



**UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

# **UTILIZAÇÃO DA CITOLOGIA CONJUNTIVAL NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS OCULARES**

**INÊS QUITÉRIO SERRAS RITO**

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:**

- Professor Doutor Fernando Garcia e Costa
- Professora Doutora Esmeralda Delgado
- Professora Doutora Maria Luísa Jorge
- Mestre Hugo Pissarra

**ORIENTADOR:**

- Professora Doutora Esmeralda Delgado

**CO-ORIENTADOR:**

- Mestre Hugo Pissarra

2009

**LISBOA**





**UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

# **UTILIZAÇÃO DA CITOLOGIA CONJUNTIVAL NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS OCULARES**

**INÊS QUITÉRIO SERRAS RITO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA  
VETERINÁRIA**

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:**

- Professor Doutor Fernando Garcia e Costa
- Professora Doutora Esmeralda Delgado
- Professora Doutora Maria Luísa Jorge
- Mestre Hugo Pissarra

**ORIENTADOR:**

- Professora Doutora Esmeralda Delgado

**CO-ORIENTADOR:**

- Mestre Hugo Pissarra

2009

**LISBOA**

## AGRADECIMENTOS

As primeiras palavras dedico-as, naturalmente, aos meus orientadores.

À Professora Doutora Esmeralda Delgado é devido o meu sincero agradecimento pela orientação desta Dissertação, desde o momento em que sugeriu o tema até aos momentos finais da sua redacção. Obrigada por me ter apresentado e cultivado o gosto por uma área até então praticamente desconhecida, a Oftalmologia, tanto durante a cadeira opcional que desenvolveu, como durante as consultas no Hospital Escolar. A minha gratidão estende-se aos seus bons conselhos, ensinamentos e amizade que se consolidou ao longo de todo este período.

Ao Mestre Hugo Pissarra, para o qual não existem palavras para agradecer a amizade que demonstrou desde o primeiro dia de realização deste trabalho. Agradeço toda a disponibilidade, ensinamentos e pela estimulação de espírito crítico e científico.

À Doutora Teresa Peña, Doutora Marta Leiva, Cristina e Natália, equipa do Departamento de Oftalmologia do Hospital Veterinário Clínico da Universidade Autónoma de Barcelona, por me terem recebido no seu serviço e por me terem demonstrado o que é trabalhar com extrema dedicação e perfeccionismo. Sem os seus ensinamentos a realização desta tese não teria sido possível.

Aos meus pais, por me terem permitido realizar um sonho de infância. Pelas críticas construtivas e sugestões com as quais sempre me tentaram ajudar.

Ao Miguel, agradeço as horas intermináveis que dispensou para me ajudar ao longo do curso e em particular neste projecto. Pelo apoio que me deu, impossível de descrever aqui, ao viajar fins-de-semana consecutivos para Barcelona. Obrigada por me ter ensinado que devemos sempre lutar para atingir a excelência e para nos orgulharmos dos nossos projectos.

À Mafalda, companheira dentro e fora da Faculdade, agradeço as horas de estudo que partilhámos e os conselhos sábios que transmitiu ao longo de todo este percurso.

Agradeço a todos os colegas que tornaram a realização deste curso uma experiência mais agradável, mais enriquecedora e inesquecível.

A todos, o meu muito obrigada.

## RESUMO

### UTILIZAÇÃO DA CITOLOGIA CONJUNTIVAL NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS OCULARES

A conjuntiva é sede de lesões de etiologia variada que incluem alterações degenerativas, circulatórias, inflamatórias e do crescimento e desenvolvimento, e cujo diagnóstico diferencial, apenas pelo exame clínico, pode ser impreciso. A conjuntivite é uma das doenças oculares mais diagnosticadas na prática clínica. O objectivo deste estudo foi avaliar a utilidade da citologia conjuntival como meio de diagnóstico dos diferentes tipos de conjuntivite.

Foram considerados neste estudo 26 canídeos e 4 felídeos que se apresentaram à consulta de oftalmologia do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, entre Outubro e Dezembro de 2008 e entre Maio e Julho de 2009, exibindo conjuntivite. Foi realizada a caracterização clínica e o respectivo exame citológico.

Do total de canídeos, 27% (7/26) apresentavam conjuntivite primária e 73% (19/26) exibiam conjuntivite secundária. Todos os felinos apresentavam uma conjuntivite primária. Nos canídeos, a citologia conjuntival mostrou-se especialmente útil no diagnóstico de infecção bacteriana, que nem sempre tinha sido detectada durante o exame oftalmológico. Nos gatos, a recolha de material mostrou-se mais difícil mas revelou ser particularmente útil como meio de diagnóstico definitivo da queratoconjuntivite eosinofílica.

O exame citológico conseguiu ainda diferenciar as infecções agudas das crónicas. Através da avaliação das alterações nas células epiteliais, da caracterização da resposta inflamatória celular e da detecção de agentes infecciosos, a citologia conjuntival mostrou ser uma boa ferramenta diagnóstica, complementar às informações clínicas obtidas, o que permitiu uma melhor caracterização dos diferentes tipos de conjuntivite.

A citologia conjuntival é um meio de diagnóstico simples, rápido e pouco dispendioso, especialmente útil nos casos de conjuntivite crónica ou que não respondem ao tratamento. Isoladamente, ou em conjugação com outros exames complementares, permite a obtenção de um diagnóstico mais preciso e auxilia na escolha da terapêutica mais adequada.

**Palavras-chave:** conjuntiva, citologia, diagnóstico, conjuntivite, cão, gato

**ABSTRACT**  
**THE USE OF CONJUNCTIVAL CYTOLOGY IN THE DIAGNOSIS OF OCULAR DISEASES**

The conjunctiva is home to a series of varied etiological injuries, such as degenerative, circulatory, inflammatory, growth and development changes and which differential diagnosis supported solely by a clinical examination may be insufficient/non-precise. Conjunctivitis is one of the most diagnosed ocular diseases in clinical practice. The purpose of this study is to assess the usefulness of conjunctival cytology as a mean to diagnose the different types of conjunctivitis.

This study researched 26 dogs and 4 cats with conjunctivitis that were examined by an ophthalmologist at the Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa between October and December 2008 and between May and July 2009. A clinical characterization and the respective cytological examination were then conducted.

From the 26 dogs, 27% (7/26) showed primary conjunctivitis and 73% (19/26) secondary conjunctivitis. The 4 cats showed primary conjunctivitis. The conjunctival cytology was especially useful in the diagnosis of bacterial infection in the dogs researched, which had not always been detected during the ophthalmologic exam. Regarding the cats, the collection of conjunctival material was more difficult, but extremely useful as a mean to establish a definite diagnosis of eosinophilic keratoconjunctivitis.

The cytological exam was also able to differentiate the acute infections from the chronicle ones. Through the assessment of modifications in the epithelial cells, the characterization of inflammatory cellular reply and the detecting of infectious agents, conjunctival cytology revealed to be a very useful diagnosis tool, complementing the clinical data obtained, and that allows for a better characterization of different types of conjunctivitis.

Conjunctival cytology is therefore a simple, fast and non-expensive diagnosis tool, which is especially useful in the cases of chronicle conjunctivitis or in the non-responsive cases. By itself, or in conjunction with complementary exams, conjunctival cytology allows for a more precise diagnosis and definitely allows for a better definition of the most adequate therapy.

**Keywords:** conjunctiva, cytology, diagnosis, conjunctivitis, dog, cat

**COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA EFECTUADA NO ÂMBITO DA DISSERTAÇÃO  
(ANEXO IV)**

Rito, I., Pissarra, H. & Delgado, E. (2009). Utilização da citologia conjuntival no diagnóstico da conjuntivite canina e felina – estudo de 30 casos clínicos. *Livro de Comunicações do VI Congresso OMV*, 3, 4 e 5 de Outubro de 2009, Lisboa, Portugal. Apresentação de comunicação livre em painel.

## ÍNDICE GERAL

<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>1</b>
I.1. O Olho.....	2
I.1.1. Pálpebras .....	2
I.1.1.1. Embriologia .....	2
I.1.1.2. Estrutura anatómica e função.....	2
I.1.1.3. Histologia.....	4
I.1.2. Conjuntiva.....	4
I.1.2.1. Estrutura anatómica e função.....	4
I.1.2.2. Histologia.....	5
I.2. A Citologia.....	6
I.2.1. Perspectiva histórica e definições.....	6
I.2.2. Citologia vs Histologia.....	7
I.2.3. Classificação geral das alterações citológicas.....	8
I.2.4. Citologia ocular.....	10
I.2.4.1. Citologia conjuntival.....	11
I.2.4.1.1. Indicações.....	11
I.2.4.1.2. A conjuntiva normal ao microscópio.....	12
I.2.4.1.3. Técnicas de recolha de amostra conjuntival.....	15
I.2.4.1.4. Estudos comparativos entre técnicas de recolha.....	17
I.3. Conjuntivite.....	20
I.3.1. Etiologia.....	20
I.3.2. Sinais clínicos.....	21
I.3.3. Diagnóstico.....	22
I.3.4. Diagnóstico diferencial.....	23
I.3.5. Classificação da conjuntivite.....	24
I.3.5.1. Classificação etiológica.....	24
I.3.5.2.1. Conjuntivite canina.....	24
I.3.5.2.1.1. Conjuntivite primária.....	25
I.3.5.2.1.2. Conjuntivite secundária.....	26
I.3.5.2.2. Conjuntivite felina.....	26
I.3.5.2.2.1. Conjuntivite primária.....	26
I.3.5.2.2.2. Conjuntivite secundária.....	27
I.3.5.2. Classificação citológica.....	27
I.4. Objectivos.....	30
<b>CAPÍTULO II – MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
II.1. Recolha de dados para o estudo de casos no período entre Outubro e Dezembro de 2008 e entre Abril e Julho de 2009.....	32
II.2. Caracterização clínica da conjuntivite.....	33
II.3. Recolha de material e processamento.....	34
II.4. Contagem diferencial dos diferentes tipos celulares.....	35
II.5. Análise estatística.....	39
<b>CAPÍTULO III – RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
III.1. Caracterização da amostra.....	41
III.2. Classificação dos diferentes tipos de conjuntivite.....	43
III.3. Relação entre o tipo de conjuntivite e sexo e idade.....	44
III.4. Relação entre o tipo de conjuntivite e raça.....	45
III.5. Relação entre o tipo de conjuntivite e características clínicas.....	47
III.6. Relação entre o tipo de conjuntivite e células presentes.....	52

III.6.1. Células não-inflamatórias.....	52
III.6.2. Células inflamatórias.....	53
III.7. Presença de agentes microbianos.....	57
III.8. Relação entre o tipo de conjuntivite e o tipo de corrimento ocular.....	58
<b>CAPÍTULO IV – DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
IV.1. Discussão sobre os diferentes tipos de conjuntivite.....	60
IV.1.1. Conjuntivite canina.....	60
IV.1.1.1. Conjuntivite primária, infecciosa, por hemoparasitas.....	60
IV.1.1.2. Conjuntivite primária, não-infecciosa, por agentes irritantes.....	61
IV.1.1.3. Conjuntivite primária, não-infecciosa, alérgica.....	62
IV.1.1.4. Conjuntivite primária, não-infecciosa, auto-imune.....	65
IV.1.1.5. Conjuntivite secundária, bacteriana.....	67
IV.1.1.6. Conjuntivite secundária, por irritação mecânica.....	70
IV.1.1.7. Conjuntivite secundária a QCS.....	71
IV.1.1.8. Conjuntivite secundária a problemas oculares (úlceras, glaucoma, uveíte).....	73
IV.1.2. Conjuntivite felina.....	74
IV.1.2.1. Conjuntivite primária, infecciosa, viral.....	74
IV.1.2.2. Conjuntivite primária, não-infecciosa, eosinofílica.....	78
IV.1.3. Utilização da citologia conjuntival no diagnóstico de tipos de conjuntivite não representados na amostra.....	80
IV.1.3.1. Conjuntivite canina.....	80
IV.1.3.2. Conjuntivite felina.....	81
IV.2. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e sexo e idade.....	82
IV.3. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e raça.....	82
IV.4. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e características clínicas.....	83
IV.5. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e células presentes.....	84
IV.5.1. Células não-inflamatórias.....	84
IV.5.2. Células inflamatórias.....	84
IV.6. Discussão sobre a presença de agentes microbianos.....	85
IV.7. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e tipo de corrimento ocular...	85
<b>CAPÍTULO V – CONCLUSÕES.....</b>	<b>87</b>
<b>CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>90</b>
<b>CAPÍTULO VII – ANEXOS.....</b>	<b>94</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura nº1	Vista ântero-lateral do olho de um felino.....	2
Figura nº2	Áreas da Conjuntiva.....	4
Figura nº3	Conjuntiva Normal.....	5
Figura nº4	Algoritmo de avaliação de uma preparação citológica.....	8
Figura nº5	Instrumentos para recolha de amostras citológicas e microbiológicas, a partir dos tecidos superficiais oculares.....	15
Figura nº6	Realização de Teste de Schirmer para avaliação quantitativa da produção lacrimal.....	22
Figura nº7	Diagnóstico diferencial de conjuntivite.....	23
Figura nº8	Medição da pressão intra-ocular com tonómetro de aplanamento.....	24
Figura nº9	Raspagem da conjuntiva palpebral com parte romba de lâmina de bisturi.....	34
Figura nº10	Células Epiteliais.....	35
Figura nº11	Células Mesenquimatosas.....	36
Figura nº12	Linfócitos.....	36
Figura nº13	Eosinófilos.....	37
Figura nº14	Neutrófilos.....	37
Figura nº15	Macrófagos.....	38
Figura nº16	Bactérias.....	57
Figura nº17	<i>Malassezia</i> spp.....	57
Figura nº18	Conjuntivite por Rickettsia: hiperémia e quemose severas, corrimento ocular purulento e queratite associada.....	60
Figura nº19	Conjuntivite por Ehrlichia.....	61
Figura nº20	Conjuntivite provocada por agente irritante.....	62
Figura nº21	Conjuntivite alérgica: hiperémia e quemose ligeiras, epífora moderada e corrimento ocular mucoso.....	63
Figura nº22	Conjuntivite alérgica.....	64
Figura nº23	Conjuntivite auto-imune.....	66
Figura nº24	Conjuntivite bacteriana.....	70
Figura nº25	Distiquíase.....	71
Figura nº26	Entrópion.....	71
Figura nº27	Espessamento do bordo palpebral.....	71
Figura nº28	Prolapso da glândula da membrana nictitante.....	71
Figura nº29	Conjuntivite secundária a QCS.....	73
Figura nº30	Conjuntivite secundária a QCS: hiperémia e queratite severas, quemose moderada, corrimento ocular purulento.....	73
Figura nº31	Conjuntivite secundária a problemas oculares.....	74
Figura nº32	Conjuntivite herpética.....	77
Figura nº33	Conjuntivite herpética: prurido e hiperémia ligeiros, epífora, quemose e queratite moderadas e corrimento ocular mucoso.....	77
Figura nº34	Conjuntivite eosinofílica.....	80
Figura nº35	Corrimento purulento: neutrófilos degenerados e bactérias.....	85
Figura nº36	Corrimento mucoso: grande quantidade de muco e neutrófilos degenerados.....	86

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico nº1	Decomposição da amostra por espécie.....	41
Gráfico nº2	Distribuição da amostra por sexo.....	41
Gráfico nº3	Distribuição da amostra por idade.....	42
Gráfico nº4	Média de idades do total da amostra e por espécie.....	42
Gráfico nº5	Distribuição da amostra de espécie canina por raça.....	42
Gráfico nº6	Distribuição da amostra de espécie felina por raça.....	43
Gráfico nº7	Distribuição do tipo de conjuntivite por sexo e idade, na espécie canina e felina.....	44
Gráfico nº8	Relação entre o tipo de conjuntivite e as características clínicas.....	47
Gráfico nº9	Relação entre o tipo de conjuntivite e as células inflamatórias presentes	53

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela nº1	Comparação entre os três métodos para recolha de células superficiais da córnea ou conjuntiva.....	17
Tabela nº2	Critérios para avaliação clínica da conjuntivite.....	33
Tabela nº3	Árvore de classificação da conjuntivite observada na amostra estudada.	43
Tabela nº4	Distribuição do tipo de conjuntivite por raça na espécie canina.....	45
Tabela nº5	Distribuição do tipo de conjuntivite por raça na espécie felina.....	46
Tabela nº6	Relação entre nº de neutrófilos, presença de bactérias e tipo de corrimento ocular.....	58

## **ABREVIATURAS**

QCS	Queratoconjuntivite seca
PCR	Polimerase chain reaction
IFA	Immunofluorescent antibody test
FHV -1	Herpesvírus felino tipo 1
WHWT	West Highland White Terrier
HVC	Hospital Veterinário Clínico
UAB	Universidade Autónoma de Barcelona

## **CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO TEÓRICA**

## **I.1. O Olho**

As informações recebidas do ambiente externo ao organismo são constantemente enviadas ao sistema nervoso central através dos órgãos dos sentidos (Junqueira & Carneiro, 2004).

O olho, o órgão da visão, consiste no bulbo ocular e em vários anexos - estruturas acessórias como os músculos oculares que movem o globo ocular, as pálpebras que o protegem e o aparelho lacrimal que mantém húmidas as suas partes expostas. A maioria destas estruturas é mantida na órbita, onde o globo se encontra envolvido por grandes quantidades de gordura (Dyce, Sack & Wensing, 1997).

### **I.1.1. Pálpebras**

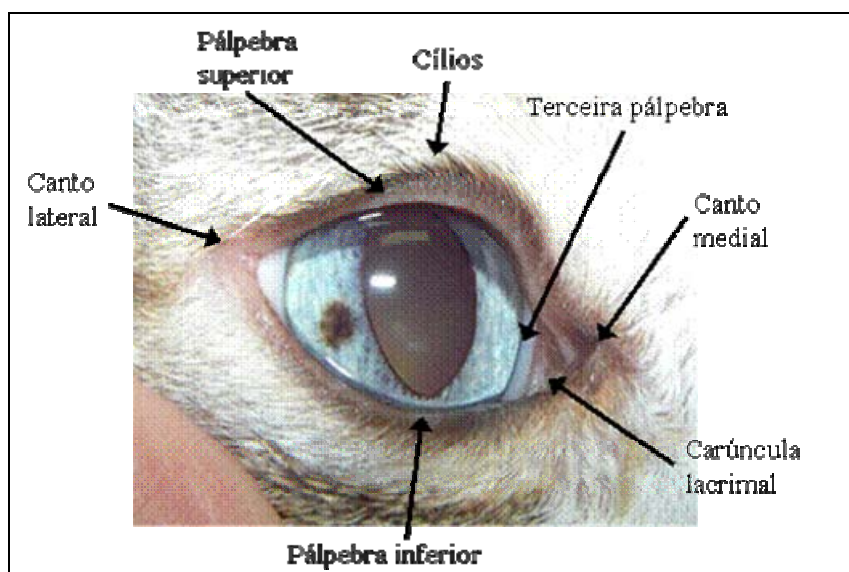
#### **I.1.1.1. Embriologia**

A ectoderme superficial dá origem a estruturas das pálpebras como a epiderme, os cílios e o epitélio conjuntival. O mesênquima da crista neural está na origem de estruturas mais profundas, como a derme e o tarso. A pálpebra superior desenvolve-se a partir do processo frontonasal e a pálpebra inferior a partir do processo maxilar.

As dobras palpebrais crescem paralelamente e avançam para cobrir o olho em desenvolvimento, ocorrendo a sua fusão por volta do dia 32 da gestação no cão. A sua separação ocorre duas semanas após o nascimento (Gelatt, 1999).

#### **I.1.1.2. Estrutura anatómica e função**

Figura nº 1. Vista ântero-lateral do olho de um felino (Original)



As pálpebras são pregas dorsais e ventrais de pele fina contínua com a pele facial (Figura nº 1). Os bordos livres das pálpebras dorsais e ventrais encontram-se para formar o canto medial e o canto lateral. A abertura formada pelas margens livres é a fissura palpebral que não consegue assumir uma forma circular por causa dos ligamentos palpebrais medial (nasal) e lateral (temporal) que unem os cantos do olho à parede da órbita (Gelatt, 1999).

O recesso nasal tem o nome particular de lago lacrimal. Uma proeminência pigmentada, a carúncula lacrimal, encontra-se no ângulo medial; pequenos cílios podem projectar-se a partir desta estrutura, cuja mucosa pode ser vermelha ou castanho-escuro, dependendo da espécie e da cor do corpo do animal (Sisson, Grossman & Getty, 1986).

Os pontos de abertura dos canalículos do sistema de drenagem nasolacrimal encontram-se na região do canto medial das pálpebras superior e inferior, junto à margem palpebral (Peterson-Jones & Crispin, 2006).

A pálpebra tem pêlos especiais associados às suas margens: os cílios. O número de cílios é variável entre as espécies; eles têm em geral um diâmetro menor e são mais curtos na pálpebra inferior. Os cílios podem estar ausentes na pálpebra inferior de carnívoros e suínos (Prince e colaboradores, 1960 citado por Sisson et al., 1986).

Entre a carúncula lacrimal e o globo ocular há uma prega conjuntival, orientada dorsoventralmente, conhecida como terceira pálpebra ou membrana nictitante. Ao contrário de uma pálpebra verdadeira, é revestida por conjuntiva em ambos os lados e invisível quando o olho está fechado (Dyce et al., 1997). A terceira pálpebra desempenha um papel importante na protecção da superfície ocular e na produção de lágrima. Para além disso dá algum suporte à pálpebra inferior (Peterson-Jones & Crispin, 2006).

A disfunção e má conformação palpebral são causas muito comuns de patologia ocular nos animais. O Médico Veterinário deve estar atento a este facto, de forma a aliviar a dor e o sofrimento e a evitar uma potencial cegueira que poderão ser provocados por essas anomalias. A função das pálpebras é proteger e excluir a luz dos olhos, varrer corpos estranhos da superfície anterior do globo ocular e prevenir a desidratação da córnea através da distribuição da secreção lacrimal. As pálpebras contêm glândulas que lubrificam os seus bordos e que ajudam a prevenir o transbordar da secreção lacrimal (Gelatt, 1999). Desempenham ainda o papel de dirigir as lágrimas em direcção à região nasal do globo ocular (Sisson et al., 1986).

### I.1.1.3. Histologia

As pálpebras são constituídas, de fora para dentro, pelas seguintes estruturas (Junqueira & Carneiro, 2004):

- Pele com epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e derme de tecido conjuntivo laxo.

Nesta camada encontram-se muitos mastócitos, o que contribui para a facilidade com que se torna inflamada e edemaciada (Peterson-Jones & Crispin, 2006).

As raízes dos grandes cílios que cobrem a superfície externa da pálpebra têm associadas glândulas sebáceas proeminentes (glândulas de Zeis) e glândulas sudoríparas modificadas (glândulas de Moll ou ciliares) (Gelatt, 1999).

- Feixes de músculos estriados que formam o músculo orbicular do olho.
- Uma camada de tecido conjuntivo que apresenta na extremidade das pálpebras um espessamento de tecido conjuntivo denso – a placa palpebral ou tarso – em cujo interior se encontram glândulas sebáceas alongadas e dispostas verticalmente, as chamadas glândulas de Meibomius ou tarsais.
- Camada mucosa, constituída pela conjuntiva (epitélio prismático estratificado e tecido conjuntivo laxo).

### I.1.2. Conjuntiva

#### I.1.2.1. Estrutura anatômica e função

Figura nº 2. Áreas da Conjuntiva (Adaptado de Slatter, 2001)



1 – palpebral; 2 – fórnix; 3 – anterior da terceira pálpebra; 4 – posterior da terceira pálpebra; 5 – bulbar; 6 – limbal

A conjuntiva nictitante cobre tanto a face interna como a externa da terceira pálpebra. A conjuntiva palpebral cobre a superfície posterior das pálpebras, superior e inferior. Termina na margem palpebral e reflecte-se para formar os fórnices ventral e dorsal, continuando sobre o globo ocular como conjuntiva bulbar, que por sua vez cobre a superfície anterior da episclera e esclera (Figura nº 2).

A conjuntiva tem um rico suprimento sanguíneo. O único sistema de drenagem linfática do olho está situado na conjuntiva.

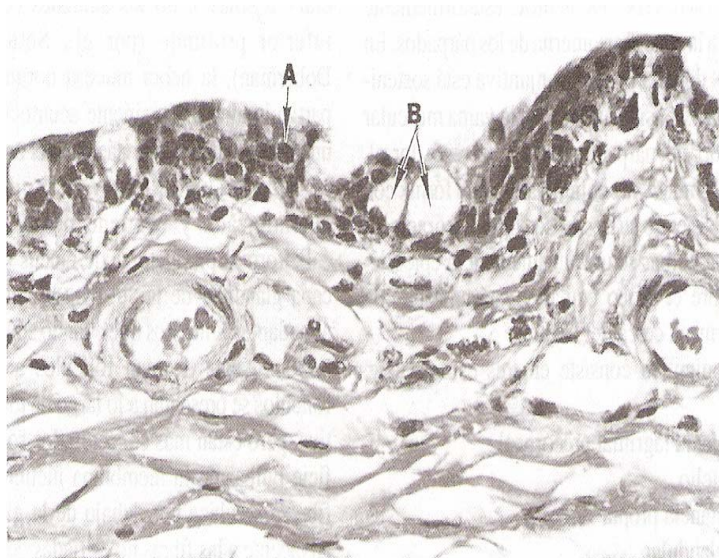
As fibras nervosas associadas à dor encontram-se espalhadas de forma difusa fazendo o suprimento nervoso sensorial da conjuntiva parte da divisão oftálmica do quinto nervo craniano (Peterson-Jones & Crispin, 2006).

A conjuntiva desempenha um papel na dinâmica lacrimal, na protecção imunológica do olho, nos movimentos oculares e na cicatrização da córnea (Gelatt, 1999).

### **I.1.2.2. Histologia**

Pode considerar-se a conjuntiva como sendo constituída por três camadas (Slatter, 2001):

Figura nº 3. Conjuntiva Normal (Adaptado de Slatter, 2001)



A – Células epiteliais cilíndricas; B – Células Caliciformes.

- Filme lacrimal pré-corneano: é uma camada protectora essencial cujo desaparecimento resulta em alterações severas na conjuntiva. É secretada pelas glândulas lacrimais, tarsais, glândulas da terceira pálpebra e células globosas da conjuntiva, e é contínua com o filme lacrimal que cobre a córnea.
- Epitélio (Figura nº 3): é cilíndrico não-queratinizado e contém muitas células caliciformes (células globosas) produtoras de muco. A sua secreção contribui para a porção mucóide do filme lacrimal, que permite que uma solução aquosa se espalhe sobre o epitélio corneano hidrofóbico lipídico (Martin, 2005). Para além disso auxilia na resposta imunitária local (Moore, 1994 citado por Baker & Lumsden, 2000).

A distribuição de células globosas é heterogénea, sendo que no cão são mais numerosas ao nível do fórnix medial inferior e menos numerosas na conjuntiva bulbar. As fêmeas têm uma maior densidade de células globosas do que o macho. Uma

redução no número destas células resulta numa forma específica de conjuntivite: a queratoconjuntivite seca (QCS) (Martin, 2005).

- Substância própria: com uma camada superficial, glandular, onde se encontram muitos linfócitos que, quando são estimulados por antígenos, formam folículos activos. Estes folículos estão presentes ao longo de toda a conjuntiva, mas são particularmente numerosos na superfície bulbar da terceira pálpebra; e uma camada profunda fibrosa onde se encontram os nervos e vasos da conjuntiva (Gelatt, 1999). Esta mucosa possui uma cor rosada ou vermelho-pálida devido à vascularização do tecido (Sisson et al., 1986). Estes vasos tornam-se especialmente visíveis quando estão ingurgitados por causa de alguma patologia conjuntival (Stades, Wyman, Boevé & Neumann, 1998).

## **I.2. A Citologia**

*“A célula é a mais importante invenção da natureza e deve maravilhar continuamente qualquer indivíduo de bom senso”* (Sir Peters, citado por Tostes & Bandarra)

### **I.2.1. Perspectiva histórica e definições**

Em termos históricos, as bases da citologia com fins diagnósticos assentam em pleno século XIX, por exemplo, nos trabalhos de Sanders (em 1864) com sedimentos urinários e líquidos abdominais e nos trabalhos de Leyden e Menetrier que isolaram microorganismos e diagnosticaram carcinomas em aspirados pulmonares, respectivamente. No entanto, foi já o século XX que viu a citologia consolidar-se como meio de diagnóstico nos diferentes domínios da Medicina. De facto, a primeira metade do século é incontornavelmente importante quer pelos trabalhos pioneiros de Dudgeon e Patrick, na vertente da citologia aspirativa, quer pelos de Papanicolau e Traut, na vertente da citologia esfoliativa. Foi, entretanto, na década de 60 que se verificaram os maiores avanços na citologia devido a uma utilização sistemática do método, aliada a uma casuística elevada; isto foi colocando, progressivamente, a citologia num nível diagnóstico próximo da histopatologia. Em Medicina Veterinária, a citologia não apresenta um historial tão longo, com os primeiros trabalhos e livros de texto a remontarem ao final dos anos 70 (Marcos, 2006). A primeira referência a respeito da utilização da citologia na prática veterinária é de Cole e Evans que, estudando o ciclo éstrico em cadelas na década de 30, incluíram a citologia vaginal como recurso diagnóstico (Cole e Evans apud Roszel, 1977 citado por Tostes e Bandarra).

Actualmente, a citologia veterinária é uma área em desenvolvimento, com uma utilização frequente na prática clínica como meio de diagnóstico, e com um incremento qualitativo e quantitativo de publicações científicas e de livros de texto.

Em termos de definição, a citologia (Kyros = célula; Logos = estudo) consiste no estudo microscópico de células. Uma extensão desta é a citopatologia, ou diagnóstico citológico, que pode ser entendida como o exame microscópico das células para investigação de alterações clínico-patológicas (Marcos, 2006).

A citologia inclui os procedimentos de obtenção e coloração de células para observação microscópica, assim como a sua descrição morfológica. Os achados morfológicos são então relacionados com a informação clínica dos animais com o intuito de produzir um diagnóstico útil ao clínico e ao animal – esse será o fim último da citologia (Baker & Lumsden, 2000).

### **1.2.2. Citologia vs Histologia**

Uma das diferenças entre a histologia e a citologia prende-se com a classificação dos tipos de células presentes. Se em histologia se consideram 4 tecidos fundamentais (epitelial, conjuntivo, nervoso e muscular), em citologia a divisão é algo diferente, considerando-se dois grandes grupos: as células epiteliais e as células fusiformes (ou mesenquimatosas) (Raskin & Meyer, 2003). Na citologia observam-se células isoladas ou em pequenos grupos; neste sentido esta disciplina é complementar à histopatologia, em que também são observadas células mas incluídas em tecidos. No entanto, existem diferenças entre os dois métodos. A citologia envolve procedimentos técnicos fáceis de executar, relativamente rápidos, recolhendo amostras pequenas, pelo que este método é considerado menos invasivo e mais rápido do que a histopatologia. Como envolve uma técnica relativamente fácil de executar permite a recolha de mais do que uma amostra do mesmo tecido. Ainda comparando com a histopatologia, a citologia é mais económica uma vez que são usados poucos reagentes bem como materiais de uso corrente. Em algumas ocasiões, como no exame de medula óssea ou na avaliação de certas neoplasias, a citologia mostra-se inclusivamente superior à histopatologia (Marcos, 2006). Num estudo comparativo entre o método citológico e histopatológico no diagnóstico das lesões da conjuntiva, o método citológico mostrou ser efectivo e seguro no diagnóstico de lesões tumorais da conjuntiva (Lima, Veloso, Tavares, Jungman & Vasconcelos, 2005). Entretanto, as principais vantagens da citologia constituem também limitações: por exemplo, o reduzido número de células observadas pode não ser representativo do tecido ou lesão; por outro lado, a observação de células isoladas não permite que sejam estudadas as relações entre células presentes nos tecidos (Marcos, 2006). A sua

maior dificuldade está na correcta identificação das células, sobretudo no diagnóstico de neoplasias em que o grau de diferenciação celular condiciona a variabilidade dos padrões morfológicos (Peleteiro, Correia, Carvalho, Pissarra & Fernandes, 2006).

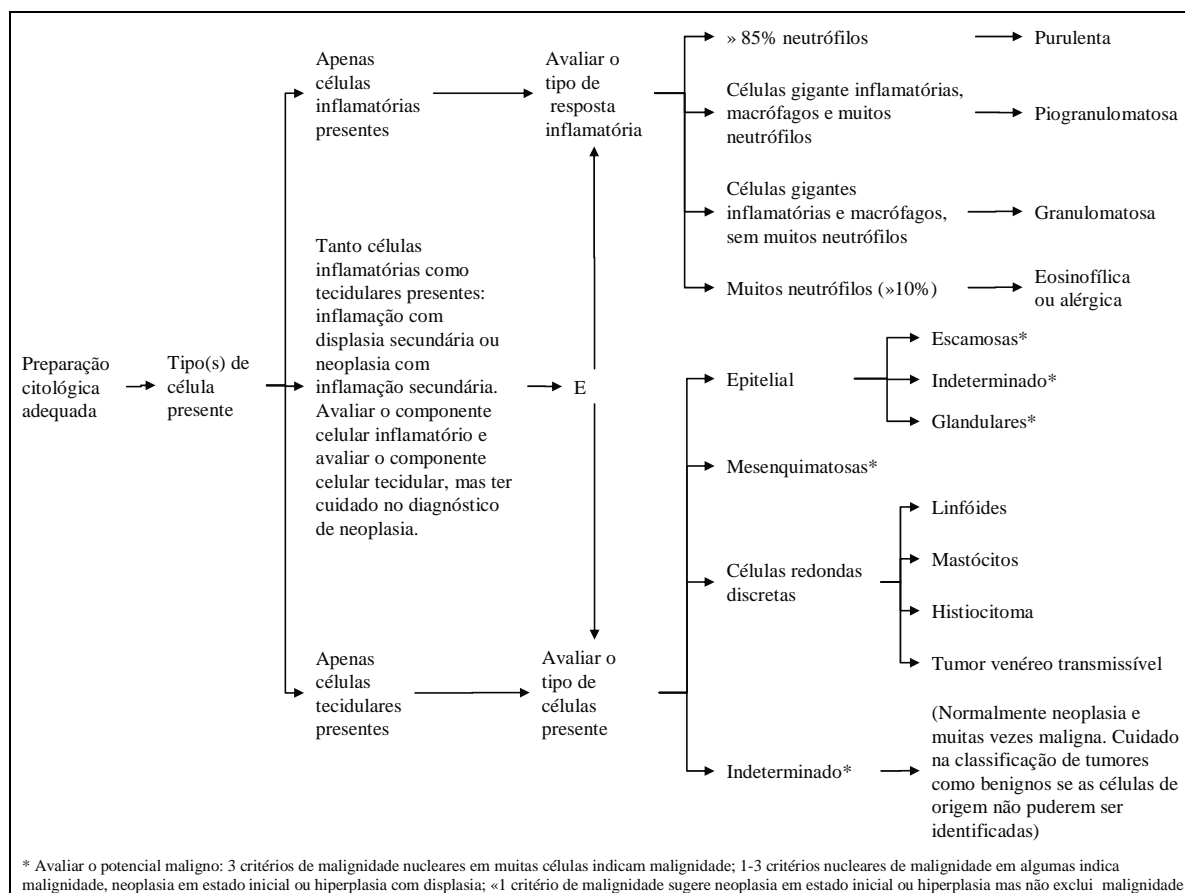
Por estas razões, a citologia nem sempre permite obter um diagnóstico específico; este será então, e sem dúvida muitas vezes, conseguido pela histopatologia (Marcos, 2006).

### I.2.3. Classificação geral das alterações citológicas

O exame citológico tem como principal objectivo a classificação de possíveis lesões.

De seguida apresenta-se um algoritmo que ajuda na avaliação de uma preparação citológica (Figura nº 4):

Figura nº 4. Algoritmo de avaliação de uma preparação citológica (Adaptado de Raskin & Meyer, 2003)



Para além da resposta inflamatória (ou infiltrado celular) e da neoplasia, podemos ainda distinguir quatro categorias onde se podem enquadrar as alterações observadas num exame citológico (Raskin, 2003):

- **Tecido normal ou hiperplásico**

Os tecidos normais ou hiperplásicos são constituídos principalmente por tipos celulares maduros. As células normais apresentam uniformidade no tamanho e na sua morfologia, do núcleo e do nucléolo. Em geral, o volume citoplasmático é maior do que o dos núcleos. A hiperplasia corresponde ao aumento tecidular não-neoplásico, podendo ocorrer em resposta a alterações hormonais ou a lesão tecidular. O tecido hiperplásico apresenta tendência para o aumento de volume simétrico, ao contrário da neoplasia. As células hiperplásicas apresentam uma proporção núcleo/citoplasma maior do que as células normais.

- **Massas quísticas**

As lesões quísticas contém material líquido ou semisólido. Geralmente o líquido apresenta baixo teor proteico e pequena quantidade de células. Estas lesões benignas podem dever-se à proliferação de células de revestimento ou à lesão tecidular.

- **Resposta à lesão tecidular**

As amostras submetidas a exame citológico evidenciam muitas vezes lesão tecidular, para além da formação de quistos, inflamação ou neoplasia. Estas alterações incluem hemorragias, restos proteináceos, cristais de colesterol, necrose e fibrose.

A hemorragia patológica pode ser diferenciada da contaminação sanguínea que ocorre durante a colheita para exame citológico, já que esta última se caracteriza pela presença de numerosos eritrócitos e plaquetas. A hemorragia aguda está associada à fagocitose de eritrócitos pelos macrófagos, denominada eritrofagocitose. A hemorragia crónica está associada à presença de macrófagos activos contendo pigmentos sanguíneos degradados no interior do citoplasma. Os hematomas contém frequentemente eritrócitos fagocitados, no caso de uma lesão aguda, ou macrófagos carregados de hemossiderina, no caso de uma lesão crónica.

Podem observar-se restos proteináceos no fundo da preparação. O muco, discretamente basofílico, tem uma aparência amorfa. Os corpos linfoglandulares são

fragmentos citoplasmáticos de células frágeis, geralmente linfócitos, que são estruturas ligeiramente basofílicas, discretas e arredondadas. As fibras nucleares correspondem a filamentos lineares róseos a púrpura de restos nucleares, originados pela excessiva manipulação do tecido durante a preparação citológica ou de materiais necróticos. Podem ainda encontrar-se filamentos amorfos claros ou discretamente rosados de colagénio, que alternam com células espiraladas e endotélio num estroma fibrovascular. A substância amilóide é uma proteína patológica rara encontrada entre as células. Tem aparência amorfa, eosinofílica e hialina e pode estar associada à inflamação crónica.

Os cristais de colesterol sugerem lesão da membrana celular e são encontrados no fundo de algumas preparações citológicas. Estes cristais rectangulares são transparentes, a menos que o fundo da coloração seja evidenciado com, por exemplo, o azul de metileno. Estão frequentemente associados a quistos epidérmicos/foliculares.

Podemos encontrar necrose e fibrose simultânea ou separadamente em algumas preparações citológicas. A necrose (morte das células) é representada por um contorno celular mal definido. A resposta à lesão tecidular envolve um aumento da actividade fibroblástica, sendo comum a presença de grande quantidade de fibrócitos reactivos no decorrer de um processo inflamatório grave. Deve ter-se muito cuidado para não confundir esta reactividade com uma condição neoplásica.

- **Amostra não-diagnóstica**

Pode utilizar-se esta categoria no caso de amostras que não permitem interpretação diagnóstica; tais amostras têm geralmente origem em material celular insuficiente ou em excessiva contaminação com sangue.

#### **I.2.4. Citologia Ocular**

O exame citológico do olho e das estruturas anexas nos cães e nos gatos é um importante meio complementar de diagnóstico para o clínico geral, assim como para o especialista em oftalmologia (Cowell, Tyler & Meinkoth, 1999). É frequentemente útil no diagnóstico precoce antes de se levarem a cabo outros procedimentos mais invasivos ou de elevado custo (Raskin & Meyer, 2003).

Apesar do exame citológico por si poder fornecer um diagnóstico, é muitas vezes usado em conjugação com outros testes, tais como cultura microbiana, testes de imunofluorescência indirecta (IFA), testes de reacção em cadeia da polimerase (PCR) e biópsia (Baker & Lumsden, 2000).

A citologia ocular é um método simples, rápido e pouco dispendioso. É especialmente útil no diagnóstico de 3 doenças oculares: a conjuntivite, a queratite e a uveíte anterior (Gilger, 2006).

#### **I.2.4.1. Citologia Conjuntival**

##### **I.2.4.1.1. Indicações**

Como vimos, a conjuntiva é sede de lesões de etiologia variada, que incluem alterações degenerativas, circulatórias, inflamatórias, e do crescimento e desenvolvimento, cujo diagnóstico diferencial apenas pelo exame clínico pode ser impreciso (Lima et al, 2005). A citologia conjuntival é um importante meio de diagnóstico e auxiliar na escolha de terapêutica das doenças oculares externas.

O procedimento para a realização do exame citológico da mucosa conjuntival dos olhos em humanos, bem como a sua interpretação, está detalhadamente descrita (Lavach, Thrall, Benjamin & Severin, 1977). Pelo contrário, a literatura veterinária apresenta poucos trabalhos a respeito do exame citológico da mucosa conjuntival normal e inflamada dos canídeos e felídeos domésticos.

A citologia conjuntival, independentemente da espécie, pode ser facilmente realizada pelo clínico veterinário e fornece importantes informações para a confirmação da suspeita diagnóstica e instituição da terapêutica ocular mais adequada. Contudo, a interpretação do exame citológico da mucosa conjuntival alterada necessita de um padrão normal para que se possa efectuar a comparação e, assim, estabelecer a presença ou não de uma alteração (Brandão, Minto, Rocha & Ranzani, 2002).

As condições para as quais a citologia está indicada incluem: os abscessos conjuntivais, a conjuntivite crónica ou severa ou que não responde à terapêutica e a proliferação de massas da conjuntiva (Gellat, 1999).

Este meio de diagnóstico permite a avaliação da superfície ocular anormal através da análise de alterações nas células epiteliais, da caracterização de uma resposta inflamatória celular, e detecção de agentes infecciosos ou células neoplásicas (Willis, Bounous, Hirsh, Kswan, Stiles, Martin, Rakish & Roberts, 1997). A citologia é especialmente indicada quando existe corrimento mucopurulento, para confirmar a presença e tipo de corrimento e para avaliar um

possível sobrecrecimento de microorganismos, especialmente nos casos crónicos ou recorrentes (Gilger, 2006). As amostras para citologia são fáceis de obter numa primeira consulta (Bauer *et al.*, 1996; Willis *et al.*, 1997 citado por Peterson-Jones & Crispin, 2006) e podem ajudar a diferenciar conjuntivites bacterianas, virais e alérgicas.

Microorganismos grandes, tais como fungos e leveduras, podem ser observados directamente em amostras coradas com corantes de rotina. Microorganismos mais pequenos, tais como bactérias, também podem ser observados usando corantes usados rotineiramente em colorações citológicas; no entanto, a coloração com Gram permite fazer uma identificação mais fácil e mais específica. A presença de bactérias dentro das células é geralmente considerada mais relevante do que a observação apenas de organismos extracelulares. Num estudo anterior os resultados do exame citológico e da cultura bacteriana foram comparados e descritos como complementares (Massa *et al.*, 1999 citado por Peterson-Jones & Crispin, 2006). O exame citológico fornece identificação rápida e de confiança sobre o tipo de microorganismo, permitindo o início do tratamento, enquanto os resultados da cultura não ficam disponíveis. A terapêutica pode depois ser modificada, se necessário, quando os dados de susceptibilidade do agente se tornam disponíveis.

Apesar dos vírus serem demasiado pequenos para serem vistos através da microscopia de luz de rotina podem, ocasionalmente, ser vistos corpos de inclusão característicos, principalmente em infecções agudas. A ajuda de um patologista experiente é útil na distinção entre corpos de inclusão e grânulos de pigmentos. No entanto, corpos de inclusão não são uma descoberta frequente e o facto de não serem detectados não deve constituir prova de que esses organismos não estão presentes (Peterson-Jones & Crispin, 2006).

Podem ser levados a cabo testes adicionais a partir de amostras conjuntivais, tais como PCR e IFA. Actualmente, o Herpesvírus felino tipo 1 (FHV-1) é o único microorganismo para o qual o diagnóstico por PCR corneoconjuntival é frequentemente realizado. IFA está disponível para FHV-1, *Chlamydia* e Vírus da Esgana (Gelatt, 1999). Muitos oftalmologistas consideram a citologia conjuntival um teste que não traz grandes vantagens no diagnóstico da conjuntivite felina. No entanto, alguns autores consideram que é um método rápido e pouco dispendioso para diagnosticar conjuntivite por *Chlamydia*, por *Mycoplasma* e eosinofílica (Martin, 2005).

Usando o teste simples que é a citologia conjuntival, podemos obter informações diagnósticas importantes acerca da doença oftalmológica em curso em aproximadamente dez minutos. Envolve uma técnica fácil e pouco dispendiosa e que não requer equipamento especializado. Por estas razões, Gilger (2006) defende mesmo que todos os casos de conjuntivite deveriam ser avaliados citologicamente.

#### **I.2.4.1.2. A conjuntiva normal ao microscópio**

Quando se avalia a citologia ocular devem pelo menos observar-se células epiteliais, comprovando que se colheu uma amostra adequada. As células epiteliais superficiais têm um núcleo pequeno, citoplasma grande (aparência de ovos estrelados), enquanto que as células epiteliais mais profundas têm um núcleo muito basófilo e razão núcleo/citoplasma mais pequena (Gilger, 2006).

O epitélio da conjuntiva palpebral está disposto em camadas de células, e tendo cada célula um núcleo homogêneo grande, redondo e citoplasma abundante.

As células imaturas encontram-se na camada basal e as maduras próximas da superfície que está exposta. As camadas mais profundas contêm células que são redondas ou cilíndricas e que mudam para poliédricas quando se aproximam da camada intermédia, finalmente tornando-se células superficiais achatadas antes da descamação.

O epitélio conjuntival normal é caracterizado por grupos de células epiteliais e poucas células individuais. As características morfológicas das células dependem da profundidade da raspagem. Todas as camadas celulares podem-se encontrar numa só raspagem. Em humanos, as pequenas células mais coradas são associadas às camadas mais profundas do epitélio, enquanto que as células menos coradas representam camadas superficiais. Lavach et al. (1977) acreditam que o mesmo se verifica em cães e gatos.

A conjuntiva palpebral é revestida, como já foi dito anteriormente, por um epitélio que contém várias células globosas. As células globosas assemelham-se a células distendidas com núcleo excêntrico. O citoplasma pode conter vacúolos claros ou grânulos vermelho-azulados (Raskin & Meyer, 2003).

Lavach et al. (1977) caracterizaram as células globosas como tendo um citoplasma com grande quantidade de material mucoso no seu interior e um núcleo deslocado para a periferia da célula. Bolzan, Brunelli, Castro, Souza & Souza (2005), por seu lado, caracterizaram-nas com um núcleo excêntrico, deslocado e comprimido por grânulos de secreção. O muco podia ser confundido com uma inclusão. No seu trabalho, estas células foram encontradas no fórnix, não tendo sido recolhidas num esfregaço de rotina, a não ser que a amostra fosse intencionalmente recolhida nessa zona.

Por sua vez, o epitélio da conjuntiva bulbar carece de células globosas. Nesta zona são encontrados grânulos de melanina (Cowell et al., 1999) que parecem grânulos finos verde-escuros, intracelulares ou extracelulares (Baker & Lumsden, 2000). Em contraste com

Malerba (1990) que encontrou grânulos de melanina em todos os tipos de células, no estudo de Bolzan et al., (2005) sobre citologia por impressão, estes foram observados apenas nas células epiteliais superficiais e intermédias.

O fórnix é revestido por um epitélio cuboidal estratificado que contém várias células globosas. Brandão et al. (2002) não observaram estas células em amostras recolhidas pela técnica de impressão nesta mesma região em gatos. No fórnix, a lâmina própria conjuntival contém tecido linfóide; vários tipos de células linfóides podem ser encontradas em qualquer tipo de raspagem conjuntival. Deve ser dada pouca ênfase à observação de linfócitos ou células plasmáticas entre as células epiteliais na ausência de sinais clínicos de conjuntivite (Bolzan et al., 2005).

Em humanos, as células epiteliais são raramente queratinizadas, mas em cães e gatos um pequeno número de células queratinizadas foram registadas em olhos aparentemente normais. A queratinização completa das células epiteliais é anormal. No Homem e em pequenos animais, um grande número de células queratinizadas tem sido associado a várias patologias, incluindo conjuntivite crónica, Esgana, ectrópion, QCS, distúrbios alimentares, radiação e idade avançada. Se o núcleo estiver presente, está num estado degenerado. É importante relembrar que a margem palpebral irá normalmente conter células queratinizadas, devendo evitar-se que o instrumento de citologia contacte com esta superfície (Lavach et al., 1977).

Bolzan et al., (2005) caracterizaram-nas através da ausência de núcleo ou degeneração do mesmo e através do citoplasma claro com aspecto granular.

Não se encontram inclusões em conjuntivas normais, mas podem estar presentes pseudoinclusões, que poderão ser fragmentos de ruptura nuclear ou partículas fagocitadas de terapêutica tópica recente, sendo na realidade artefactos (Lavach et al, 1977).

Os neutrófilos são raros em raspagens conjuntivais, enquanto que eosinófilos e basófilos estão presentes em amostras citológicas de olhos normais (Baker & Lumsden 2000). Lavach et al. (1977) também constataram que linfócitos, monócitos, células plasmáticas e neutrófilos são pouco comuns. Não foram encontrados eosinófilos e basófilos em nenhum dos seus esfregaços.

A presença de bactérias foi ocasionalmente registada, intracelularmente ou extracelularmente, em conjuntivas normais. Baseado no conhecimento da flora conjuntival de cães e gatos aparentemente saudáveis, as bactérias encontradas dentro das células epiteliais em alguns

esfregaços são considerados normais na ausência de outros sinais clínicos de doença (Lavach et al., 1977).

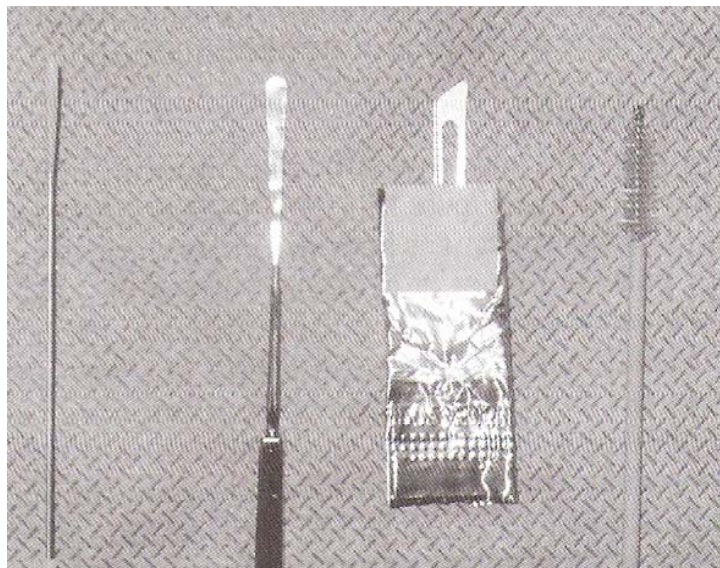
É comum verificar-se a presença de muco nas preparações citológicas, apresentando-se como material amorfo discretamente basofílico (Raskin & Meyer, 2003).

#### **I.2.4.1.3. Técnicas de recolha de amostra conjuntival**

Por várias razões, a citologia conjuntival não é usada de forma rotineira como método de diagnóstico de doenças oculares, especialmente nas da superfície ocular. Uma das razões para isto acontecer pode ser o facto de a maioria das técnicas descritas usarem instrumentos que são afiados, duros ou ambos, aumentando o risco de dano iatrogénico permanente do olho, especialmente para os clínicos que não lidam com casos de oftalmologia diariamente (Bauer, Spiess & Lutz, 1996).

Os instrumentos de recolha de amostras citológicas na conjuntiva palpebral, mais frequentemente usados são (Peterson-Jones & Crispin, 2006) (Figura nº 5):

Figura nº 5. Instrumentos para recolha de amostras citológicas e microbiológicas, a partir dos tecidos superficiais oculares (Adaptado de Peterson-Jones & Crispin, 2006)



Da esquerda para a direita: zaragatoa; espátula Kimura; lâmina de bisturi; escova de citologia

- **Zaragatoa**– As zaragatoas são facilmente obtidas e pouco dispendiosas (Bauer et al., 1996). Uma zaragatoa estéril pode ser rolada cuidadosamente através do fórnix conjuntival para recolher amostras superficiais. A técnica é simples e as recolhas conjuntivais podem ser feitas sem anestesia tópica nos pacientes mais submissos. A técnica é usada vulgarmente para recolha de amostras microbianas. As amostras podem ser recolhidas aplicando a zaragatoa directamente na área a ser analisada.

Como existe uma flora normal na superfície ocular, deve-se ter cuidado para não contaminar a zaragatoa ao tocar inadvertidamente em tecidos ou regiões sem a patologia em questão.

- **Espátula ou lâmina de bisturi** – As células superficiais podem ser recolhidas por raspagem do epitélio e do tecido conjuntivo superficial da conjuntiva. Quando feito de forma adequada, esta técnica é segura, bem tolerada e particularmente útil na obtenção de células inflamatórias ou neoplásicas e/ou organismos infecciosos. A detecção de patologia que envolva sítios profundos geralmente necessita de biópsia cirúrgica.

Normalmente é necessária a administração de anestésico tópico e adequada contenção física ou química para evitar qualquer tipo de lesão no olho. Deve-se ter cuidado para não danificar células superficiais que podem ser importantes para o diagnóstico; no entanto, muco superficial e fragmentos devem ser sempre removidos antes da recolha de amostras citológicas. Além disso, devem ser recolhidas amostras para cultura antes de serem feitos quaisquer procedimentos que possam alterar ou afectar os microorganismos presentes.

Os instrumentos mais usados são a espátula de platina Kimura ou a extremidade romba de uma lâmina de bisturi. As células recolhidas desta forma podem ser cuidadosamente espalhadas numa lâmina de microscópio limpa para avaliação citológica ou para detecção de anticorpos por imunofluorescência (IFA), aplicadas numa zaragatoa estéril para cultura, ou suspensas numa solução estéril para teste de PCR.

- **Escovas** - A escova é facilmente obtida, pouco dispendiosa e fácil de usar. Pode ser usada sem grande perigo iatrogénico para o paciente, como acontece com os instrumentos mais rígidos. É usada rotineiramente em ginecologia humana na preparação de esfregaços cervicais. É útil na obtenção de células da córnea e na extensão das mesmas na lâmina de vidro. Num ensaio clínico, levado a cabo por Angonr Stopoulou-Fotinopoulou I (1993) sobre o uso de escova na citologia conjuntival, também foi considerado muito eficiente na recolha de células da conjuntiva (Bauer et al., 1996). A escova é rolada cuidadosamente no fórnix conjuntival, sendo as células posteriormente colocadas sobre uma lâmina antes de serem secas ao ar.

- **Lâmina de vidro ou papel de filtro** – A Técnica de Impressão resulta melhor em células que se destacam facilmente e é, portanto, mais frequentemente aplicada na investigação de doença conjuntival superficial. Uma lâmina limpa ou papel de filtro de celulose-acetato são pressionados firmemente contra a área a ser analisada, e as células epiteliais (incluindo células globosas) e células de superfície inflamatórias são então examinadas citologicamente. A técnica também pode ser aplicada pressionando suavemente amostras de biópsia numa lâmina antes da fixação. Esta técnica não tem a intenção de substituir a identificação histopatológica de amostras de tecido mas, em vez disso, fornecer informação mais rapidamente (Peterson-Jones & Crispin, 2006). Esta técnica tem sido usada extensivamente em oftalmologia humana, na quantificação do número de células globosas e no estudo morfológico de células epiteliais nos casos de QCS e penfigus ocular. Foi também aplicada em estudos de quantificação e distribuição de células globosas em cães normais e nos que sofrem de QCS (Bauer et al., 1996).

#### **I.2.4.1.4. Estudos comparativos entre técnicas de recolha**

As várias técnicas de recolha já foram comparadas entre si em vários estudos. Num deles, foram comparadas três das técnicas mais usadas para recolha de células superficiais (Tabela nº 1). As suas vantagens relativas são mostradas no quadro seguinte:

Tabela nº 1. Comparação entre os três métodos para recolha de células superficiais da córnea ou conjuntiva (Bauer et al., 1996; Willis et al., 1997, adaptado por Peterson-Jones & Crispin, 2006)

<b>Características</b>	<b>Zaragatoa</b>	<b>Espátula</b>	<b>Escova</b>
Celularidade total	+	+++	+++
Integridade celular	+++	+	+++
Distribuição celular	+++	+	+++
	+ má	+++ boa	

As amostras recolhidas com zaragatoa tendem a conter células insuficientes para diagnóstico, mas as células que são recolhidas estão bem preservadas e espalham-se numa monocamada uniforme. Amostras recolhidas com espátula (por raspagem) são altamente celulares mas estas tendem a agrupar-se, tornando a interpretação citológica mais difícil. Amostras recolhidas usando escovas de citologia tendem a ter alta celularidade, integridade e distribuição na lâmina.

A zaragatoa, embora segura, provou ser uma das ferramentas menos eficientes na citologia conjuntival, tendo em conta o número de células recolhidas. Fornece, no entanto, esfregaços com o menor dano celular possível. É um instrumento útil principalmente em córneas que apresentam patologia onde uma técnica mais invasiva poderia provocar perfuração ocular (Bauer, 1996).

A raspagem do epitélio conjuntival usando a espátula de platina Kimura permanece a técnica de recolha *standard* no diagnóstico oftalmológico veterinário. Apesar desta técnica poder produzir amostras celulares adequadas, pode ser difícil avaliar os detalhes morfológicos devido à sobreposição de células e artefactos por esmagamento. A coloração densa dos agregados celulares pode decrescer o contraste intracelular, tornando mais difícil a observação de inclusões (Willis, 1997). Daí que Willis (1997) tenha levado a cabo um estudo onde avalia o desempenho da escova de citologia como alternativa à técnica de raspagem com espátula.

Muitos tipos de escovas de citologia têm sido utilizadas na recolha de células epiteliais cervicais humanas e, mais recentemente, na recolha de amostras epiteliais conjuntivais humanas.

Os pêlos de nylon destas escovas são repelentes em relação à carga negativa da membrana das células epiteliais. Enquanto que os pêlos parecem esfoliar eficientemente as células da superfície epitelial, a sua carga negativa facilita a produção de amostras celulares adequadas quando poucas células são retidas na escova durante a transferência da amostra para a lâmina de vidro. As vantagens registadas de citologia conjuntival com escova em relação à raspagem em humanos incluem um aumento na celularidade da amostra, aquisição de células de camadas mais profundas com menos intervenção e uma melhor aparência de cada célula devido a uma diminuição na sobreposição celular. A lesão conjuntival é limitada e o desconforto do paciente é mínimo.

Neste estudo, a celularidade e integridade celular proporcionadas pelas escovas usadas em cães e gatos com conjuntivite foram comparáveis aos resultados obtidos com raspagens. A escova produziu monocamadas de células que melhoraram a avaliação de células individuais dentro de um campo único. Isto é de particular importância em amostras onde o exame do detalhe de células individuais influencia o diagnóstico (por exemplo, para identificar corpos de inclusão celular ou as características de uma neoplasia).

Apesar do grau de irritação produzida pela técnica da escova não ter sido um dos critérios avaliados neste mesmo estudo, o procedimento mostrou ser minimamente irritante para os animais que integraram a amostra. Os gatos, em particular, mostraram pouca aversão à escova. Em contraste, a raspagem conjuntival em gatos e na maioria dos cães requereram

aplicação anterior de anestésico tópico, aumentando assim o tempo total do procedimento. A recolha das amostras com escova é tecnicamente fácil, particularmente nos animais com fenda palpebral pequena, já que a ponta mais pequena da escova pode ser rapidamente rolada ao longo de uma superfície da conjuntiva palpebral mínima. Esta facilidade de amostragem com a escova reduz também o risco de dano corneano.

Outra das conclusões deste estudo foi a de que uma amostra bem preservada está dependente de uma transferência de células cuidadosa para a lâmina. O rolar da escova na lâmina feito de forma pouco cuidadosa pode fracturar a membrana nuclear e permitir que o material nuclear penetre dentro do citoplasma, aparecendo como uma inclusão.

A técnica de citologia com escova é um meio eficaz de avaliação da superfície de conjuntivas inflamadas de cães e gatos. A facilidade com que escovagens podem ser feitas, inclusivamente por veterinários não-especialistas, a pequena irritação conjuntival física provocada no animal avaliado, e a eliminação da necessidade de anestesia tópica pode melhorar a tolerância do paciente e a satisfação do cliente.

Conclusões semelhantes já tinham tirado Bauer et al. (1996), um ano antes, ao comparar quatro dos principais instrumentos usados na citologia conjuntival: zaragatoa, dois tipos de espátulas e escova, avaliando critérios como a celularidade, distribuição e integridade celular. A escova foi superior em todos os parâmetros examinados. As suas amostras forneceram o mesmo número de células elevado, fornecido pelos instrumentos de raspagem, combinado com uma excelente distribuição e preservação celular proporcionado pela zaragatoa. As células recolhidas com a escova mostraram-se menos danificadas do que as recolhidas com a espátula.

Apesar da zaragatoa ter “pontuado” bastante bem nas categorias de distribuição e integridade, o número de células recolhidas reduziu a pontuação final. As espátulas, por outro lado, comportaram-se extremamente bem na categoria “quantidade de células recolhidas”, mas mostraram uma fraca “distribuição e manutenção de integridade celular”, apresentando também uma classificação geral baixa.

Em 2005, Bolzan et al., decidiram testar a eficácia da técnica citológica de impressão com papel de filtro Millipore® (Millipore Corporation, Bedford, MA) em conjuntivas saudáveis, já que até aí poucos estudos se tinham focado em estudar esta técnica em animais domésticos e concretamente em cães. A conjuntiva bulbar temporal foi o local escolhido para este estudo por causa da alta incidência de alterações proliferativas celulares benignas e malignas que se verifica nesta área e por ser um local de fácil acesso.

A metodologia proposta permitiu a obtenção de preparações citológicas com quantidades satisfatórias de componentes do epitélio conjuntival com uma boa preservação de características morfológicas. Os padrões celulares observados mostraram um epitélio não-queratinizado, estratificado e escamoso com células globosas. Este padrão é semelhante aos registados em estudos prévios com conjuntivas saudáveis em cães e gatos usando amostras recolhidas por diferentes instrumentos, tais como espátulas, escovas de citologia, cotonetes e processados por diferentes métodos.

Este estudo validou a “standardização” da citologia por impressão e demonstrou que é aceitável como um método prático para estudar a celularidade conjuntival em cães. Os resultados deste trabalho, que estabeleceram padrões normais na espécie canina, mostraram que a citologia por impressão é uma ferramenta útil e um complemento válido para o diagnóstico de alterações conjuntivais. A simplicidade operacional, o facto de ser um método não-invasivo e o facto de provocar um dano mínimo são vantagens da citologia por impressão. Fornece ainda informação adicional sobre topografia, padrões celulares e relações entre células epiteliais e outros componentes celulares.

Em 2002, a mesma técnica não se mostrou traumática para a conjuntiva, amenizando a dificuldade encontrada na manipulação dos animais da espécie felina (Brandão et al., 2002).

Num estudo em humanos, em 1997, em que foi avaliada e comparada a eficácia da técnica de impressão com a escova de citologia em 63 pacientes, chegou-se à conclusão de que a escova era superior ao método de impressão em relação à obtenção de amostras adequadas da superfície ocular e à qualidade morfológica das células que proporcionava. Neste estudo, a sobreposição de células, que dificultava a distinção dos detalhes celulares e nucleares e da relação célula-a-célula, constituiu um problema muito mais comum na citologia por impressão. Além disso, a preservação das células foi muito melhor nas amostras recolhidas com escova onde a morfologia das células e detalhes específicos, tais como inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas, foram muito mais facilmente visíveis (Yagmur, Ersoz, Ersoz & Varinli, 1997).

### **I.3. Conjuntivite**

A conjuntivite é a doença ocular mais frequentemente diagnosticada na prática clínica (Martin, 2005). É, por definição, a inflamação da conjuntiva.

### **I.3.1. Etiologia**

A conjuntiva está continuamente sujeita a agentes ambientais nocivos tais como o vento, pó e pólen, e agentes infecciosos tais como vírus, bactérias e fungos. Por estas razões, o saco conjuntival é geralmente não-estéril. Há sistemas de defesa eficientes na conjuntiva tais como o filme lacrimal, o sistema reticuloendotelial e a reposição do epitélio conjuntival. A inflamação da conjuntiva (conjuntivite) pode ter origem em causas não-infecciosas ou infecciosas, embora muitas vezes ambas estejam envolvidas. Muitas vezes um factor, tal como um pêlo irritante, poeira ou um vírus, causam o dano inicial, que facilita a posterior penetração e colonização por bactérias, fungos ou leveduras.

Um mecanismo de defesa deficiente pode dever-se a falta de lágrima, síndrome da imunodeficiência felina, leucemia, ou ao uso prolongado de antibióticos, corticosteroides ou anestésicos tópicos.

A conjuntivite bilateral é muitas vezes causada por infecções. Nos gatos, os agentes patogénicos do sistema respiratório superior são muitas vezes responsáveis pela conjuntivite. Nos cães, o vírus da Esgana pode causar conjuntivite bilateral.

A conjuntivite unilateral tem, geralmente, origem em causas locais tais como corpos estranhos, lacerações ou infecções, mas pode também desenvolver-se secundariamente à irritação por pêlos, trauma corneano, QCS, dacriocistite, glaucoma ou uveíte (Stades, Wyman, Boevé & Neumann, 1998).

### **I.3.2. Sinais clínicos**

Os sinais clínicos da inflamação da conjuntiva são semelhantes aos de outros tecidos: dilatação vascular (hiperémia), edema tecidular (quemose) e exsudação.

O exsudado (corrimento) deve-se à estase vascular, a exsudação celular e à saída de líquido com fibrina e imunoglobulinas a partir dos vasos sanguíneos afectados. De acordo com o seu principal componente, o corrimento pode ser descrito como seroso, mucoso, purulento ou uma combinação dos anteriores.

Podemos ainda verificar a presença de epífora (lacrimejar) que pode ser causada por irritação da conjuntiva. O sistema de drenagem lacrimal é muitas vezes incapaz de drenar o excesso de fluido que irá então escorrer sobre a margem palpebral no canto medial, dando origem a um corrimento espesso, castanho escuro (Stades et al., 1998). Outras alterações possíveis são a hemorragia conjuntival, o enfisema (normalmente por fractura dos seios), a formação de folículos (a conjuntiva é rica em tecido linfóide) e nos casos em que a doença provoca prurido, pode haver alopecia e escoriação cutânea das pálpebras (Peiffer & Peterson-Jones, 2002).

### I.3.3. Diagnóstico

A causa da conjuntivite é determinada através da história e das explorações física geral e ocular (Peiffer & Peterson-Jones, 2002). A observação e interpretação precisa dos sinais conjuntivais são importantes no diagnóstico diferencial de “olho vermelho” (Slatter, 2001). De salientar que, mesmo quando todos os sinais indicam um problema ao nível da conjuntiva, todo o olho e anexos devem ser sistemática e cuidadosamente examinados já que alterações a outros níveis, tais como distiquíase ou entrópion, podem ser a causa das alterações conjuntivais. Tais alterações podem ser ainda um primeiro sinal de doenças oculares mais graves, tais como uveíte ou glaucoma (Helper, 1973). Uma inspecção cuidadosa da conformação das pálpebras e das pestanas, um exame dermatológico e o teste de Schirmer (Figura nº 6), podem frequentemente revelar a causa da inflamação (Ofri, 2008). Só se devem usar testes laboratoriais nas infeções graves e nas doenças crónicas, ou quando é necessário confirmar o diagnóstico. Podem obter-se amostras conjuntivais para cultura, para testes de PCR, IFA ou citológicos, assim como para histopatologia (Peiffer, 2002).

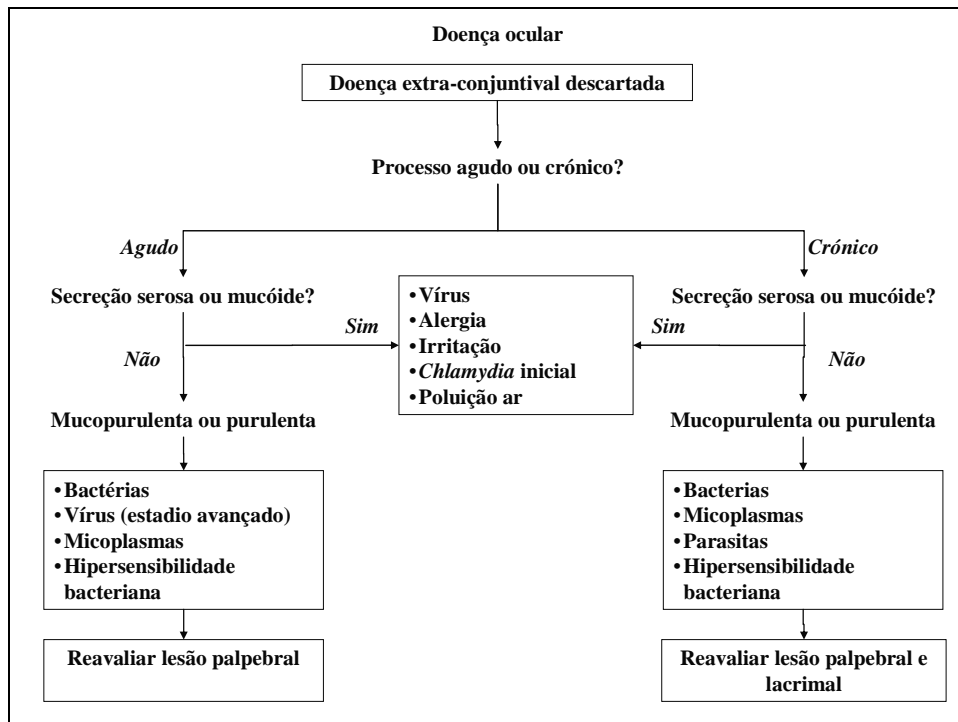
Figura nº 6. Realização de teste de Schirmer para avaliação quantitativa da produção lacrimal  
(Original)



### I.3.4. Diagnóstico diferencial

É importante diferenciar a conjuntivite de outros problemas de aparência semelhante e estabelecer a causa da inflamação para que o tratamento possa ser económico e eficiente (Peterson-Jones & Crispin, 2006) (Figura nº 7).

Figura nº 7. Diagnóstico diferencial de conjuntivite (Adaptado de Slatter, 2001)



O diagnóstico de conjuntivite baseado no sinais de hiperémia, secreção, quemose e formação de folículos é importante. Para além disso, deve definir-se se a conjuntivite é primária ou secundária.

É importante medir a pressão intra-ocular, já que esta serve para realizar o diagnóstico diferencial de “olho vermelho” entre conjuntivite, uveíte e glaucoma (Figura nº 8).

Figura nº 8. Medição da pressão intra-ocular com tonómetro de aplanamento (Tono-Pen XL, Medtronic Solan, USA) (Original)



Por causa da estreita relação anatómica entre conjuntiva e a córnea, com frequência coexistem problemas nos dois tecidos ou os processos podem estender-se da conjuntiva até à córnea. É importante para o diagnóstico e para a terapêutica determinar o grau de dano corneano, pois se uma patologia corneana grave é ignorada pode originar cegueira.

Uma vez estabelecida a causa exacta da patologia, é necessária a pesquisa de problemas específicos de cada espécie (Slatter, 2001).

### **I.3.5. Classificação da conjuntivite**

#### **I.3.5.1. Classificação etiológica (Adaptado de Peterson-Jones & Crispin, 2006)**

Há uns anos atrás a conjuntivite classificava-se de muitos modos diferentes: com base na duração (aguda ou crónica), no tipo de corrimento, no aspecto e na etiologia.

Actualmente e sempre que possível tenta-se obter um diagnóstico etiológico como base para um tratamento racional (Slatter, 2001).

##### **I.3.5.1.1. Conjuntivite canina**

A infecção da conjuntiva em cães é usualmente secundária a uma causa subjacente. O problema primário irá causar o compromisso do sistema imunitário da conjuntiva, permitindo o sobrecrecimento da flora normal da conjuntiva ou a invasão por agentes oportunistas.

Como a infecção é geralmente de natureza secundária, não está geralmente indicada uma cultura bacteriana (Ofri, 2008). A conjuntivite canina pode ocorrer em animais de qualquer idade.

#### **I.3.5.1.1.1. Conjuntivite primária**

##### **Infecciosa**

Inclui agentes infecciosos tais como vírus (principalmente vírus da Esgana), que tipicamente produzem doença bilateral. A conjuntivite bacteriana é geralmente secundária a outras disfunções subjacentes, tais como uma má conformação palpebral ou síndrome do olho seco. As conjuntivites fúngica e parasitária não são comuns no cão. A infecção com *Rickettsia rickettsii* está frequentemente associada a lesões oculares da conjuntiva, úvea e retina (Gelatt, 1999).

##### **Não-infecciosa**

- Agentes irritantes - químicos, poeira e vento podem causar conjuntivite, assim como o podem alguns fármacos ou remédios caseiros, especialmente se aplicados por longos períodos.
- Alérgica – é relativamente comum e pode estar associada a reacções de hipersensibilidade imediata ou retardada. É geralmente bilateral, sendo muitas vezes uma característica da hipersensibilidade tipo 1 que caracteriza a atopia. Os alergenos mais frequentes são pólenes, pó e toxinas bacterianas. A conjuntivite folicular parece ocorrer secundariamente à estimulação antigénica crónica (Gelatt, 1999).
- Auto-imune – é menos comum. Ocorre quando a conjuntiva de ambos os olhos está envolvida em doenças que afectam as junções mucocutâneas, tais como Penfigus e desordens do grupo das penfigóides. A queratite superficial crónica (*Pannus*) é uma doença da córnea dos cães, mas que também pode afectar a conjuntiva. A sua etiologia ainda não foi determinada, mas tudo indica que é uma doença imuno-mediada (Gelatt, 1999).
- Pseudo-membranosa – é uma desordem rara de causa desconhecida. A raça Dobermann parece ser mais susceptível do que as restantes raças (Ramsey *et al.*, 1996 citado por Peterson-Jones & Crispin, 2006).

#### **I.3.5.1.1.2. Conjuntivite secundária**

A conjuntivite secundária pode estar associada a:

- Sobrecrecimento bacteriano (predominantemente *Staphylococcus* e *Streptococcus*);
- Irritação mecânica a partir de problemas palpebrais (por exemplo, blefarite, ectrópion, entrópion, outros tipos de defeitos anatómicos e neoplasias) ou a partir de anomalias nos pêlos (por exemplo, triquíase, distiquíase, cílios ectópicos, pêlos de quistos dermóides, pêlos cutâneos nas dobras nasais);
- Problemas ao nível do filme lacrimal pré-ocular (QCS);
- Dacriocistite;
- Problemas oculares (úlceras, glaucoma, uveíte).

É importante identificar e tratar o problema primário de forma a assegurar a resolução da conjuntivite secundária. Por exemplo, no ectrópion, a conjuntiva ventral está permanentemente exposta ao ambiente e tende a haver a acumulação de fragmentos no saco conjuntival ventral; o problema só se poderá resolver quando a forma normal da pálpebra for reposta com recurso à cirurgia.

#### **I.3.5.1.2. Conjuntivite felina**

Ao contrário do cão, a maior parte das conjuntivites no gato são infecções primárias associadas a causas específicas (Gellat, 1999). O diagnóstico de agentes específicos pode ser difícil, já que as amostras citológicas podem ser pouco compensadoras, e um diagnóstico definitivo pode necessitar de PCR ou imunofluorescência. Para além disso, as co-infecções são comuns (Ofri, 2008).

##### **I.3.5.1.2.1. Conjuntivite primária**

###### **Infecciosa**

Pode ser provocada por vírus do tracto respiratório (Herpesvírus felino e Calicivírus), *Chlamydia* e *Mycoplasma* spp.. A importância clínica de outros isolados bacterianos não está claramente definida.

###### **Não-infecciosa**

As causas não-infecciosas são semelhantes às descritas para o cão, mas ocorrem com menos frequência.

Os gatos domésticos adquirem uma forma de queratite eosinofílica que parece ser única. Antigamente, a condição tinha a designação de queratite eosinofílica. Mais recentemente foi proposto um termo mais geral: queratoconjuntivite eosinofílica (Gelatt, 1999). A infiltração eosinofílica da conjuntiva sem envolvimento da córnea já foi, no entanto, descrita em 5 gatos (Allgoewer, Schaffer, Stockhaus & Vogtlin, 2001).

#### **I.3.5.1.2.2. Conjuntivite secundária**

É menos comum no gato do que no cão e pode ser consequência de:

- Problemas palpebrais tais como agenesia, inflamação ou neoplasia;
- Alterações no filme lacrimal.

#### **I.3.5.2. Classificação citológica** (Adaptado de Cowell, 1999)

A conjuntivite pode ainda ser classificada de acordo com as células que predominam ao microscópio. Após a avaliação citológica podem considerar-se três grandes grupos:

- Conjuntivite Neutrófila – É comum na conjuntivite canina e felina e pode ter origem em causas bacterianas, virais, alérgicas ou outras. A conjuntivite pseudomembranosa é um exemplo de conjuntivite neutrófila. O exsudado neutrófilico pode apresentar neutrófilos não-degenerados ou em cariólise. É frequente encontrar-se muco nos exsudados neutrófilos.

O exsudado da conjuntivite neutrófila canina contém muitas vezes bactérias, independentemente da causa primária. O dilema é saber se as bactérias têm uma importância primária ou se são meras oportunistas. A QCS é uma doença canina em que é comum haver exsudado neutrófilico no qual as bactérias são frequentemente encontradas. O vírus da Esgana é a mais importante causa viral de conjuntivite neutrófila canina.

Em contraste com os cães, o exsudado da conjuntivite neutrófila felina raramente contém bactérias. Quando observadas, as bactérias devem ser consideradas clinicamente significativas na conjuntivite felina. Uma causa comum de conjuntivite neutrófila felina é a infecção por Herpesvírus. Os neutrófilos também predominam no exsudado conjuntival da infecção por *Chlamydia* e por *Mycoplasma*.

- Conjuntivite Linfo-plasmocitária – A conjuntivite onde predominam as células linfóides é menos comum do que a conjuntivite purulenta. Ocorre nas conjuntivites alérgicas e crónicas. Na conjuntivite folicular encontram-se células típicas de hiperplasia linfóide.

Lavach et al. (1977) ao estudarem a conjuntiva normal e inflamada em cães e gatos, constataram que as células mononucleares são o tipo de célula mais comum nas infecções virais da conjuntiva e em casos iniciais de Esgana. O significado do tipo de células mononucleares encontradas em casos de conjuntivite não é conhecido, mas podem estar associados a infecções virais. Os neutrófilos foram, no entanto, o tipo de célula predominante nas infecções por Herpesvírus da córnea, possivelmente devido a necrose tecidual ou infecção bacteriana secundária.

- Conjuntivite Eosinofílica e Mastocítica – Podem ser detectados eosinófilos e mastócitos nos esfregaços conjuntivais, tanto de cães como de gatos. Alguns animais são positivos ao diagnóstico de Herpesvírus felino por PCR. A presença de eosinófilos e basófilos indica inflamação alérgica (Lavach et al., 1977).

A conjuntivite pode ainda ser classificada em aguda e crónica, de acordo com as características citológicas:

- Na conjuntivite aguda (Peterson-Jones & Crispin, 2006) os tipos de células podem ser úteis no estabelecimento de um diagnóstico claro mas, em muitas ocasiões, a citologia não é específica.
- A avaliação de inflamações conjuntivais crónicas, severas e recorrentes é facilitada pela execução de uma citologia exfoliativa (Gelatt, 1974). Na conjuntivite crónica são geralmente vistas células gigantes multinucleadas como uma alteração não específica. Podem encontrar-se células epiteliais queratinizadas, secundariamente a exposição prolongada da conjuntiva associada a entropion e lagofthalmos; a queratinização pode também ocorrer com QCS, deficiência de vitamina A e irradiação. A proliferação de células globosas ocorre com QCS, conjuntivite crónica, e deficiência de vitamina A (Gelatt, 1999). Uma redução no número de células globosas também pode ocorrer, no entanto, como consequência de infiltração difusa por células inflamatórias crónicas associadas com doenças infecciosas e imuno-mediadas (Petersen-Jones & Crispin, 2006).

Num estudo realizado entre 1983 e 1991, em 91 gatos com conjuntivite crónica a citologia mostrou ter um valor limitado como meio de diagnóstico nos casos crónicos nesta espécie. O autor constatou que as infecções crónicas não apresentam padrões clínicos característicos, assim como não têm uma resposta previsível a nenhuma forma de tratamento. Para além disso, concluiu que a falha na identificação citológica de

bactérias suporta a teoria de que as bactérias raramente causam conjuntivites crônicas em gatos (Nasisse, Guy, Stevens, English & Davidson, 1993).

#### **I.4. Objectivos**

A interligação de informações obtidas na clínica e com recurso ao microscópio é importante para uma melhor compreensão do mecanismo de inflamação que ocorre ao nível da conjuntiva.

O objectivo deste estudo foi o de avaliar a utilidade da citologia conjuntival como meio complementar de diagnóstico nos diferentes tipos de conjuntivite, tanto na espécie canina como na felina.

Para além da caracterização clínica do processo, pretendeu determinar-se de forma qualitativa e quantitativa e por esfregaço de conjuntiva palpebral, as diferentes células envolvidas, bem como os agentes microbianos presentes.

## **CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS**

## **II.1. Recolha de dados para o estudo de casos no período entre Outubro e Dezembro de 2008 e entre Abril e Julho de 2009**

O presente trabalho teve início com a avaliação de casos clínicos da Consulta de Oftalmologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa entre Outubro e Dezembro de 2008 e entre Abril e Julho de 2009. Foram incluídos no estudo 30 casos diagnosticados clinicamente como conjuntivite. Destes, 26 correspondiam a canídeos e 4 a felídeos.

As informações recolhidas na consulta foram obtidas através da anamnese e do exame clínico geral e oftalmológico. Este último incluiu a observação de estruturas oculares e peri-oculares à distância, medição da quantidade de lágrima produzida com teste de Schirmer, testagem da resposta de ameaça e dos reflexos corneano, pupilar directo e indirecto e palpebral, medição da PIO e finalmente, com a luz apagada, observação das estruturas intra-oculares, desde a córnea até à retina, com a lâmpada de fenda e o oftalmoscópio directo ou indirecto.

Após ter sido feito o diagnóstico diferencial entre conjuntivite e outras causas, nomeadamente as que também provocam “olho vermelho”, uveíte e glaucoma, preencheu-se uma “ficha oftalmológica” com as informações recolhidas na consulta (Anexo II).

Foram então consideradas 30 citologias conjuntivais, a partir das quais se fez uma avaliação microscópica do processo inflamatório em causa.

## II.2. Caracterização clínica da conjuntivite

Os 30 casos de conjuntivite apresentados neste estudo foram caracterizados clinicamente através da presença ou ausência dos seguintes parâmetros: prurido, hiperémia, epífora, corrimento ocular, quemose e queratite concomitante. Quando se verificava a presença de um determinado sintoma, este era classificado num dos seguintes graus: ligeiro, moderado ou severo (Tabela nº 2).

Tabela nº 2. Critérios para avaliação clínica da conjuntivite

Sintoma	Grau	Critério
Prurido	Ausente	Sem manifestações
	Ligeiro	Intermitente
	Moderado	Frequente
	Severo	Afecta as actividades diárias
Hiperémia	Ausente	Sem manifestações
	Ligeiro	Dilatação de alguns vasos
	Moderado	Dilatação de muitos vasos
	Severo	Impossível de distinguir vasos sanguíneos individuais
Epífora	Ausente	Sem manifestações
	Ligeiro	Olhos ligeiramente húmidos
	Moderado	Lacrimar eventual
	Severo	Lacrimar frequente
Corrimento Ocular	Ausente	Sem manifestações
	Seroso	Maior viscosidade do fluido lacrimal
	Mucoso	Fluido esbranquiçado
	Purulento	Fluido amarelo-esverdeado
Quemose	Ausente	Sem manifestações
	Ligeira	Edema parcial
	Moderada	Edema difuso, pouco acentuado
	Severa	Edema difuso, muito acentuado
Keratitis	Ausente	Sem manifestações
	Ligeiro	Lesões corneais pontuais, superficiais
	Moderado	Lesões corneais difusas, pouco profundas
	Severo	Lesões corneais difusas, muito profundas

### II.3. Recolha de material e processamento

Realizou-se uma anestesia tópica do olho com a instilação de uma gota de anestésico tópico (Oxibuprocaina, Anestocil®) e procedeu-se à contenção adequada do animal. Todas as amostras conjuntivais estudadas foram obtidas através da técnica de raspagem da conjuntiva com a parte romba de uma lâmina de bisturi esterilizada (Figura nº 9).

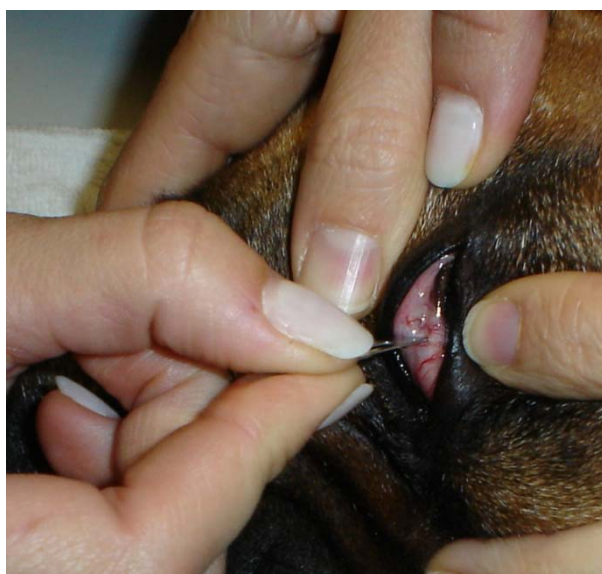
Após a exteriorização da conjuntiva palpebral inferior, fizeram-se quatro raspagens, sendo o material recolhido na última passagem espalhado numa lâmina de vidro. Repetiu-se o procedimento no mesmo olho e voltou a fazer-se um esfregaço na mesma lâmina numa zona diferente da inicial.

Figura nº 9. Raspagem da conjuntiva palpebral com parte romba de lâmina de bisturi (Original)

Figura nº 9A. Panorâmica geral



Figura nº 9B. Detalhe



Após uns minutos de secagem ao ar, procedeu-se à coloração da amostra recolhida, de acordo com o seguinte protocolo:

- 1) Metanol, durante 6 minutos.
- 2) Corante Giemsa (5 partes de tampão + 1 parte de corante), durante 6 minutos.
- 3) Água comum, lavagem com pouca pressão.
- 4) Secagem ao ar, durante cerca de 30 minutos

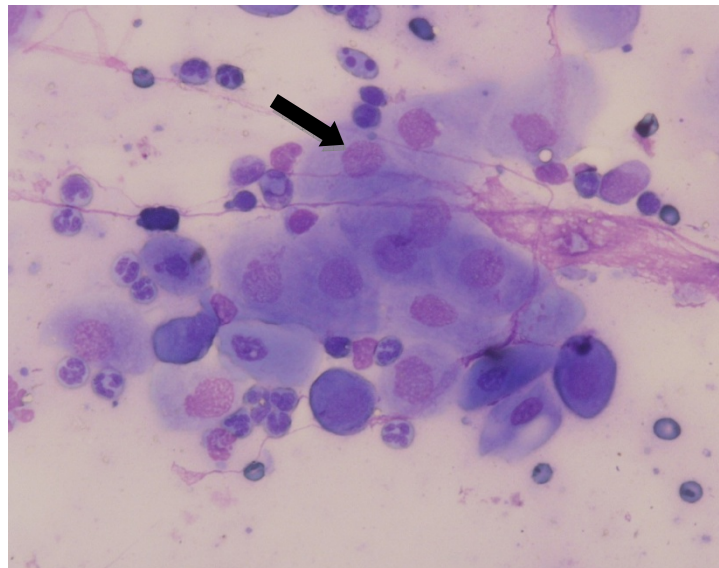
#### II.4. Contagem dos diferentes tipos celulares

A observação das lâminas foi efectuada com recurso a um microscópio fotónico de transmissão, modelo OLYMPUS BX 51 (Olympus America, Melville, New York).

Procedeu-se então à contagem dos diferentes tipos de células. Para efeitos deste estudo foram considerados dois tipos de células não-inflamatórias. Enunciam-se seguidamente os critérios que presidiram ao reconhecimento destas células:

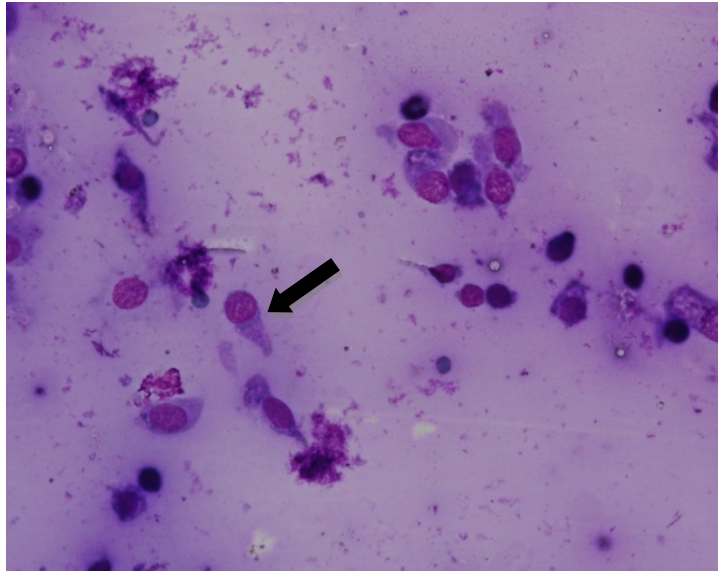
- Células epiteliais: apresentam como principal característica a esfoliação em agregados, devido à grande adesão intercelular. A forma das células é variável - redonda, poliédrica, cúbica ou colunar (Figura nº 10). O núcleo apresenta-se redondo a oval. As margens celulares são definidas (Fischer, 2008).

Figura nº 10. Células Epiteliais (seta) (Original).Giemsa; x400



- Células mesenquimatosas: surgem individualizadas; são alongadas (com caudas citoplasmáticas), com limites celulares pouco distintos e núcleo oval (Figura nº 11) (Fisher, 2008).

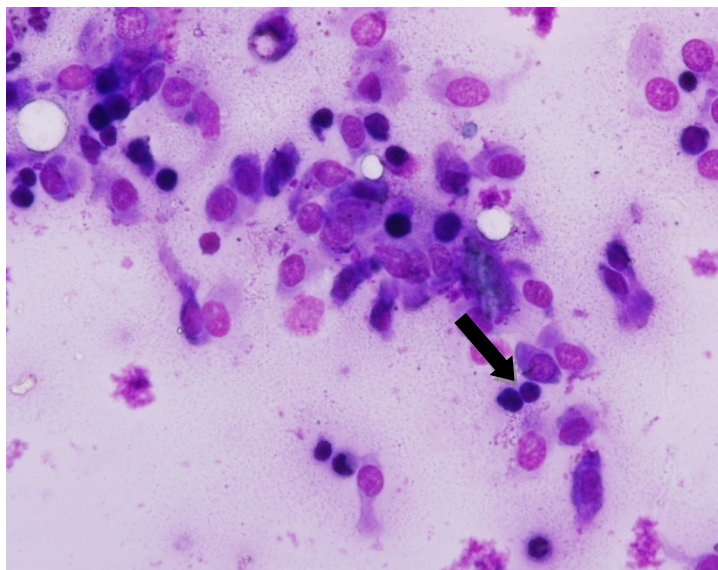
Figura nº 11. Células Mesenquimatosas (seta) (Original). Giemsa; x400



E quatro tipos de células inflamatórias (Adaptado de Pissarra, 2008):

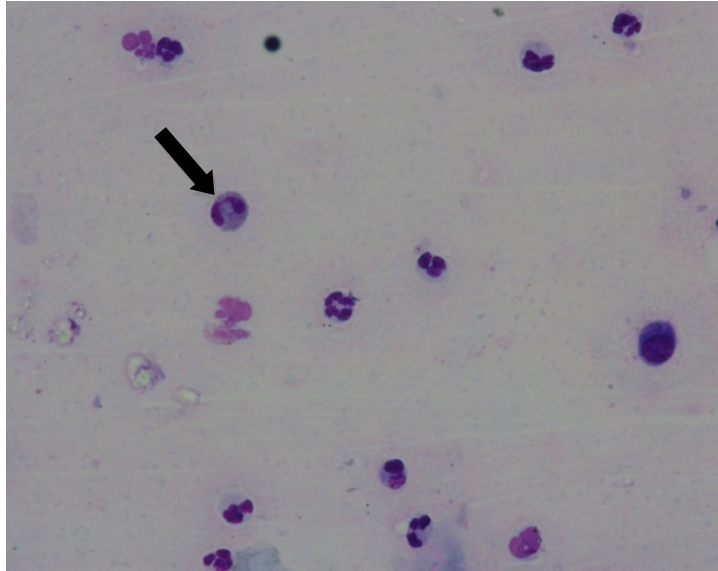
- Linfócitos: possuem núcleo de contorno circular, por vezes com pequena chanfradura, de aspecto homogêneo e cromatina condensada. Nos linfócitos o citoplasma é escasso surgindo como um halo basófilo perinuclear. As dimensões variam entre os 7 e os 10  $\mu\text{m}$  (Figura nº 12).

Figura nº 12. Linfócitos (seta) (Original). Giemsa; x400



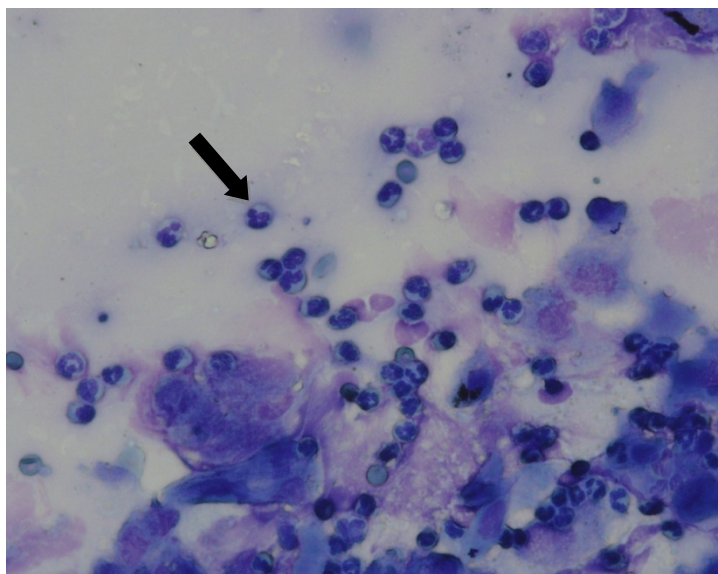
- Polimorfonucleares eosinófilos: possuem núcleo característico bilobado, podendo apresentar-se mais raramente trilobado. O citoplasma é caracterizado pela presença de grânulos grandes, redondos e acidófilos. As dimensões variam entre os 12 e os 16  $\mu\text{m}$  (Figura nº 13).

Figura nº 13. Eosinófilos (seta) (Original). Giemsa; x400



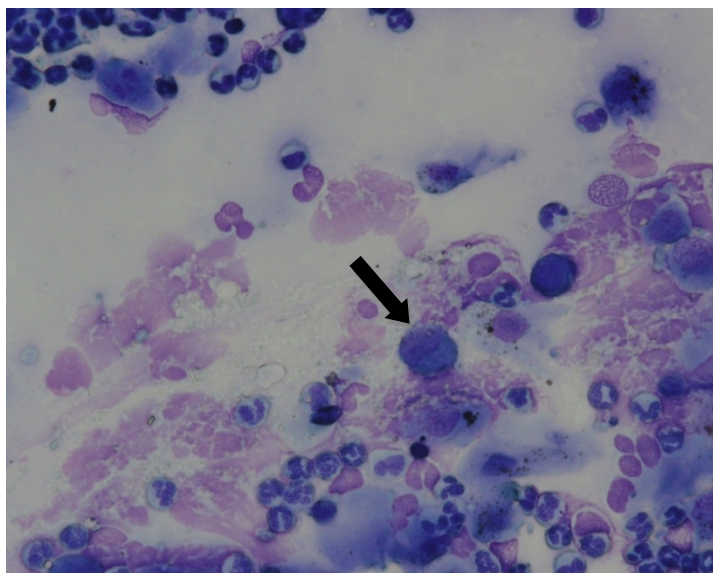
- Polimorfonucleares neutrófilos: possuem núcleo polilobado (dois a cinco lóbulos). O citoplasma possui grânulos azurófilos e acidófilos de dimensão pequena. As dimensões variam entre os 10 e os 12  $\mu\text{m}$  (Figura nº 14).

Figura nº 14. Neutrófilos (seta) (Original). Giemsa; x400



- Macrófagos: células grandes, arredondadas, com núcleo oval ou reniforme, de aspecto vesiculoso, de cromatina pouco condensada com um ou dois nucléolos. O citoplasma apresenta-se eosinófilo e finamente granuloso, contendo por vezes material fagocitado no seu interior (Figura nº 15).

Figura nº 15. Macrófagos (seta) (Original). Giemsa; x400



A contagem diferencial foi efectuada em fotografias digitais tiradas com ampliação de 400X (objectiva de ampliação de 10X e ocular de ampliação de 40X) e em resolução standard, através da câmara fotográfica OLYMPUS DP 11 (Vermont Optechs, Charlotte, USA) incorporada no microscópio OLYMPUS BX 51.

Em todas as citologias foram tiradas dez fotografias de campos diferentes, tentando evitar-se a sobreposição de campos e evitando assim a repetição da contagem das mesmas células em fotos distintas. Para uma contagem celular, recorreu-se ao programa informático de contagens *Image J – Image Processing and Analysis in Java*® (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) e aplicaram-se os seguintes critérios:

- As células cuja totalidade não se encontrava no interior do limite da fotografia foram rejeitadas.
- As células cuja morfologia não se enquadrasse nas características descritas anteriormente não foram contabilizadas.
- Todas as contagens foram realizadas na presença de um anátomo-patologista veterinário experiente, de forma a uniformizar a técnica e os critérios de contagem.

O registo de contagens foi efectuada em folha de cálculo com recurso ao programa *Excel 2007* do *Microsoft Office*® (Microsoft Corporation, USA).

## **II.5. Análise estatística**

A análise estatística dos resultados foi efectuada com recurso ao programa *Excel* 2007 do *Microsoft Office*® (Microsoft Corporation, EUA) (Anexo III). Os resultados obtidos são apresentados como média +/- desvio padrão.

## **CAPÍTULO III - RESULTADOS**

### III.1. Caracterização da amostra

O presente estudo contemplou a análise de uma amostra de 30 casos de conjuntivite, 4 dos quais (cerca de 15% do total) relativos à espécie felina e os restantes 26 (85% do total) à espécie canina (Gráfico nº 1).

A distribuição da amostra por sexo foi de 18 casos (60% do total) de sexo masculino e 12 de (40% do total) do sexo feminino. De destacar as diferenças significativas de distribuição da amostra por sexo no caso da espécie canina vs. espécie felina – 65% dos casos relativos a animais do sexo masculino no caso da espécie canina e apenas 25% no caso da espécie felina (Gráfico nº 2).

Gráfico nº 1. Decomposição da amostra por espécie

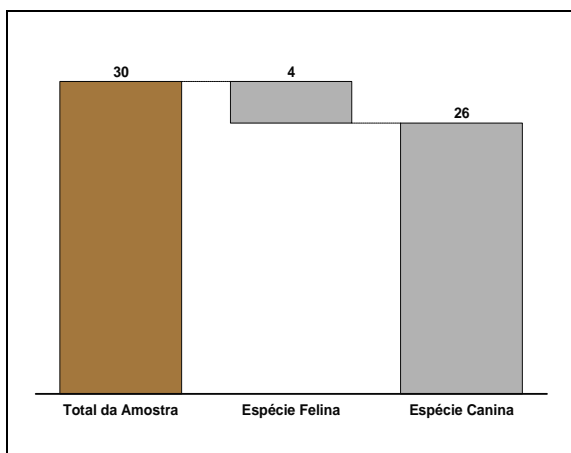
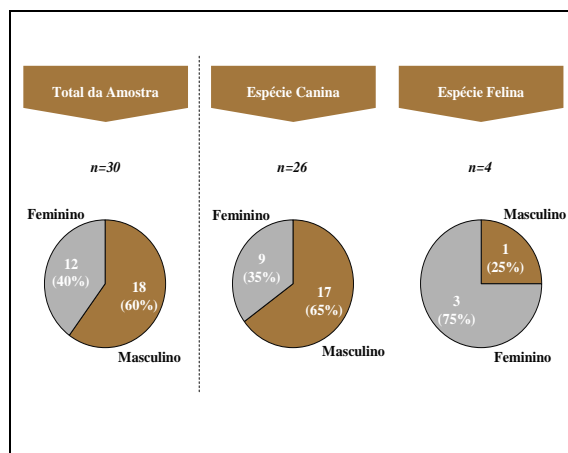


Gráfico nº 2. Distribuição da amostra por sexo



Já no que se refere à média de idades (e respectivo desvio-padrão), esta foi de 4,8 anos (+/- 3,7) para o total da amostra, com maior concentração nos intervalos de idade 0 a 2 anos, 5 a 6 anos, 7 a 8 anos e 10 ou mais anos (Gráfico nº 3).

A idade média na espécie canina é de 4,9 anos (+/- 3,8) e na espécie felina de 4,4 anos (+/- 3,0). No caso de animais do sexo masculino a média de idades é de 3,9 anos (+/- 3,3) e de 6,2 anos (+/- 3,9) no caso de animais do sexo feminino (Gráfico nº 4).

Gráfico nº 3. Distribuição da amostra por idade (n=30) (a castanho encontram-se os intervalos de idade mais representados na amostra)

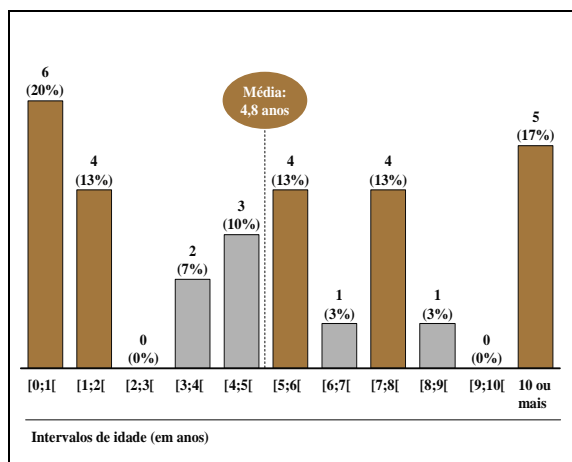
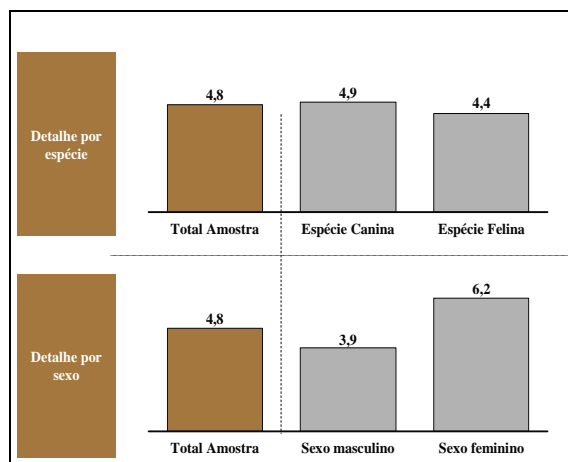
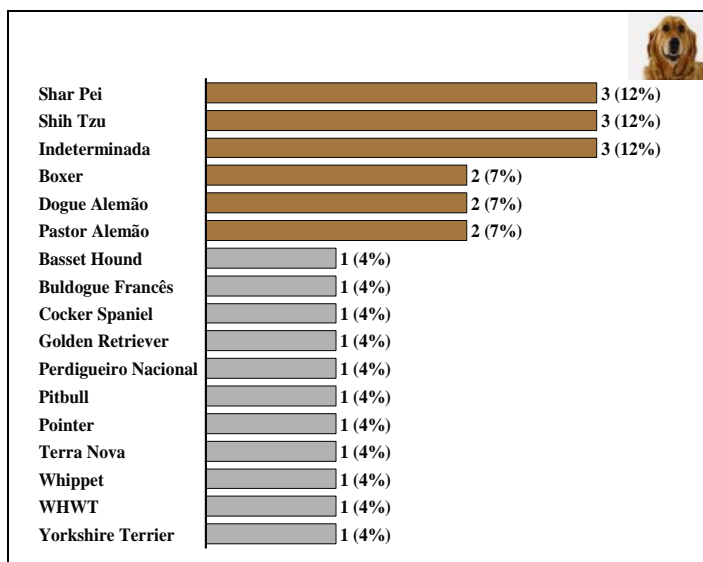


Gráfico nº 4. Média de idades do total da amostra e por espécie (idade em anos)



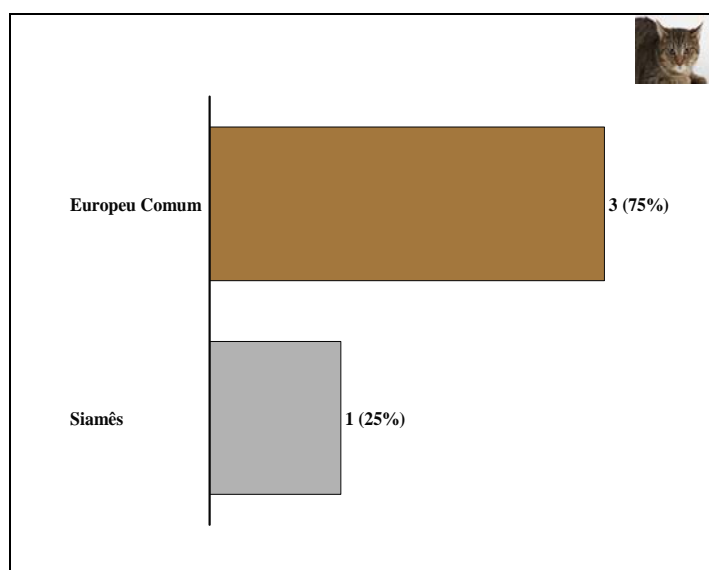
No caso da espécie canina, as raças mais representadas, com 3 casos cada (cerca de 12% do total da amostra da espécie canina) foram Shar Pei, Shih Tzu e Indeterminada com 3 casos cada e Boxer, Dogue Alemão e Pastor Alemão com 2 casos cada (cerca de 7% da referida amostra da espécie canina) (Gráfico nº 5).

Gráfico nº 5. Distribuição da amostra de espécie canina por raça (n=26) (a castanho encontram-se as raças mais representadas)



Já no caso da espécie felina, a quase totalidade dos casos pertencia à raça Europeu Comum (3 casos, ou 75% do total da amostra de espécie felina), sendo um destes cruzado de Siamês. O outro felino era da raça Siamesa (Gráfico nº 6).



Gráfico nº 6. Distribuição da amostra de espécie felina por raça  
(n=4) (a castanho encontra-se a raça mais representada)



### III.2. Classificação dos diferentes tipos de conjuntivite

Os casos de conjuntivite que integraram a amostra estudada foram divididos, com base em critérios etiológicos, em 8 tipos no caso da espécie canina e em 2 tipos no caso da espécie felina e de acordo com a seguinte árvore de classificação (Tabela nº 3):

Tabela nº 3. Árvore de classificação da conjuntivite observada na amostra estudada  
(n=30) (a castanho encontra-se o tipo de conjuntivite mais representado em cada espécie)

			Nº casos	% Total	% Espécie			
 Espécie Canina	Conjuntivite Primária	Infeciosa	Hemoparasitas			2	7%	8%
		Não-infecciosa	Agentes irritantes	1	3%	4%		
			Alérgica	3	10%	12%		
			Autoimune ( <i>Pannus</i> )	1	3%	4%		
	Conjuntivite Secundária	Bacteriana	1	3%	4%			
		Irritação mecânica	11	37%	42%			
		Queratoconjuntivite Seca (QCS)	3	10%	12%			
 Espécie Felina	Conjuntivite Primária	Problemas oculares (úlceras, glaucoma, uveíte)	4	13%	14%			
		Infeciosa	Viral			3	10%	75%
	Conjuntivite Secundária	Não-infecciosa	Eosinofílica			1	3%	25%
				0	0%	0%		

Do total de canídeos, 27% (7/26) apresentavam conjuntivite primária e 73% (19/26) exibiam conjuntivite secundária. Todos os felinos apresentavam uma conjuntivite primária.

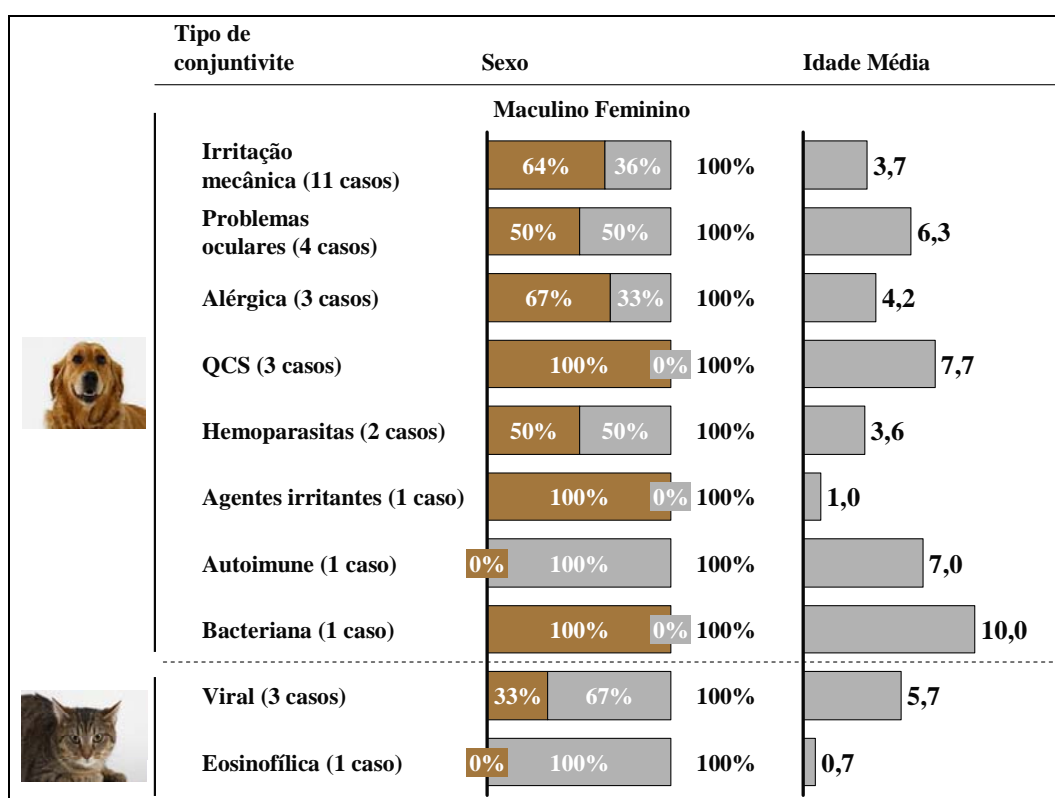
Como se pode constatar, no caso da espécie canina, os tipos de conjuntivite mais observados foram (1) conjuntivite secundária a irritação mecânica, com 11 casos observados (ou 42% do total da amostra da espécie canina) e (2) conjuntivite secundária associada a problemas intra-oculares, com 4 casos observados (ou 14% do total da amostra da espécie canina).

No que se refere à espécie felina, o tipo de conjuntivite mais observado foi a conjuntivite infecciosa viral, com 3 casos observados (ou 75% do total da amostra da espécie felina).

### III.3. Relação entre tipo de conjuntivite e sexo e idade

Não se verifica nenhuma relação entre o sexo e idade média e algum dos tipos de conjuntivite, até porque a amostra dentro de cada grupo é demasiado pequena para se poder constatar algo (Gráfico nº 7).

Gráfico nº 7. Distribuição do tipo de conjuntivite por sexo e idade, na espécie canina e felina  
Espécie canina (n=26); Espécie felina (n=4)




### III.4. Relação entre tipo de conjuntivite e a raça

A conjuntivite secundária (com 72% dos casos) predominou em relação à conjuntivite primária (com 28% dos casos).

As raças que apresentaram maior incidência de conjuntivite secundária foram o Shar Pei, o Shih Tzu e a raça Indeterminada, representando cerca de 12% dos casos cada uma (Tabela nº 4).

Tabela nº4. Distribuição do tipo de conjuntivite por raça na espécie canina  
(n=26)

Raça	Conjuntivite Primária				Conjuntivite Secundária				
	Infeciosa	Não-infeciosa			Bacteriana	Irritação mecânica	QCS	Problemas oculares	
	Hemo-parasitas	Agentes irritantes	Alérgica	Auto-imune					
Basset-Hound						1 (4%)			1 (4%)
Boxer						1 (4%)		1 (4%)	2 (8%)
Bulldogue Francês			1 (4%)						1 (4%)
Cocker Spaniel		1 (4%)							1 (4%)
Dogue Alemão						2 (8%)			2 (8%)
Golden Retriever					1 (4%)				1 (4%)
Pastor Alemão	1 (4%)			1 (4%)					2 (8%)
Perdigueiro Nac.	1 (4%)								1 (4%)
Pitbull							1 (4%)		1 (4%)
Pointer			1 (4%)						1 (4%)
Shar Pei						3 (12%)			3 (12%)
Shih Tzu						1 (4%)	1 (4%)	1 (4%)	3 (12%)
Terra Nova						1 (4%)			1 (4%)
Whippet			1 (4%)						1 (4%)
WHWT								1 (4%)	1 (4%)
Yorkshire Terrier						1 (4%)			1 (4%)
Indeterminada						1 (4%)	1 (4%)	1 (4%)	3 (12%)
Total	2 (8%)	1 (4%)	3 (12%)	1(4%)	1 (4%)	11 (42%)	3 (12%)	4 (16%)	26 (100%)



Todos os felídeos que integraram a amostra, apresentaram uma conjuntivite primária (Tabela nº 5).

Tabela nº 5. Distribuição do tipo de conjuntivite por raça na espécie felina  
(n=4)

Raça	Conjuntivite Primária		Conjuntivite Secundária	Total
	Infecciosa viral	Não-infecciosa		
Europeu comum	2 (50%)	1 (25%)		3 (75%)
Siamesa	1 (25%)			1 (25%)
<i>Total</i>	3 (75%)	1 (25%)	0 (0%)	4 (100%)



III.5. Relação entre o tipo de conjuntivite e as características clínicas

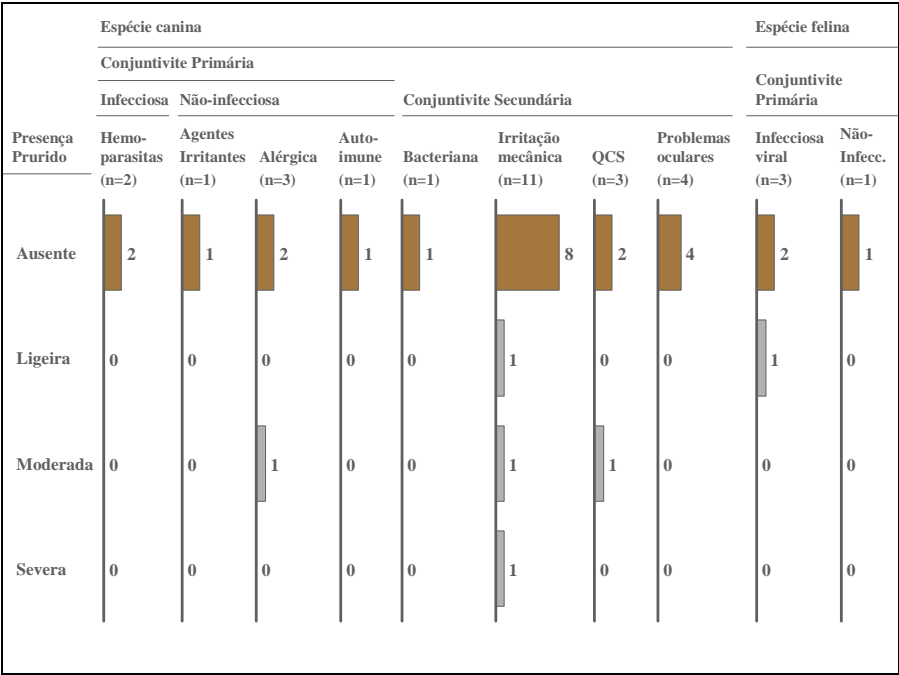
No que se refere às características clínicas avaliadas, foram estudados 6 parâmetros: o prurido, a hiperémia, a epífora, o corrimento ocular, a quemose e a queratite.

Prurido

O prurido foi o sintoma menos registado, com apenas 6 casos observados no total da amostra. O tipo de conjuntivite em cães que teve mais casos de prurido, com 3 casos (n=26) registados, foi a conjuntivite secundária a irritação mecânica (nomeadamente à presença de distiquíase, entrópion e ectrópion), que são processos que causam em geral bastante incómodo aos animais. Este grupo também era o mais representativo da amostra, o que pode justificar este facto.

Nos gatos, só um dos casos (n=4) com conjuntivite por Herpesvírus felino é que apresentou um prurido ligeiro (Gráfico nº 8A).

Gráfico nº 8A. Relação entre tipo de conjuntivite e prurido (a castanho encontra-se representado o grau de prurido mais representado para cada tipo de conjuntivite)



## Hiperémia

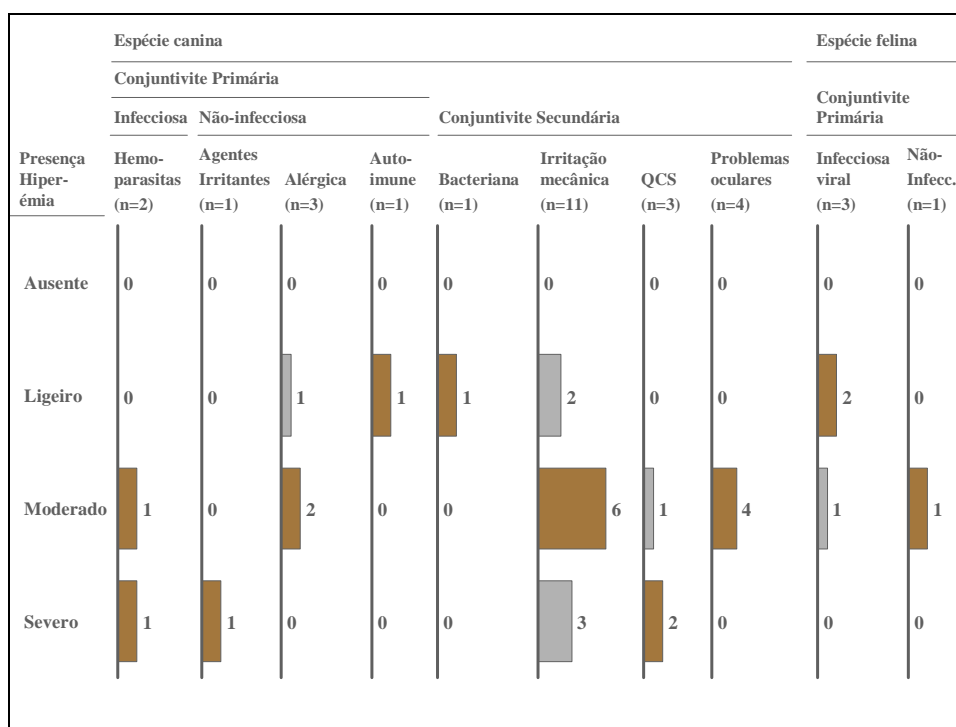
A hiperémia foi o sintoma mais observado, tendo mesmo sido o único que se registou em todos os casos (Gráfico nº 8B).

Nos canídeos, os casos de hiperémia severa foram registados na conjuntivite primária por Ehrlichia e por contacto com um químico, cada um com um caso registado (n=26), na conjuntivite secundária a irritação mecânica com 3 casos e na conjuntivite secundária a QCS, com 2 casos.

Nos felinos não se registaram casos de hiperémia severa.

A maioria dos casos que se apresentou à consulta (53% do total da amostra ou 16/30) apresentou uma hiperémia moderada.

Gráfico nº 8B. Relação entre tipo de conjuntivite e hiperémia (a castanho encontra-se representado o grau de hiperémia mais representado para cada tipo de conjuntivite)



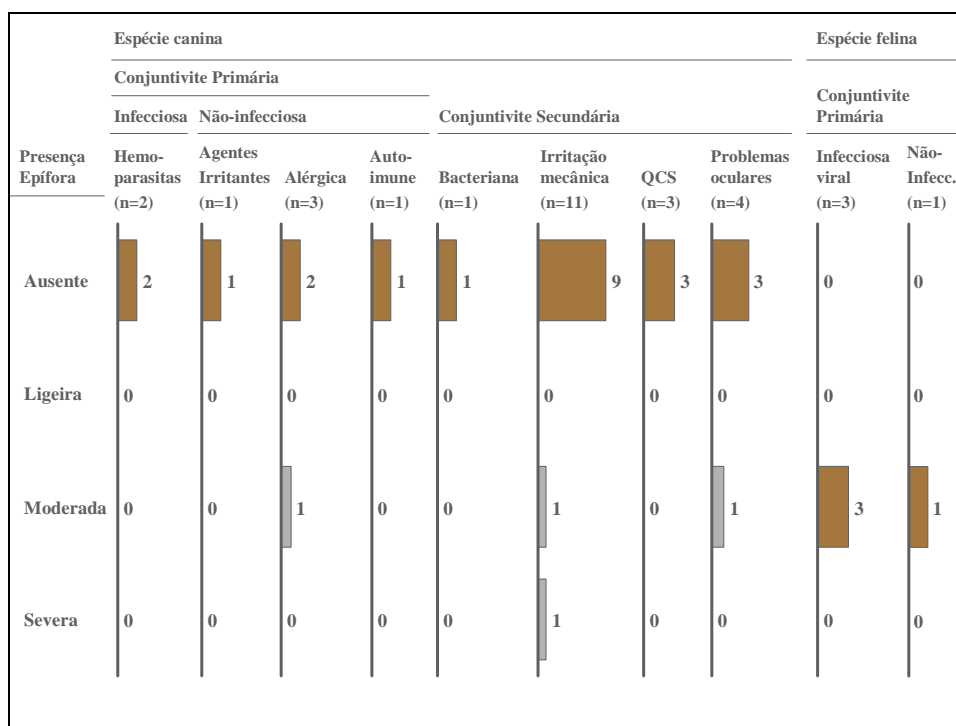
## Epífora

A epífora foi a segunda característica ocular menos observada na consulta, com apenas 8 casos observados do total da amostra (n=30) (Gráfico nº 8C).

A epífora estava presente num dos casos de conjuntivite alérgica, em dois casos de conjuntivite secundária associada a irritação mecânica e num caso de conjuntivite secundária associada a problemas oculares (neste caso devido a uma úlcera).

No caso dos gatos, a epífora foi registada em todos os casos e com grau moderado.

Gráfico nº 8C. Relação entre tipo de conjuntivite e epífora (a castanho encontra-se representado o grau de epífora mais representado para cada tipo de conjuntivite)

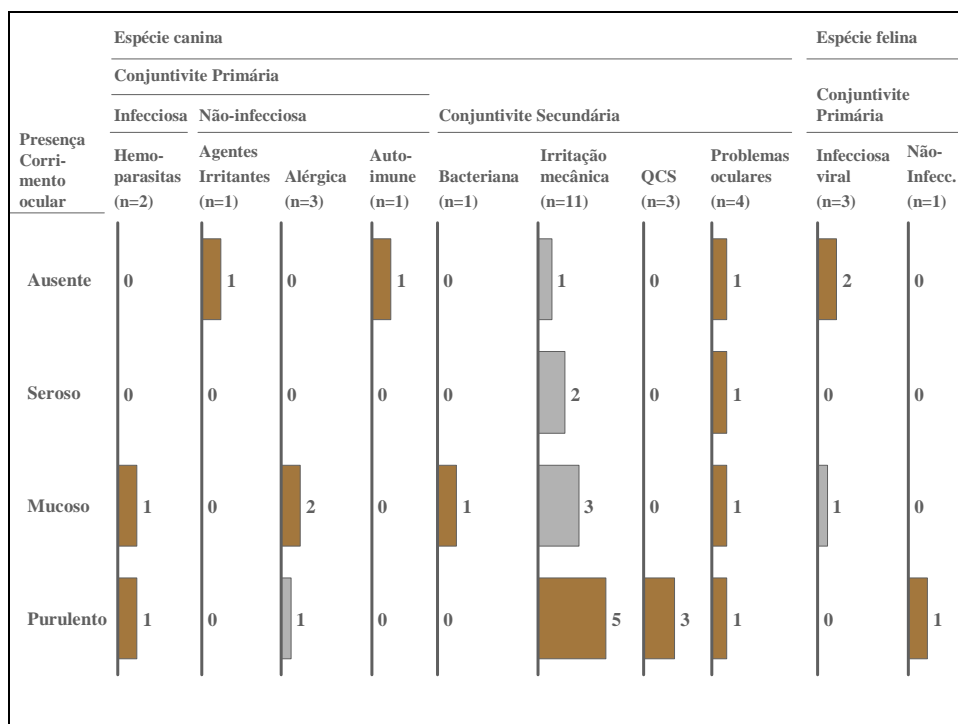


## Corrimento Ocular

Apenas 6 casos (n=30) do total da amostra não evidenciaram a presença de corrimento ocular (Gráfico nº 8D).

O tipo de corrimento purulento foi o mais observado nos canídeos, com 11 casos (n=26), enquanto que nos felídeos se registou 1 caso com corrimento mucoso e outro com purulento (n=4).

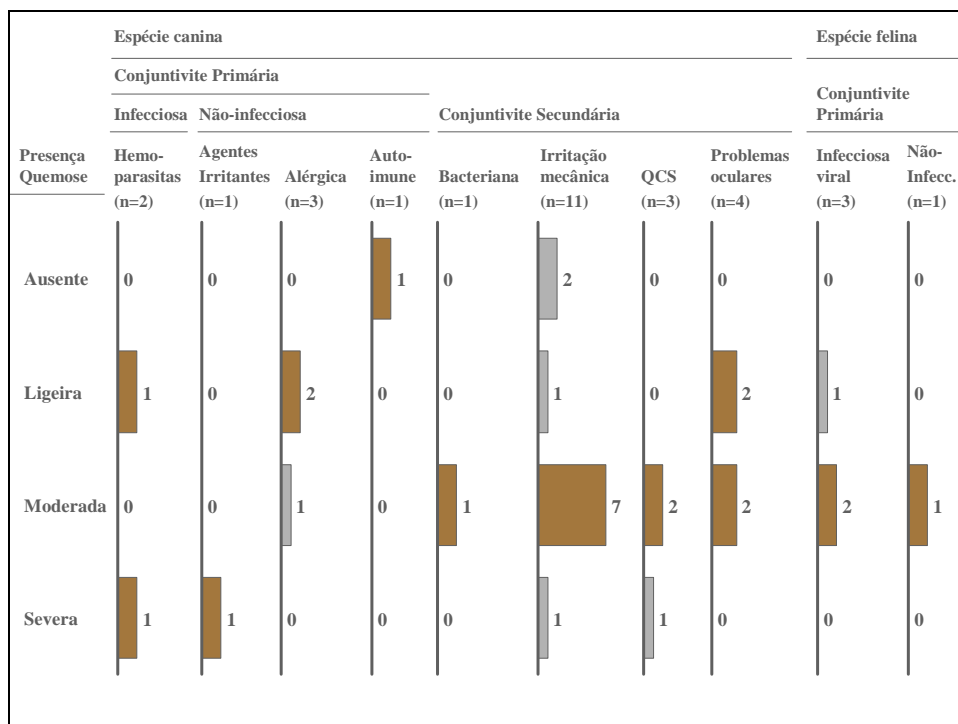
Gráfico nº 8D . Relação entre tipo de conjuntivite e corrimento ocular (a castanho encontra-se representado o tipo de corrimento ocular mais representado para cada tipo de conjuntivite)



## Quemose

A quemose só não esteve presente em 3 casos do total da amostra (n=30). A maioria dos casos apresentou uma quemose moderada, tanto nos cães (50% do total de canídeos) como nos gatos (75% do total de felinos) (Gráfico nº 8E).

Gráfico nº 8E. Relação entre tipo de conjuntivite e quemose (a castanho encontra-se representado o grau de quemose mais representado para cada tipo de conjuntivite)

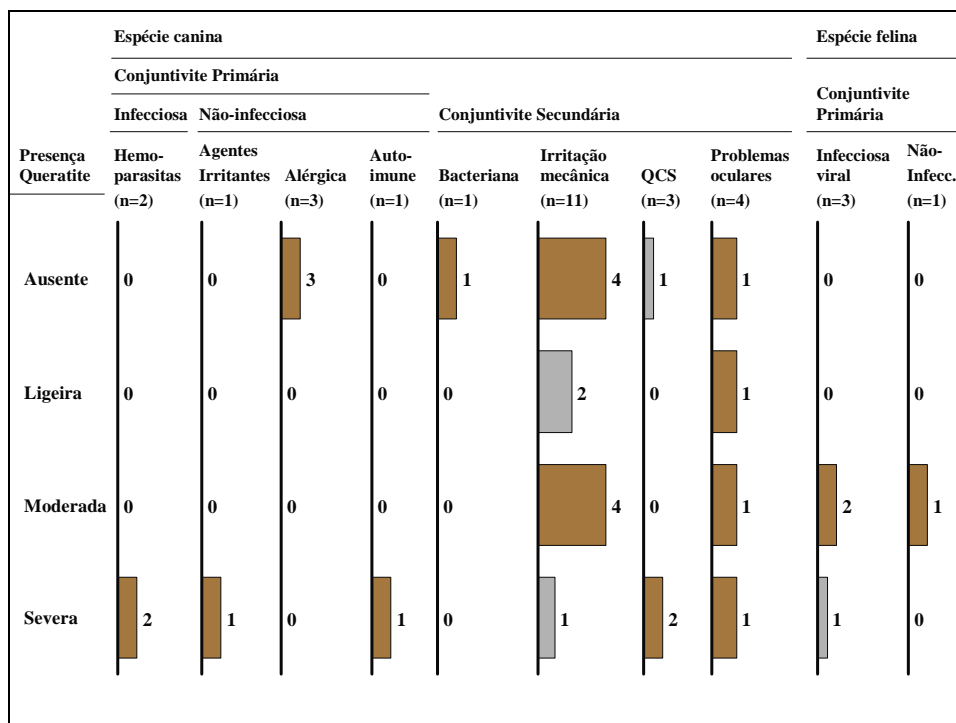


## Queratite

Nos canídeos, 16 casos (n=26) apresentavam queratite concomitante com a conjuntivite, embora em apenas 2 destes casos clínicos o problema da córnea, nomeadamente uma úlcera, tenha estado realmente na origem do processo inflamatório na conjuntiva.

Todos os felinos (n=4) apresentavam queratite (Gráfico n° 8F).

Gráfico n° 8F. Relação entre tipo de conjuntivite e queratite (a castanho encontra-se representado o grau de queratite mais representado para cada tipo de conjuntivite)



## III.6. Relação entre o tipo de conjuntivite e as células presentes

### III.6.1. Células não-inflamatórias

- As células epiteliais foram registadas em todas as preparações, tanto nos canídeos como nos felídeos.
- As células mesenquimatosas foram apenas registadas em 4 casos nos canídeos (n=26) e em 2 casos nos felídeos (n=4). Todos os casos registados nos canídeos apresentavam uma conjuntivite secundária a irritação mecânica. Os dois felídeos em que foram encontradas células mesenquimatosas tinham uma conjuntivite herpética.

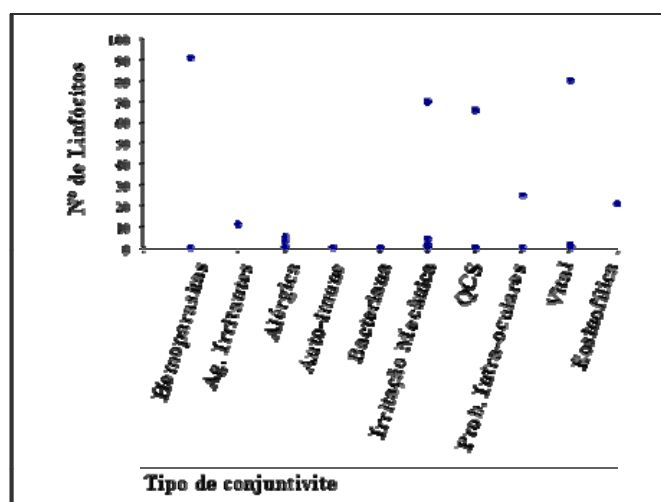
### III.6.2. Células inflamatórias

#### Linfócitos

Foram encontrados linfócitos em todos os tipos de conjuntivite (Gráficonº 9A). Nos canídeos, os tipos de conjuntivite em que se verificou maior número de linfócitos foram a conjuntivite primária infecciosa por Ehrlichia e as conjuntivites secundárias a irritação mecânica e a QCS, cada uma com um caso. Apenas no último caso, os linfócitos foram o tipo de célula predominante.

Nos felinos (n=4), os linfócitos foram encontrados em 2 dos 3 casos de conjuntivite por Herpesvírus felino, com valores muito díspares: num caso com 80 células (sendo a célula predominante) e no outro apenas com uma célula. No caso de conjuntivite eosinofílica foi encontrado um número significativo de linfócitos.

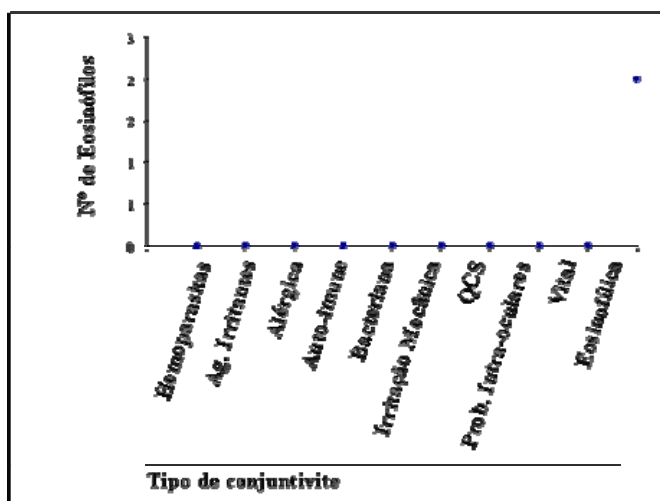
Gráfico nº 9A. Relação entre o tipo de conjuntivite e número de linfócitos: a conjuntivite canina por hemoparasitas e felina viral foram os tipos de conjuntivite onde se verificou a presença de maior número de linfócitos



## Eosinófilos

Os eosinófilos foram o tipo de célula menos encontrado, tendo apenas sido contabilizadas duas células numa lâmina correspondente à conjuntivite eosinofílica felina (Gráfico nº 9B). Era o tipo de célula que se encontrava em menor quantidade mesmo nesta lâmina

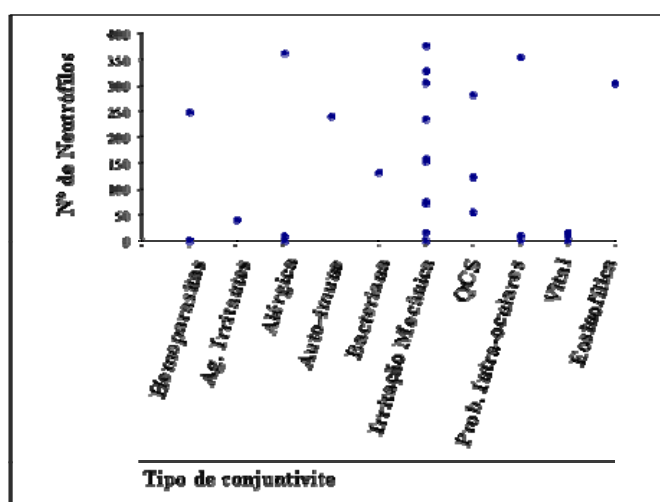
Gráfico nº 9B. Relação entre o tipo de conjuntivite e número de eosinófilos: a conjuntivite eosinofílica felina foi o único tipo de conjuntivite onde se verificou a presença de eosinófilos



## Neutrófilos

Os neutrófilos foram o tipo de célula inflamatória mais contabilizado, o que confirma a teoria de que os neutrófilos são as células predominantes nas inflamações oculares (Chigbu, 2008). Em todos os tipos de conjuntivite foram encontrados neutrófilos. Apenas num caso de um canídeo com conjuntivite secundária a QCS os neutrófilos não eram o tipo de célula predominante (Gráfico nº 9C). Há uma clara associação entre a grande quantidade de neutrófilos e a presença de bactérias.

Gráfico nº 9C. Relação entre o tipo de conjuntivite e número de neutrófilos: os neutrófilos estavam presentes em todos os tipos de conjuntivite, tendo sido o tipo de célula inflamatória mais registado



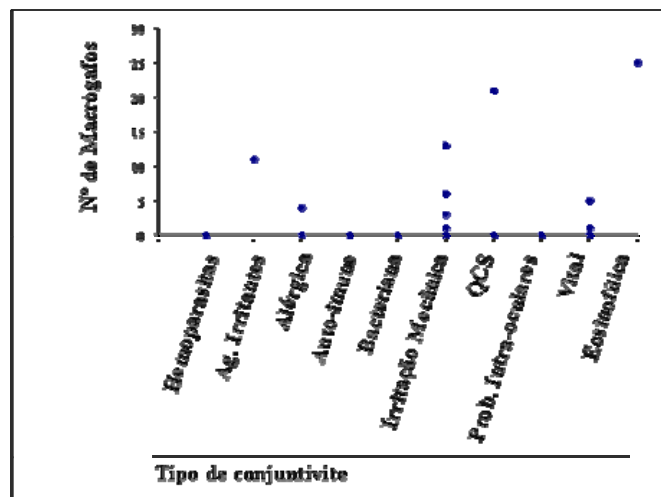
## Macrófagos

Os macrófagos foram o segundo tipo de célula menos encontrado (Gráfico nº9D).

Nos canídeos (n=26), foram encontrados macrófagos no único caso de conjuntivite primária por agentes irritantes, num dos casos de conjuntivite alérgica, em quatro dos casos de conjuntivite secundária a irritação mecânica e num dos casos de conjuntivite secundária a QCS.

Nos felinos (n=4), foram encontrados em dois dos três casos com Herpesvírus felino e no caso de conjuntivite eosinofílica.

Gráfico nº 9D. Relação entre o tipo de conjuntivite e número de macrófagos: os tipos de conjuntivite em que foi registado um maior número de macrófagos foram a QCS canina e a conjuntivite eosinofílica felina



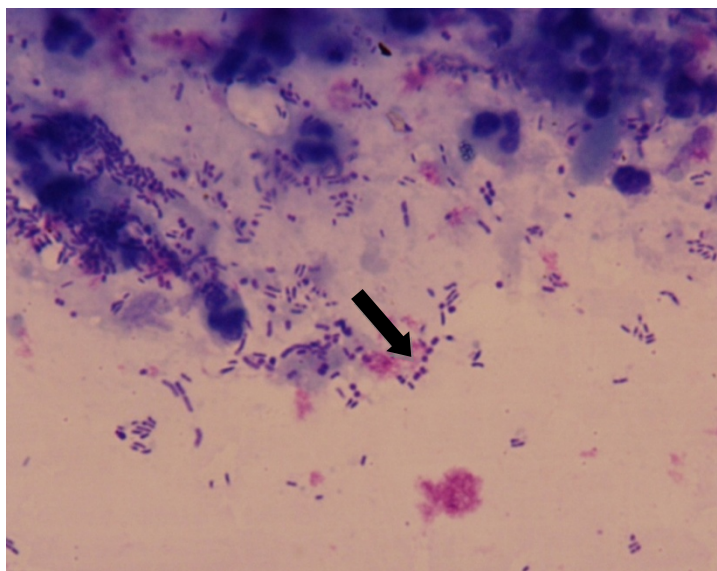
## Outras células

Para além das células inflamatórias anteriores, foi registada a presença de um plasmócito num dos casos de conjuntivite secundária a irritação mecânica.

### III.7. Presença de agentes microbianos

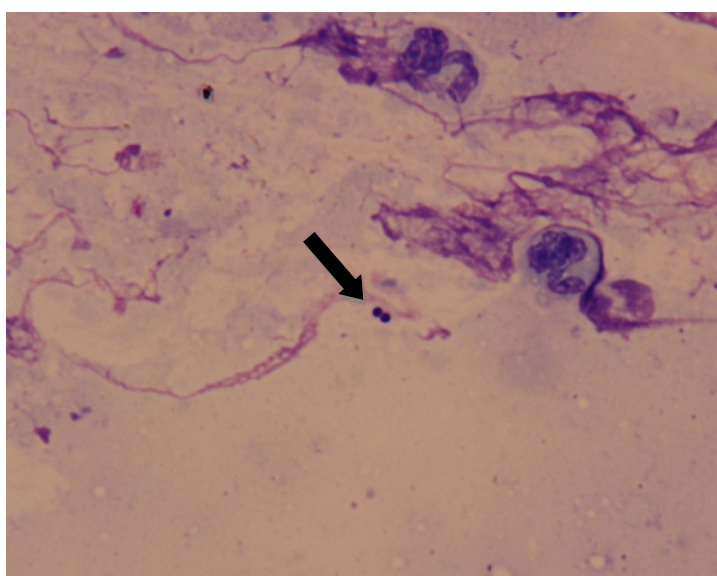
Foi registada a presença de bactérias em 13 amostras conjuntivais de canídeos (n=26) e num caso de um felino (Figura nº16).

Figura nº 16. Presença de grande quantidade de bactérias (cocos e bacilos) (seta) em citologia de conjuntiva palpebral (Original). Giemsa, x1000



Foi registada a presença de *Malassezia* spp. ao nível da conjuntiva, num cão com conjuntivite alérgica (Figura nº 17).

Figura nº 17. Presença de *Malassezia* spp. (seta) em citologia de conjuntiva palpebral (Original). Giemsa, x1000



### III.8. Relação entre o tipo de conjuntivite e o tipo de corrimento ocular

Tabela nº 6. Relação entre nº de neutrófilos, presença de bactérias e tipo de corrimento ocular

Caso	Nº de Neutrófilos	Presença de bactérias	Corrimento ocular	
			Classificação dada	Reclassificação
2	248	Sim	Purulento	Purulento / Mucopurulento
3	40	Não	Purulento	
6	362	Sim	Purulento	
8	132	Sim	Mucoso	
9	235	Sim	Purulento	
11	76	Sim	Mucoso	
12	377	Sim	Purulento	
14	157	Não	Mucoso	
15	305	Sim	Purulento	
16	153	Sim	Purulento	
18	328	Sim	Mucoso	
19	71	Não	Ausente	
23	355	Sim	Purulento	
24	54	Não	Purulento	
25	123	Sim	Purulento	
26	282	Sim	Purulento	
30	303	Sim	Purulento	

Em 17 casos de canídeos (n=26) (com mais de 80% de neutrófilos ou que apresentavam uma carga leucocitária elevada ao microscópio), que microscopicamente fariam supor que haveria um corrimento ocular mucopurulento ou purulento, apenas 12 casos tinham sido realmente classificados na clínica como corrimento purulento. Em 4 destes casos o corrimento tinha sido considerado como mucoso e num deles não foi registado qualquer tipo de corrimento.

Com base na avaliação do exame citológico procedeu-se à reclassificação do tipo de corrimento ocular nesses 5 canídeos.

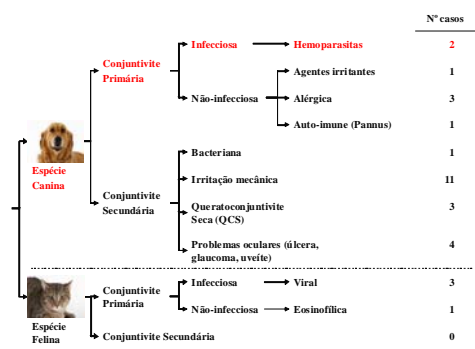
De esperar seria também a presença de agentes bacterianos nos mesmos 17 casos considerados, não tendo sido possível verificar a sua presença ao microscópio, em 4 destes casos (Tabela nº 6).

## **CAPÍTULO IV – DISCUSSÃO**

IV.1. Discussão sobre os diferentes tipos de conjuntivite

IV.1.1. Conjuntivite canina

IV.1.1.1. Conjuntivite primária, infecciosa, por hemoparasitas (Ehrlichia e Rickettsia)



A infecção com *Rickettsia rickettsii* está frequentemente associada a lesões oculares da conjuntiva. A evidência de conjuntivite geralmente começa com um pico de febre. Os sintomas apresentados pelo caso registado neste trabalho foram hiperémia e quemose severas, corrimento ocular purulento e uma queratite associada, características estas que correspondem às descritas pela bibliografia (Figura nº 18). As hemorragias petequiais também podem estar presentes (Gelatt, 1999). No nosso caso, a infecção por *Rickettsia* foi diagnosticada através de análises sanguíneas, sendo o único sinal que o animal apresentava que justificava uma lesão ao nível da conjuntiva. No entanto, sabe-se que nos testes feitos em Portugal há muitos falsos positivos em relação à presença deste parasita (Vicente, G., comunicação pessoal). O exame citológico mostrou-se muito acelular, só tendo sido registadas células epiteliais.

Figura nº 18. Conjuntivite por *Rickettsia* em canídeo: hiperémia e quemose severas, corrimento ocular purulento e queratite associada (Original)

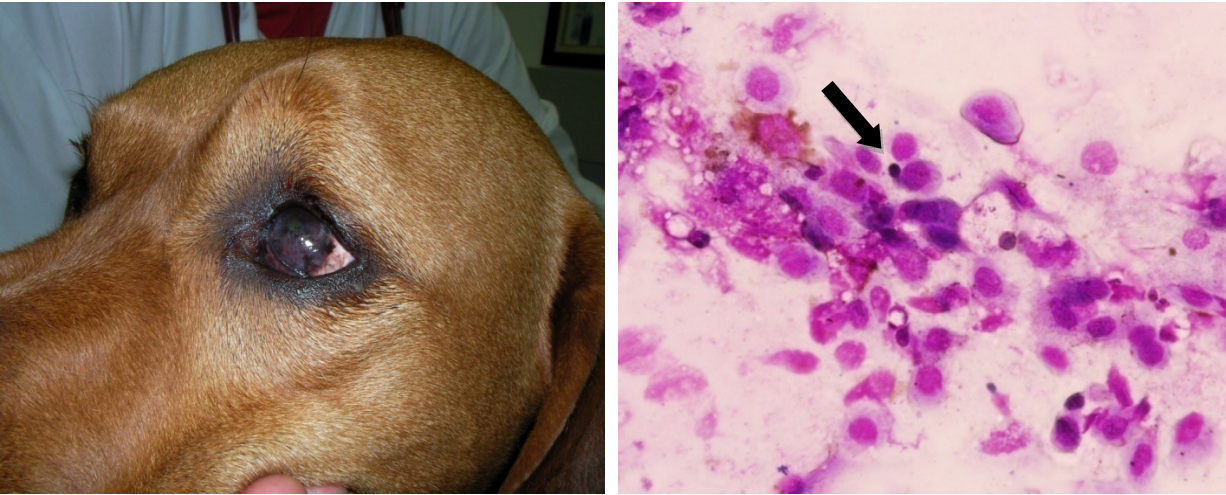


A conjuntivite por Ehrlichia manifestou-se através de hiperémia moderada, corrimento mucoso e queratite associada (Figura nº 19A). Na bibliografia está descrito corrimento ocular seroso e hemorragias conjuntivais, para além de outras lesões intra-oculares (Gelatt, 1999). A detecção de mórulas do agente infeccioso através da citologia é geralmente negativa (Roze, 2005). No exame citológico observaram-se abundantes neutrófilos (sendo a célula predominante) e linfócitos. Verificou-se ainda uma infecção bacteriana, provavelmente secundária, que não tinha sido detectada durante o exame oftalmológico, provavelmente mascarada pela cronicidade da terapêutica médica tópica (de 1 ano) (Figura nº 19B).

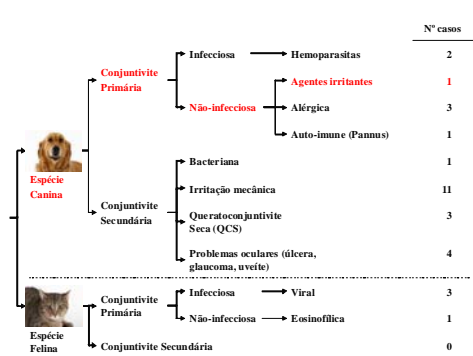
Figura nº19 . Conjuntivite por Ehrlichia em canídeo (Original)

Figura nº 19A. Hiperémia moderada, corrimento mucoso e queratite associada

Figura nº 19B. Citologia conjuntival: verifica-se uma predominância de células epiteliais (setas) (Giemsa; x400)



IV.1.1.2. Conjuntivite primária, não-infecciosa, por agentes irritantes



O animal que integra este grupo apresentava história de contacto com agentes irritantes (nomeadamente químicos). Ao exame o animal apresentava uma conjuntivite granulomatosa grave, caracterizada por uma hiperémia e uma quemose conjuntival severa e uma queratite grave associada (Figura nº 20A) Ao microscópio verificou-se a existência de uma

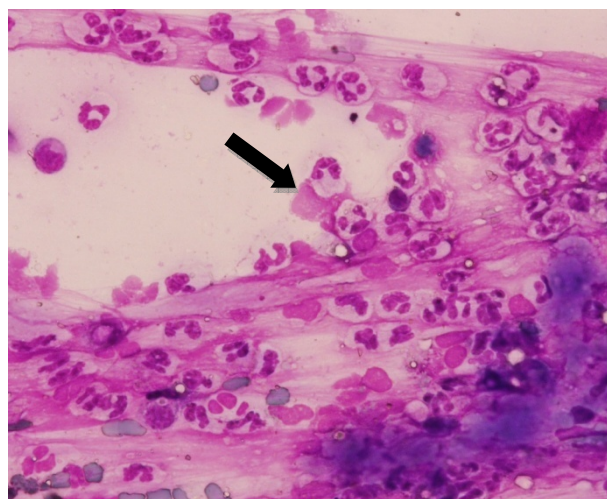
inflamação piogranulomatosa, com grande quantidade de neutrófilos e macrófagos, mostrando mais uma vez ser uma ferramenta que permite fazer um diagnóstico mais preciso. Estavam ainda presentes alguns linfócitos (Figura nº 20B).

Figura nº 20. Conjuntivite provocada por agente irritante (Original)

Figura nº 20A. Hiperémia e quemose severas e queratite grave associada



Figura nº 20B. Citologia conjuntival em que se verificou a presença de grande quantidade de neutrófilos degenerados (seta) (Giemsa; x400)



#### IV.1.1.3. Conjuntivite primária, não-infecciosa, alérgica

		Nº casos
Espécie Canina	Conjuntivite Primária	
	Infecciosa	2
	Não-infecciosa	
	Agentes irritantes	1
	Alérgica	3
	Auto-imune (Pannus)	1
Espécie Felina	Conjuntivite Secundária	
	Bacteriana	1
	Irritação mecânica	11
	Queratoconjuntivite Seca (QCS)	3
	Problemas oculares (úlcera, glaucoma, uveíte)	4
Espécie Felina	Conjuntivite Primária	
	Infecciosa	3
	Não-infecciosa	1
Conjuntivite Secundária		0

A conjuntivite alérgica ocorre frequentemente no cão e é muitas vezes uma componente da dermatite atópica. A conjuntiva encontra-se geralmente hiperémica e quemótica e pode haver prurido intenso (por causa da desgranulação dos mastócitos que envolvem o olho) (Martin, 2005). Uma descarga ocular serosa está também muitas vezes presente (Gelatt, 1999). Os cães

com atopia podem apresentar epífora e sinais leves de inflamação conjuntival (Peiffer, 2002). Com estimulação crónica, desenvolvem-se folículos conjuntivais. A história, o exame físico e testes intradérmicos são usados para fazer o diagnóstico de atopia no cão. Os resultados de citologia e histopatologia nas raspagens conjuntivais e nas amostras de biópsia, respectivamente, podem sugerir a presença de resposta alérgica. Encontrar um eosinófilo no exame citológico de uma raspagem conjuntival é considerado diagnóstico definitivo de processo alérgico. Os plasmócitos e os linfócitos são, no entanto, mais frequentemente vistos nas respostas alérgicas no cão.

Quemose intensa e blefaredema podem ocorrer como uma reacção do tipo imediata, mediada por histamina e imunoglobulina E, após absorção de comida, administração de fármacos e picadas de abelhas, insectos ou aranhas. A quemose é geralmente bilateral e a área de trauma (se causada por um insecto) é raramente identificada e pode mesmo encontrar-se distante dos olhos (Gelatt, 1999).

A conjuntivite alérgica causada por alergenos ou irritantes crónicos também ocorre em gatos. Prurido ocular e pestanejar frequentes podem ocorrer paralelamente à conjuntivite. A causa primária pode ser difícil de determinar.

O primeiro caso que integrou este grupo era de um Whippet, que apareceu à consulta com história de conjuntivites bilaterais recorrentes há três anos (Figura nº 21). Foram excluídas as causas infecciosas. O animal apresentava quemose e hiperémia ligeiras, um grau de epífora considerável e corrimento ocular mucoso. Ficou a suspeita de que uma componente alérgica estaria na origem da conjuntivite. O exame microscópico confirmou a presença de grande quantidade de mucos. A lâmina era muito acelular, tendo apenas sido verificada a presença de macrófagos e em baixo número. Não foi possível, neste caso, estabelecer um diagnóstico definitivo, nem através das análises, nem do exame clínico nem do exame citológico.

Figura nº 21. Conjuntivite alérgica: hiperémia e quemose ligeiras, epífora moderada e corrimento ocular mucoso (Original)



O segundo caso era de um Bulldogue Francês, com história de piodermites recorrentes crónicas (Figura nº 22A). Os exames citológicos cutâneos não foram conclusivos, indicando apenas uma contaminação bacteriana e por *Malassezia*, provavelmente secundárias. O processo atingiu entretanto os olhos, apresentando a conjuntiva os seguintes sintomas: hiperémia e quemose moderadas, prurido moderado e corrimento ocular purulento (Figura nº 22B). Os neutrófilos estavam presentes em grandes quantidades sendo o tipo celular predominante, e os linfócitos, embora presentes, estavam em número muito reduzido (Figura nº 22C). O mesmo tipo de agentes microbianos que tinham sido encontrados na pele foi detectado na conjuntiva: bactérias e *Malassezia*. Esta levedura, que faz parte da flora

comensal da pele, pode tornar-se patogénica quando existe uma alteração no microclima da superfície da pele ou quando ocorre um processo de defesa do hospedeiro (Guillot & Bond, 1999 citado por Prado, Brito, Girão, Monteiro, Sidrim & Rocha, 2003). O mesmo poderá ter-se verificado ao nível da conjuntiva palpebral.

Figura nº 22. Conjuntivite alérgica (Original)

Figura nº 22A. Bulldogue Francês com história de  
piodermites recorrentes crónicas

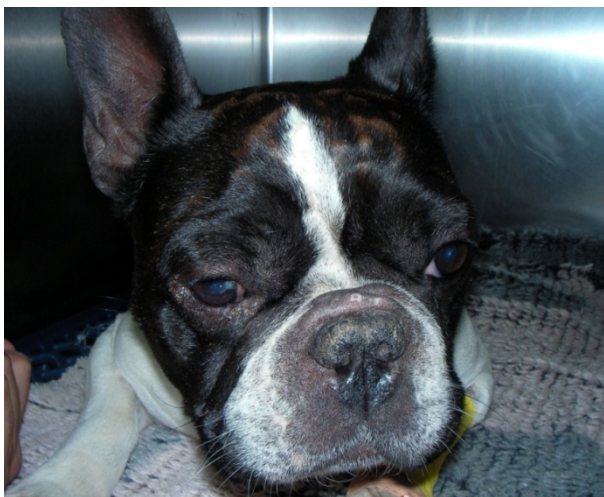
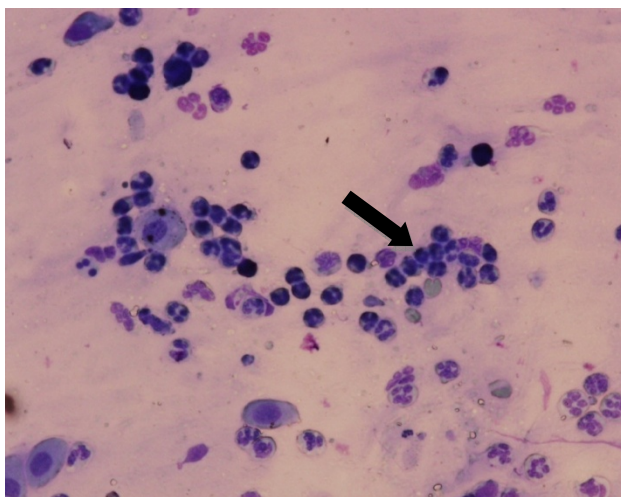


Figura nº 22B. Hiperémia, quemose e prurido  
moderados e corrimento ocular purulento



Figura nº 22C. Citologia conjuntival: grande quantidade de neutrófilos pouco degenerados (seta)  
(Giemsa; x400)



Há um tipo de conjuntivite, a conjuntivite folicular, que na nossa classificação foi colocada na conjuntivite alérgica já que é uma resposta não-específica a estimulação antigénica crónica, mas que em alguma bibliografia de oftalmologia é considerada uma entidade isolada com as suas características próprias (Gelatt, 1999). Pode, no entanto, ser também provocada por estimulação mecânica crónica. É caracterizada pela presença de folículos linfóides hipertróficos disseminados pela superfície da membrana nictitante e dos fórnices conjuntivais

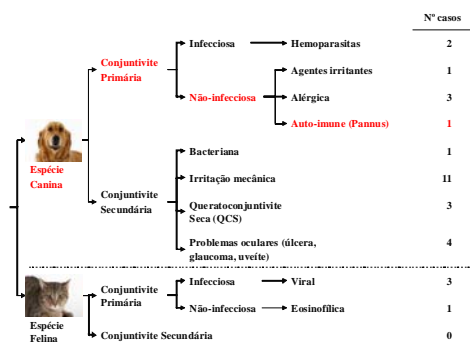
(Peiffer, 2002). Na opinião de Slatter (2001) esta condição não existe como uma condição separada, sendo os folículos linfóides o resultado de uma estimulação antigénica cuja fonte deve ser eliminada. Jackson e Corstvet (1997) mostraram que a formação de folículos não é secundária a causas virais ou bacterianas (Gelatt, 1999). Opinião contrária tem Stades (1998), que refere que os folículos se podem desenvolver como resultado de uma infecção viral. Frequentemente estão presentes hiperémia da conjuntiva e uma descarga ocular mucosa concorrente. A presença de múltiplos folículos parece causar irritação leve e secreção mesmo uma vez desaparecido o estímulo inicial (Peiffer, 2002).

O diagnóstico é feito com base nos sinais clínicos característicos. Os resultados citológicos das raspagens conjuntivais irão confirmar o diagnóstico revelando a natureza linfóide dos folículos.

O diagnóstico e tratamento envolvem a interrupção de toda a medicação por uma semana. Se não houver uma melhoria significativa, mais exames diagnósticos, tais como uma raspagem conjuntival ou biópsia devem ser realizados (Gelatt, 1999).

O caso que nos apareceu à consulta era de um Pointer, com 7 meses e meio e com uma conjuntivite folicular na terceira pálpebra. Estas situações não são invulgares nos animais jovens já que estes ainda não têm o seu sistema imunitário completamente desenvolvido. Apresentava uma hiperémia e quemose moderadas e um corrimento ocular mucoso. Foram detectadas muito poucas células inflamatórias na preparação, nomeadamente linfócitos e neutrófilos.

#### IV.1.1.4. Conjuntivite primária, não-infecciosa, auto-imune



A queratite superficial crónica (*Pannus*), é uma doença da córnea dos cães, inflamatória, progressiva bilateral e com potencial para causar cegueira. É também conhecida como o “*Pannus* do Pastor Alemão”, embora possa ocorrer em qualquer raça (Gelatt, 1999). Alguma, ou toda a conjuntiva, o limbo, a córnea e a terceira pálpebra podem estar envolvidos (Peterson-

Jones & Crispin, 2006). Clinicamente, o *Pannus* manifesta-se inicialmente no limbo temporal ou temporal inferior, como uma lesão conjuntival avermelhada e vascularizada. Cedo na doença ocorrem vascularização e pigmentação da córnea temporal que vai progredindo para a zona central da mesma. Alguns cães com esta doença também desenvolvem engrossamento e pigmentação concorrente da superfície palpebral da membrana nictitante.

A etiologia desta doença ainda não foi determinada, mas tudo indica que é uma doença imuno-mediada. O aumento na actividade de mastócitos, assim como o facto dos cães que têm esta doença desenvolverem uma resposta de hipersensibilidade a proteínas da córnea, sugerem o envolvimento de um mecanismo imuno-mediado. Para além disso, está demonstrado que a doença pode ser controlada com a administração tópica de corticosteroides, ciclosporinas A ou ambas (Gelatt, 1999).

Factores predisponentes incluem a luz ultravioleta, a altitude e, possivelmente, factores irritativos tais como o fumo (Peterson-Jones & Crispin, 2006).

Os sinais clínicos são geralmente suficientes para que se faça um diagnóstico de *Pannus*, mas é importante fazer o diagnóstico diferencial de QCS, que pode ter uma apresentação semelhante, quando em estado avançado (Gelatt, 1999).

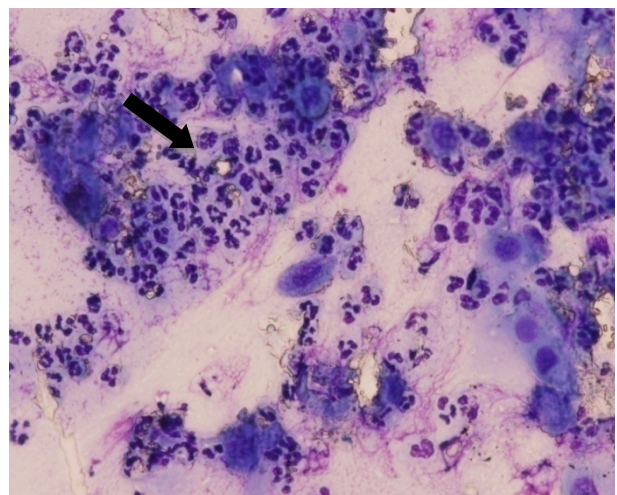
O caso que representa este grupo, é exactamente de um Pastor Alemão de 7 anos de idade, que foi incluído na amostra devido à hiperémia ligeira que apresentava. Revelava ainda uma queratite severa, característica do estado avançado desta patologia (Figura nº 23A). Ao exame citológico revelou grande quantidade de neutrófilos, sugestiva de infecção bacteriana grave, provavelmente secundária, que não terá sido detectada durante o exame oftalmológico (Figura nº 23B).

Figura nº 23. Conjuntivite auto-imune (Original)

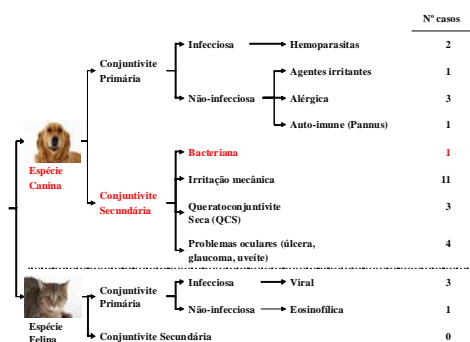
Figura nº 23A. Hiperémia conjuntival ligeira e queratite severa



Figura nº 23B. Citologia conjuntival: grande quantidade de neutrófilos (seta) (Giemsa; x400)



#### IV.1.1.5. Conjuntivite secundária, bacteriana



Observou-se um caso de conjuntivite secundária bacteriana em canídeo e nenhum em felídeo. A conjuntivite bacteriana é, de facto, mais importante no cão do que no gato (excepto em relação ao *Mycoplasma*) (Martin, 2005). A infecção da conjuntiva canina é geralmente secundária a uma causa subjacente. Frequentemente existe algum factor

predisponente que facilita a invasão do tecido por microorganismos (Peiffer, 2002). Outros factores para além do tipo e número de organismos e da sua virulência, têm uma participação óbvia; por exemplo, conformação palpebral, estado imunitário e factores irritantes (Slatter, 2001). A exploração da conjuntiva canina deve incluir uma investigação sobre estes factores predisponentes, como a realização do teste de Schirmer ou a busca de corpos estranhos por baixo da terceira pálpebra.

A maioria dos casos de conjuntivite são auto-limitantes, embora o tratamento com antibióticos de amplo espectro possa acelerar a resolução do processo. Alguns casos evoluem para a cronicidade, pelo que se deve voltar a procurar os factores predisponentes e a recolher amostras para cultura bacteriana e estudo de sensibilidade a antibióticos (Peiffer, 2002). As culturas são facilmente obtidas mas a dificuldade reside na interpretação correcta dos resultados. Urban, Wyman, Reins & Marraro (1972), isolaram bactérias a partir de 91% de conjuntiva de cães clinicamente normais. A incidência de isolados nos olhos normais varia entre raças e, como seria de esperar, há alguma correlação entre os isolados e a conformação palpebral. A flora normal é predominantemente Gram positiva. No cão, *Streptococcus* e *Staphylococcus* são os isolados predominantes tanto nos animais saudáveis como nos que têm conjuntivite. Por esta razão, deve ter-se algum cuidado quando se obtém um resultado positivo na cultura (Martin, 2005).

#### Conjuntivite bacteriana aguda

A conjuntivite bacteriana aguda está geralmente associada a início súbito de corrimento ocular purulento grave, hiperémia conjuntival difusa marcada e quemose moderada. A infecção pode estender-se para as pálpebras, produzindo uma blefarite aguda húmida. A conjuntiva bacteriana aguda é, em geral, unilateral e responde bem ao tratamento de 3 a 4 dias, sempre que sejam corrigidos os factores predisponentes (Slatter, 2001).

O diagnóstico é feito através dos sinais clínicos e da citologia conjuntival. A cultura e o teste de sensibilidade aos antibióticos é feito para confirmar e guiar a terapia, especialmente se não

se obtém uma resposta favorável imediata ao tratamento. As raspagens conjuntivais e a coloração de Gram são métodos rápidos que ajudam na selecção do antibiótico mais apropriado (Martin, 2005). Há predomínio de neutrófilos, poucas células mononucleares, muitas bactérias e células epiteliais degeneradas (Slatter, 2001).

### **Conjuntivite bacteriana crónica**

O corrimento ocular varia entre o mucoso e o mucopurulento e a mucosa está espessada, hiperémica e pode apresentar algumas pregas. Algum grau de hiperplasia folicular está geralmente presente e o processo pode estender-se para a derme, provocando a despigmentação das margens palpebrais. A condição é geralmente bilateral e pode estar associada a doença óbvia noutros órgãos (pele, ouvidos) ou a má conformação palpebral. Os Spaniels, o São Bernardo e o Bulldogue são raças frequentemente afectadas com conjuntivite bacteriana crónica. Se o processo não for tratado, pode desenvolver-se uma queratite. A produção lacrimal geralmente decresce com a cronicidade o que faz com que a conjuntiva se mantenha debilitada. Deve ser sempre feito um teste de Schirmer, diagnóstico diferencial com dacriocistite, cultura bacteriana e teste de sensibilidade aos antibióticos se a antibioterapia não for eficaz (Martin, 2005). Há predomínio de neutrófilos, muitas células mononucleares, células epiteliais degeneradas ou queratinizadas, células caliciformes e podem ou não haver bactérias visíveis, muco e fibrina (Lavach et al., 1977).

Os neutrófilos são o tipo de célula predominante em todos os casos de conjuntivite bacteriana aguda e crónica, comprovado pelas culturas. São uma primeira linha de defesa contra a maior parte das bactérias (Lavach et al., 1977). Eles podem estar bem preservados ou mostrar alterações degenerativas. As bactérias podem ser encontradas dentro das células ou livres em “pano de fundo” (Baker & Lumsden, 2000).

O animal incluído neste grupo era um Golden Retriever, com 10 anos de idade, que se encontrava em mau estado geral devido a uma doença parasitária muito frequente no nosso País, a leishmaniose canina. Esta doença provoca sintomas em qualquer tecido ocular ou anexo, mas a blefarite, a conjuntivite, a queratite e a uveíte anterior são as lesões mais frequentes. Nas pálpebras, podemos encontrar alopecia com descamação, sendo esta uma característica típica da doença. Ao nível da conjuntiva, verifica-se frequentemente hiperémia. A alteração clássica da conjuntiva é a quemose. Granulomas multifocais de coloração rosa podem aparecer na membrana nictitante ou no limbo (Roze, 2005).



Em 2007 Peña, ao estudar as características histopatológicas da leishmaniose ocular no cão, verificou que a conjuntiva foi a estrutura ocular mais frequentemente envolvida microscopicamente (25% dos olhos). Amostras obtidas da conjuntiva (por biópsia ou raspagens) têm sido usadas em muitos estudos para diagnosticar a leishmaniose citologicamente ou por PCR (Berrahal et al., 1996; Solano-Gallego et al., 2001; Strauss-Ayali et al., 2004 citado por Peña 2007). A conjuntiva é um dos tecidos no qual a sensibilidade do PCR para diagnóstico é maior. A conjuntivite em cães é usualmente secundária a outras causas, mas os resultados de estudos anteriores sugerem que a leishmaniose é uma das poucas doenças na qual a conjuntivite canina pode ser primária. No entanto, a conjuntivite secundária pode também ocorrer em cães com leishmaniose, já que envolvimento palpebral ou lacrimal pode provocar doença da superfície, sendo uma base para o desenvolvimento de hiperémia conjuntival secundária e inflamação.

Os autores concluíram que infiltração granulomatosa inflamatória com macrófagos, linfócitos e células plasmáticas e parasitas de leishmania foram encontrados em diferentes estruturas oculares em cães com leishmaniose. As estruturas afectadas, por ordem de frequência, foram a conjuntiva e o limbo, corpo ciliar, íris, córnea, esclera e ângulo iridocorneano, coróide e área peri-neural do nervo óptico. (Peña, Naranjo, Klauss, Fondevilla, Leiva, Roura, Davidson, & Dubielzig, 2007)

Para efeitos desta classificação não foi possível provar que a conjuntivite deste animal se devia directamente à leishmaniose. O animal encontrava-se em má condição geral, imunodeprimido, com uma insuficiência renal grave, tendo sido eutanasiado. Apresentava hiperémia ligeira, quemose moderada e corrimento ocular mucoso (Figura nº 24). No exame citológico apresentou bastantes neutrófilos, muito muco (sugerindo que a classificação do corrimento deveria ser de mucopurulento) e presença de bactérias. Foi, por isso, incluído na categoria da conjuntivite secundária por agentes bacterianos.

A close-up photograph of a dog's nostril. The nostril is dark, moist, and appears inflamed or infected, with visible redness and swelling of the surrounding tissue. The surrounding fur is light-colored and somewhat matted.

#### IV.1.1.6. Conjuntivite secundária, por irritação mecânica

					Nº casos
 Espécie Canina	Conjuntivite Primária	Infecciosa	Hemoparasitas		2
		Não-infecciosa	Agentes irritantes	1	
			Alérgica	3	
	Auto-imune (Pannus)		1		
	Conjuntivite Secundária	Bacteriana			1
		Irritação mecânica			11
Queratoconjuntivite Seca (QCS)				3	
Problemas oculares (glaucoma, uveíte)				4	
 Espécie Felina	Conjuntivite Primária	Infecciosa	Viral		3
		Não-infecciosa	Eosinofílica		1
	Conjuntivite Secundária				0

A doença conjuntival pode desenvolver-se secundariamente a defeitos anatómicos que causam drenagem lacrimal inadequada, exposição crónica e outras alterações (Gelatt, 1999). É por isso importante avaliar estruturas como as pálpebras e as suas margens, os pêlos e a presença de possíveis massas, que poderão estar na origem de uma conjuntivite

As patologias detectadas na casuística em estudo que estiveram na origem de uma conjuntivite foram (n=26): 5 casos com entrópion, 3 casos com distiquíase (um deles apresentando também prolapso da glândula da membrana nictitante), 1 caso com entrópion e ectrópion combinado, presença de massa palpebral e eversão da cartilagem da membrana nictitante, ambas com 1 caso.

70

As características clínicas registadas nos casos que integraram este grupo foram muito variáveis e em relação às células inflamatórias, os neutrófilos foram a célula predominante em todos os casos, mais uma vez demonstrando a predisposição dos canídeos para desenvolverem uma conjuntivite neutrofílica.

Figura nº 25. Distiquíase (seta) (Original)



Figura nº 26. Entrópion (Original)



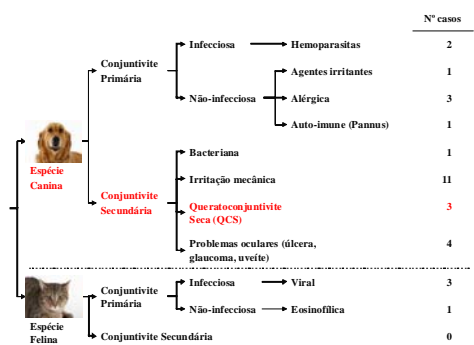
Figura nº 27. Espessamento do bordo palpebral (Original)



Figura nº 28. Prolapso da glândula da membrana nictitante (Original)



#### IV.1.1.7. Conjuntivite Secundária a QCS



A QCS é uma doença comum caracterizada por inflamação crónica da glândula lacrimal, conjuntiva e córnea que leva a uma modificação qualitativa e quantitativa do filme lacrimal pré-corneano, sendo a causa mais comum de conjuntivite bacteriana secundária.

A maioria dos cães com QCS apresenta história de

queratoconjuntivite crónica, recorrente e não específica. A principal característica da doença é a presença de corrimento ocular mucoso. Os sinais clínicos assemelham-se aos de uma conjuntivite bacteriana e esta é a razão pela qual há tantas vezes um diagnóstico mal feito. Outros sinais clínicos são a hiperémia conjuntival difusa e problemas ao nível da córnea que, se não forem controlados, poderão levar à cegueira. As doenças da pele estão muitas vezes associadas com QCS (Herrera, 2005).

O diagnóstico é feito através dos sinais clínicos e facilmente confirmado através do teste de Schirmer. Este teste deve fazer parte da rotina do exame oftalmológico em qualquer cão, mas deve ser usado especialmente em todos os cães com predisposição racial para conjuntivite, mesmo que não revelem sintomas de QCS. O exame citológico de raspagens conjuntivais do cão com QCS crónica revela muco aumentado, células globosas e queratinização; a citologia no cão com QCS aguda revela bactérias, neutrófilos, muco e fragmentos.

A perda de células globosas conjuntivais podem levar a queratoconjuntivite ou queratite com ausência de corrimento ocular. Estes cães têm produção de lágrima adequada mas apresentam diminuição do tempo de evaporação da película lacrimal pré-corneana (Gelatt, 1999).

Os três casos que integraram este grupo apresentavam queratite e quemose moderada a severa (Figura nº 29A e 30) e todos apresentavam corrimento ocular purulento e grande quantidade de neutrófilos, possivelmente por infecção bacteriana secundária, embora apenas em 2 deles tenha sido possível detectar estes agentes. Apenas num destes casos se identificaram linfócitos e macrófagos, provavelmente devido ao carácter crónico do processo, que já se arrastava há cerca de 4 anos quando apareceu à consulta (Figura nº 29B).

Figura nº 29. Conjuntivite secundária a QCS (Original)

Figura nº 29A. Hiperémia e quemose moderadas, corrimento purulento e queratite severa



Figura nº 29B. Citologia conjuntival (Giemsa; x400)

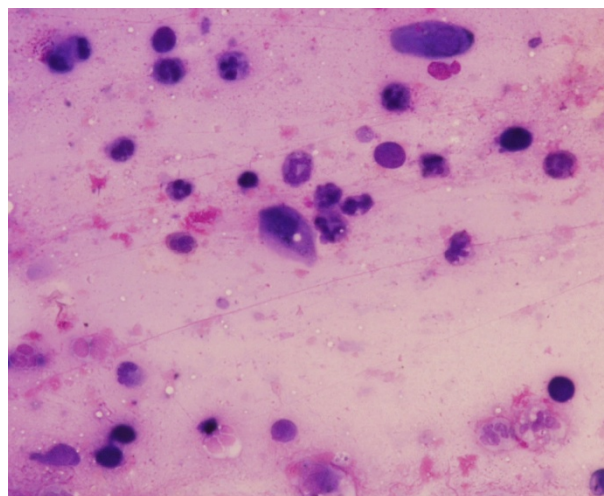


Figura nº 30. Conjuntivite secundária a QCS: hiperémia e queratite severas, quemose moderada, corrimento purulento (Original)



#### IV.1.1.8. Conjuntivite secundária a problemas oculares (úlceras, glaucoma, uveíte)

		Nº casos
Espécie Canina	Conjuntivite Primária	
	Infecciosa	2
	Hemoparasitas	
	Agentes irritantes	1
	Não-infecciosa	3
	Alérgica	1
Espécie Felina	Conjuntivite Secundária	1
	Bacteriana	1
	Irritação mecânica	11
	Queratoconjuntivite Seca (QCS)	3
	Problemas oculares (úlceras, glaucoma, uveíte)	4
	Conjuntivite Primária	3
Espécie Felina	Infecciosa	3
	Viral	
	Não-infecciosa	1
Conjuntivite Secundária		0
		Eosinofílica

Mesmo que o animal apenas se apresente à consulta com problemas ou queixas apenas ao nível da conjuntiva, é importante fazer um exame oftalmológico completo, já que poderão existir problemas paralelos, nomeadamente ao nível da córnea e das estruturas intraoculares. Por serem estruturas próximas ou contíguas, os problemas nestas

estruturas podem vir a ter repercursões ao nível da conjuntiva, principalmente nos casos crónicos. A conjuntivite unilateral pode ter origem em causas locais tais como glaucoma ou

uveíte (Stades et al., 1998). A conjuntivite pode ainda ser um problema secundário ao auto-traumatismo provocado pela irritação causada pelos problemas oculares.

Neste grupo incluíam-se 4 dos casos dos canídeos (n=26), sendo 2 deles referentes a uma úlcera (Figura nº 31B), outro referente a um glaucoma (Figura nº 31A) e outro referente a uma uveíte. A hiperémia era moderada em todos os casos, a quemose variou entre ligeira e moderada e o corrimento ocular variou entre o ausente, o seroso e o mucoso. Só se verificou corrimento ocular purulento num dos casos, em que houve contaminação bacteriana secundária.

Figura nº31. Conjuntivite secundária a problemas oculares (Original)

Figura nº 31A. Glaucoma no OD

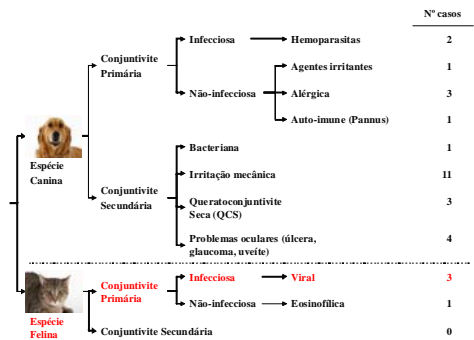


Figura nº 31B. Úlcera no OE



### IV.1.2. Conjuntivite felina

#### IV.1.2.1. Conjuntivite primária, infecciosa, viral



O Herpesvírus felino é uma das doenças infecciosas mais comuns de gatos em todo o mundo e acredita-se que seja a causa mais comum de doença ocular em gatos. Um membro da subfamília alfa Herpevírus, FHV-1 é altamente específico e pode ser transmitido entre gatos via contacto directo com secreções respiratórias ou com olhos infectados. *Chlamydomphila felis* e *Mycoplasma* spp. estão também associados com doença ocular em gatos, em particular com conjuntivite, e acredita-se que a doença ocular provocada por estes organismos seja

potenciada pela infecção concorrente com FHV-1 (Low, Powell, Veir, Hawley & Lappin, 2007).

A conjuntivite felina normalmente ocorre após infecção primária com FHV-1. É tipicamente a lesão inicial na maioria dos gatos afectados devido à replicação viral preferencial no epitélio conjuntival. Quando o vírus latente se torna reactivado, viaja do gânglio trigémio até aos nervos corneanos (Andrew, 2008).

As manifestações clínicas de infecção ocular variam de acordo com a idade do animal. O mesmo Herpesvírus felino (FHV-1) que causa rinotraqueíte em gatos causa três síndromas oculares: “*ophthalmia neonatorum*” no recém-nascido, queratoconjuntivite bilateral em gatos jovens associada com rinotraqueíte activa, e queratoconjuntivite ulcerativa unilateral ou bilateral sem doença sistémica associada em gatos jovens e adultos (Ketring, 2006).

Nos felídeos recém-nascidos, a “*ophthalmia neonatorum*” é típica da infecção por FHV-1 com infecção bacteriana secundária. Manifesta-se como uma conjuntivite severa com consequente necrose epitelial que pode resultar em complicações, tais como simbléfaro, ulceração corneana e perfuração corneana. Endoftalmite e panoftalmite também são complicações possíveis, tais como um número de problemas a longo prazo associados com a formação de simbléfaro; por exemplo, pode haver estenose ou oclusão do ponto lacrimal, resultando em incorrecta drenagem das lágrimas, ou pode haver oclusão dos ductos lacrimais, que dá origem ao olho seco. É particularmente grave se a infecção está presente quando as pálpebras ainda estão naturalmente fundidas (anquilobléfaro). O tratamento nestes casos tem que incluir a abertura prematura das pálpebras. Uma vez as pálpebras abertas, é importante humedecer os olhos e as pálpebras vezes o suficiente para prevenir a recorrência e tratar qualquer infecção bacteriana secundária.

Em gatinhos mais velhos e gatos jovens, a conjuntivite aguda, normalmente bilateral, é a característica ocular mais proeminente, e a coloração com fluoresceína ou rosa bengala pode revelar lesões microdendríticas patognomónicas. Com conjuntivite por Herpesvírus aguda há desconforto ocular e quemose marcada, juntamente com uma descarga, que é inicialmente serosa, mas que mais tarde se torna purulenta. Em gatos adultos a queratite herpética é a mais encontrada.

A doença conjuntival herpética crónica nos gatos mais velhos geralmente resulta da reactivação do vírus latente. Na fase crónica da doença, normalmente não se verifica uma infecção do tracto respiratório superior, embora haja muitas vezes história de doença

respiratória prévia. A manifestação mais comum é uma descarga ocular unilateral ou bilateral, que é muitas vezes intermitente, juntamente com hiperémia conjuntival leve.

O diagnóstico de infecção aguda de FHV-1 é feito clinicamente, com base nas características oculares e nos sinais respiratórios. O diagnóstico laboratorial de FHV-1 pode incluir citologia conjuntival, testes IFA, isolamento do vírus, serologia, e testes de PCR. As amostras devem ser recolhidas da orofaringe e do saco conjuntival e colocadas em meio de transporte viral e para Clamídeas.

A citologia conjuntival tem valor limitado, excepto nas infecções conjuntivais primárias. Os corpos de inclusão intranucleares de FHV-1 frequentemente aparecem com infecções de FHV-1 primárias e não são identificados com as colorações de citologia rotineiramente usadas de Wright-Giemsa. Os neutrófilos são as células inflamatórias predominantes e ocorrem com muitas infecções conjuntivais infecciosas (Gelatt, 1999).

Em 2005 foi feito um estudo que relacionou a presença de FHV-1 com doenças oculares como conjuntivite, queratite epitelial ou estromal ou sequestro corneano. O autor concluiu que o PCR é um método útil para detecção de ADN (ácido desoxirribonucleico) do FHV-1. No entanto, a avaliação citológica pode fornecer informação adicional. Em gatos com sequestro corneano deve ser retirado tecido corneano, já que a recolha de material corneoconjuntival com zaragatoa frequentemente falha no fornecimento de ADN de FHV-1 para detecção por PCR (Volovich, Benetka, Schwendenwein, Mostl, Sommerfeld-stur & Nell, 2005).

Foram incluídos na nossa amostra, 3 felídeos (n=4), com 4, 5 e 8 anos, diagnosticados clinicamente e laboratorialmente (por PCR) como positivos para Herpesvírus felino. Os três apresentavam hiperémia e quemose ligeira a moderada, epífora moderada e, como seria de esperar, lesões moderadas a severas ao nível da córnea. Apenas no felino que tinha 5 anos, se verificou a presença de um corrimento ocular mucoso (Figura nº 33). Nos outros não havia qualquer corrimento ocular (Figura nº 32A).

Em 2 dos 3 casos, registaram-se linfócitos, neutrófilos e macrófagos, para além das células mesenquimatosas que raramente estão presentes (Figura nº 32B). Em nenhum dos casos se encontrou uma quantidade muito significativa de neutrófilos. No outro felino a amostra revelou-se bastante acelular. Não se registou a presença de agentes microbianos em nenhum dos casos.

A coloração de Giemsa não permitiu a detecção de qualquer tipo de inclusão viral, o que está de acordo com a informação bibliográfica.

Figura nº 32. Conjuntivite herpética (Original)

Figura nº 32A. Hiperémia, quemose, epífora e queratite moderadas



Figura nº 32B. Citologia conjuntival: células epiteliais, mesenquimatosas e neutrófilos (setas) (Giemsa; x400)

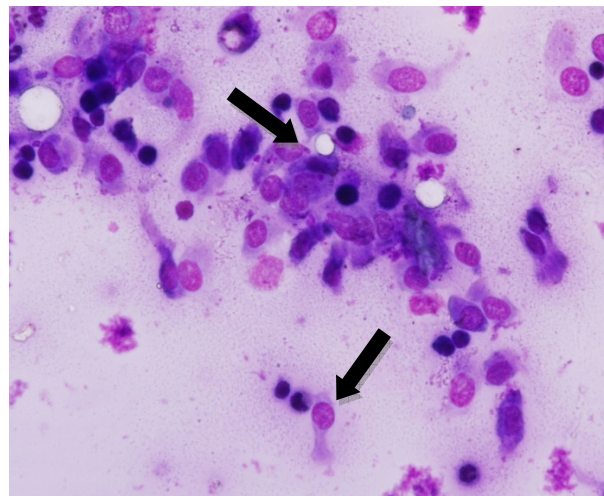
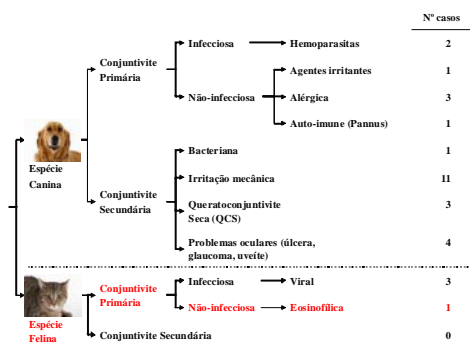


Figura nº 33. Conjuntivite herpética: prurido e hiperémia ligeiras, epífora, quemose e queratite moderadas e corrimento ocular mucoso (Original)



#### IV.1.2.2. Conjuntivite primária, não-infecciosa, eosinofílica



A apresentação clínica da Queratoconjuntivite Eosinofílica é variável, mas a lesão típica é uma massa (ou massas) proliferativa, branca a cor-de-rosa, edematosa, irregular e vascularizada que se origina frequentemente no limbo nasal ou temporal, periferia da córnea e conjuntiva bulbar adjacente. A membrana nictitante também pode estar afectada e com a

cronicidade do processo, toda a córnea pode ficar afectada. A condição é geralmente unilateral inicialmente, mas pode ocorrer envolvimento bilateral. Os sinais de desconforto ocular são inconsistentes. As lesões dermatológicas típicas do complexo eosinofílico estão ausentes (Gelatt, 1999).

Num estudo levado a cabo em 1991, a infiltração eosinofílica da conjuntiva sem envolvimento corneano já tinha sido descrita em cinco gatos (Pentlarge, 1991 citado por Allgoewer, 2001). Segundo Allgoewer et al. (2001), a conjuntivite eosinofílica e a queratoconjuntivite podem ter etiopatogénese semelhante, mas parecem ser entidades clínicas separadas. A conjuntivite felina eosinofílica é uma resposta inflamatória crónica da conjuntiva. Se está etiopatogenicamente relacionada ou não com outras doenças inflamatórias eosinofílicas felinas corneais (queratite eosinofílica) ou dermatológicas (complexo granuloma eosinofílico) permanece indeterminado, tal como o papel etiopatogénico do FHV-1. Num artigo publicado em 2001 pelo mesmo autor, foram descritos 12 casos de conjuntivite eosinofílica felina. O diagnóstico foi baseado no exame clínico, no exame citológico e/ou histológico da conjuntiva e no exame por microscopia electrónica.

Ao exame citológico, verificou-se um baixo grau de displasia celular na maior parte dos casos. Em muitas lâminas com qualidade de amostra moderada o grau de displasia celular estava aumentado. As porções relativas de células inflamatórias eram variáveis. Foram detectados mastócitos em quantidades moderadas e foram o tipo celular inflamatório predominante em dois dos pacientes. Em todos os casos a frequência de eosinófilos variou entre os 5 a 82%. O número de linfócitos e células plasmáticas foi a maioria das vezes menor do que 5%. Em seis gatos podiam ser detectadas pequenas quantidades de fibroblastos.

A frequência de mastócitos e eosinófilos estava aumentada em todos os gatos embora o ratio destas células fosse variável. Isto contrastava com neutrófilos, que foram o tipo celular inflamatório predominante em alguns gatos.

O autor concluiu que a conjuntivite eosinofílica felina é caracterizada por uma infiltração eosinofílica profunda, que pode ser detectada citologicamente em raspagens, o que contrasta com a conjuntiva felina normal onde os eosinófilos raramente são detectados. O exame citológico dos esfregaços conjuntivais revelou ser uma ferramenta válida na detecção da conjuntivite eosinofílica. As descobertas citológicas relacionaram-se bem com as descobertas histopatológicas dos seus pacientes. O alto grau de neutrófilos em alguns gatos pode ter sido causado por infecção bacteriana secundária.

Um ano antes, Larocca (2000) descreveu um caso de um gato de 3 anos, de raça Himalaia, a quem foi diagnosticado conjuntivite eosinofílica, Herpesvírus e mastocitoma conjuntival. A conjuntivite eosinofílica foi verificada através da citologia conjuntival.

A avaliação citológica dos esfregaços conjuntivais revelou células epiteliais da conjuntiva normais e uma abundância de células inflamatórias, com cerca de 50% de eosinófilos e 50% de neutrófilos. O autor concluiu que a conjuntivite eosinofílica parece ter uma etiologia alérgica ou de hipersensibilidade, baseada na presença de eosinófilos e mastócitos na conjuntiva dos animais afectados. A conjuntivite eosinofílica pode resultar em grande hiperplasia dos mastócitos como resultado de uma reacção de hipersensibilidade. Os eosinófilos são conhecido pela sua atracção por tumores dos mastócitos no cão quando os mastócitos se desgranulam. Ficou ainda demonstrado que um número significativo de gatos com conjuntivite eosinofílica apresentaram resultado positivo no PCR para Herpesvírus (Larocca, 2000).

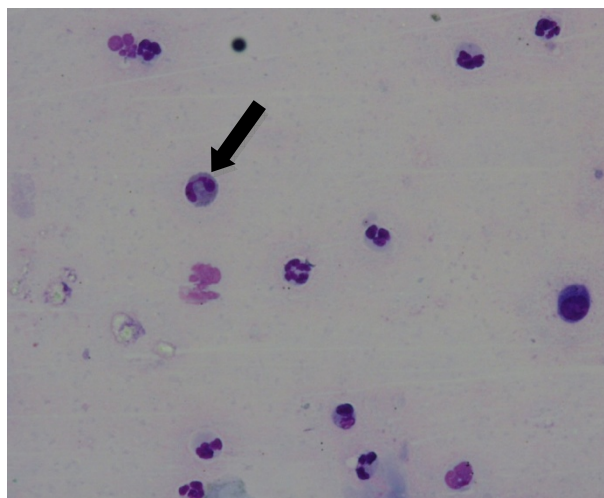
O animal que inclui este grupo, um Europeu Comum com cerca de 7 meses de idade (Figura nº 34A), apresentou-se à consulta com hiperémia, quimose e epífora moderadas e corrimento ocular purulento. Tinha a córnea com a mancha esbranquiçada típica desta patologia e alguns neovasos. Foram detectadas bactérias ao exame citológico. Foi o único caso da nossa amostra em que se verificou a presença de eosinófilos (Figura nº 34B), o que está de acordo com a bibliografia disponível. Todas as outras células inflamatórias estavam presentes (linfócitos, neutrófilos e macrófagos), sendo os neutrófilos o tipo de célula predominante. O animal apresentava sintomas de queratoconjuntivite herpética, típicos dos gatinhos, sintomas esses que já se encontravam controlados. Foi então atribuído o diagnóstico de queratoconjuntivite eosinofílica secundária a Herpesvírus, já que os sintomas mais evidentes à altura da consulta eram os provocados pela queratoconjuntivite eosinofílica.

Figura nº 34. Conjuntivite eosinofílica (Original)

Figura nº 34A. Hiperémia, epífora, quemose e queratite moderadas, corrimento ocular purulento



Figura nº 34B. Citologia conjuntival: presença de eosinófilos e neutrófilos (setas) (Giemsa; x400)



#### **IV.1.3. Utilização da citologia conjuntival no diagnóstico de tipos de conjuntivite não representados na amostra**

##### **IV.1.3.1. Conjuntivite canina**

Nos canídeos, a citologia conjuntival pode ainda ser útil no diagnóstico de conjuntivite provocada por dois tipos de agentes infecciosos: o Vírus da Esgana e por fungos.

##### **Vírus da Esgana**

O diagnóstico de conjuntivite provocada por vírus da Esgana é usualmente baseado na história, sinais sistêmicos associados, inclusões intracitoplasmáticas nas células epiteliais obtidas por raspagens conjuntivais, por exemplo, e numa linfopénia absoluta no sangue periférico. Os corpos de inclusão podem ser encontrados após 6 dias de infecção e são vistos mais frequentemente em células da membrana nictitante. Em geral, no entanto, essas inclusões são escassas e pouco frequentemente vistas. No entanto, a sua ausência não é diagnóstico definitivo já que o pico de período de observação das inclusões é entre os 7 e os 11 dias pós inoculação, com uma extensão de 5-21 dias. Por isso, os casos de Esgana crónicos são muitas vezes negativos. A coloração de anticorpos fluorescentes é mais sensível na detecção de inclusões do que a citologia de rotina (Martin, 2005).

## **Fungos**

O significado de encontrar elementos micóticos na conjuntiva é desconhecido, já que em animais normais 22% dos cães e 40% dos gatos apresentam uma cultura positiva para fungos. O diagnóstico da conjuntivite fúngica é inicialmente estabelecido por citologia conjuntival e confirmado com cultura (Martin, 2005).

### **IV.1.3.2. Conjuntivite felina**

Nos felinos o diagnóstico do agente específico pode ser difícil, já que as amostras citológicas podem ser pouco compensadoras, e um diagnóstico definitivo pode necessitar de técnicas avançadas tais como PCR ou fluorescência. Além disso, são comuns as co-infecções (Ofri, 2008). Para além disso, nem sempre é possível diferenciar a etiologia de acordo com os sinais oculares, e o exame laboratorial é necessário para uma identificação mais precisa.

Nos felinos, a citologia conjuntival pode ainda ser útil, para além do que já foi falado, para o diagnóstico de conjuntivite provocada por dois tipos de agentes infecciosos: *Chlamydophila* e *Mycoplasma*.

#### ***Chlamydophila***

O diagnóstico de *Chlamydophila* é estabelecido principalmente através do teste de PCR, embora no estado inicial corpos de inclusão intracitoplasmáticos basofílicos possam ser identificados nos esfregaços conjuntivais (Bjerkass, 2008). Os corpos de inclusão encontram-se dentro das células epiteliais conjuntivais entre os 7 e os 14 dias de infecção. Na citologia conjuntival, os neutrófilos predominam inicialmente, mas por volta dos 14 e 21 dias de infecção, todos os tipos celulares (ou seja, neutrófilos, macrófagos, linfócitos) estão igualmente presentes.

O diagnóstico pode ser confirmado por citologia conjuntival nas primeiras 2 semanas da doença primária, através da detecção do antígeno nas raspagens conjuntivais com a técnica de anticorpo fluorescente, ou por isolamento do organismo em ovos embrionados (Gelatt, 1999).

#### ***Mycoplasma***

A citologia conjuntival é o método mais prático de diagnosticar *Mycoplasma*. Aparece como cocos ou cocobacilos agrupados, sobre ou perto da superfície das células epiteliais. Os organismos devem ser diferenciados de grânulos de pigmentos nas células epiteliais (Martin, 2005). Os polimorfonucleares leucócitos são o tipo de célula inflamatória predominante neste tipo de infecções.

#### **IV.2. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e sexo e idade**

Não está descrita na bibliografia qualquer relação entre sexo e tipo de conjuntivite, nem nos canídeos nem nos felinos. O mesmo se verificou no presente trabalho.

A conjuntivite folicular demonstra alguma predisposição para determinada faixa etária, enquanto que o *Pannus* e o Herpesvírus felino se manifestam de formas diferentes consoante a idade do animal afectado:

- A conjuntivite folicular, incluída neste estudo no grupo das conjuntivites alérgicas, ocorre mais frequentemente em cães com idade inferior a 18 meses de idade, já que estes animais ainda não têm o seu sistema imunitário completamente desenvolvido. No presente trabalho, dos 3 casos registados com conjuntivite alérgica, apenas um deles tinha conjuntivite folicular, tendo precisamente 7 meses e meio de idade. No entanto, na conjuntivite alérgica, com resultado de uma estimulação crónica, podem desenvolver-se folículos conjuntivais em qualquer idade.
- Na conjuntivite canina associada à presença de doença auto-imune (*Pannus*), para além da raça, a idade do animal tem valor prognóstico. Nos Pastores Alemães jovens (1 a 5 anos), a condição é normalmente rapidamente progressiva e severa. Nos animais mais velhos (4 a 6 anos), no entanto, as lesões parecem ser menos severas e progridem mais lentamente. O Pastor Alemão que integrou a nossa amostra tinha 7 anos.
- A infecção por Herpesvírus felino manifesta-se de diferentes formas consoante a idade do animal, tanto ao nível clínico como citológico, sendo portanto importante ter este factor em conta para que se faça um diagnóstico correcto.

#### **IV.3. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e raça**

A conjuntivite folicular é mais frequente em certas raças como a Weimaraner (Peiffer & Peterson-Jones, 2002), que não teve representantes na nossa amostra. Os animais que apresentaram conjuntivite associada a alguma componente alérgica pertenciam às raças Bulldogue Francês, Pointer e Whippet, todas com um caso cada (cerca de 4% da amostra de canídeos).

Há uma predisposição racial do Pastor Alemão para desenvolver *Pannus*, embora possa ocorrer em qualquer raça (Gelatt, 1999). Este facto confirmou-se no presente estudo.

A QCS ocorre com maior prevalência em raças como o Shih Tzu, o Pequínês, o Caniche, o Bulldogue Inglês, o Terrier branco de West Highland, o Cocker Spaniel e o Schnauzer

miniatura (Slatter, 2001). Neste trabalho, apenas o Shih Tzu confirmou esta tese, com 1 caso (4% do total de canídeos), tendo sido registado outro caso num Pittbull e outro num canídeo com raça Indeterminada.

Não está descrita qualquer predisposição racial dentro da raça felina, para os tipos de conjuntivite registados neste trabalho.

#### **IV.4. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e as características clínicas**

##### **Prurido**

Na pele, a manifestação de prurido é comum em muitos tipos de problemas cutâneos, nomeadamente nos associados à alergia e à presença de parasitas (Blood & Studdert, 2002). De facto, um dos casos de prurido ocular moderado em canídeos estava associado a dermatite crónica com componente alérgica e à presença de *Malassezia*, provavelmente secundária, que se estendeu para os olhos, afectando a conjuntiva.

A irritação ligeira a moderada que caracteriza a conjuntivite é um dos métodos de se fazer diagnóstico diferencial de “olho vermelho” entre a conjuntivite e as outras duas entidades que o provocam, a uveíte e o glaucoma, que podem causar bastante irritação e até mesmo dor no paciente.

##### **Hiperémia**

A conjuntivite secundária a irritação mecânica está geralmente associada a processos crónicos o que pode justificar a grande dilatação de vasos conjuntivais (hiperémia severa) que se verificou nestes casos.

##### **Epífora**

Constatou-se alguma dificuldade, principalmente no caso dos canídeos, em distinguir a epífora do corrimento seroso, que resulta de uma irritação ligeira o que provoca uma maior viscosidade do fluido lacrimal.

##### **Corrimento ocular**

O corrimento seroso resulta de uma irritação ligeira que se dá ao nível das estruturas oculares. O corrimento mucoso é provocado pela irritação das células mucosas que aumentam a sua secreção e pelo aumento da descamação das células epiteliais. A substância produzida é facilmente visível ao nível do canto medial do olho. O corrimento purulento resulta da

combinação do corrimento mucoso com leucócitos, que lhe confere a sua cor característica amarelo-esverdeada. Para uma identificação mais precisa e porque por vezes se torna difícil incluir o tipo de corrimento observado apenas numa das 3 categorias anteriores, recomenda-se a utilização de termos intermédios, como “seromucoso” e “mucopurulento”.

Como a conjuntivite bacteriana secundária é muito comum no cão, é previsível que o tipo de corrimento ocular purulento tenha sido o tipo de corrimento mais observado dentro desta espécie.

### **Quemose**

A quemose, para além da hiperémia, é uma das principais características da conjuntivite, daí que não seja de estranhar que tenha estado presente em 90% da amostra total.

### **Queratite**

Os resultados obtidos confirmam que é importante a avaliação de estruturas que são contíguas, neste caso a conjuntiva e a córnea, durante o exame oftalmológico, para que se faça uma avaliação mais correcta do processo em curso.

## **IV.5. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e células presentes**

### **IV.5.1. Células não-inflamatórias**

- As células epiteliais são as que constituem a primeira camada celular da conjuntiva, daí que seja importante que elas estejam presentes em todas as citologias observadas, já que demonstra que foi feita uma boa recolha de amostra conjuntival. Esse foi um dos critérios para inclusão dos casos na amostra.
- As células mesenquimatosas, por estarem firmemente aderentes à matriz extracelular, desprendem-se muito menos do que as epiteliais, surgindo em menor número nas preparações citológicas.

### **IV.5.2. Células inflamatórias**

#### **Outras células**

Num estudo comparativo entre conjuntiva normal e inflamada levada a cabo por Lavach et al. (1977), as células plasmáticas foram observadas em numerosos esfregaços, mas o seu significado não foi aparente. São importantes na produção de anticorpos. No mesmo trabalho foram encontradas células plasmáticas em amostras da margem livre da terceira pálpebra em cães Pastor Alemão com *Pannus*. O mesmo não se verificou neste trabalho.

#### IV.6. Discussão sobre a presença de agentes microbianos

O tipo de coloração utilizado (Giemsa) permite distinguir a morfologia da bactéria (entre cocos, bacilos ou cocobacilos), mas não permite definir o grupo a que pertence a bactéria. Para isso teria que ser feita uma coloração Gram.

O canídeo que apresentava *Malassezia* ao nível da conjuntiva tinha história de dermatite crónica, tendo o resultado da citologia sido positivo, nos espaços interdigitais, a *Malassezia* spp., provavelmente secundária.

#### IV.7. Discussão sobre relação entre tipos de conjuntivite e tipo de corrimento ocular

Há de facto a tendência para haver falsos negativos em relação à presença de infecção bacteriana, se apenas for feita a avaliação clínica do tipo de corrimento.

O exame citológico mostrou-se bastante útil na caracterização correcta do tipo de corrimento, tanto do purulento (Figura nº 35), como do mucoso (Figura nº 36), assim como na detecção de infecção bacteriana conjuntival.

Figura nº 35. Corrimento purulento: neutrófilos degenerados (seta) e bactérias (Original). Giemsa;

x400

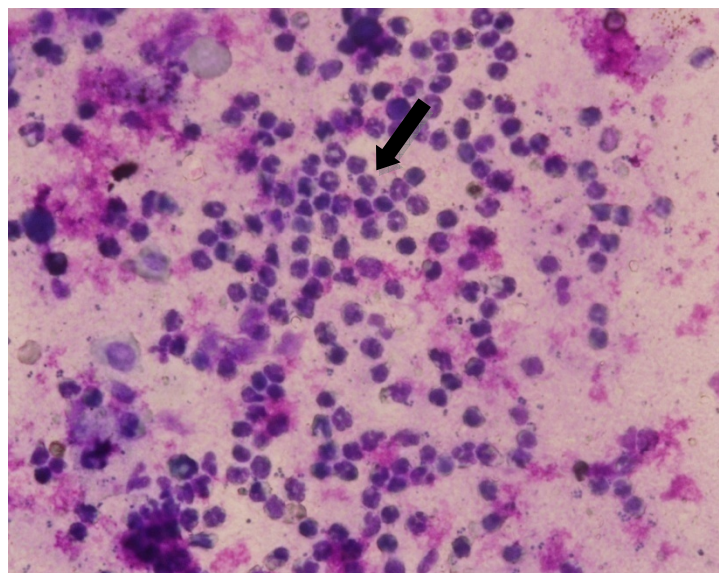
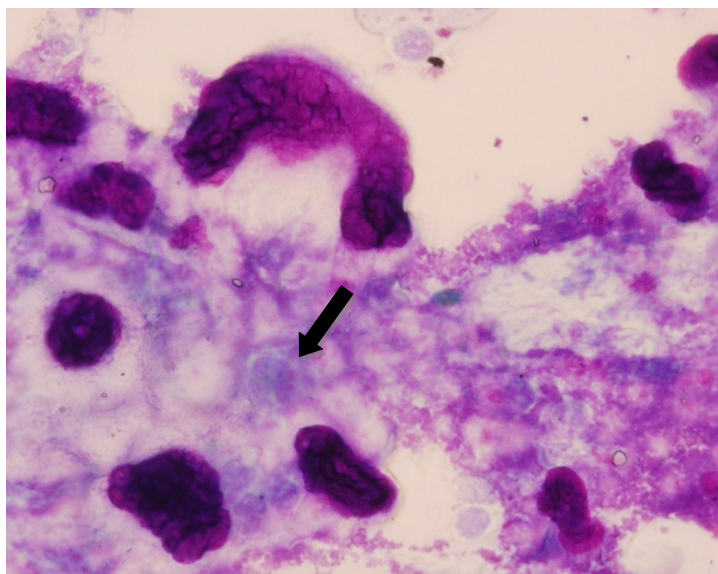


Figura nº 36. Corrimento mucoso: grande quantidade de muco (seta) e neutrófilos degenerados (Original). Giemsa; x400



## **CAPÍTULO V - CONCLUSÕES**

É importante que o clínico faça uma abordagem diferencial aos casos de conjuntivite que lhe aparecem à consulta. Cada caso deve ser avaliado individualmente, devendo ser feita desde logo a distinção entre conjuntivite primária e secundária, como base para um tratamento mais racional. É importante que o clínico tenha em consideração que os canídeos apresentam predominantemente conjuntivites secundárias, enquanto que os felídeos apresentam na maioria das vezes conjuntivites primárias.

Clinicamente, os sintomas hiperémia, quemose e corrimento ocular foram os mais registados no nosso estudo, sendo comuns a todos os tipos de conjuntivite. Estas constatações permitem-nos inferir que os diferentes tipos de conjuntivite, classificados de acordo com a sua diferente etiologia, parecem obedecer a um padrão clínico comum, tanto nos gatos como nos cães, em relação à presença ou não dos vários sintomas, havendo apenas variações em relação aos graus (ligeiro, moderado, severo) de cada um. O mesmo se verifica em relação às características citológicas da conjuntivite que também são constantes ao longo dos grupos. Daí que seja importante conciliar o máximo de informações, tanto as obtidas ao nível da clínica como ao nível laboratorial, para que se possa fazer um diagnóstico e um tratamento mais precisos.

A técnica de recolha de amostras para citologia conjuntival é simples, rápida, pouco invasiva e pouco dispendiosa. No entanto, uma correcta observação de células ao microscópio necessita de grande experiência por parte do observador. Esta deva ser feita, portanto, pelo clínico, se este estiver habituado a fazê-lo frequentemente ou recorrendo a um patologista experiente, se não for esse o caso.

No caso dos canídeos, a citologia revelou-se particularmente útil quando estava presente uma conjuntivite neutrofílica, para confirmar a presença e o tipo de corrimento e para investigar um possível sobrecrecimento de microorganismos, especialmente nos casos crónicos ou recorrentes. Ao exame oftalmológico é de facto complicado, por vezes, fazer a distinção entre corrimento mucoso, muco-purulento e purulento. A citologia é eficaz na avaliação do tipo correcto de corrimento, indicando ou não a necessidade de aplicar antibioterapia para controlar infecções bacterianas que por vezes não são detectadas no exame oftalmológico. É um meio de diagnóstico complementar à cultura bacteriana.

No caso dos felídeos, a citologia mostrou-se especialmente útil como meio de diagnóstico definitivo da conjuntivite eosinofílica.

Em ambas as espécies a citologia conjuntival tem vantagens em termos diagnósticos principalmente nos casos não responsivos ao tratamento, crónicos ou recorrentes.

As vantagens da citologia são numerosas, mas há ainda uma grande aversão por parte dos clínicos em olhar para o microscópio. Este trabalho pretende ajudar a desmistificar e a incentivar a observação microscópica. Ao conhecer as alterações celulares, o tipo de células inflamatórias e o tipo de microorganismos envolvidos, o clínico terá um maior conhecimento do processo em causa, o que lhe permitirá fazer um diagnóstico e um tratamento mais correctos.

Apesar da casuística dentro de cada tipo de conjuntivite ser pequena, este trabalho revelou-se importante para uma distinção clínica e citológica dos diferentes tipos de conjuntivite, no conhecimento de uma melhor forma de abordagem para cada tipo e nas vantagens que a citologia conjuntival tem como meio complementar de diagnóstico. Vem constituir assim uma novidade no estudo científico desta doença, para além de colmatar a falta de bibliografia recente que existe sobre esta matéria. Esperamos assim que possa servir de base para futuros trabalhos nesta área.

## **CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Allgoewer, I., Schaffer, E.H., Stockhaus, C., Vogtlin, A. (2001). Feline eosinophilic conjunctivitis. *Veterinary Ophthalmology*, 4, 69-74.
- Andrew, S.E. (2008). Immune-mediated canine and feline keratitis. *Veterinary Clinics – Small Animal Practise*, 38 (2008) 269-290.
- Baker, R. & Lumsden, J.H. (2000). Color atlas of cytology of the dog and cat. Missouri: Mosby, Inc., cap9,16.
- Bauer, G.A., Spiess, B.M. & Lutz, H. (1996). Exfoliative cytology of conjunctiva and cornea in domestic animals: a comparison of four collecting techniques. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 6, 3.
- Bjerkaas, E. (2008). Diagnosis and management of conjunctival disease in the cat. *Proceeding of the SEVC Souther European Veterinary Conference, Oct. 17-19, 2008, Barcelona, Spain*.
- Blood, D.C., Studdert, V.P. (2002). Dicionário de Veterinária. (2th ed.). Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan.
- Bolzan, A.A., Brunelli, A.T.J., Castro, M.B., Souza, M.A. & Souza, J.L. (2005). Conjunctival impression cytology in dogs. *Veterinary Ophtalmology*, 8, 6, 401-405.
- Brandão, C.V.S., Minto, B.W., Rocha, N.S. & Ranzani, J.J.T. (2002). Citologia conjuntival por impressão em gatos (*Felis domestica*). *Rev. Educ. Contin. CRMV-SP*, 5, 1, 41-47.
- Chigbu, G. I. (2008). The pathofisiology of ocular allergy: a review. *Contact Lens & Anterior Eye*. 32 (2009) 3-15.
- Cowell, R.L., Tyler, R.D., Meinkoth, J.H. (1999). Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. (2th ed.). St.Louis: Mosby. (cap.5).
- Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.G. (1997). Tratado de anatomia veterinária. (2th ed.). Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. (pp.258-265).
- Fisher, O. (2008). Cytology of the skin. Livro de resumos do 14º Encontro da Secção regional da APMVEAC, 1 e 2 Nov. 2008, Algarve, Portugal.
- Gelatt, K.N. (1974). Ophtalmic biopsy procedures. *The Veterinary Clinics of North America*, 4 (2): 437-448.
- Gelatt, K.N. (1999). Veterinary ophthalmology. (3th ed.). USA: Lippincott Williams. (cap1,2,10,18,19,29).
- Gilger, B.C. (2006). Ocular Cytology – your key to immediate ocular diagnosis. *Proceedings of the North American Veterinary Conference, vol. 20, Jan. 7-11 2006, Orlando, Florida*.
- Helper, L. (1973). Diagnostic techniques in conjunctivitis and keratitis. *The Veterinary Clinics of North America*, 3 (3): 357 – 365.

- Herrera, D. (2005). Canine keratoconjunctivitis sicca. *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*, Mexico City, Mexico.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2004). Histologia básica. (10th ed.). Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, (pp.453-466).
- Ketring, K.I. (2006). A medley of feline ophthalmic cases. *Proceedings of the North American Veterinary Conference*, vol. 20, Jan. 7-11 2006, Orlando, Florida.
- Larocca, R.D. (2000). Eosinophilic conjunctivitis, herpes virus and mast cell tumor of the third eyelid in a cat. *Veterinary Ophthalmology*, 3, 221-225.
- Lavach, J.D., Thrall, M.A., Benjamin, M.M. & Severin, G.A. (1977). Cytology of normal and inflamed conjunctivas in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 170(7):722-7
- Lima, C.G.M.G., Veloso, J.C.B., Tavares, A.D., Jungman, P. & Vasconcelos, A.A. (2005). Método citológico e histopatológico no diagnóstico das lesões da conjuntiva: estudo comparativo. *Arquivo Brasileiro de Oftalmologia*, 68 (5), 623-6.
- Low, H.C., C.C. Powell, J.K. Veir, J.R. Hawley & M.R. Lappin. (2007). Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydomphila felis*, and *Mycoplasma* spp DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. *AJVR*, vol 68, nº6, June 2007.
- Marcos, R.J.P.C. (2006). Introdução à citologia e relação entre aspectos histológicos e citológicos de diferentes órgãos. Provas de aptidão pedagógica e científica. Porto: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto.
- Martin, C.L. (2005). Ophthalmic disease in veterinary medicine. London: Manson Publishing Ltd (pp.183, 190-196).
- Nasissse, M.P., Guy, J.S., Stevens, J.B., English, R.V. & Davidson, M.G. (1993). Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983-1991). *Journal of the American Medical Association*, 203 (6): 834-837.
- Ofri, R. (2008). Diagnosis and Treatment of the “Red Eye”. *Proceedings of the European Veterinary Conference Voorjaarsdagen*, 24-26 April 2008, Amsterdam, Netherlands.
- Peiffer, R.L. & Peterson-Jones, S. (2002). Oftalmología de pequeños animales. (3th ed.). Madrid: Ediciones Harcourt. (pp.233-239).
- Peleteiro, M. C., Correia, J.J., Carvalho, T., Pissarra, H. & Fernandes, I. (2006). Diagnóstico citológico em Medicina Veterinária. *Livro de resumos do VI Curso de Citologia para Clínicos veterinários: diagnóstico citológico em medicina veterinária*, 11 e 18 Nov., Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Peña, M.T., Naranjo, C., Klauss, G., Fondevilla, D., Leiva, M., Roura, X., Davidson, M.G. & Dubielzig, R.R. (2007). Histopathological features of ocular leishmaniosis in the dog. *J.Comp.Path.* 2008, vol.138, 32-39.
- Peterson-Jones, S. & Crispin, S. (2006). Small animal ophthalmology . (2th ed.). England: Bsava. (cap.1, pp.78-80, cap.7, pp.143).

- Pissarra, H.A.S.M.M. (2008). Estudo da Infecção por *Besnoitia besnoiti*: Aplicação da Imunohistoquímica na Avaliação da Resposta Celular Inflamatória Peri-quística. Mestrado em Doenças Infecciosas Emergentes. Lisboa: Faculdade de Medicina de Lisboa – Universidade de Lisboa.
- Prado, M.R., Brito, E.H.S., Girão, M.D., Monteiro, A.J., Sidrim, J.J.C. & Rocha, M.F.G. (2003). Higher incidence of *Malassezia pachydermatis* in the eyes of dogs with corneal ulcer than in healthy dogs. *Veterinary Microbiology*, 100 (2004) 115-120.
- Raskin, R.E., Meyer, D.J. (2003). Atlas de citologia de cães e gatos. São Paulo: Roca. (Cap.1,2,14).
- Roze, M. (2005). Ocular manifestations of parasitic diseases in dogs. *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*, Mexico City, Mexico.
- Sisson, S., Grossman, J.D., Getty, R. (1986). Anatomia dos animais domésticos. (5th ed.). Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. (vol.1, pp.208-210).
- Slatter, D. (2001). Fundamentals of veterinary ophthalmology. (3th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company. (pp.241-293).
- Stades, F.C., Wyman, M., Boevé, M.H., Neumann, W. (1998). Ophthalmology for the veterinary practitioner. Hannover: Schlutersche. (pp.96).
- Tostes, R.A. & Bandarra, E.P. Patologia veterinária: Diagnóstico citológico em medicina veterinária.[versão electrónica]. Acedido em Jul. 15, disponível em <http://www.geocities.com/ResearchTriangle/Thinktank/5568/page7.html>.
- Volopich, S., Benetka, V., Schwendenwein, I., Mostl, K., Sommerfeld-stur, I. & Nell, B. (2005). Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and *Chlamydomphila felis* antigen detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions. *Veterinary Ophthalmology*, 8,1,25-32.
- Willis, M., Bounous, D.I., Hirsh, S., Stiles, R.K.J.S., Martin, C., Rakich, P. & Roberts, W. (1997). Conjunctival brush cytology: evaluation of a new cytological collection technique in dogs and cats with a comparison to conjunctival scraping. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 7,2.
- Yagmur, M., Ersoz, C. & Ersoz, R., Varinli, S. (1997). Brush technique in ocular surface cytology. *Diagnostic Cytopathology*, 17, 2.

## **CAPÍTULO VII - ANEXOS**

## **ANEXO I - ESTÁGIO CURRICULAR**

O estágio curricular foi composto por duas fases: uma primeira que decorreu no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa e uma segunda que decorreu no Hospital Veterinário Clínico da Universidade Autónoma de Barcelona, ambas sob a orientação da Professora Doutora Esmeralda Delgado.

A primeira fase teve a duração de 4 meses, entre Outubro de 2008 e Janeiro de 2009. A carga horária diária era de 8 horas, num total de 40 horas semanais. O estágio também incluiu cerca de dois turnos nocturnos por mês de 12 horas.

As actividades desenvolvidas durante o estágio foram repartidas nas seguintes áreas: medicina interna, oftalmologia, cirurgia, exames complementares de diagnóstico e internamento.

Na área de medicina interna, foi permitida a assistência e colaboração nas consultas. Juntamente com o médico veterinário assistente, as actividades desempenhadas abrangiam a contenção, a elaboração da história pregressa, o exame físico completo, a recolha e urina para análise, a preparação e a administração de medicações.

Na oftalmologia, foi permitida a colaboração nas consultas da especialidade ao nível de: elaboração da história pregressa e realização do exame oftalmológico, realização de exames complementares (gonioscopia, electrorretinografia (ERG), ecografia ocular) e auxílio em cirurgias da especialidade (enucleações, recolocação da terceira pálpebra, correcção de entrópion e ectrópion, realização de flap conjuntival).

Na cirurgia, a estagiária auxiliava na preparação dos pacientes, desempenhava funções como anestesista, circulante ou ajudante de cirurgião. Realizava ainda a monitorização pós-cirúrgica dos pacientes. As principais intervenções englobavam cirurgia de tecidos moles, cirurgias ortopédicas e oftalmológicas.

Dos métodos complementares de diagnóstico destacam-se os meios laboratoriais e imagiológicos. Durante a consulta foi possibilitada a realização de citologias (punção aspirativa por agulha fina), raspagens de pele e testes rápidos de diagnóstico. Quanto aos meios imagiológicos, a ecografia abdominal e a radiografia, foram os mais utilizados. Na ecografia, a estagiária aprendeu a posicionar e movimentar a sonda e a interpretar a imagem ecográfica. Na radiologia, aprendeu a posicionar o paciente para determinada incidência bem como a interpretar a imagem radiográfica.

O internamento encontra-se dividido em duas áreas: área dos cães e área dos gatos. As principais tarefas realizadas abrangiam a alimentação, cuidados de higiene e bem-estar dos animais, preparação e administração de medicações, colocação de catéteres endovenosos, algaliação, monitorização de parâmetros clínicos (temperatura, frequências cardíaca e

respiratória, pressão arterial, medição de glicémia), acompanhamento pós-cirúrgico do animal, vigilância de animais em estado crítico, seguimento dos animais para outras áreas (cirurgia, realização de exames complementares de diagnóstico).

Na segunda fase do estágio, que teve a duração de 3 meses, entre início de Fevereiro e fim de Abril de 2009, a estagiária tinha que cumprir uma carga horária de 12 horas, tendo integrado a equipa do serviço de oftalmologia do HVC da UAB. A sua colaboração abrangeu as seguintes áreas: consultas de especialidade, cirurgias, internamento, “*rounds*” de discussão de casos clínicos e “*journal*” que incluía a apresentação e discussão de artigos publicados na “*Veterinary Ophthalmology*”.

Durante as consultas, a estagiária participava na contenção e realização de testes durante o exame oftalmológico (Teste de Schirmer, Teste da Fluoresceína).

Nas cirurgias desempenhava as funções de preparação pré-cirúrgica do animal, de anestesista e de circulante.

Durante as discussões diárias de casos clínicos que incluíam os casos que apareciam na consulta, elaboravam-se diagnósticos diferenciais e discutiam-se possíveis abordagens diagnósticas e de tratamento.

O “*journal*”, que se realizava uma vez por semana, incluía a apresentação de resumos de artigos e discussão sobre o conteúdo dos mesmos, permitindo à estagiária aprender a ler com sentido crítico um artigo publicado numa revista científica.

A casuística verificada no HVC da UAB, nomeadamente em relação às consultas da especialidade de oftalmologia é bastante elevada, com uma média de 35 consultas e de 15 cirurgias semanais, já que é um hospital de referência que recebe pacientes do país inteiro. Por esta razão a aprendizagem e desenvolvimento de conhecimentos ao nível da oftalmologia foi bastante grande, o que permitiu aumentar ainda mais o gosto por esta área.

**ANEXO II – FICHA A PREENCHER COM DADOS DO EXAME  
OFTALMOLÓGICO E DE CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DA CONJUNTIVITE**

**Tese de Mestrado: Utilização da Citologia Conjuntival no Diagnóstico de Doenças  
Oculares**

**1 - Identificação do animal**

Nome do animal: \_\_\_\_\_ Nome do dono: \_\_\_\_\_  
Espécie: \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_  
Sexo: \_\_\_\_\_M \_\_\_\_\_F  
Raça: \_\_\_\_\_

**2 - História clínica geral**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

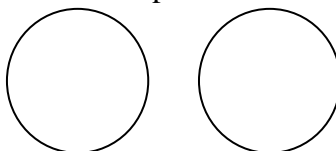
**3 – Exame oftalmológico**

	<b>OD</b>	<b>OE</b>
<b>TESTE DE SCHIRMER</b>		
<b>R. PALPEBRAL</b>		
<b>R. AMEAÇA</b>		
<b>R. CORNEAL</b>		
<b>RFD</b>		
<b>RFC</b>		
<b>PIO</b>		

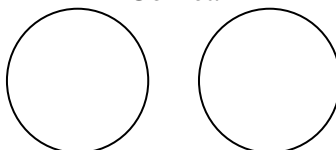
**OD**

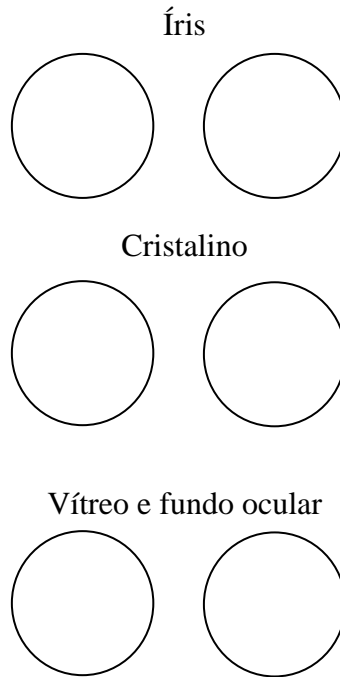
**OE**

Pálpebras



Córnea





História clínica \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Explorações adicionais \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Diagnóstico \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Tratamento médico \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Tratamento cirúrgico \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Follow up \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### 4 - Caracterização da conjuntivite:

Conjuntivite	Ausente	I Ligeira	II Moderada	III Severa
<b>Sinais clínicos</b>				
<b>Prurido</b>	-	+	++	+++
<b>Hiperémia</b>	-	+	++	+++
<b>Epífora</b>	-	+	++	+++
<b>Corrimento ocular</b>	-	seroso	mucoso	purulento
<b>Quemose</b>	-	+	++	+++
<b>Queratite</b>	-	+	++	+++

## ANEXO III – FICHA DE EXEL COM RESULTADOS TOTAIS DA AMOSTRA

Identificação animal						Caracterização da conjuntivite						Contagens microscópio				Células não inflamatórias		Agentes microbianos	Classificação conjuntivite
Nº Caso	Nome	Espécie	Raça	Sexo	Idade	Prurido	Hiperémia	Epífora	Corrimento ocular	Quemose	Queratite	Células inflamatórias				Células epiteliais	Células mesenquimatosas		
1	Scott	Canídeo	Pastor Alemão	M	1,5	0	2	0	2	1	3	0	0	0	0	6	0	0	Primária, Infeciosa, Hemoparasitas
2	Shakira	Canídeo	Perdigueiro Nacional	F	5,7	0	3	0	3	3	3	91	0	248	0	92	0	Bactérias	Primária, Infeciosa, Hemoparasitas
3	Teco	Canídeo	Cocker Spaniel	M	1,0	0	3	0	0	3	3	11	0	40	11	10	0		Primária, Não infecciosa, Agentes irritantes
4	Oca	Canídeo	Whippet	F	5,0	0	1	2	2	1	0	0	0	0	4	75	0		primária, Não-infecciosa, Alérgica
5	Rex	Canídeo	Pointer Bulldog	M	0,6	0	2	0	2	1	0	5	0	8	0	46	0		primária, Não-infecciosa, Alérgica
6	Zorro	Canídeo	Francês	M	7,0	2	2	0	3	2	0	3	0	362	0	56	0	Bactérias + Malassezia	Primária, Não-infecciosa, Alérgica
7	Kora	Canídeo	Pastor Alemão	F	7,0	0	1	0	0	0	3	0	0	240	0	53	0		Primária, Não-infecciosa, Auto-imune
8	Spi	Canídeo	Golden Retriever	M	10,0	0	1	0	2	2	0	0	0	132	0	11	0	Bactérias	Secundária, Bacteriana
9	Cesa	Canídeo	Basset Hound	F	3,0	0	3	0	3	2	2	0	0	235	6	16	1	Bactérias	Secundária, Irritação mecânica
10	Inca	Canídeo	Indeterminada	F	14,0	0	1	0	3	2	0	0	0	0	0	72	0		Secundária, Irritação mecânica
11	Luisa	Canídeo	Shar-Pei	F	5,0	1	2	2	2	2	1	0	0	76	0	30	0	Bactérias (pouca quantidade)	Secundária, Irritação mecânica
12	Zebedeu	Canídeo	Dogue Alemão	F	1,5	0	3	0	3	3	0	0	0	377	13	47	2	Bactérias	Secundária, Irritação mecânica
13	Patchu	Canídeo	Shar-Pei	M	0,2	2	1	0	1	0	2	0	0	15	0	49	0		Secundária, Irritação mecânica
14	Morgan	Canídeo	Boxer	M	7,0	3	3	0	2	2	2	0	0	157	0	29	0		Secundária, Irritação mecânica
15	Zola	Canídeo	Yorkshire	M	4,0	0	2	0	3	0	2	0	0	305	0	57	0	Bactérias	Secundária, Irritação mecânica
16	Paco	Canídeo	Terra Nova	M	1,5	0	2	0	3	1	0	70	0	153	0	70	0	Bactérias	Secundária, irritação mecânica
17	Fox	Canídeo	Shar-Pei	M	3,0	0	2	3	1	2	1	0	0	0	0	22	0		Secundária, Irritação mecânica
18	Napoleão Jackie	Canídeo	Shitzu	M	0,8	0	2	0	2	2	3	1	0	328	3	73	13	Bactérias (grande quantidade)	Secundária, Irritação mecânica
19	Marley	Canídeo	Dog Alemão	M	0,5	0	2	0	0	2	0	4	0	71	1	93	1		Secundária, Irritação mecânica
20	Natacha	Canídeo	Boxer	F	10,0	0	2	2	1	2	1	0	0	8	0	130	0		Secundária, problemas oculares
21	Fofinha	Canídeo	Indeterminada	F	10,7	0	2	0	2	1	0	0	0	0	0	84	0		Secundária, Problemas oculares
22	Lucky	Canídeo	WHWT	M	0,5	0	2	0	0	1	2	0	0	10	0	74	0		Secundária, Problemas oculares
23	Lili	Canídeo	Shitzu	M	4,0	0	2	0	3	2	3	25	0	355	0	127	0	Bactérias	Secundária, Problemas oculares
24	Nico	Canídeo	Pit Bull Indeterminada*	M	7,0	0	2	0	3	2	3	66	0	54	21	14	0		Secundária, QCS
25	Tico	Canídeo	Fox Terrier	M	6,0	2	3	0	3	3	0	0	0	123	0	62	0	Bactérias (pouca quantidade)	Secundária, QCS
26	Toy	Canídeo	Shih-Tzu	M	10,0	0	3	0	3	2	3	0	0	282	0	55	0	Bactérias (pouca quantidade)	Secundária, QCS
27	Lili	Felino	Europeu Comum	F	4,0	0	2	2	0	2	2	80	0	15	5	14	78		Primária, Infeciosa, Viral
28	Belita	Felino	Siamesa Europeu	F	8,0	0	1	2	0	1	3	1	0	11	1	80	4		Primária, Infeciosa, Viral
29	Noddy	Felino	Europeu Comum/Siamê	M	5,0	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0	25	0		Primária, Infeciosa, Viral
30	Maia	Felino	Europeu Comum	F	0,7	0	2	2	3	2	2	21	2	303	25	3	0		Primária, Não-Infecciosa, Eosinofílica

## ANEXO IV – POSTER APRESENTADO NO CONGRESSO DA OMV, OUT-2009



### UTILIZAÇÃO DA CITOLOGIA CONJUNTIVAL NO DIAGNÓSTICO DA CONJUNTIVITE CANINA E FELINA – ESTUDO DE 30 CASOS CLÍNICOS



I. Rito<sup>1</sup>, H. Pissarra<sup>2</sup> & E. Delgado<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Aluna de Mestrado Integrado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica Lisboa

<sup>2</sup> CIISA, Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica Lisboa

<sup>3</sup> CIISA, Departamento de Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica Lisboa

**Objectivos:** O objectivo deste estudo foi verificar a utilidade da citologia como meio complementar de diagnóstico nos diferentes tipos de conjuntivite, tanto na espécie canina como na felina.

**Materiais e métodos:** Foram incluídos neste estudo 26 canídeos e 4 felídeos que se apresentaram à consulta de oftalmologia do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade técnica de Lisboa entre Outubro e Dezembro de 2008 e entre Maio e Julho de 2009, exibindo conjuntivite. Os animais foram submetidos a um exame oftalmológico completo e caracterizados clinicamente através da presença ou ausência dos seguintes parâmetros: prurido, hiperémia, epífora, corrimento ocular, quemose e queratite. Quando se verificava a presença de um determinado sintoma, este era classificado num dos seguintes graus: ligeiro, moderado, severo. Além disso, tentou-se chegar a uma conclusão relativamente à etiologia do processo o que permitiu a distinção entre conjuntivites primária e secundária e, dentro destas, fizeram-se várias subclassificações. Todas as amostras conjuntivais estudadas foram obtidas através da técnica de raspagem com a parte romba de uma lâmina de bisturi, após aplicação de uma gota de anestésico tópico (Oxibuprocaina, Anestocil®). Procedeu-se então à contagem diferencial das células, tendo sido considerados 2 tipos de células não-inflamatórias (epiteliais e mesenquimatosas) e 4 tipos de células inflamatórias (linfócitos, eosinófilos, neutrófilos e macrófagos).

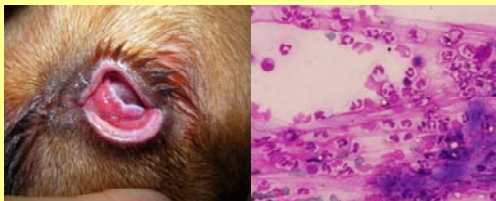


Fig. 3 & 4. Conjuntivite primária, não-infecciosa, por agentes irritantes. Animal diagnosticado clinicamente como conjuntivite granulomatosa, enquanto que o microscópio revelou a presença de inflamação piogranulomatosa.



Fig. 5 & 6. Conjuntivite primária, não-infecciosa, eosinofílica. Foi detectado um eosinófilo ao microscópio (seta), permitindo o diagnóstico definitivo de conjuntivite eosinofílica.

**Resultados:** Clinicamente, os sintomas hiperémia, quemose e corrimento ocular foram os mais registados, sendo comuns a todos os tipos de conjuntivite. Os casos de conjuntivite foram divididos, com base em critérios etiológicos, em 8 tipos no caso da espécie canina e em 2 tipos no caso da espécie felina (Fig.1). Do total de canídeos, 27% (7/26) apresentavam conjuntivite primária e 73% (19/26) conjuntivite secundária. Todos os felinos apresentavam conjuntivite primária. Apresenta-se graficamente na Fig. 2 o tipo de células inflamatórias encontradas nos diferentes tipos de conjuntivite.

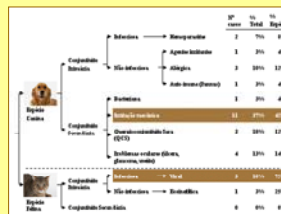


Fig 1. Árvore de classificação da conjuntivite.

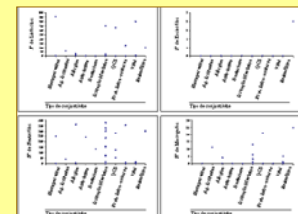


Fig 2. Relação entre o tipo de conjuntivite e as células inflamatórias presentes.

**Discussão:** Em relação aos canídeos, a citologia conjuntival mostrou-se particularmente útil quando estava presente uma conjuntivite neutrofílica, para confirmar a presença e o tipo de corrimento e para investigar um possível sobrecrecimento de microorganismos, especialmente nos casos crónicos ou recorrentes (Fig. 3 & 4). A citologia ajudou a instituir uma terapêutica mais correcta, nomeadamente com a aplicação de antibioterapia, necessária para controlar infecções bacterianas que por vezes não foram detectadas no exame oftalmológico, tendo-se revelado um meio de diagnóstico complementar à cultura bacteriana. Nos felídeos afirmou-se como meio de diagnóstico definitivo de queratoconjuntivite eosinofílica (Fig. 5 & 6). Os diferentes tipos de conjuntivite parecem obedecer a um padrão clínico comum em relação à presença ou ausência dos vários sintomas, havendo apenas variações em relação aos graus (ligeiro, moderado, severo) de cada um. O mesmo se verifica em relação às características citológicas que também são constantes ao longo dos grupos. Daí que seja importante conciliar o máximo de informações, tanto as obtidas ao nível da clínica como a nível laboratorial, para que se possa fazer um diagnóstico e um tratamento mais precisos dos diferentes tipos de conjuntivite.

**Agradecimentos:** CIISA (Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal).

**Congresso OMV, Lisboa 2009**