



## AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE DOIS MÉTODOS DE CITOLOGIA CONJUNTIVAL EM FELINOS

Cristiane dos Santos Honsho<sup>1</sup>, Flávia Aparecida dos Santos<sup>2</sup>, Fernanda Gosuen Gonçalves Dias<sup>3</sup>, Claudia Momo<sup>4</sup>, Fabiana Ferreira de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Docente, Programa de Mestrado em Medicina Veterinária de Pequenos Animais, Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca-SP, Brasil

<sup>2</sup> Discente, Medicina Veterinária, Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca-SP, Brasil

<sup>3</sup> Mestre, Medicina Veterinária de Pequenos Animais, Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca-SP, Brasil

<sup>4</sup> Docente, Medicina Veterinária, Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca-SP, Brasil  
e-mail do autor: [crishonsho@yahoo.com.br](mailto:crishonsho@yahoo.com.br)

Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

### RESUMO

Propôs-se comparar as técnicas citológicas de abrasão conjuntival com escova e de impressão com transferência, em gatos, quanto à facilidade de colheita e confecção das lâminas, o resultado final na preservação da morfologia e evidenciação de estruturas celulares, a fim de disponibilizar ao clínico veterinário uma alternativa de baixo custo, fácil execução e interpretação no auxílio ao diagnóstico de desordens da superfície ocular. Idealizaram-se quatro grupos experimentais com 10 gatos saudáveis e 10 gatos com conjuntivite. Os grupos controles 1 (G1 – olho direito, método de abrasão com escova) e 2 (G2 – olho esquerdo, método de impressão com transferência), compostos pelos mesmos animais, com ausência de afecções oculares ou sistêmicas que promovessem alterações oculares secundárias. Da mesma forma, os grupos 3 (G3 – olho direito, método de abrasão com escova) e 4 (G4 – olho esquerdo, método de impressão com transferência) foram formados por animais com sinais de conjuntivite não decorrentes de alterações anatômicas em pálpebras ou cílios. O material colhido foi distribuído sobre lâminas para realização dos esfregaços, fixados e corados pelo método de coloração Papanicolaou. Com o método de abrasão com escova houve maior prevalência celular e melhor avaliação de células de camadas mais profundas, porém, com acúmulo e destruição de algumas delas. Este método suscitou maior desconforto, comparativamente ao método de impressão com transferência, principalmente, àqueles com alterações conjuntivais. Com o método de impressão com transferência, observaram-se somente células de camadas superficiais, com melhor distribuição sobre a lâmina, propiciando melhor visualização. Este método demonstrou ser pouco traumático e de fácil coleta, constituindo boa opção para gatos hígidos e com lesões oculares.

**PALAVRAS-CHAVE:** animais, conjuntiva, exame citológico, oftalmologia veterinária

# COMPARATIVE EVALUATION OF TWO METHODS FOR CONJUCTIVAL CYTOLOGY IN CATS

## ABSTRACT

This study proposed comparing the cytological techniques of brush cytology and the impression cytology with transfer in cats. The study is focused in showing the facilities for collecting and making blades, the final result on morphological preservation and cellular structures in evidence. So, it can offer to the clinical veterinarian a low cost alternative with easy execution and easy interpretation, helping to diagnose the ocular surface disorders. The animals were divided in four experimental groups and which one had 10 healthy cats and 10 cats with conjunctivitis. The control groups 1 (G1 – right eye, brush cytology) and 2 (G2 – left eye, impression cytology with transfer), both groups containing the same animals, that didn't have any eye infection or systemic which would cause secondary eye alterations. In the same way, the groups 3 (G3 – right eye, brush cytology) and 4 (G4 - left eye, impression cytology with transfer) were formed by animals with conjunctivitis signs that were not caused by anatomic alterations in eyelids and eyelashes. The collected material was distributed on blades for making the smears, fixed and stained using Papanicolaou staining method. With the brush cytology method there was a bigger cellular prevalence and better evaluation of cells in deeper layer, however, with the accumulation and destruction of some of them. This method raised more discomfort, comparatively to the impression cytology with transfer method, especially the ones with conjunctival alterations. With the impression cytology with transfer method, it was observed only cells from superficial layers, with better distribution on the blade, providing better view. This method showed to be less traumatic and easy to collect, been a good option for healthy cats with eye lesion.

**KEYWORDS:** animals, conjunctiva, cytology exam, veterinary ophthalmology

## INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Dentre as estruturas oculares, a conjuntiva é uma membrana mucosa móvel, abundantemente vascularizada, resistente, delgada, brilhante e semitransparente, que recobre a superfície interna das pálpebras superiores e inferiores (conjuntiva palpebral), região interna e externa da terceira pálpebra e porção anterior do bulbo ocular (conjuntiva bulbar) (DYCE et al., 1997; WALDE et al., 1998; SAMUELSON, 2007). O espaço ventral delimitado pela conjuntiva, entre as pálpebras e o bulbo, denomina-se saco conjuntival e suas extremidades, fórnices conjuntivais. Nesses últimos, localizam-se as células caliciformes, responsáveis pela produção de parte do filme lacrimal (JÉGOU & LIOTET, 1991; SLATTER, 2005; STILES & TOWNSEND, 2007).

A conjuntiva é constituída por epitélio e substância própria (estroma) subjacente que se divide em camada glandular e fibrosa (SLATTER, 2005; SAMUELSON, 2007). O epitélio é do tipo pavimentoso estratificado não queratinizado, composto por diversas camadas celulares: cuboidais, poliédricas ou intermediárias circulares e outra camada de células colunares superficiais (JÉGOU & LIOTET, 1991; DYCE et al., 1997). Ao longo de todo o epitélio observam-se células caliciformes que são responsáveis pela produção de mucina (componente fundamental na composição da lágrima) (JÉGOU & LIOTET, 1991; SAMUELSON,

2007). A camada glandular da substância própria contém inúmeros linfócitos que, quando estimulados por antígenos, formam folículos ativos, os quais estão presentes por toda a conjuntiva, particularmente na superfície bulbar da terceira pálpebra. A camada fibrosa compreende um espesso grupo de fibras de colágeno entremeadas por fibras elásticas, que veicula vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. A inervação da conjuntiva é mediada via nervo trigêmeo e a vascularização é originada de ramos orbitários com anastomose do nervo facial (MURPHY, 1988; JÉGOU & LIOTET, 1991; SAMUELSON, 2007).

A conjuntiva possui a função de atuar diretamente na dinâmica lacrimal, conferindo proteção imunológica ao globo ocular (barreira à invasão de microrganismos, corpos estranhos e demais agressores externos), livre movimentação ocular ao promover superfície lisa para o deslizamento palpebral sobre a córnea, além de auxiliar na cicatrização dessa última estrutura (WALDE et al., 1998; SLATTER, 2005; BORGES et al., 2012).

A citologia conjuntival pode auxiliar na diferenciação de conjuntivites, abscessos, úlceras profundas em progressão e neoplasias (HENDRIX, 1999; STRUBBE, 1999). Por outro lado, dependendo do número de células coletadas, pode não ser conclusiva e ser aconselhável à associação com a histopatologia (MURPHY, 1988; JÉGOU & LIOTET, 1991; SAMUELSON, 2007).

O exame citológico conjuntival pode ser realizado com ou sem anestesia tópica prévia (STRUBBE, 1999), necessitando sempre de boa contenção do animal para se evitar qualquer tipo de lesão iatrogênica (MURPHY, 1988; BANKS, 1998; STILES & TOWNSEND, 2007).

Diversos materiais podem ser empregados para colheita, citam-se: suabes, escovas, espátulas, lâminas de bisturi e papel filtro (BAUER et al., 1996; WILLIS et al., 1997; OLLIVIER et al., 2007). O uso de suabes permite a obtenção de células superficiais da conjuntiva e córnea, com mínima irritação ao paciente (EHYA, 1988; YAGMUR et al., 1997; OLLIVIER et al., 2007). Por outro lado, a utilização de escovas, espátulas ou lâmina de bisturi fornecem amostras com maior quantidade e diversidade celular, incluindo células de camadas mais profundas (MALERBA, 1990; WILLIS et al., 1997; OLLIVIER et al., 2007) porém, o comprometimento da integridade celular e o aglomerado de células com este método de colheita podem diminuir a qualidade do exame (BAUER et al., 1996; WILLIS et al., 1997). O papel filtro sobre a conjuntiva permite a obtenção de amostras com uma a três camadas de células epiteliais, preservando as características morfológicas e relações anatômicas das mesmas, além de menor desconforto suscitado ao animal (MALERBA, 1990; ROCHA et al., 2001).

As amostras podem ser obtidas pelo método de abrasão, impressão, aspiração ou esfoliação (BARROS et al., 2001; BRANDÃO et al., 2002; BOLZAN et al., 2005; GODOY-ESTEVEES, 2005). A abrasão conjuntival com escova é uma técnica nova, de qualidade e fácil execução (BAUER et al., 1996; YAGMUR et al., 1997; OLLIVIER et al., 2007), que permite a obtenção de grande variedade de células (incluindo camadas mais profundas) (BAUER et al., 1996; WILLIS et al., 1997; BOLZAN et al., 2005). O tamanho da escova, porém, pode em alguns casos, tornar-se uma desvantagem e demandar anestesia tópica (YAGMUR et al., 1997; GODOY-ESTEVEES, 2005; OLLIVIER et al., 2007; BORGES et al., 2012).

A citologia de impressão pode ser utilizada para quantificar células calciformes e estudar sua distribuição em animais normais ou com ceratoconjuntivite seca (BAUER et al., 1996; ROCHA et al., 2001; BOLZAN et al., 2005). Ainda, por tratar-se de técnica que permite obter riqueza de detalhes, demonstra

ser ferramenta útil na identificação de doenças oculares, na quantificação de células globosas e para análise da morfologia celular como nos casos de neoplasia (BARROS et al., 2001; ROCHA et al., 2001; BRANDÃO et al., 2002). Essa técnica consiste na colocação do papel filtro sobre a conjuntiva, porém a coloração do papel de filtro apresenta maior complexidade, conferindo-lhe desvantagem em relação a outras técnicas, as quais métodos simples de coloração podem ser empregados (YAĞMUR et al., 1997). Neste sentido, LUZEAU et al. (1988) e CARLIER et al. (1991a) utilizaram uma forma simplificada, na qual o material colhido é transferido para uma lâmina de vidro pressionando-se o papel filtro contra a mesma, com o auxílio do dedo. Com isso, preservaram-se as vantagens da citologia de impressão, reduzindo-se, porém, o custo e a complexidade com relação à coloração do papel (LUZEAU et al., 1988; CARLIER et al., 1991a; CARLIER et al., 1991b).

Há vários tipos de corantes e combinações disponíveis para citologia (BANKS, 1998; COWELL et al., 2009). As colorações do tipo Romanowsky, que incluem os corantes de Wright, Giemsa e Diff-Quik (panótico rápido) e o Papanicolaou, com suas variações, são as mais preconizadas (JÖRUNDSSON et al., 1999; RASKIN & MEYER, 2003; COWELL et al., 2009). Em medicina veterinária, a escolha do tipo Romanowsky fundamenta-se, principalmente no baixo custo, praticidade e facilidade de execução aliados à qualidade dos resultados.

Conjuntivite é a desordem oftálmica mais comum que acomete os felinos e sua etiologia pode ser de difícil determinação, principalmente em casos crônicos (STILES; TOWNSEND, 2007). Assim, a citologia conjuntival, que compreende um método de diagnóstico pouco empregado no Brasil, na veterinária, mediante aos bons resultados exibidos, pode auxiliar no diagnóstico etiológico desta desordem.

Como os felinos, de modo geral, demandam cuidados na manipulação a fim de se minimizar o estresse, principalmente, durante sua contenção, optou-se por comparar a citologia conjuntival pelos métodos de colheita por abrasão com escova e por impressão com transferência, quanto à facilidade de colheita e confecção das lâminas, o resultado final na preservação da morfologia e na evidência de estruturas celulares, em animais hígdos e naqueles com sinais de conjuntivite.

## MATERIAL E MÉTODOS

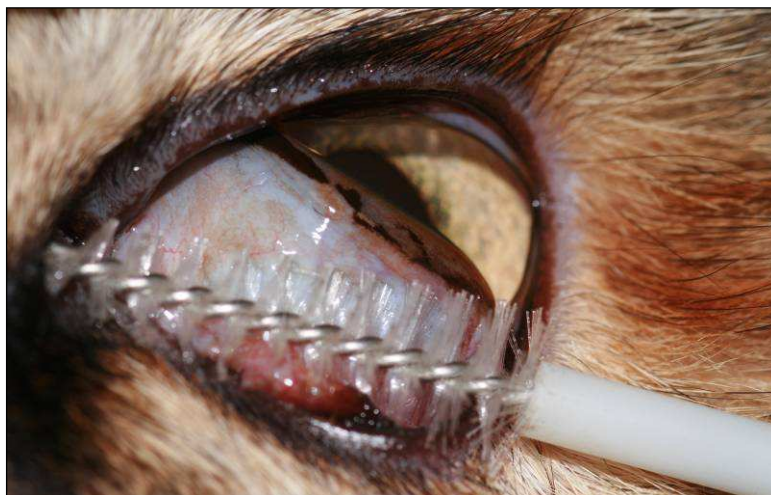
A pesquisa foi realizada obedecendo-se aos critérios da *Association for Research in Vision and Ophthalmology* (2007) e sob a anuência e vigilância da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Franca, sob o protocolo 023/09-A, aprovado em 26 de julho de 2009.

Neste estudo, foram utilizados vinte felinos, sete machos e 13 fêmeas, adultos. Foram propostos quatro grupos experimentais (G1, G2, G3 e G4); no G1 e G2, grupos controles, foram incluídos dez felinos com ausência de afecções oculares ou sistêmicas, sendo que o olho direito compôs o G1 e o esquerdo o G2. O G3 e o G4 foram formados por dez gatos que apresentavam sinais clínicos de conjuntivite, como quemose, epífora e/ou blefarospasmo, não decorrentes de alterações anatômicas em pálpebras ou cílios. O olho direito representou o G3 e o esquerdo, o G4.

De acordo com as técnicas de colheita das amostras citológicas conjuntivais, os grupos foram classificados da seguinte forma: G1 - pelo método de abrasão com escova; G2 - impressão com transferência; G3 - abrasão com escova e G4 - impressão com transferência.

A técnica de abrasão com escova foi realizada utilizando-se escovas coletoras de células endocervicais estéreis e descartáveis<sup>1</sup>. Previamente à colheita das amostras, instilou-se colírio anestésico local à base de cloridrato de proximetacaína a 0,5%<sup>2</sup> para dessensibilização da superfície ocular. Após um minuto da instilação do colírio, a conjuntiva foi seca com cotonete e a escova introduzida no saco conjuntival inferior (Figura 1), sendo atritada sobre a conjuntiva, girando-a, por seis vezes consecutivas (BORGES et al., 2012). Posteriormente, as amostras coletadas de todos os animais do G1 e G3 foram transferidas para lâminas de vidro.

Para o método de citologia de impressão com transferência, utilizaram-se tiras de papel filtro<sup>3</sup> com poros de 0,22 µm, recortadas em formato retangular de 5 por 20 mm de comprimento, utilizando-se luvas de procedimento para o manipulador. A tira foi colocada na conjuntiva palpebral inferior (Figura 2) de cada gato e pressionada durante 15 segundos, com o auxílio do dedo indicador, após dessensibilização ocular. Em seguida, as amostras coletadas do G2 e G4 foram transferidas dos papéis filtros para lâminas de vidro, por consecutivas pressões digitais (BORGES et al., 2012).

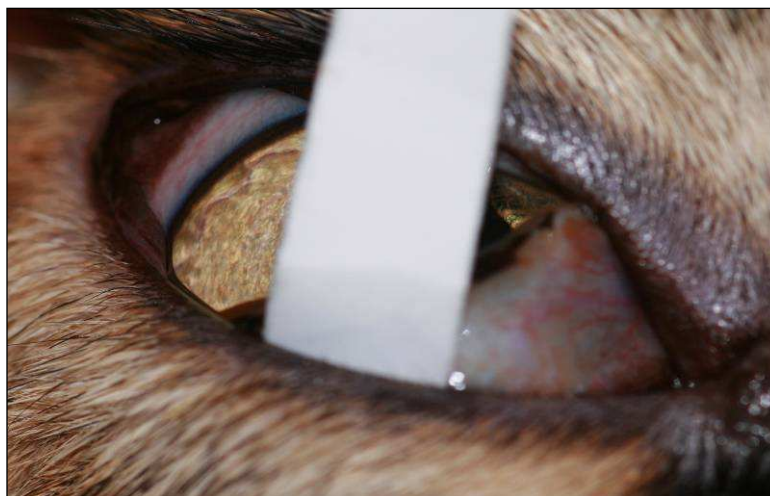


**Figura 1** – Imagem fotográfica demonstrando escova (coletora de células endocervicais) introduzida no saco conjuntival de felino para coleta de amostra citológica pelo método de abrasão.

<sup>1</sup> Endobrush - Alamar Tecno Científica Ltda.

<sup>2</sup> Anestalcon - Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

<sup>3</sup> Papel filtro HAWP04700 - Millipore®



**Figura 2** – Imagem fotográfica demonstrando a tira de papel filtro introduzida no saco conjuntival de felino para coleta citológica pelo método de impressão.

Ato contínuo, procedeu-se a fixação de todas as lâminas dos quatro grupos, imergindo-as em álcool etílico a 92,8% e a coloração foi feita conforme indicações do fabricante do kit para a coloração Papanicolaou<sup>4</sup>.

O processamento e leitura das lâminas foram realizados no Laboratório de Histotecnologia da Universidade de Franca. A avaliação foi feita por microscopia óptica direta, em objetiva de 40x. Observou-se a preservação da morfologia celular, evidenciação de estruturas celulares, quantidade de material colhido, facilidade de coleta e, comparando-se posteriormente os resultados dos diferentes grupos. Para cada lâmina foram contados dez campos microscópicos e as células diferenciadas em superficiais queratinizadas sem núcleo (QS/Nuc.); superficiais queratinizadas com núcleo (QC/Nuc.); superficiais; intermediárias e caliciformes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas lâminas do G1 e G3 observaram-se presença de quase todos os tipos celulares, predominando as intermediárias; o que corroborou com as afirmações de MALERBA (1990) e BORGES et al. (2012), de que pelo método de colheita por abrasão com escova, obtêm-se células conjuntivais de camadas mais profundas (Tabela 1).

---

<sup>4</sup> Conjunto para coloração de Papanicolaou - Newprov Produtos para Laboratório Ltda.

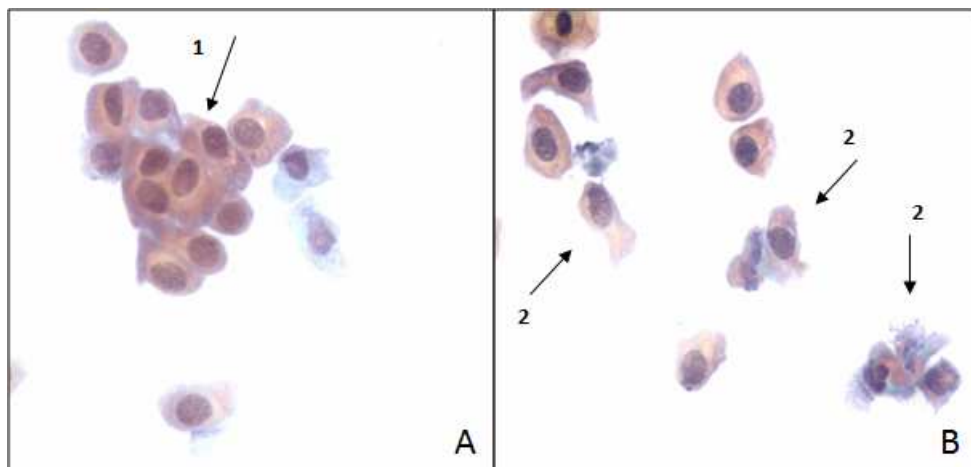


**TABELA 1** - Porcentagem de células superficiais queratinizadas sem núcleo (QS/Nuc.), superficiais queratinizadas com núcleo (QC/Nuc.), superficiais, intermediárias e calciformes, por grupo:

Grupos	QS/Nuc	QC/Nuc.	Superficiais	Intermediárias	Calciformes	Total
<b>G1</b>	0,55	7,46	6,17	85,82	0	100
<b>G2</b>	37,87	29,79	9,28	22,9	0,15	100
<b>G3</b>	4,08	7,17	10,63	78,10	0	100
<b>G4</b>	41,30	48,43	6,86	3,38	0	100

Apesar da riqueza celular obtida, a maioria estava aglomerada e destruída, dificultando a contagem e caracterização (Figura 3), o que não é preconizado para uma amostra conjuntival ideal, a qual deve conter uma única camada celular, com alta densidade, arquitetura preservada (THATCHER et al., 1977) e, paralelamente, produzir mínima irritação ao paciente (WILLIS et al., 1997).

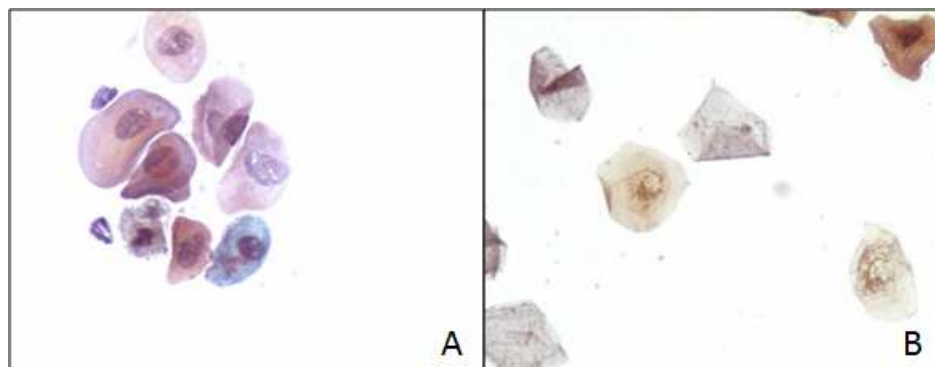
SILVA et al. (1985) também utilizaram o método de abrasão com escova para citologia conjuntival em cães e gatos e relataram dificuldade na colheita, apesar do uso prévio de anestésico tópico; em contrapartida, MALERBA (1990) obteve resultados satisfatórios durante o procedimento. No presente estudo, houve dificuldade durante a colheita do G1 e G3, o que pode ser atribuído, principalmente, ao temperamento dos animais e característica da espécie em questão.



**Figura 3** – Imagens microscópicas de citologias conjuntivais de felino obtidas pelo método de abrasão com escova: A) seta 1 - células intermediárias; B) setas 2 - intermediárias destruídas (Papanicolaou, 400x).

Seguindo indicações de BORGES et al. (2012), utilizou-se papel filtro de 0,22 µm durante a coleta conjuntival dos animais do G2 e G4, e não de maior porosidade, na tentativa de captar maior número de células. Coincidindo também com as afirmações desses autores, nas lâminas do G2 e G4 notou-se maior quantidade de células superficiais queratinizadas com e sem núcleo (Figura 4), sugerindo que o método de colheita utilizado não esfoliou o tecido conjuntival e somente células superficiais e em processo de eliminação (queratinizadas) foram adquiridas, o que facilitou a leitura e avaliação detalhada de cada célula. Como o método de

impressão com transferência é considerado menos traumático ao tecido conjuntival (BRANDÃO et al., 2002), observou-se facilidade na coleta dos animais do G2 e G4, o que permitiu a obtenção de amostras com maior rapidez, minimizando o estresse dos felinos.



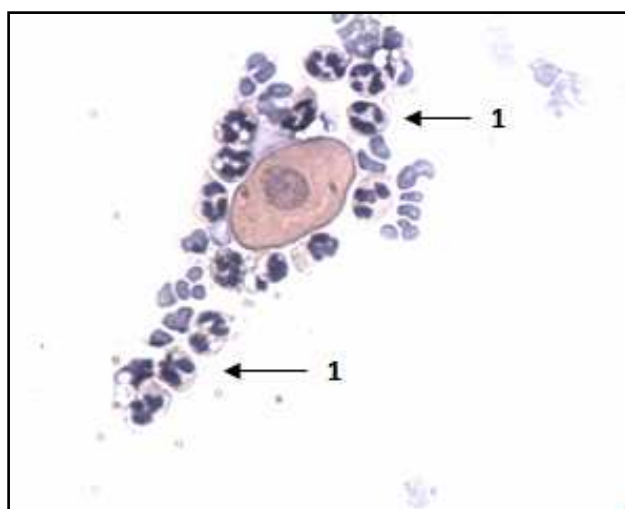
**Figura 4** – Imagens microscópicas de citologias conjuntivais de felinos obtidas pelo método de impressão com transferência: A) células superficiais queratinizadas com núcleo; B) células superficiais queratinizadas sem núcleo (Papanicolaou, 400x).

BRANDÃO et al. (2002) obtiveram grande riqueza de material com a impressão com transferência, diferente do observado inicialmente neste trabalho. Os autores não descreveram o tipo de papel filtro utilizado, o qual pode ter beneficiado na quantidade e transferência celular. Com isso, no presente estudo optou-se por uma adaptação na técnica, aumentando o número de pressões (cinco) do papel filtro sobre a lâmina de vidro, permitindo a obtenção suficiente de amostra para análise.

Nas lâminas dos animais sem sintomatologia oftálmica aparente (G1 e G2) não foram evidenciadas células inflamatórias, em consoante ao descrito por MALERBA (1990) e LAVACH et al. (1977).

Os neutrófilos raramente são numerosos na conjuntiva (LAVACH et al., 1977; MCGAVIN & ZACHARY, 2009) e, quando presentes, encontram-se migrando por meio do epitélio em direção ao saco conjuntival, para combater o agente infeccioso que possa estar presente na condição de oportunista (MCGAVIN & ZACHARY, 2009); justificando, assim, a grande quantidade dessas células nas lâminas dos animais do G3 e G4 (Figura 5). Os neutrófilos também são comumente encontrados quando há infecções bacterianas (agudas ou crônicas), fúngicas, parasitárias (MURPHY, 1988) ou, ainda, em casos de irritação conjuntival de origem física, mecânica ou química (JÉGOU & LIOTET, 1991).





**Figura 5** – Imagens microscópicas de citologias conjuntivais de felinos: setas 1 demonstrando infiltrado de células inflamatórias com prevalência de neutrófilos (Papanicolaou 400x).

Pequena quantidade de macrófagos também foi verificada em algumas lâminas do G3 e G4, assim como de linfócitos, corroborando com os relatos de JÉGOU e LIOTET (1991), de que essas células são comuns em infecções oculares virais. Por outro lado, notou-se ausência de eosinófilos, já que esse tipo celular é comumente encontrado em infecções alérgicas (LAVACH et al., 1977).

A maioria dos gatos pertencentes ao G3 e ao G4 estava com suspeita de portar doenças associadas ao complexo respiratório felino, sendo então esperada uma resposta conjuntival inflamatória, com predomínio de células mononucleares, a qual normalmente acompanha infecções causadas por *Chlamydophila*, herpesvírus e *Micoplasma* (MURPHY, 1988; MALERBA, 1990). Porém, sabe-se que as lesões microscópicas ocasionadas por esses microrganismos não são específicas, exceto quando observados os corpúsculos de inclusão, cuja presença limita-se aos primeiros dias da doença, tornando difícil encontrá-los em exames cito e histológicos (MCGAVIN & ZACHARY, 2009). Neste estudo, não foram evidenciados tais corpúsculos, portanto o diagnóstico presuntivo de infecção por herpesvírus felino baseou-se nos sinais clínicos da doença conjuntival.

A reduzida celularidade caliciforme visualizada em todos os grupos experimentais pode ser justificada pelo fato dessas células serem encontradas em maior concentração no fórnice inferior e não na conjuntiva (JÉGOU & LIOTET, 1991).

Em algumas lâminas do G3 e G4, notou-se a presença de bactérias extracelulares, porém devido à mínima quantidade, pressupôs-se que tenham sido oriundas da microflora conjuntival e não de contaminação (COWELL et al., 2009).

## CONCLUSÕES

Da forma como este estudo fora conduzido, pôde-se concluir que apesar da maior riqueza de células nas lâminas obtidas pelo método de abrasão por escova, a

qualidade das mesmas não foi satisfatória, além da colheita ter sido mais traumática, principalmente, para os animais com sinais de conjuntivite. O método de impressão com transferência, após a adaptação realizada, demonstrou-se eficaz, proporcionando lâminas com boa qualidade e quantidade celular, sendo uma opção para auxiliar no diagnóstico de animais sadios e com sinais de lesões oculares.

## AGRADECIMENTO

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio concedido (2009/08363-0).

## REFERÊNCIAS

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Manole, 1998, 630p.

BARROS, J. N.; MASCARO, V. L. D. M.; GOMES, J. A. P.; FREITAS, D.; LIMA, A. L. H. Citologia de impressão da superfície ocular: técnica de exame e de coloração. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 64, n. 1, p. 127-131, 2001.

BAUER, G. A.; SPIESS, B. M.; LUTZ, H. Exfoliative cytology of conjunctiva and cornea in domestic animals: a comparison of four collecting techniques. **Veterinary and Comparative Ophthalmology**, v. 6, n. 3, p. 181-6, 1996.

BRANDÃO, C. V. S.; MINTO, B.W.; ROCHA, N. S.; RANZINI, J. J. T. Citologia conjuntival por impressão em gatos (*Felis domestica*). **Revista de Educação Continuada em Medicina veterinária e Zootecnia**, v. 5, n. 1, p. 41-47, 2002.

BOLZAN, A. A.; BRUNELLI, A. T. J.; CASTRO, M. B.; SOUZA, M. A.; SOUZA, J. L.; LAUS, J. L. Conjunctival impression cytology in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 6, p. 401-405, 2005.

BORGES, R. F.; CARDOSO, K. C. F.; BOLZAN, A. A.; MOMO, C.; HONSHO, C. S. Estudo comparativo de métodos de coleta e coloração para citologia conjuntival em cães normais. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 3, p. 381-391, 2012.

CARLIE, C.; MOULIA, J. P.; CECCON, J. F.; MOUREY, M. S.; MALVY, D.; FALL, M. et al. Prevalence of malnutrition and vitamin A deficiency in the Diourbel, Fatick, and Kaolack regions of Senegal: a controlled study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 2, p. 66-69, 1991a.

CARLIE, C.; MOULIA, J. P.; CECCON, J. F.; MOUREY, M. S.; MALVY, D.; FALL, M. et al. Prevalence of malnutrition and vitamin A deficiency in the Diourbel, Fatick, and Kaolack regions of Senegal: a controlled study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 2, p. 74-77, 1991b.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. B. **Diagnóstico citológico e hematológico de cães e gatos**. 3ed. São Paulo: MedVet, 2009, 178p.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WESING, C. J. G. Os órgãos dos sentidos. In: \_\_\_\_\_ **Tratado de anatomia veterinária**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 258-76.

EHYA, H. Cytopathology. In: RUBIN, E.; FARBER, J. L. **Pathology**. 2nd ed. Philadelphia: J. P. Lippincott Company, 1988. p.1484-1502.

GODOY-ESTEVEES, C. A. L. Padronização da citologia de impressão da superfície ocular canina. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 1, p. 109-115, 2005.

HENDRIX, D. V. H. Diseases and surgery of the canine conjunctiva. In: Gelatt KN. **Veterinary Ophthalmology**. 3th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1999. p. 619-634.

JÉGOU, J. P.; LIOTET, S. The benefit of conjunctival scraping cytology in the biological diagnosis of conjunctivitis in the dog and cat. **Pratique Medicale et Chirurgicale de L'Animal de Compagnie**, v. 26, n. 6, p. 567-580, 1991.

JÖRUNDSSON, E.; LUMSDEN, J. H.; JACOBS, R. M. Rapid staining techniques in cytopathology: a review and comparison of modified protocols for hematoxylin and eosin, Papanicolaou and romanowsky stains. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 28, n. 3, p.100-108, 1999.

LAVACH, J. D.; THRALL, M. A.; BENJAMIN, M. M.; SEVERIN, G. A. Cytology of normal and inflamed conjunctivas in dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 170, n. 2, p. 722-727, 1977.

LUZEAU, R.; CARLIER, C.; ELLRODT, O.; MANESME, O. M. Impression cytology with transfer: na easy method for detection of vitamin A deficiency. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 58, n. 1, p.166-170, 1988.

MALERBA, T. A. **Citologia esfoliativa de conjuntiva de cães (*Canis familiaris*) e gatos (*Felis domestica*)**. 1990. 44 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

MCGAVIN, M.D; ZACHARY J.F **Bases da Patologia em Veterinária**, 4ed, Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, 1409pp.

MURPHY, J. M. Exfoliative cytology examination as an aid in diagnosing ocular diseases in the dog and cat. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery-Small Animal**, v. 3, n. 1, p. 10-14, 1988.

OLLIVIER, F. J.; PLUMMER, C. E.; BARRIE, K. P. Ophthalmic examination and diagnostic procedures. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 4<sup>th</sup> ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 438- 483.

RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. **Atlas de Citologia de Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2003, 354p.

ROCHA, N. S.; BURINI, C. H. P.; LIMA, L. S. A.; GONÇALVES, R. C.; THOMASSIAN, A.; KAMEGASAWA, A. Uso da citologia por impressão nas doenças oculares externas no homem, bovino e equino. **Revista de Educação Continuada em Medicina veterinária e Zootecnia**, v. 4, n. 1, p. 3-7, 2001.

SAMUELSON, D. A. Ophthalmic anatomy. In: Gelatt KN. **Veterinary Ophthalmology**. 4<sup>th</sup> ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 37-148.

SILVA, J. R.; DINIS, A.C.; FERREIRA, C.; ARAÚJO, A. T.; NOVAIS, M. Citomorfologia conjuntival e meio ambiente: Técnica de recolha e morfologia celular. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 44, p. 23-26, 1985.

SINGH, R.; JOSEPH, A.; UMAPATHY, T.; TINT, N. L.; DUA, H. S. Impression cytology of the ocular surface. **British Journal of Ophthalmology**, v. 89, n. 1, p. 1655-1659, 2005.

SLATTER, D. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. São Paulo: Roca, 2005, 686p.

STILES, J.; TOWNSEND, W. M. Feline Ophthalmology. In: \_\_\_ Gelatt, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 4<sup>th</sup> ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p.1095-1164.

STRUBBE, D.T.; GELATT, K. N. Ophthalmic examination and diagnostic procedures. In: \_\_\_ Gelatt KN. **Veterinary Ophthalmology**. 3th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1999. p.427-466.

THATCHER, R. W.; DAROUGAR, S.; JONES, B. R. Conjunctival impression cytology. **Archives of Ophthalmology**, v. 95, n. 1, p. 678-681, 1977.

YAGMUR, M.; ERSOZ, C.; ERSOZ, T. R.; VARINLI, S. Brush technique in ocular surface cytology. **Diagnostic Cytopathology**, v. 17, n. 2, p. 88–91, 1997.

WALDE, I.; SCHÄFFER, E. H.; KÖSTLIN, R. G. **Atlas de clínica oftalmológica do cão e do gato**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. 360p.

WILLIS, M.; BOUNOUS, D. I.; HIRSH, S.; KASWAN, R.; STILES, J.; MARTIN, C. et al. Conjunctival brush cytology: evaluation of a new cytological collection technique in dogs and cats with a comparison to conjunctival scraping. **Veterinary and Comparative Ophthalmology**, v. 7, n. 2, p. 74-81, 1997.