital do aparelho de ultrassom. A área da lesão foi determinada pela multiplicação dessas duas medidas e expressa em cm². O melhor local para a punção foi determinado após estudo das janelas ecográficas no corpo gástrico, bulbo duodenal e segunda porção duodenal (Figura 5).

Figura 5 - Imagem ecoendoscópica de lesão sólida localizada em cabeça de pâncreas junto ao colédoco (COL), aspecto sonográfico arredondado, hipocogênico e heterogêneo

O aparelho foi mantido em posição retificada para introdução da agulha de punção. A seguir, a manopla foi acoplada ao canal de trabalho do ecoendoscópio.

A imagem endoscópica foi utilizada para confirmação da exteriorização da capa de proteção da agulha pelo canal de trabalho.

A lesão foi novamente localizada pelo ultrassom e acionado recurso do *Doppler* colorido para identificação de vasos no trajeto da punção, e medida a distância adequada para entrada da agulha.

Em cada punção, foram realizadas 20 oscilações dentro da lesão, em diferentes áreas (técnica de leque) (Figura 6).

Figura 6 - Imagem artística demonstrando o esquema da punção em forma de leque da agulha no interior da lesão [Fonte: Cortesia Dr. Gustavo L. Rodela]

3.5.5 Técnica de punção por PN

Após introdução da agulha de ecopunção na lesão, o estilete foi totalmente retirado e seringa descartável de 20 mL fornecida pelo fabricante foi conectada à agulha, carregada com 10 mL de PN (Figura 7).

A válvula que permite transmissão da PN para a agulha foi então aberta.

A seguir, foram realizadas 20 oscilações dentro da lesão, interrompendo o procedimento após completar os movimentos ou caso retornasse sangue na seringa.

Após término da punção, adotaram-se os seguintes procedimentos:

- a) Fechamento do vácuo;
- b) Retirada agulha da lesão e acionada trava de segurança da agulha;
- c) Recolhida capa de proteção da agulha e acionada trava de segurança da capa;
- d) Desconexão e retirada da agulha do canal de trabalho do ecoendoscópio.

Figura 7 - Imagens destacando a seringa utilizada para estabelecer a PN e a sequência de posicionamento do êmbolo e conexão à agulha de ecopunção

3.5.6 Técnica de punção por CP

Após introdução da agulha de ecopunção na lesão, o estilete foi gradualmente retirado pelo auxiliar da seguinte forma: durante os movimentos de entrada da agulha na lesão, manteve-se o estilete em posição fixa, enquanto os movimentos de saída eram acompanhados pelo estilete até completar vinte oscilações (Figura 8).

Figura 8 - Imagens demonstrando detalhes da técnica de capilaridade. (A) Início da punção; (B) Movimento de introdução da agulha; (C) Movimento de saída da agulha; (D) Novo ciclo

Ao final de cada punção, agulha foi retirada do endoscópio para coleta do material, que foi expelido de dentro da agulha por meio da reintrodução do estilete (mandril) e/ou com seringa de 10 mL contendo solução fisiológica.

3.5.7 Processamento e análise do produto da punção

Amostras obtidas de cada técnica foram colocadas em quatro lâminas para esfregaço, sendo duas lâminas fixadas em álcool 70% e duas lâminas fixadas ao ar (Figura 9). O material restante foi dispensado em frasco contendo formol tamponado (Figura 10).

Figura 9 - Imagens demonstrando detalhes do procedimento de esfregaço. (A) Expelido o material obtido na lâmina de vidro; (B) Posição de como segurar a lâmina de vidro para o esfregaço; (C) Espalhado material ao longo da lâmina de vidro; (D) Colocação da lâmina contendo o material em frasco contendo álcool 70%

Figura 10 - Imagem destacando os microfragmentos obtidos com a ecopunção usando a técnica de PN à esquerda e CP à direita

A identificação do material enviado para o Serviço de Anatomia Patológica do HC-FMUSP foi realizada da seguinte forma: amostras da primeira e terceira punções foram numeradas 1; segunda e quarta punções receberam numeração 2. Assim, a técnica de punção foi desconhecida pela patologista.

As lâminas fixadas em álcool foram coradas pela técnica de Papanicolaou, de acordo com seguintes procedimentos: lavagem das lâminas em água corrente por cinco minutos, seguida de dois banhos de álcool 96%, submersão destas na solução de eosina, verde brilhante e pardo de Bismark (EA) por trinta segundos, quatro banhos de álcool absoluto e quatro banhos de xilol. Em seguida, utilizou-se resina para fixação da lamínula sobre o material colocado nas lâminas, finalizando sua montagem.

Lâminas fixadas ao ar, foram coradas utilizando kit da coloração panótico, de acordo com seguintes procedimentos: submersão das lâminas na solução 1 (álcool de metileno) por um minuto, seguido da submersão das lâminas na solução 2 (fucsina) por quinze segundos, submersão das mesmas na solução 3 (azul de metileno) por quinze segundos, lavagem em água corrente, banho de álcool absoluto e quatro banhos de xilol. Em seguida, utilizou-se resina para fixação da lamínula sobre o material colocado nas lâminas, finalizando sua montagem.

O material fixado em formol tamponado foi transferido para tubo de centrifugação e adicionado duas gotas de Bouin. Submeteu-se à centrifugação por cinco minutos, com frequência de 1.700 rpm. A seguir o material sobrenadante foi desprezado e o restante colocado sobre fragmento de papel de seda.

O papel contendo material foi acondicionado em cassete, e este transferido para processador automático de tecidos, que consistiu em banhos de formol, álcool absoluto, xilol e parafina, respectivamente. Em seguida, material foi incluído em parafina, cortado com auxílio de micrótomo,

corado pela coloração hematoxilina e eosina (HE), e finalmente a lâmina foi montada, utilizando-se resina para fixação da lamínula (Figura 11).

Figura 11 - Imagem detalhando a aparência da lâmina após coloração pela técnica de Papanicolaou, fixação da lamínula e pronta para a leitura

As análises citológicas foram realizadas pela Dra. Danielle Azevedo Chacon, Médica Assistente do Grupo de Citopatologia da Divisão de Anatomia Patológica do HCFMUSP.

Os resultados foram liberados de acordo com numeração dos frascos: resultado punção 1 e punção 2.

Após o diagnóstico citológico inicial, foi realizada uma revisão das lâminas e emblocados para determinação da celularidade e contaminação por sangue das amostras.

A celularidade é representada pela presença de células epiteliais, com arquitetura preservada, permitindo a avaliação do citopatologista. A contaminação por sangue é o predomínio de hemácias na amostra, que conforme a quantidade pode impregnar todo o material.

3.5.7.1 Análise qualitativa da celularidade

No processo de análise da citopatologia, ressalta-se o detalhe de validar o material obtido por meio de verificação qualitativa, onde se determina a presença ou não de células com suas características ultraestruturais preservadas, permitindo-se uma interpretação acurada do material (Quadro 1).

Quadro 1 - Classificação qualitativa da presença ou não de células no material do esfregaço e embocado celular

Punção 1 ou Punção 2	Celularidade do esfregaço	Celularidade do embocado celular
0	Ausência de células diagnósticas	Ausência de células diagnósticas
Presente	Presença de células diagnósticas	Presença de células diagnósticas

3.5.7.2 Análise semi-quantitativa da celularidade

Em sequência à análise anterior, procedeu-se a verificação semi-quantitativa (devido a quantificação não ser numeral, entretanto se utilizando critérios de agrupamento bem definidos). Neste contexto, uma nova classificação citopatológica (Chacon-Cheng) no Quadro 2.

Quadro 2 - Classificação de Chacon & Cheng para o escore de celularidade e contaminação por sangue no esfregaço e emblocado celular

Escore	Esfregaço	Emblocado celular
Celularidade		
0	Ausência ou < 10% de células diagnósticas	Ausência ou < 10% de células diagnósticas
1+	≥10 - 50% de agrupamentos celulares	≥10 - 50% de agrupamentos celulares
2+	≥50 - 70% de agrupamentos celulares	≥50 - 70% de agrupamentos celulares
3+	≥ 70 - 90% de agrupamentos celulares	≥ 70 - 90% de agrupamentos celulares
Contaminação por sangue		
1+	Presença de hemácias em ≥10 - 50%	Presença de hemácias em ≥10 - 50%
2+	Presença de hemácias em ≥50 - 70%	Presença de hemácias em ≥50 - 70%
3+	Presença de hemácias em ≥ 70 - 90%	Presença de hemácias em ≥ 70 - 90%

Os exemplos de escore de celularidade no esfregaço e emblocado celular estão ilustrados nas Figuras de 12 a 19. E a contaminação por sangue nas Figuras de 20 a 25.

Figura 12 - Exemplo de escore 0 - ausência ou < 10% de células diagnósticas - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X

Figura 13 - Exemplo de escore 0 - ausência ou < 10% de células diagnósticas - embocado celular - coloração H&E - aumento de 200X

Figura 14 - Exemplo de escore 1+ - ≥ 10 - 50% de agrupamentos celulares - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X

Figura 15 - Exemplo de escore 1+ - ≥ 10 - 50% de agrupamentos celulares - embocado celular - coloração H&E - aumento de 200X

Figura 16 - Exemplo de escore 2+ - ≥ 50 - 70% de agrupamentos celulares - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X

Figura 17 - Exemplo de escore 2+ - ≥ 50 - 70% de agrupamentos celulares - embocado celular - coloração H&E - aumento de 200X

Figura 18 - Exemplo de escore 3+ - ≥ 70 - 90% de agrupamentos celulares - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X

Figura 19 - Exemplo de escore 3+ - ≥ 70 - 90% de agrupamentos celulares - emblocado celular - coloração H&E - aumento de 200X

Figura 20 - Exemplo de escore 1+ - Presença de hemácias em ≥ 10 - 50% - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X

Figura 21 - Exemplo de escore 1+ - Presença de hemácias em ≥ 10 - 50% - embocado celular - coloração H&E - aumento de 200X

Figura 22 - Exemplo de escore 2+ - Presença de hemácias em ≥ 50 - 70% - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X

Figura 23 - Exemplo de escore 2+ - Presença de hemácias em ≥ 50 - 70% - embocado celular - coloração H&E - aumento de 200X

Figura 24 - Exemplo de escore 3+ - Presença de hemácias em ≥ 70 - 90% - esfregaço - coloração de Papanicolaou - aumento de 200X

Figura 25 - Exemplo de escore 3+ - Presença de hemácias em $\geq 70 - 90\%$ - embocado celular - coloração H&E - aumento de 200X

3.6 Complicações Imediatas e Mediatas

Considerou-se complicações imediatas, aquelas relacionadas ao procedimento de ecopunção ou durante a passagem do ecoendoscópio e eventualmente ocorridos até sete dias após.

Entre as complicações imediatas descritas, identificam-se as relacionadas à anestesia e passagem do aparelho: insuficiência respiratória, bradicardia, hipotensão, disfagia, dor abdominal e perfuração. E as relacionadas à punção: hemorragia, dor abdominal, pancreatite, febre, bacteremia e perfuração²⁶.

Considerou-se complicações mediatas, aquelas relacionadas ao procedimento de ecopunção ocorridas entre oito e 30 dias do procedimento. As complicações mediatas descritas são a dor abdominal, infecção e semeadura da neoplasia no trajeto da agulha.

3.7 Amostra

3.7.1 Cálculo amostral

O cálculo amostral foi baseado na diferença de sensibilidade das técnicas disponível em estudos prévios e considerando uma variação de 10%.

Foi utilizado o software *online Power Calculator for Binary Outcome non-inferiority trial* do site: www.sealedenvelope.com/power/binary-non-inferior.

Para um nível de significância estatística de 5% e um poder estatístico de 80%, o tamanho amostral calculado pelo *software* foi de 48 pacientes em cada grupo.

3.8 Análise Estatística

Foram selecionados 50 pacientes com massa sólida de pâncreas, e em cada paciente foram realizadas PAAF-EE pelas duas técnicas. Isso resultou em dois grupos de 50 pacientes por técnica.

As características pessoais, tumorais, celularidade e contaminação de sangue dos esfregaços e embocado celular foram avaliadas.

As características qualitativas de todos os pacientes foram descritas com uso de frequências absolutas e relativas e calculada a média e desvio padrão das idades.

Foi verificada a existência de associação entre os acertos do diagnóstico, com cada técnica e com as técnicas somadas, através de testes exatos de Fisher. Foi verificada a associação marginal entre os acertos, com

uso do teste McNemar e comparados os tempos de execução das técnicas, através de testes t-Student-pareado²⁷.

Foram descritas a celularidade e contaminação de sangue, segundo o tipo de avaliação em cada técnica, com o uso de frequências absolutas e relativas. E comparados estes com testes Wilcoxon pareado²⁷. Foram calculadas as correlações de Spearman entre a celularidade e a contaminação de sangue para cada técnica e tipo de avaliação.

Os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 50 pacientes com lesões sólidas de pâncreas encaminhados para PAAF-EE. Em relação ao gênero, 21 (42%) eram do sexo feminino e 29 (58%) masculino, média de idade de 63,9 $\pm$ 10,4 anos.

No que tange à localização das lesões, foram 35 (70%) na cabeça, 14 (28%) no corpo e 1 (2%) no processo uncinado. Houve predominância das lesões maiores de 4 cm² (84%).

O diagnóstico de malignidade foi dado em 47 (94%), sendo 43 (86%) adenocarcinoma, 2 (4%) neoplasia epitelial cística, 1 (2%) melanoma e 1 (2%) neoplasia neuroendócrina. Dos 3 (6%) pacientes restantes, 1 (2%) foi inconclusivo e posteriormente diagnosticado como carcinoma neuroendócrino bem diferenciado, por meio de punção de linfonodo. Dois (4%) pacientes tiveram diagnóstico de pancreatite crônica, um deles após nova punção teve o diagnóstico de adenocarcinoma e o outro foi constatada neoplasia mucinosa após revisão da citopatologia (Tabela 1).

Tabela 1 - Descrição das características da população, agulhas e tumorais de todos pacientes

Variável	Descrição (N = 50)
Idade (anos), média $\pm$ DP	63,9 $\pm$ 10,4
Sexo, n (%)	
Feminino	21 (42)
Masculino	29 (58)
Agulha, n (%)	
EXPECT 22	34 (68)
SONOTIP 22	16 (32)
Local da lesão, n (%)	
Corpo	14 (28)
Cabeça	35 (70)
Uncinado	1 (2)
Tamanho da lesão (cm²), n (%)	
≤ 4	8 (16)
> 4	42 (84)
Tipo histológico, n (%)	
Adenocarcinoma	43(86%)
Neoplasia epitelial cística	2(4%)
Melanoma	1(2%)
Neoplasia neuroendócrina	1(2%)
Pancreatite crônica	2(4%)
Inconclusivo	1(2%)

A Tabela 2 mostra os grupos resultantes da randomização e a comparação entre eles. Os grupos foram estatisticamente homogêneos ($p > 0,05$).

Tabela 2 - Descrição das características da população, agulhas e tumorais dos grupos resultantes da randomização

Variável	Grupo		p
	A-PN,CP,PN,CP (N = 25)	B-CP,PN,CP,PN (N = 25)	
Idade (anos), média $\pm$ DP	65,6 $\pm$ 9,4	62,2 $\pm$ 11,1	0,239***
Sexo, n (%)			0,774
Feminino	11 (44)	10 (40)	
Masculino	14 (56)	15 (60)	
Agulha, n (%)			0,225
EXPECT 22	19 (76)	15 (60)	
SONOTIP 22	6 (24)	10 (40)	
Local da lesão, n (%)			0,06**
Corpo	10 (40,0)	4 (16)	
Cabeça	14 (56,0)	21 (84)	
Uncinado	1 (4,0)	0 (0)	
Tamanho da lesão (cm²), n (%)			0,702*
≤ 4	3 (12)	5 (20)	
> 4	22 (88)	20 (80)	

Teste qui-quadrado; * Teste exato de Fisher; ** Teste da razão de verossimilhanças; *** Teste t-Student
PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

A Tabela 3 mostra que tumores maiores de 4cm² apresentaram estatisticamente mais acerto no diagnóstico pela PN que tumores menores ($p = 0,044$) e tumores na cabeça também tiveram mais acerto pela PN que tumores no corpo ($p = 0,048$).

Tabela 3 - Descrição dos acertos de diagnóstico com PN, segundo cada característica de interesse e resultado dos testes de associação

Variável	Acerto PN		p
	Não (N = 6)	Sim (N = 44)	
Grupo			0,667
PN inicial	4 (16,0)	21 (84,0)	
CP inicial	2 (8,0)	23 (92,0)	
Tamanho da lesão (cm²)			0,044
≤ 4	3 (37,5)	5 (62,5)	
> 4	3 (7,1)	39 (92,9)	
Agulha			>0,999
EXPECT 22	4 (11,8)	30 (88,2)	
SONOTIP 22	2 (12,5)	14 (87,5)	
Local da lesão*			0,048
Corpo	4 (28,6)	10 (71,4)	
Cabeça	2 (5,7)	33 (94,3)	

Teste exato de Fisher; * Não foi considerado o paciente com local da lesão no processo uncinado
PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

A Tabela 4 mostra que o acerto de diagnóstico pela CP, assim como a PN, também apresentou estatisticamente mais acerto em tumores maiores ($p = 0,041$), já as demais características não apresentaram associação com o acerto do diagnóstico pelo método da CP ($p > 0,05$).

Tabela 4 - Descrição dos acertos de diagnóstico com CP, segundo cada característica de interesse e resultado dos testes de associação

Variável	Acerto CP		p
	Não (N = 10)	Sim (N = 40)	
Grupo			0,725
PN inicial	4 (16,0)	21 (84,0)	
CP inicial	6 (24,0)	19 (76,0)	
Tamanho da lesão (cm²)			0,041
≤ 4	4 (50,0)	4 (50,0)	
> 4	6 (14,3)	36 (85,7)	
Agulha			>0,999
EXPECT 22	7 (20,6)	27 (79,4)	
SONOTIP 22	3 (18,8)	13 (81,2)	
Local da lesão*			>0,999
Corpo	3 (21,4)	11 (78,6)	
Cabeça	7 (20,0)	28 (80,0)	

Teste exato de Fisher; * Não foi considerado o paciente com local da lesão no processo uncinado
PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

A Tabela 5 mostra que acertos de diagnóstico das técnicas foram estatisticamente iguais ($p = 0,344$). Entretanto, as técnicas somadas obtiveram mais acertos diagnósticos do que as técnicas isoladamente, atingindo significância estatística quando comparadas à CP ($p=0,016$). Não houve diferença no tempo médio de execução das punções entre as técnicas ($p = 0,279$).

Tabela 5 - Descrição dos acertos das técnicas de punção combinadas, de cada uma das técnicas isoladas e dos tempos de execução, e resultado dos testes estatísticos

Variável	PN+CP	PN	CP	p Entre técnicas PN VS CP
Acerto, n (%)				
Não	3 (6,0)	6 (12,0)	10 (20,0)	0,344
Sim	47 (94,0)	44 (88,0)	40 (80,0)	
p PN+CP VS técnicas isoladas		0,25	0,016	
Tempo (minutos), média $\pm$ DP		5,37 $\pm$ 2,26	5,02 $\pm$ 2,25	0,279*

Teste McNemar; * Teste t-Student pareado

PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

Como todos os pacientes avaliados apresentaram tumores, a técnica de PN apresentou um número de diagnósticos corretos levemente superior que a CP, porém não estatisticamente diferente. As técnicas somadas apresentaram rendimento ainda maior, com 94% de acertos (Tabela 6).

Tabela 6 - Descrição dos resultados das técnicas de punção em relação aos resultados citopatológicos dos pacientes

Técnica	Total N (%)
PN	
Benigno ou inconclusivo	6 (12)
Maligno	44 (88)
CP	
Benigno ou inconclusivo	10 (20)
Maligno	40 (80)
Técnicas somadas	
Benigno ou inconclusivo	3 (6)
Maligno	47 (94)
Total	50 (100)

PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

A Tabela 7 descreve os diagnósticos de tumores não adenocarcinomas, adenocarcinomas e material escasso/inconclusivos conforme a técnica de punção e o desfecho seis meses após, se vivo ou óbito.

Tabela 7 - Descrição do diagnóstico de não adenocarcinoma, adenocarcinoma e material escasso/inconclusivo, segundo cada técnica de punção e os desfechos dos pacientes aos seis meses

Variável	Descrição (N = 50)
PN, n (%)	
Não adenocarcinoma	6 (12)
Adenocarcinoma	40 (80)
Material escasso/Inconclusivo	4 (8)
CP, n (%)	
Não adenocarcinoma	7 (14)
Adenocarcinoma	36 (72)
Material escasso/Inconclusivo	7 (14)
Desfecho (6 meses), n (%)	
Vivo (a)	5 (10)
Óbito	45 (90)

PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

A Tabela 8 mostra que nenhum das técnicas ou somadas, se sobressaiu no diagnóstico de adenocarcinoma, pois os valores de concordância foram muito parecidos (Kappa semelhantes), bem como as medidas diagnósticas. Os resultados mostram leve superioridade da PN no diagnóstico de adenocarcinoma, mas sem atingir significância estatística.

Tabela 8 - Descrição do cruzamento entre diagnóstico de não adenocarcinoma e adenocarcinoma, segundo cada técnica de punção isolada, somadas e os resultados das medidas de concordância entre eles

Técnica	Total	Kappa	Acurácia	Sens.	Espec.	VPP	VPN
		IC (95%)	IC (95%)	IC (95%)	IC (95%)	IC (95%)	IC (95%)
PN		0,777	95,7	95,2	100	100	66,7
Não adenocarcinoma	6 (13)	(0,481; 1)	(89,8; 100)	(83,8; 99,4)	(39,8; 100)	(91,2; 100)	(22,3; 95,7)
Adenocarcinoma	40 (87)						
Total	46 (100)						
CP		0,691	93	92,3	100	100	57,1
Não adenocarcinoma	7 (16,3)	(0,370; 1)	(85,4; 100)	(79,1; 98,4)	(39,8; 100)	(90,3; 100)	(18,4; 90,1)
Adenocarcinoma	36 (83,7)						
Total	43 (100)						
Métodos somados		0,778	96	95,6	100	100	66,7
Não adenocarcinoma	6 (12,2)	(0,484; 1)	(90,5; 100)	(84,9; 99,5)	(39,8; 100)	(91,8; 100)	(22,3; 95,7)
Adenocarcinoma	43 (87,8)						
Total	49 (100)						

PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade; VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo.

Sens.: Sensibilidade; Espec.: Especificidade.

Na Tabela 9, observa-se na análise qualitativa da presença de celularidade, que não há diferença estatística entre PN e CP por ambos os tipos de preparo citológico (esfregaços e emblocado).

Tabela 9 - Descrição da análise qualitativa da presença de celularidade com PN e CP para o esfregaço e emblocado celular

Variável	PN (N = 44)	CP (N = 44)	p
Esfregaços			0,143
Ausente	11 (25)	18 (40,9)	
Presente	33 (75)	26 (59,1)	
Emblocado			0,607
Ausente	8 (18,2)	10 (22,7)	
Presente	36 (81,8)	34 (77,3)	

Teste McNemar

PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

A Tabela 10 mostra que a análise semi-quantitativa de celularidade e contaminação de sangue foi estatisticamente igual no esfregaço e no emblocado, tanto na PN como na CP ($p > 0,05$). Não houve diferença nem entre as técnicas de punção, nem entre o esfregaço e o emblocado ($p > 0,05$).

Tabela 10 - Descrição da análise semi-quantitativa de celularidade e contaminação de sangue, segundo o tipo de avaliação para cada técnica de punção e os resultados dos testes comparativos

Variável	Tipo de avaliação		p
	Esfregaços	Emblocado	
PN - Celularidade			0,963
Ausente	11 (25)	8 (18,2)	
1+	9 (20,5)	17 (38,6)	
2+	13 (29,5)	6 (13,6)	
3+	11 (25)	13 (29,5)	
CP - Celularidade			0,098
Ausente	18 (40,9)	10 (22,7)	
1+	11 (25)	14 (31,8)	
2+	4 (9,1)	6 (13,6)	
3+	11 (25)	14 (31,8)	
p	0,119	0,980	
PN - Contaminação de sangue			0,403
Ausente	0 (0)	3 (6,8)	
1+	13 (29,5)	10 (22,7)	
2+	9 (20,5)	12 (27,3)	
3+	22 (50)	19 (43,2)	
CP - Contaminação de sangue			0,313
Ausente	0 (0)	1 (2,3)	
1+	14 (31,8)	13 (29,5)	
2+	6 (13,6)	12 (27,3)	
3+	24 (54,5)	18 (40,9)	
p	0,805	0,708	

Teste Wilcoxon pareado

PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

A Tabela 11 mostra que houve correlação inversamente proporcional entre o grau de celularidade e o grau de contaminação de sangue estatisticamente significativa na PN e CP em ambos os tipos de avaliação ($p \leq 0,05$), ou seja, quanto maior o grau de celularidade menor foi o grau de contaminação de sangue e vice-versa para essas avaliações.

Tabela 11 - Resultado da correlação entre os graus de celularidade e de contaminação por sangue para cada técnica de punção e tipo de avaliação

Técnica	Tipo de avaliação	Correlação	N	p
PN	Esfregaços	-0,787	44	<0,001
	Emblocado	-0,289	44	=0,05
CP	Esfregaços	-0,564	44	<0,001
	Emblocado	-0,619	44	<0,001

Correlação de Spearman

PN: Pressão negativa; CP: Capilaridade

Foram documentadas duas complicações imediatas em duas pacientes do sexo feminino, idades 74 e 86 anos, com lesões de 4 cm² e 22 cm², submetidas à punção da cabeça de pâncreas, pertencentes ao grupo A. A primeira apresentou tremores e a segunda dor abdominal. Ambas evoluíram bem com uso de medicação sintomática (Tabela 12).

Tabela 12 - Descrição das complicações do procedimento de ecopunção

Complicações	Descrição (N = 50)
Sem complicação	48 (96%)
Dor abdominal	1 (2%)
Tremores	1 (2%)

5 DISCUSSÃO

A PAAF-EE é um método bem estabelecido para o diagnóstico de lesões pancreáticas. Todavia, existem fatores que influenciam o rendimento da ecopunção e são relacionados ao endossonografista, à lesão, à agulha, às técnicas de punção, de preparo e avaliação citopatológica²⁸.

Os fatores relacionados ao endossonografista são a experiência em identificar e puncionar lesões sólidas de pâncreas. A curva de aprendizado de acordo com a Sociedade Americana para Endoscopia Gastrointestinal (ASGE) para adquirir competência em ecopunção é de 50 punções, sendo pelo menos 25 de pâncreas²⁹. A Sociedade Britânica de Gastroenterologia (BSG) recomenda o mínimo de 75 punções, com pelo menos 45 casos de adenocarcinoma de pâncreas³⁰.

Eloubeidi e Tamhane³¹, publicaram o estudo de acompanhamento de estagiários com um ano de treinamento em ultrassom endoscópico, durante o qual foram realizadas 45 PAAF de pâncreas. Foi observada a redução significativa do número médio de punções necessárias para obter o diagnóstico de massas sólidas de pâncreas após 100 PAAF adicionais. A taxa de complicações apresentou regressão, depois de 200 procedimentos adicionais.

As características das lesões que influenciam no rendimento das ecopunções são o tamanho, a localização, a presença de tecido fibrótico, áreas de necrose, inflamação peritumoral e vascularização.

As características demográficas dos portadores de lesões sólidas de pâncreas são: pacientes a partir da 6ª década de vida, predomínio discreto do sexo masculino, localização preferencial na cabeça do pâncreas (58%-67%) e tamanho médio no momento do diagnóstico de 31 mm a 34 mm^{23,32,33}. As lesões localizaram-se predominantemente na cabeça do pâncreas (70%) e a maioria com tamanho médio maior que 4 cm² (84%). O presente estudo evidenciou concordância com os achados da literatura quanto a idade média, sexo dos pacientes e tamanho das lesões. A inexistência de estratégias efetivas de rastreamento para o câncer de pâncreas que possam diagnosticar as lesões em fase inicial e permitir mudança no prognóstico, torna essencial a otimização da técnica ecoendoscópica para aquisição de amostras e consequentemente o diagnóstico histológico e citológico.

A dimensão da lesão foi avaliada previamente à punção e registrada em cm². Utilizou-se limite de 4 cm², estratificando lesões abaixo de 2 cm que apresentam maior dificuldade na obtenção de amostras citológicas. No estudo, em 16% dos pacientes observou-se tamanho ≤ 4 cm² e foi a única característica tumoral que apresentou significância estatística em relação ao acerto diagnóstico para ambas técnicas de punção ($p < 0,05$).

À medida que as lesões crescem, maior a área para aquisição de material, entretanto pode haver desproporção entre o suprimento vascular e o volume do tumor, causando formação de áreas de necrose no seu interior. Por isso, quando evidenciados focos anecoicos ao ultrassom, é adequado evitar direcionar a agulha para esses locais. Por sua vez, as áreas muito periféricas podem conter maior quantidade de desmoplasia reacional e debris inflamatórios²⁸.

As localizações mais difíceis de acessar são o processo uncinado do pâncreas e a cauda pancreática. O primeiro por ser acessível da segunda porção duodenal local, onde o ecoendoscópio se posiciona com várias curvas, o que dificulta a passagem e a manipulação da agulha de punção. A segunda, por não apresentar fixação por estruturas adjacentes, deslocando-se durante as tentativas de entrar na lesão.

A quantidade de tecido fibrótico torna a região de punção mais rígida, dificultando a entrada da agulha e o desprendimento de material.

As neoplasias com displasia de baixo grau e adenocarcinomas bem diferenciados, pela semelhança com o tecido pancreático, possuem maior dificuldade em estabelecer o diagnóstico citológico, por isso necessitam de maior quantidade de amostras ou eventualmente fragmentos com arquitetura tecidual³⁴⁻³⁶.

A evolução tecnológica permitiu que surgissem agulhas mais flexíveis, com novas características, no intuito de melhorar a aquisição de material para estudo patológico^{37,38}. O desenvolvimento de aparelhos com imagem de alta resolução e propriedades sonográficas inovadoras agregam informações importantes ao diagnóstico³⁸⁻⁴⁰.

O diagnóstico citopatológico exige dedicação especial do patologista, haja vista que as amostras obtidas são desprovidas de arranjo arquitetural tecidual, resultando a PAAF em agrupamentos desordenados de células. A possibilidade de aquisição de fragmentos contendo arquitetura organizada proporciona acréscimo de informações durante o exame patológico.

A agulha com bisel reverso (Echotip Procore, Cook Medical) localizado lateralmente, próximo à ponta da agulha, tem o objetivo de

desprender um fragmento maior da lesão. Surgiu dessa forma a nomenclatura biópsia por agulha fina (BAF), traduzindo a capacidade de obter fragmentos de células juntamente com parte de sua arquitetura tecidual. Estudos com esse modelo de agulha evidenciam resultados semelhantes à convencional, todavia com menor número de punções^{37,42,43}.

Alatawi *et al.*⁴², realizaram estudo prospectivo e randomizado de 100 pacientes comparando dois modelos de agulha: 22G padrão (Echo-ultra™ da Cook Medical) e a 22G Echotip Procore. O rendimento diagnóstico entre os dois modelos de agulha não resultou em diferença estatística significativa. No entanto, a agulha padrão necessitou de três punções para alcançar rendimento diagnóstico acima de 90%, enquanto a Echotip Procore necessitou duas.

Em 2016, DiMaio *et al.*⁴⁴ publicaram estudo retrospectivo e multicêntrico utilizando outro modelo de agulha para BAF 25 G e 22 G (SharkCore FNB *needle* Medtronic, *Dublin, Ireland*) que possui seis facetas cortantes e bisel opositor com função de reter fragmentos que se desprendem durante a punção. Foram puncionadas 136 lesões de pâncreas, resultando em rendimento diagnóstico após estudo citológico de 73% e 84%, respectivamente. Após avaliação histológica, o resultado aumentou para 85% e 86%, respectivamente. Esse estudo desperta interesse na relevância da obtenção de amostra histológica.

Estudos anteriores têm investigado o número ideal de passagens de agulha para maior rendimento diagnóstico de PAAF-EE de massas pancreáticas sem citopatologista no local. Erickson *et al.*³⁴, realizaram

estudo e relataram que cinco a seis passagens eram necessárias. Uehara *et al.*⁴⁵ em 2015, relataram que o número ideal de punções para lesões de 15 mm ou menos na cabeça, aquelas de mais de 15 mm na cabeça, aquelas de 15 mm ou menos no corpo ou cauda e as de mais de 15 mm no corpo ou cauda foram três, duas, duas, e uma, respectivamente. Quando esses números de punções foram adotados, 93% das lesões pancreáticas foram corretamente diagnosticadas. Na maioria das instituições, o citopatologista não está disponível para participar rotineiramente no procedimento de PAAF-EE. Nesta situação, estudos anteriores relataram que três ou mais passagens foram necessárias para adquirir amostra adequada, sem o citopatologista no local. Este resultado é consistente com o presente estudo no qual foram realizadas quatro punções.

Sistemas endoscópicos mais recentes obtêm imagens de alta definição com melhor resolução e a imagem ecoendoscópica resultante de alta resolução permite visibilizar a lesão em maior detalhe e com limites precisos, otimizando o direcionamento da punção e obtenção de amostras para melhor rendimento na análise citopatológica. Jeong *et al.* evidenciaram em estudo retrospectivo, que o grupo no qual foi utilizado aparelho com imagens de alta resolução teve o aumento da precisão, sensibilidade e especificidade da punção por agulha fina guiada pela ecoendoscopia³⁹. Na análise multivariada, demonstrou-se que os dois fatores importantes para determinar o rendimento diagnóstico da PAAF-EE, em massas sólidas pancreáticas, foram a imagem de alta resolução e o número de passagens da agulha (≥ 3).

A recomendação quanto ao número de punções realizadas em massas sólidas de pâncreas é variável. A Sociedade Europeia de Endoscopia Digestiva (ESGE) recomenda cinco punções para lesões sólidas pancreáticas^{34,46,47}. Estudo preliminar realizado por Suzuki *et al.*⁴⁸, avaliou que quatro punções foram adequadas para alcançar sensibilidade de 93,3% e especificidade de 100%. Não houve significância estatística quando esse número foi aumentado para cinco punções. Em 2015, Uehara *et al.*⁴⁵ publicaram estudo retrospectivo que evidenciou que o número ideal de punções de lesões sólidas de pâncreas varia de um a três.

A punção pode ser realizada de uma ou várias áreas da lesão. Na obtenção de amostra de uma área, a agulha é introduzida sempre no mesmo trajeto, onde são realizados os movimentos oscilatórios. A coleta de amostras de diferentes áreas permite melhor representação da lesão e pode ser feita por duas técnicas. A chamada técnica do leque “*fanning technique*”, na qual após introdução da agulha na lesão, efetua-se oscilações em diferentes trajetos, sem retirá-la da lesão. E a técnica “*multipass*”, que se assemelha à anterior, com a diferença de se retirar a agulha da lesão e puncionar em novo trajeto¹⁶.

Em cada punção, a agulha realiza movimentos oscilatórios e periódicos de vaivém dentro da lesão. Esses movimentos simulam o “bater na porta”, com entrada rápida e saída mais lenta da lesão. O número de punções, quantidade de oscilações, utilização ou não do estilete e tipo de sucção aplicada à agulha são variáveis da técnica de punção⁴⁹.

O número de movimentos oscilatórios realizados em cada punção varia de cinco a 20, conforme a preferência e experiência do

endossonografista. Oscilações adicionais não aumentam o rendimento diagnóstico por ocorrer oclusão da agulha, além de aumentar a chance de sangramento e contaminação da amostra com sangue⁴⁷.

Estudo prospectivo e randomizado de Puri *et al.*³², avaliou 52 pacientes com lesões sólidas diversas (massas [sete] e linfonodos [27] no mediastino, pâncreas [oito], adrenal [cinco], linfonodos perigástricos [quatro] e fígado [um]) encaminhados para PAAF-EE. Todos foram submetidos a três punções, randomizados em dois grupos: 26 pacientes para PAAF com PN e 26 pacientes para PAAF por CP. No resultado, observou-se sensibilidade maior quando aplicada PN (85,7% vs. 66,7%, $p=0,05$).

Lee *et al.*²², compararam por estudo prospectivo e randomizado, técnica com sucção (S+) e sem sucção (S-). Foram estudados 85 pacientes com massas sólidas de pâncreas submetidos a quatro punções, dois por cada técnica, sendo a ordem randomizada por computador. As agulhas utilizadas foram 22 G Endocoil e 25G Echotip (Cook Endoscopy) por livre escolha do endossonografista. O número de amostras diagnósticas foi superior no grupo S+ (72,8% vs. 58,6%, $p=0,001$), assim como a celularidade (OR 2,12; IC 95%: 1,37-3,30; $p=0,001$) e contaminação por sangue (OR 1,46; IC 95%: 1,28-1,68; $p=0,001$). Além disso, S+ foi superior à S- na acurácia (85,2% vs. 75,9%; $p=0,004$) e sensibilidade (82,4% vs. 72,1%, $p=0,005$), com especificidade semelhante (95,8% vs. 100%; $p=0,999$).

Estudo semelhante de Mohammad Alizadeh *et al.*⁵⁰ com 100 pacientes utilizando agulha 22 G Echotip (Wilson Cook), não encontrou diferença estatística comparando esses dois métodos (S+ vs. S-), o grupo

sem sucção obteve amostras mais adequadas para diagnóstico e com menos sangue.

Kudo *et al.*³⁵ avaliaram de forma prospectiva e randomizada 90 pacientes submetidos a duas punções de lesões sólidas de pâncreas. Foram comparadas a utilização de PN com seringa de 60 mL *versus* PN com seringa de 10 mL aplicadas à agulha de 25 G. A randomização determinou a ordem de punção. O resultado evidenciou obtenção de amostras mais sanguinolentas ($p=0,0042$), porém mais adequadas para diagnóstico citológico quando aplicada PN da seringa de 60 mL (90% vs. 72,2%, $p=0,0003$). Em relação à acurácia e sensibilidade, não houve diferença significativa, porém, o grupo de PN com seringa de 60 mL obteve menor especificidade (71,4% vs. 100%).

A avaliação imediata da qualidade da amostra pelo citopatologista na sala de procedimento é chamada avaliação rápida no local ("*Rapid On-Site Evaluation*" [ROSE]). Utiliza-se para esse fim, coloração variante da Romanowsky, que reduz o processo de preparação para 15 segundos, denominada Diff-Quik. Isso permite avaliar se o material adquirido foi suficiente para estudo citológico. A utilização de ROSE no procedimento de PAAF-EE pode reduzir o número de punções e aumentar o rendimento diagnóstico em 10% a 30%^{34,36,47}.

A sucção com utilização de coluna líquida é a técnica na qual o ar no interior da agulha é substituído por soro fisiológico, chamada de "*wet suction technique*" (WEST). A teoria baseia-se no fato do líquido ser menos compressível que o ar, transmitindo de forma mais eficiente a sucção da seringa para ponta da agulha.

Attam *et al.*⁵¹, realizaram estudo prospectivo e randomizado no qual foram puncionadas 117 lesões (63 de pâncreas, 35 linfonodos, 10 fígado e nove outros) comparando WEST com a técnica convencional (*Conventional Fine Needle Aspiration Technique* [CFNAT]) em dois centros: University of Minnesota Medical Center (UMN) e Aurora St. Luke's Medical Center (AMC). Na UMN, as punções foram realizadas com ROSE, enquanto no AMC foram realizadas sem ROSE. O modelo de agulha utilizado foi 22 G Echotip Ultra HD (Cook Endoscopy). O resultado final de ambas técnicas evidenciou 63 lesões malignas, 37 negativas para malignidade, nove benignas, três celularidade atípica e cinco casos em que o material obtido não permitiu diagnóstico. Desses cinco casos, um foi lesão peripancreática, tratando-se provavelmente de tecido cicatricial pós-duodenopancreatectomia e quatro punções de linfonodos que apresentavam baixa suspeita para malignidade. A WEST forneceu diagnóstico de malignidade em sete lesões onde CFNAT foi negativo ou hipocelular. Por outro lado, houve um paciente no qual a CFNAT diagnosticou malignidade e a WEST obteve aspirado hipocelular. O escore de celularidade foi maior com a WEST ($1,82 \pm 0,76$ vs. $1,45 \pm 0,76$; $p=0,0003$) e produziu emblocados de amostras mais adequadas para diagnóstico citopatológico (85,5% vs. 75,2%; $p=0,035$).

Em 2015, Katanuma *et al.*⁵² publicaram estudo que quantifica numericamente a pressão negativa no interior da agulha de ecopunção. Foram aferidas pressões negativas das agulhas 19 G, 22 G e 25 G, submetidas à sucção com seringa de 10 mL, 20 mL e 50 mL e pela técnica de CP utilizando manometria digital. Observou-se que quanto maior calibre e

volume da seringa, maior poder de sucção obtido. A CP apresentou o menor poder de sucção. O poder de sucção da técnica de CP não apresentou variação significativa nas medidas dos diferentes calibres de agulha, velocidade de tração ou extensão de retirada do estilete.

Nakai *et al.*⁵³ em 2014, avaliaram duas agulhas de tamanhos diferentes 22 G e 25 G, em relação às técnicas de CP e sucção, por meio de análise retrospectiva de 93 pacientes. A técnica de CP, utilizando agulha 25 G, apresentou menor celularidade e contaminação por sangue, contudo maior acurácia (91,1% vs. 70%, $p=0,004$), sensibilidade (90% vs. 67,9%, $p=0,003$) e VPN (54,5 vs. 18,2, $p=0,045$) em relação à sucção. Quando se avaliou agulha 22 G, a CP não apresentou diferença estatisticamente significativa na acurácia (80,0% vs. 80,6%, $p=1$), sensibilidade (76% vs. 79,2%, $p=0,6$), celularidade (66,7% vs. 58,9%, $p=0,261$) e contaminação por sangue (54,4% vs. 62%, $p=0,268$).

El Haddad *et al.*³³, em análise retrospectiva de 98 pacientes, compararam duas punções com agulha 22 G ProCore (Cook Medical), na qual a primeira foi por sucção e a segunda capilaridade ou sucção. Foram obtidos três grupos: Grupo 1 - primeira punção por sucção, Grupo 2 - segunda por capilaridade e Grupo 3 - segunda por sucção. Taxas de diagnóstico foram 96,9%, 97,9% e 90,2% respectivamente. A técnica de capilaridade permitiu melhor proporção de celularidade e microfragmentos teciduais, sem resultar em significância estatística.

Chen *et al.*²³ compararam a punção por meio de CP, PN com seringa de 5 mL, 10 mL e 20 mL em estudo retrospectivo. Resultados de acurácia (90,3 vs. 60,2 vs. 58,8 vs. 55,6, $p=0,019$), sensibilidade (88,2% vs. 41,7% vs.

40,0% vs. 36,4%, $p=0,009$) e contaminação por sangue (escore ≥ 2 para 29,0% vs. 52,6% vs. 70,6% vs. 72,2%, $p=0,003$) favoreceram o grupo por CP.

Em 2015, Kin *et al.*⁵⁴ apresentaram estudo prospectivo e não randomizado comparando CP com PN em agulha 22 G. Foram estudados 40 pacientes com lesões sólidas de pâncreas, submetidos a duas punções iniciais com CP e às subseqüentes pela técnica de PN com média de $2 \pm 0,8$ punções. O resultado não apresentou diferença estatística entre as duas técnicas quanto à acurácia diagnóstica (90% vs. 90%, $p=1,0$).

Outro motivo de discussão entre os especialistas é em relação ao modo de preparo do material e o tipo de avaliação citopatológica. A amostra obtida pode ser preparada em lâminas por meio de esfregaço e são fixadas ao ar, utilizando-se a coloração Diff-Quik e permite avaliação citológica imediata da qualidade do material. Também podem ser fixadas em álcool e posteriormente, corada pelo método Papanicolaou ou HE, permitindo preservação das características nucleares para a interpretação. Outra forma de preparo é colocar a amostra em formol para posterior fixação em parafina e realização do emblocado celular.

No presente estudo, as amostras foram preparadas por esfregaço e emblocado, sendo as informações obtidas pelas duas formas consideradas complementares entre si. Os resultados da avaliação citopatológica qualitativa e semi-quantitativa da celularidade e contaminação por sangue não apresentaram diferença estatística entre as técnicas de punção, nem entre o tipo de preparo citológico. O esfregaço mereceu atenção especial,

em relação à confecção das lâminas e colocação imediata na solução de álcool, para evitar a desidratação da amostra e comprometimento da ultraestrutura celular e dessa forma, sua interpretação. Isso não ocorreu com o embocado, uma vez que todo material obtido foi colocado diretamente no frasco contendo formol.

Chen *et al.*⁵⁵ publicaram revisão sistemática com total de 15 estudos, destes nove prospectivos e seis retrospectivos. O total de 1860 pacientes foram incluídos para a análise. A sensibilidade e especificidade da PAAF-EE foram 92% (IC 95%: 91%-93%, $p < 0,001$) e 96% (IC 95%: 93%-98%, $p = 0,006$), respectivamente. A revisão relatou limitações relacionadas à falta de protocolo otimizado para realização das punções e heterogeneidade elevada dos estudos. O presente estudo foi prospectivo e randomizado, destacando-se pela sistematização detalhada das técnicas de aspiração aplicadas à agulha de ecopunção e critérios citopatológicos bem definidos para celularidade e contaminação por sangue. Foram comparadas PAAF-EE utilizando PN em relação à CP. Os resultados obtidos em relação ao rendimento diagnóstico destacaram que a PN foi superior numericamente, sem alcançar significância estatística ($p = 0,344$). Por outro lado, quando comparado à associação das técnicas com a PN e CP isoladas, observa-se melhor desempenho das técnicas associadas, alcançando significância estatística quando comparada à CP isolada. Outros destaques foram a elevada acurácia (PN=95,7%; CP=93%), sensibilidade (PN=95,2%; CP=92,3%) e especificidade (PN=100%; CP=100%).

A análise de subgrupos de seis estudos com ROSE mostrou sensibilidade combinada de 95% (IC 95%: 93%-96%), com valor de $p=0,622$. O presente estudo foi realizado sem ROSE. A incorporação do citopatologista na sala de ecoendoscopia eleva o custo do exame. Contudo, alguns estudos evidenciam possível redução no número de punções necessárias e incremento no rendimento diagnóstico. Quando é considerado o diagnóstico inconclusivo ou falso negativo após PAAF por ecoendoscopia, o benefício da ROSE é destacado, pela consequente necessidade de novo procedimento, biópsias por cirurgia ou exames adicionais para acompanhamento. O tempo necessário para processamento da amostra e avaliação do citopatologista deve ser ponderado, pois em nosso estudo, foram realizadas quatro punções e o tempo médio para realização de qualquer técnica foi em média cinco minutos (PN $5,37 \pm 2,26$; CP $5,02 \pm 2,25$), obtendo rendimento diagnóstico comparável aos estudos com utilização de ROSE⁵⁶⁻⁵⁸. A recomendação quando não há disponibilidade de ROSE em punção de lesões sólidas pancreáticas é de cinco punções. Não obstante, tal conduta acarreta em desgaste, deformidade e perda da capacidade cortante da agulha, resultando em dificuldade no procedimento e necessidade de nova agulha. Além dos efeitos deletérios na agulha, o número excessivo de punções causa trauma ao tecido e sangramento, em consequência menor rendimento diagnóstico, maior tempo de procedimento e chance de complicação³⁴. No presente estudo, foram realizadas quatro punções e a média de tempo para realização de qualquer técnica foi cinco minutos (PN $5,37 \pm 2,26$; CP $5,02 \pm 2,25$), a acurácia final obtida das técnicas associadas foi de 96%.

Kin *et al.*⁵⁴ em 2015, demonstraram em estudo prospectivo de 40 pacientes, que duas punções iniciais com agulha 22 G (Expect, Boston Scientific) utilizando a técnica da capilaridade foram adequadas para obter acurácia de 90% (36/40). No presente estudo, cada paciente foi submetido igualmente a quatro punções: duas por punção pela técnica CP e duas por PN, resultando em acurácias de 82% e 90%, respectivamente. A acurácia dos dois métodos somados foi de 96%.

A alternância das punções com PN e CP no estudo teve objetivo de permitir que as técnicas fossem utilizadas em primeira, segunda, terceira e quarta sequências. O resultado final demonstrou que a técnica com primeiro acesso à lesão não apresentou superioridade estatística no rendimento diagnóstico quanto a essa característica.

A avaliação do tempo necessário para realização de cada técnica de punção não resultou em significância estatística. Vale ressaltar que a capilaridade demandou a presença de um auxiliar para fazer a tração gradativa do estilete. Essa necessidade não existiu na técnica da pressão negativa, em que o próprio examinador foi capaz de conectar a seringa e acionar o vácuo. O estilete tem função de impedir entrada de células da parede gastrointestinal e proteger o canal de trabalho da perfuração acidental pela extremidade cortante da agulha. Em razão de consumir tempo adicional na sua reintrodução a cada nova punção e pelo risco de acidente no manuseio do estilete, alguns autores estudaram a realização de punções com e sem o estilete. Estudos comparando a PAAF-EE de lesões pancreáticas descartando-se o estilete antes de iniciar as punções, não

evidenciaram vantagens na sua utilização^{49,59,60}. No presente estudo, foi necessário reintroduzir o estilete na agulha para realizar a técnica de CP. Não foi observado aumento no tempo de procedimento entre as duas técnicas.

As complicações resultantes da punção aspirativa por agulha fina guiada por ecoendoscopia são raras e incluem sangramento (1% a 4%), pancreatite (1% a 2%), perfuração (0,03%) e alguns relatos de implante de células tumorais no trajeto da agulha^{61,62}. A possibilidade de disseminação neoplásica durante a passagem da agulha pela lesão é motivo de preocupação principalmente em pequenas lesões localizadas no corpo e cauda do pâncreas, porque o trajeto percorrido não será incluído na área de ressecção cirúrgica. As lesões de cabeça pancreática possuem risco teórico de implantes neoplásicos, mas isso nunca foi relatado após PAAF-EE. Isso porque após o procedimento de Whipple, os locais de possível disseminação são removidos. Nos casos de doença irresssecável, a maioria falece por progressão da doença antes de qualquer implante neoplásico ser detectado. Em nosso estudo, não foi observada nenhuma dessas complicações graves. Um paciente relatou dor abdominal após o procedimento e foi tratado com analgésicos. Outro paciente apresentou tremores durante a recuperação anestésica, que também melhorou após medicação sintomática. Nenhum deles necessitou internação hospitalar. O resultado do presente estudo foi concordante com a literatura confirmando a segurança da punção aspirativa.

O presente estudo destacou que a associação das técnicas obteve resultado diagnóstico superior às demais isoladamente (94% de acertos dos

pacientes com diagnóstico de malignidade). Esse resultado pode ser explicado por vários motivos. A justificativa para o alto rendimento diagnóstico relatado nesse trabalho pode ser atribuído ao número de punções realizadas. A literatura destaca que quatro punções é número adequado para alcançar rendimento diagnóstico acima de 90%, que esteve de acordo com o resultado obtido^{42,48}.

As características fibróticas, vascularização, necrose, desmoplasia reacional e processo inflamatório das lesões podem determinar que uma ou outra técnica seja mais bem-sucedida na aquisição de material representativo. Essa explicação se baseia na análise das falhas diagnósticas de cada técnica. Observou-se que em cinco punções inconclusivas ou com material escasso no grupo da pressão negativa, quando submetidos à técnica da capilaridade, o diagnóstico conseguiu ser estabelecido em três pacientes. Da mesma forma, em nove casos do grupo da CP, quando submetidos à técnica PN obteve-se resultado em sete. Os casos de insucesso diagnóstico em ambos grupos PN e CP, correspondiam ao mesmo paciente. Ele foi submetido à nova punção, que evidenciou lesão de consistência endurecida que não possibilitou aquisição de material para estudo citológico. Finalmente o diagnóstico de carcinoma neuroendócrino bem diferenciado foi estabelecido por punção de linfonodo perilesional. Ambas técnicas obtiveram resultados falsos-negativos nos mesmos pacientes com diagnóstico citopatológico de pancreatite crônica. Após a revisão das lâminas foi evidenciado presença neoplasia mucinosa um deles e outro repetiu a punção e foi confirmado adenocarcinoma.

Silva *et al.*⁶³ estudaram 137 pacientes submetidos à ecopunção de massas pancreáticas realizadas no Serviço de Endoscopia do HC-FMUSP, no período de 2004 a 2007, por meio de análise retrospectiva. Os resultados citopatológicos foram positivos para malignidade (29,9%), suspeitos (11,7%), inconclusivos (32,1%), negativos (18,3%) e indeterminados (8%). Os motivos do baixo rendimento diagnóstico evidenciado no estudo foram atribuídos ao baixo número de punções, preparo inadequado do material, técnica de coloração citológica ultrapassada, ausência do patologista durante o procedimento e à experiência do médico endoscopista. O presente estudo, realizado pela mesma equipe, demonstra um aumento importante no rendimento diagnóstico, que é atribuído à evolução tecnológica das agulhas de ecopunção, curva de aprendizado do endossonografista nas técnicas de PAAF-EE e principalmente pela incorporação de uma médica citopatologista experiente na equipe. O aprendizado obtido ao longo dos anos foi sintetizado em publicação recente em 2017²⁸.

As diferentes maneiras de aquisição de material representativo para análise citopatológica é matéria de especial interesse dos ecoendoscopistas. Neste contexto, destaca-se o valor de novas tecnologias que permitem definir melhor as áreas para ecopunção em massas sólidas do pâncreas. Entre elas temos o ultrassom com ondas harmônicas e a elastografia.

O ultrassom com ondas harmônicas tem como princípio a aquisição seletiva dos sinais provenientes de microbolhas de contraste ultrassonográfico. O sinal do tecido adjacente é subtraído, possibilitando observação dinâmica de microvasos de fluxo lento que não aparecem ao *Doppler* colorido. A ecoendoscopia harmônica contrastada pode auxiliar no

diagnóstico de lesões sólidas pancreáticas diferenciando tecidos perfundidos e não perfundidos⁴¹.

A maior rigidez do tecido tumoral em relação ao normal é bem conhecida. O ultrassom com elastografia explora essa característica medindo elasticidade tecidual. A compressão do tecido pelo *probe* do ecoendoscópio produz deslocamento denominado tensão, que tem correlação direta com a rigidez da estrutura. A avaliação da elastografia pode ser qualitativa ou quantitativa. Na qualitativa, pequenas deformidades são detectadas e graduadas em escala de 1-255 e cada valor representado por coloração no espectro RGB (*red-green-blue*). Os dois extremos são: rígido, representado em azul e macio que aparece em vermelho. O tecido normal tem elasticidade intermediária e apresentação em verde. A imagem colorida gerada aparece sobreposta à monocromática convencional do ultrassom. Avaliação quantitativa pode ser realizada de duas maneiras diferentes. Uma delas é por meio de representação da escala de cor por histograma; outra é comparando a tensão média de duas áreas diferentes. A elastografia por ecoendoscopia apresenta limitações como artefatos criados pelos movimentos respiratórios e cardíacos; estruturas adjacentes com alta ou baixa densidade que interferem na aquisição do sinal; tamanho e profundidade da região de interesse deve ser similar quando razão de tensão é calculada; valor preditivo negativo (VPN) permanece baixo (60%-70%) e baixa reprodutividade^{40,41,64,65}.

Em estudo recente semelhante ao nosso, Saxena *et al.*⁶⁶ avaliaram prospectivamente 121 pacientes de dois centros de referência. Os pacientes

foram randomizados para punção por CP e PN de lesões sólidas de pâncreas. A metodologia diferiu em alguns aspectos: foi utilizado o ROSE para definir se havia material adequado para citologia; os grupos randomizados eram submetidos a uma das técnicas somente até quatro punções, se não resultassem em material adequado era realizado crossover para a outra técnica com até seis punções adicionais. O resultado foi uma sensibilidade para malignidade aumentada para o grupo da CP (82%) em relação à PN (69%), no entanto sem alcançar significância estatística ($P=0,10$). Avaliaram ainda o diagnóstico na primeira punção (42,6% vs. 38,3%; $P=0,71$); aquisição de estrutura histológica (60,6% vs 46,7%; $P=0,4$) e o número médio de punções para o diagnóstico (2 vs 1; $P=0,71$), mostrando resultados semelhantes em ambos grupos. Saxena *et al.*⁶⁶ não utilizaram critérios citológicos bem estabelecidos que permitiriam avaliar e quantificar o desempenho de cada técnica, como realizado em nosso estudo.

5.1 Considerações Finais

A otimização do rendimento no acesso ecoguiado compõe matéria de debates continuados nas últimas duas décadas. As variáveis decisivas no sucesso da obtenção de amostra representativa para permitir adequada avaliação histológica e citológica do espécime estão associadas à presença do patologista na sala de exame, diâmetro da agulha, sistematização no processo de preparo da lâmina, número de punções da lesão, recursos aplicados à agulha com intuito de armazenar material no canal. Nesta última

consideração, o estudo apresentado demonstrou que ambas as técnicas resultaram destacado rendimento, entretanto a combinação das técnicas foi numericamente superior. Em relação ao modo de preparo das amostras para a citopatologia, não houve superioridade estatística de nenhum deles (emblocado ou esfregaço).

Pode-se recomendar que as PAAF-EE na aquisição do material da lesão, sejam obtidas através de quatro punções, podendo associar as técnicas de capilaridade e pressão negativa para melhorar o rendimento diagnóstico.

6 CONCLUSÕES

No presente estudo foram comparados os resultados citopatológicos da ecoendoscopia com punção aspirativa por agulha fina pelas técnicas de pressão negativa e capilaridade, concluindo-se:

a) Desfechos primários:

- A ecoendoscopia com punção aspirativa por agulha fina pelas técnicas de pressão negativa comparada à capilaridade não apresentam diferença estatística em relação ao rendimento diagnóstico. Entretanto, a combinação das técnicas permite maior rendimento diagnóstico, particularmente quando comparada à capilaridade isoladamente.
- A avaliação citopatológica qualitativa e semi-quantitativa de celularidade e contaminação por sangue são estatisticamente semelhantes independente da técnica de punção (pressão negativa ou capilaridade) e do tipo de preparo citológico (esfregaço ou emblocado).

b) Em relação ao tempo de exame e ocorrências de complicações, não há diferenças estatisticamente significantes.

7 ANEXOS

Anexo A - Protocolo - Punção ecoendoscópica de massas sólidas pancreáticas por técnica com pressão negativa *versus* capilaridade: estudo prospectivo e randomizado

Punção ecoendoscópica de massas sólidas pancreáticas por técnica com pressão negativa *versus* capilaridade: estudo prospectivo e randomizado

Nome: _____

RG: _____

Sexo: _____ Idade: _____

Responsável legal: _____ Telefone para contato: _____

Médico responsável: _____ Fone: _____

Consentimento assinado: sim não

Data da entrada no estudo (admissão): ____/____/____

1- Uso de anticoagulante nos últimos 7 dias: ☐ 1-S ☐ 2-N

2- Uso de AINES/AAS nos últimos 7 dias: ☐ 1-S ☐ 2-N

3- Comorbidades

(definido pelo uso de medicação para): _____

4- PA e FC: ____/____ mmHg ____ bpm

5- Hb/Ht: ____/____

6- Plaquetas: _____

7- TP/INR: _____

8- Bilirrubina: ____ Total ____ Direta ____ Indireta

9- Proteína: ____ Total ____ Albumina

10- Ascite ____ leve ____ moderada ____ intensa

11- TC de ABDOME

Localização - _____

Tamanho da massa - _____

Características - _____

Invasão de estruturas adjacentes - _____

12- USG Endoscópico

Localização - _____

Tamanho - _____

Características - _____

13- Punção

() Grupo A () Grupo B

14- Complicações

Imediatas

____ Sim Qual? () Hemorragia () Perfuração () Depressão respiratória

() Dor abdominal () _____

____ Não

Mediata

____ Sim () Infecção local () Fístula () _____

____ Não

15-Resultado

Frascos 1 - Lâminas _ _____

Emblocado _____

Frascos 2 - Lâminas _____

Emblocado _____

Anatomopatológico pós-cirúrgico (quando disponível): _____

16-Tempo de procedimento:

Primeira _____ min _____ seg

Segunda _____ min _____ seg

Terceira _____ min _____ seg

Quarta _____ min _____ seg

**Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido do estudo:
Punção ecoendoscópica de massas sólidas pancreáticas
por técnica com pressão negativa *versus* capilaridade:
estudo prospectivo e randomizado**

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

- 1. NOME:** _____
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº _____ SEXO M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO ____/____/_____
ENDEREÇO _____ Nº/APTO _____
BAIRRO _____ CIDADE _____
CEP _____ TELEFONE:DDD (____) _____
- 2. RESPONSÁVEL LEGAL** _____
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) _____
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº _____ SEXO M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO ____/____/_____
ENDEREÇO _____ Nº/APTO _____
BAIRRO _____ CIDADE _____
CEP _____ TELEFONE: DDD (____) _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

- 1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:** "Punção ecoendoscópica de massas sólidas pancreáticas por técnica com pressão negativa *versus* capilaridade: estudo prospectivo e randomizado.."

PESQUISADOR EXECUTANTE: SPENCER CHENG, CRM-SP 88.332

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: EVERSON LUIZ ALMEIDA ARTIFON

UNIDADE DO HCFMUSP: Serviço de Endoscopia Gastrointestinal

- 2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:**

RISCO MÍNIMO [☐]	RISCO MÉDIO [☐]
RISCO BAIXO [☒]	RISCO MAIOR [☐]

- 3. DURAÇÃO DA PESQUISA:** 24 meses

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP**

Você está sendo convidado a participar de um estudo para avaliar a melhor forma de se obter um fragmento representativo do pâncreas que possibilite identificar o tipo de doença.

O procedimento que será realizado é a ecoendoscopia com punção, que consiste em realizar um exame por dentro do estômago e começo do intestino para ver o pâncreas utilizando ultra-som. Após encontrar a alteração no pâncreas, será retirado um pequeno fragmento com uma agulha fina que possui 0,7 milímetros de diâmetro.

Raramente causa qualquer sintoma. Menos de 2% das vezes ocorre dor, infecção, inflamação de pâncreas, sangramento ou vazamento de bile.

O estudo em que está participando irá comparar duas formas de retiradas de fragmentos, uma delas é com aplicação de vácuo na agulha e a outra é sem vácuo, para ver qual delas consegue melhor resultado na descoberta do tipo de doença que está acometendo o pâncreas. Serão realizadas no total quatro punções de forma alternada entre a aplicação ou não de vácuo na agulha. Esse é o número realizado normalmente, ou seja, o estudo não irá provocar aumento nas punções.

Você fará parte de um dos dois grupos de pacientes, através de sorteio:

Grupo A: Será iniciado a punção com vácuo aplicado à agulha, seguido da punção sem vácuo.

Grupo B: Será iniciada a punção sem vácuo aplicado à agulha, seguido da punção com vácuo.

O objetivo deste estudo é avaliar qual é o melhor dos dois métodos na obtenção de material suficiente para identificar a causa da lesão no pâncreas.

Todos os exames de ecoendoscopia com punção serão realizados no Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Hospital das Clínicas (6º andar do prédio dos ambulatórios).

Abaixo listamos as complicações que podem ocorrer:

Complicação
Dor
Febre
Infecção
Inflamação no pâncreas
Vazamento de bile

Os pacientes com complicações serão avaliados e acompanhados por uma equipe multidisciplinar que incluem os responsáveis pelo estudo, o responsável pelo procedimento, a equipe de cirurgia e um médico clínico, conforme necessidade.

Em qualquer etapa do estudo, você poderá fazer perguntas e tirar dúvidas com os profissionais responsáveis pela pesquisa. O principal investigador é o Dr. Spencer Cheng que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Prédio dos Ambulatórios, 6º andar, sala 3, CEP 05403-000, Telefone(s) 11-2661-7579, 2661-6221, ou por e-mail endoscopiahcfmusp@gmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) - Rua Ovídio Pires de Campos, 225 - 5º andar - tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20 - e-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento.

Todas as informações pessoais, de antecedentes médicos e de exames serão mantidas em sigilo. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

Não haverá despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas.

Não há compensação financeira relacionada à sua participação.

"Ecopunção endoscópica de massas sólidas pancreáticas: Comparação entre a técnica de punção com vs sem pressão negativa."

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo ““Ecopunção endoscópica de massas sólidas pancreáticas: Comparação entre a técnica de punção com vs sem pressão negativa.”

”Eu discuti com a Dr(a). _____ sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar relacionado ao estudo, quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e sei que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal
CPF: _____

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

CPF: _____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do pesquisador executante

Dr. Spencer Cheng

Data / /

CRM-SP: 88.332

Anexo C - Resultados da randomização por computador estabelecendo a sequência de punções que foram realizadas

<i>Research Randomizer Results</i>	
Set #1	B,A
Set #2	B,A
Set #3	A,B
Set #4	A,B
Set #5	B,A
Set #6	A,B
Set #7	A,B
Set #8	A,B
Set #9	B,A
Set #10	B,A
Set #11	A,B
Set #12	A,B
Set #13	B,A
Set #14	A,B
Set #15	A,B
Set #16	B,A
Set #17	A,B
Set #18	A,B
Set #19	B,A
Set #20	A,B
Set #21	A,B
Set #22	A,B
Set #23	A,B
Set #24	A,B
Set #25	B,A
Set #26	A,B
Set #27	A,B
Set #28	B,A
Set #29	B,A
Set #30	A,B
Set #31	B,A
Set #32	B,A
Set #33	A,B
Set #34	B,A
Set #35	B,A
Set #36	B,A
Set #37	A,B
Set #38	A,B
Set #39	A,B
Set #40	A,B
Set #41	A,B
Set #42	A,B

Set #43	B,A
Set #44	A,B
Set #45	B,A
Set #46	B,A
Set #47	B,A
Set #48	B,A
Set #49	B,A
Set #50	B,A

Anexo D - Parecer consubstanciado da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ecopunção endoscópica de massas sólidas pancreáticas: Comparação entre a técnica de punção com pressão negativa vs capilaridade.

Pesquisador: Everson Luiz de Almeida Artifon

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 41620315.9.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 965.420

Data da Relatoria: 25/02/2015

Apresentação do Projeto:

Novo projeto de endoscopia é submetido

Objetivo da Pesquisa:

Visa comparar duas técnicas de punção endoscópica do pâncreas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos não são excessivos e são compatíveis com os benefícios do procedimento

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é atual e de importância clínica

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Termo de Consentimento é aceitável

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP

Continuação do Parecer: 965.420

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

SAO PAULO, 26 de Fevereiro de 2015

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo E - Planilha de pacientes do protocolo - Punção ecoendoscópica de massas sólidas pancreáticas por técnica com pressão negativa versus capilaridade: estudo prospectivo e randomizado

PLANILHA DE PACIENTES DO PROTOCOLO - ECOPUNÇÃO DE MASSAS SÓLIDAS PANCREÁTICAS CAPILARIDADE VS PRESSÃO NEGATIVA										
PACIENTES	IDADE	SEXO	DATA	AGULHA	LOCAL DA LESÃO	DIMENSÕES (CM)	GRUPO	INTERCORRÊNCIAS	RESULTADO 1	RESULTADO 2
1	68	M	09/04/15	EXPECT 22	CORPO	4x4	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
2	52	F	27/04/15	SONOTIP 22	CORPO/CAUDA	5,2x2,6	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
3	64	M	27/04/15	EXPECT 22	CORPO	4,49x3,26	A		MATERIAL ESCASSO	ADENOCARCINOMA
4	56	M	27/04/15	SONOTIP 22	CORPO	3,79x3,38	A		MATERIAL ESCASSO	ADENOCARCINOMA
5	65	F	07/05/15	SONOTIP 22	CORPO	5,18x3,98	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
6	74	F	11/06/15	EXPECT 22	CABEÇA	2,3x1,7	A	TREMORES	ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
7	50	M	17/06/15	EXPECT 22	CORPO/CAUDA	3,8x3,4	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
8	69	F	18/06/15	SONOTIP 22	CORPO	2,5x2,5	A		MATERIAL ESCASSO	MATERIAL ESCASSO
9	64	M	06/08/15	EXPECT 22	CABEÇA	4,2x4,0	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
10	62	M	13/08/15	SONOTIP 22	CABEÇA	5x3	B		MATERIAL ESCASSO	ADENOCARCINOMA
11	86	F	17/08/15	EXPECT 22	CABEÇA	4,9x4,5	A	DOR ABDOMINAL	ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
12	66	F	20/08/15	SONOTIP 22	CABEÇA	4,3x2,6	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
13	55	F	27/08/15	EXPECT 22	CABEÇA	2,3x2,3	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
14	70	F	10/09/15	SONOTIP 22	CABEÇA	2,5x3,1	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
15	66	M	23/09/15	EXPECT 22	CABEÇA	2,9x2,3	A		ADENOCARCINOMA	INCONCLUSIVO
16	55	M	24/09/15	EXPECT 22	CABEÇA	2,6x1,4	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
17	52	F	01/10/15	SONOTIP 22	CABEÇA	3x2	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
18	69	M	14/10/15	EXPECT 22	CABEÇA	3,2x3,0	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
19	79	M	14/10/15	EXPECT 22	CORPO	3,0	B		PANCREATITE CRONICA	PANCREATITE CRONICA
20	48	M	28/10/15	EXPECT 22	CORPO	3,7x2,2	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
21	75	F	12/11/15	EXPECT 22	CABEÇA	3,5x3,4	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
22	60	M	19/11/15	EXPECT 22	CORPO	4,8x3,8	A		ADENOCARCINOMA	MATERIAL ESCASSO
23	58	M	02/12/15	EXPECT 22	CABEÇA	3,68x2,56	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
24	62	F	02/12/15	EXPECT 22	CORPO/CAUDA	5,5x5,3	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
25	53	M	07/01/16	EXPECT 22	CABEÇA	3,9x3,6	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
26	72	F	11/01/16	EXPECT 22	CABEÇA	3x3	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
27	79	M	14/01/16	EXPECT 22	CABEÇA	2,7x2,7	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
28	63	M	15/01/16	EXPECT 22	CABEÇA	4x5	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
29	72	M	18/01/16	EXPECT 22	CORPO	4x4	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
30	75	F	27/01/16	EXPECT 22	CABEÇA	4x4	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
31	79	M	28/01/16	EXPECT 22	CABEÇA	6x4,7	B		NEOPLASIA EPITELIAL CISTICA	NEOPLASIA EPITELIAL CISTICA
32	46	M	03/02/16	EXPECT 22	CABEÇA	3,9x3,6	B		INCONCLUSIVO	ADENOCARCINOMA
33	63	M	11/02/16	EXPECT 22	CORPO/CAUDA	3,1x2,8	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
34	61	F	18/02/16	EXPECT 22	CABEÇA	3,9x3,4	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
35	54	M	18/02/16	EXPECT 22	CABEÇA	5,3x4,5	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
36	46	F	25/02/16	SONOTIP 22	CABEÇA	2x2	B		INCONCLUSIVO	ADENOCARCINOMA
37	76	F	09/03/16	EXPECT 22	PROC UNICINADO	5x3	A		NEOPLASIA MUCINOSA CISTICA	NEOPLASIA MUCINOSA CISTICA
38	52	M	09/03/16	EXPECT 22	CORPO	2,1x2,1	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
39	57	F	16/03/16	EXPECT 22	CABEÇA	2,9	A		INCONCLUSIVO	PROCESSO INFLAMATORIO AGUDO
40	60	M	16/03/16	SONOTIP 22	CABEÇA/PROC UNC	NÃO AFERIVEL	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
41	62	M	31/03/16	SONOTIP 22	CABEÇA	2,5x2,4	A		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
42	52	M	07/04/16	SONOTIP 22	CABEÇA	3,7x3,0	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
43	69	M	19/04/16	SONOTIP 22	CABEÇA	4,1x3,8	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
44	62	M	05/05/16	SONOTIP 22	CABEÇA	6,4x4,3	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
45	54	F	12/05/16	SONOTIP 22	CABEÇA	5x4	B		NEUROENDOCRINO	NEUROENDOCRINO
46	58	F	02/06/16	SONOTIP 22	CABEÇA	3,1x2,6	B		MELANOMA METASTATICO	MELANOMA METASTATICO
47	83	F	19/05/16	EXPECT 22	CABEÇA	3x3	B		INFLAMACAO CRONICA	ADENOCARCINOMA
48	80	M	23/06/16	EXPECT 22	CABEÇA	3	B		ADENOCARCINOMA	INCONCLUSIVO
49	82	F	23/06/16	EXPECT 22	CABEÇA	4x3	B		ADENOCARCINOMA	ADENOCARCINOMA
50	60	M	23/06/16	EXPECT 22	CABEÇA	2,5	B		INCONCLUSIVO	ADENOCARCINOMA

8 REFERÊNCIAS

1. DiMagno EP, Buxton JL, Regan PT, Hattery RR, Wilson DA, Suarez JR, Green PS. Ultrasonic endoscope. *Lancet*. 1980; 1(8169):629-31.
2. Strohm WD, Phillip J, Hagenmüller F, Classen M.. Ultrasonic tomography by means of an ultrasonic fiberendoscope. *Endoscopy*. 1980; 12(5):241-4.
3. Hisanaga K; Hisanaga A; Nagata K; Ichie Y. High speed rotating scanner for transgastric sonography. *AJR. Am J Roentgenol*. 1980; 135(3):627-9.
4. Rösch T, Lorenz R, Braig C, Feuerbach S, Siewert JR, Schusdziarra V, Classen M. Endoscopic ultrasound in pancreatic tumor diagnosis. *Gastrointest Endosc*. 1991; 37(3):347-52
5. Lee ES, Lee JM. Imaging diagnosis of pancreatic cancer: A state-of-the-art review. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(4): 7864-77.
6. Gonzalo-Marin, J. Role of endoscopic ultrasound in the diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2014; 6(9):360-8.
7. Fusaroli P, Kypraios D; Caletti G; Eloubeidi MA. Pancreatico-biliary endoscopic ultrasound: A systematic review of the levels of evidence, performance and outcomes. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(3):4243-56.

8. Costache MI, Iordache S, Karstensen JG, Săftoiu A, Vilman P. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration: From the past to the future. *Endosc Ultrasound*. 2013; 2(2): 77-85.
9. Krishna SG, Rao BB, Ugbarugba E, Shah ZK, Blaszcak A, Hinton A, Conwell DL, Hart P. Diagnostic performance of endoscopic ultrasound for detection of pancreatic malignancy following an indeterminate multidetector CT scan: a systemic review and meta-analysis. *Surg Endosc*. 2017;31(11):4558-4567.
10. Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, Takaori K. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2016; 388(102239):73-85.
11. Xu M, Sethi A. Imaging of the pancreas. *Gastroenterol. Clin North Am*. 2016; 45:101-16.
12. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2011; 378(9791), 607-20.
13. Balachandran A, Bhosale PR, Charnsangavej C, Tamm EP. Imaging of pancreatic neoplasms. *Surg Oncol Clin N Am*. 2014; 23(4):751-88.
14. D'Onofrio M, De Robertis R, Barbi E, Martone E, Manfrin E, Gobbo S, Puntel G, Bonetti F, Pozzi Mucelli R. Ultrasound-guided percutaneous fine-needle aspiration of solid pancreatic neoplasms: 10-year experience with more than 2,000 cases and a review of the literature. *Eur Radiol*. 2016; 26(6):1801-7.

15. Okasha HH, Naga MI, Esmat S, Naguib M, Hassanein M, Hassani M, El-Kassas M, Mahdy RE, El-Gemeie E, Farag AH, Foda AM. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration versus Percutaneous Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration in Diagnosis of Focal Pancreatic Masses. *Endosc Ultrasound*. 2013; 2:190-3.
16. Paquin SC, Sahai AV. Techniques for EUS-guided FNA cytology. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2014; 24(1):71-81.
17. Vilmann P, Jacobsen GK, Henriksen FW, Hancke S. Endoscopic ultrasonography with guided fine needle aspiration biopsy in pancreatic disease. *Gastrointest. Endosc*. 1992; 38(2):172-3.
18. Eloubeidi MA, Chen VK, Eltoun IA, Jhala D, Chhieng DC, Jhala N, Vickers SM, Wilcox CM. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy of patients with suspected pancreatic cancer: diagnostic accuracy and acute and 30-day complications. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98(12):2663-8.
19. Yoshinaga S, Suzuki H, Oda I, Saito Y. Role of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) for diagnosis of solid pancreatic masses. *Dig Endosc*. 2011; 23, 2 (Suppl. 1):29-33.
20. O'Toole D, Palazzo L, Arotçarena R, Dancour A, Aubert A, Hammel P, Amaris J, Ruszniewski P. Assessment of complications of EUS-guided fine-needle aspiration. *Gastrointest Endosc*. 2001; 53(4):470-4.

21. Savides TJ, Donohue M, Hunt G, Al-Haddad M, Aslanian H, Ben-Menachem T, Chen VK, Coyle W, Deutsch J, DeWitt J, Dhawan M, Eckardt A, Eloubeidi M, Esker A, Gordon SR, Gress F, Ikenberry S, Joyce AM, Klapman J, Lo S, Maluf-Filho F, Nickl N, Singh V, Wills J, Behling C. EUS-guided FNA diagnostic yield of malignancy in solid pancreatic masses: a benchmark for quality performance measurement. *Gastrointest Endosc.* 2007; 66(2):277-82.
22. Lee JK, Choi JH, Lee KH, Kim KM, Shin JU, Lee JK, Lee KT, Jang KT. A prospective, comparative trial to optimize sampling techniques in EUS-guided FNA of solid pancreatic masses. *Gastrointest Endosc.* 2013; 77(5):745-51.
23. Chen JY, Ding QY, Lv Y, Guo W, Zhi FC, Liu SD, Cheng TM. Slow-pull and different conventional suction techniques in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of pancreatic solid lesions using 22-gauge needles. *World J Gastroenterol.* 2016 Oct 21;22(39):8790-7.
24. Navina S, McGrath K, Chennat J, Singh V, Pal T, Zeh H, Krasinskas AM. Adequacy assessment of endoscopic ultrasound-guided, fine-needle aspirations of pancreatic masses for theranostic studies: Optimization of current practices is warranted. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(7):923-8.
25. Urbaniak G, Plous S. *Research randomizer*. 2015. Disponível em: <<http://www.randomizer.org>>. Acesso em: 3 fev 2017.

26. Cotton PB, Eisen GM, Aabakken L, Baron TH, Hutter MM, Jacobson BC, Mergener K, Nemcek A Jr, Petersen BT, Petrini JL, Pike IM, Rabeneck L, Romagnuolo J, Vargo JJ. A lexicon for endoscopic adverse events: report of an ASGE workshop. *Gastrointest Endosc.* 2010;71(3):446-54.
27. Kirkwood B, Sterne J. *Essential medical statistics*. 2^a ed. Massachusetts: Blackwell Science, 2006. 502p.
28. Artifon ELA, Guedes HG, Cheng S. Maximizing the diagnostic yield of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. *Gastroenterology*. 2017;153(4):881-5.
29. Eisen GM, Dominitz JA, Faigel DO, Goldstein JA, Petersen BT, Raddawi HM, Ryan ME, Vargo JJ 2nd, Young HS, Wheeler-Harbaugh J, Hawes RH, Brugge WR, Carrougher JG, Chak A, Faigel DO, Kochman ML, Savides TJ, Wallace MB, Wiersema MJ, Erickson RA; American Society for Gastrointestinal Endoscopy. Guidelines for credentialing and granting privileges for endoscopic ultrasound. *Gastrointest Endosc.* 2001; 54(6):811-4.
30. Meenan J, Harris K, Oppong K, McKay C, Penman I, Carroll N, Norton S. Service provision and training for endoscopic ultrasound in the UK. *Frontline Gastroenterol.* 2011; 2(3):188-94.
31. Eloubeidi MA, Tamhane A. EUS-guided FNA of solid pancreatic masses: a learning curve with 300 consecutive procedures. *Gastrointest Endosc.* 2005; 61(6):700-8.

-
32. Puri R, Vilmann P, Săftoiu A, Skov BG, Linnemann D, Hassan H, Garcia ES, Gorunescu F. Randomized controlled trial of endoscopic ultrasound-guided fine-needle sampling with or without suction for better cytological diagnosis. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(4):499-504.
 33. El Haddad R, Barret M, Beuvon F, Grabar S, Leblanc S, Terris B, Coriat R, Chaussade S, Prat F. The slow-pull capillary technique increases the quality of endoscopic ultrasound fine needle biopsy samples in solid pancreatic lesions. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016 Aug;28(8):911-6.
 34. Erickson RA, Sayage-Rabie L, Beissner RS. Factors predicting the number of EUS-guided fine-needle passes for diagnosis of pancreatic malignancies. *Gastrointest Endosc*. 2000;51(2):184-90.
 35. Kudo T, Kawakami H, Hayashi T, Yasuda I, Mukai T, Inoue H, Katanuma A, Kawakubo K, Ishiwatari H, Doi S, Yamada R, Maguchi H, Isayama H, Mitsuhashi T, Sakamoto N; Japan EUS-FNA Negative Pressure Suction Study Group. High and low negative pressure suction techniques in EUS-guided fine-needle tissue acquisition by using 25-gauge needles: A multicenter, prospective, randomized, controlled trial. *Gastrointest Endosc*. 2014; ;80(6):1030-7.e1.
 36. Kulesza P, Eltoun IA. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: sampling, pitfalls, and quality management. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5(11):1248-54.

-
37. Aadam AA, Wani S, Amick A, Shah JN, Bhat YM, Hamerski CM, Klapman JB, Muthusamy VR, Watson RR, Rademaker AW, Keswani RN, Keefer L, Das A, Komanduri S. A randomized controlled cross-over trial and cost analysis comparing endoscopic ultrasound fine needle aspiration and fine needle biopsy. *Endosc Int Open*. 2016; 4(5):E497-505./
 38. Matsubayashi H, Matsui T, Yabuuchi Y, Imai K, Tanaka M, Kakushima N, Sasaki K, Ono H. Endoscopic ultrasonography guided-fine needle aspiration for the diagnosis of solid pancreaticobiliary lesions: Clinical aspects to improve the diagnosis. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(2):628-40.
 39. Jeong SH, Yoon HH, Kim EJ, Kim YJ, Kim YS, Cho JH. High-resolution endoscopic ultrasound imaging and the number of needle passages are significant factors predicting high yield of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for pancreatic solid masses without an on-site cytopathologist. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96(2):e5782.
 40. Mei M, Ni J, Liu D, Jin P, Sun L. EUS elastography for diagnosis of solid pancreatic masses: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc*. 2013; 77(4):578-89.
 41. Seicean A, Mosteanu O, Seicean R. Maximizing the endosonography: The role of contrast harmonics, elastography and confocal endomicroscopy. *World J Gastroenterol*. 2017; 23(1):25-41.

42. Alatawi A, Beuvon F, Grabar S, Leblanc S, Chaussade S, Terris B, Barret M, Prat F. Comparison of 22G reverse-beveled versus standard needle for endoscopic ultrasound-guided sampling of solid pancreatic lesions. *United European Gastroenterol J*. 2015; 3(4):343-52.
43. Bang JY, Hawes R, Varadarajulu SA meta-analysis comparing ProCore and standard fine-needle aspiration needles for endoscopic ultrasound-guided tissue acquisition. *Endoscopy*. 2016; 48(4):339-49.
44. DiMaio CJ, Kolb JM, Benias PC, Shah H, Shah S, Haluszka O, Maranki J, Sharzehi K, Lam E, Gordon SR, Hyder SM, Kaimakliotis PZ, Allaparthi SB, Gress FG, Sethi A, Shah AR, Nieto J, Kaul V, Kothari S, Kothari TH, Ho S, Izzy MJ, Sharma NR, Watson RR, Muthusamy VR, Pleskow DK, Berzin TM, Sawhney M, Aljahdi E, Ryou M, Wong CK, Gupta P, Yang D, Gonzalez S, Adler DG. Initial experience with a novel EUS-guided core biopsy needle (SharkCore): results of a large North American multicenter study. *Endosc Int Open*. 2016 Sep;4(9):E974-9.
45. Uehara H, Sueyoshi H, Takada R, Fukutake N, Katayama K, Ashida R, Ioka T, Takenaka A, Nagata S, Tomita Y. Optimal number of needle passes in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for pancreatic lesions. *Pancreatology*. 2015;15(4):392-6.
46. LeBlanc JK, Ciaccia D, Al-Assi MT, McGrath K, Imperiale T, Tao LC, Vallery S, DeWitt J, Sherman S, Collins E. Optimal number of EUS-guided fine needle passes needed to obtain a correct diagnosis. *Gastrointest Endosc*. 2004; 59(4):475-81.

47. Jani BS, Rzouq F, Saligram S, Lim D, Rastogi A, Bonino J, Olyae M. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of pancreatic lesions: A systematic review of technical and procedural variables. *N Am J Med Sci*. 2016; 8(1):1-1.
48. Suzuki R, Irisawa A, Bhutani MS, Hikichi T, Takagi T, Sato A, Sato M, Ikeda T, Watanabe K, Nakamura J, Tasaki K, Obara K, Ohira H. Prospective evaluation of the optimal number of 25-gauge needle passes for endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of solid pancreatic lesions in the absence of an onsite cytopathologist. *Dig Endosc*. 2012; 24(6):452-6.
49. Gimeno-García AZ, Paquin SC, Gariépy G, Sosa AJ, Sahai AV. Comparison of endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration cytology results with and without the stylet in 3364 cases. *Dig Endosc*. 2013; 25(3):303-7.
50. Mohammad Alizadeh AH, Hadizadeh M, Padashi M, Shahbaazi S, Molaee M, Shariatpanahi ZV. Comparison of two techniques for endoscopic ultrasonography fine-needle aspiration in solid pancreatic mass. *Endosc Ultrasound*. 2014; 3(3):174-8.
51. Attam R, Arain MA, Bloechl SJ, Trikudanathan G, Munigala S, Bakman Y, Singh M, Wallace T, Henderson JB, Catalano MF, Guda NM. 'Wet suction technique (WEST)': a novel way to enhance the quality of EUS-FNA aspirate. Results of a prospective, single-blind, randomized, controlled trial using a 22-gauge needle for EUS-FNA of solid lesions. *Gastrointest Endosc*. 2015; 81(6):1401-7.

-
52. Katanuma A, Itoi T, Baron TH, Yasuda I, Kin T, Yane K, Maguchi H, Yamazaki H, Sano I, Minami R, Manabu SY, Ikarashi S, Osanai M, Takahashi K. Bench-top testing of suction forces generated through endoscopic ultrasound-guided aspiration needles. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2015; 22(5):379-85.
 53. Nakai Y, Isayama H, Chang KJ, Yamamoto N, Hamada T, Uchino R, Mizuno S, Miyabayashi K, Yamamoto K, Kawakubo K, Kogure H, Sasaki T, Hirano K, Tanaka M, Tada M, Fukayama M, Koike K. Slow pull versus suction in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of pancreatic solid masses. *Dig Dis Sci.* 2014; 59(7):1578-85.
 54. Kin T, Katanuma A, Yane K, Takahashi K, Osanai M, Takaki R, Matsumoto K, Gon K, Matsumori T, Tomonari A, Maguchi H, Shinohara T, Nojima M. Diagnostic ability of EUS-FNA for pancreatic solid lesions with conventional 22-gauge needle using the slow pull technique: a prospective study. *Scand J Gastroenterol.* 2015; 50(7):900-7.
 55. Chen J, Yang R, Lu Y, Xia Y, Zhou H. Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for solid pancreatic lesion: A systematic review. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012; 138(9):1433-41.
 56. Matynia AP, Schmidt RL, Barraza G, Layfield LJ, Siddiqui AA, Adler DG. Impact of rapid on-site evaluation on the adequacy of endoscopic-ultrasound guided fine-needle aspiration of solid pancreatic lesions: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014; 29(4):697-705.

-
57. Hébert-Magee S, Hawes R H, Varadarajulu S. Is it time to take a pass on the increased number of passes in EUS-FNA? *Dig Dis Sci*. 2013; 58(11):3068-9.
 58. Weston BR, Bhutani MS. Optimizing diagnostic yield for EUS-guided sampling of solid pancreatic lesions: A technical review. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2013; 9(6):352-63.
 59. Wani S, Gupta N, Gaddam S, Singh V, Ulusarac O, Romanas M, Bansal A, Sharma P, Olyae MS, Rastogi A. A comparative study of endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration with and without a stylet. *Dig Dis Sci*. 2011; 56(8):2409-14.
 60. Rastogi A, Wani S, Gupta N, Singh V, Gaddam S, Reddymasu S, Ulusarac O, Fan F, Romanas M, Dennis KL, Sharma P, Bansal A, Oropeza-Vail M, Olyae M. A prospective, single-blind, randomized, controlled trial of EUS-guided FNA with and without a stylet. *Gastrointest Endosc*. 2011; 74(1):58-64.
 61. Bournet B, Gayral M, Torrisani J, Selves J, Cordelier P, Buscail L. Role of endoscopic ultrasound in the molecular diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(31):10758-68.
 62. Adler DG, Jacobson BC, Davila RE, Hirota WK, Leighton JA, Qureshi WA, Rajan E, Zuckerman MJ, Fanelli RD, Baron TH, Faigel DO; ASGE. ASGE guideline: complications of EUS. *Gastrointest Endosc*. 2005; 61(1):8-12.

63. Silva AF, Moura EGH, Artifon ELA, Sakai P, Maluf-Filho F, Matuguma SE, Chaves DM. Effectiveness of the echoendoscopic puncture in the diagnosis of solid pancreatic mass. *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2009; 22(4):192-6.
64. Popescu A, Săftoiu A. Can elastography replace fine needle aspiration? *Endosc Ultrasound.* 2014; 3(2):109-17.
65. Mayerle J, Beyer G, Simon P, Dickson EJ, Carter RC, Duthie F, Lerch MM, McKay CJ. Prospective cohort study comparing transient EUS guided elastography to EUS-FNA for the diagnosis of solid pancreatic mass lesions. *Pancreatology.* 2016; 16(1):110-4.
66. Saxena P, El Zein M, Stevens T, Abdelgelil A, Besharati S, Messallam A, Kumbhari V, Azola A, Brainard J, Shin EJ, Lennon AM, Canto MI, Singh VK, Khashab MA. Stylet slow-pull versus standard suction for endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of solid pancreatic lesions: a multicenter randomized trial. *Endoscopy.* 2018;50(5):497-504