

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Camila Benaduce Emanuelli Mello

**CORRELAÇÃO DIAGNÓSTICA ENTRE A CITOLOGIA ASPIRATIVA POR  
AGULHA FINA E A HISTOPATOLOGIA DE TUMORES CUTÂNEOS E  
SUBCUTÂNEOS EM CÃES**

Santa Maria, RS  
2020

**Camila Benaduce Emanuelli Mello**

**CORRELAÇÃO DIAGNÓSTICA ENTRE A CITOLOGIA ASPIRATIVA POR  
AGULHA FINA E A HISTOPATOLOGIA DE TUMORES CUTÂNEOS E  
SUBCUTÂNEOS EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia e Patologia Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientadora: Professora Dr<sup>a</sup>. Cinthia Melazzo de Andrade

Santa Maria, RS  
2020

Mello, Camila  
CORRELAÇÃO DIAGNÓSTICA ENTRE A CITOLOGIA ASPIRATIVA  
POR AGULHA FINA E A HISTOPATOLOGIA DE TUMORES CUTÂNEOS E  
SUBCUTÂNEOS EM CÃES / Camila Mello.- 2020.  
49 p. ; 30 cm

Orientadora: Cinthia Melazzo de Andrade  
Coorientadora: Cássia Bagolin da Silva  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2020

1. Acurácia Diagnóstica 2. Canino 3. Citopatologia 4.  
Histopatologia 5. Neoplasma I. Melazzo de Andrade,  
Cinthia II. Bagolin da Silva, Cássia III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

---

© 2020

Todos os direitos autorais reservados a Camila Benaduce Emanuelli Mello. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Fone: (55) 9 9137 4732 – e-mail: camilabenaduce@gmail.com

---

**Camila Benaduce Emanuelli Mello**

**CORRELAÇÃO DIAGNÓSTICA ENTRE A CITOLOGIA ASPIRATIVA POR  
AGULHA FINA E A HISTOPATOLOGIA DE TUMORES CUTÂNEOS E  
SUBCUTÂNEOS EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia e Patologia Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária.**

**Aprovado em 6 de março de 2020:**

---

**Cynthia Melazzo de Andrade, Dra. (UFSM)**  
**(Presidente/Orientadora)**

---

**Glaucia Denise Kommers, PhD. (UFSM)**

---

**Raqueli Teresinha França, Dra. (UFPEL)**

Santa Maria, RS.  
2020

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à memória da minha avó Laurentina Madeira Benaduce.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Carmen e Dorival, por não medirem esforços para que eu sempre pudesse me dedicar totalmente aos estudos, por sempre acreditarem em mim e por serem os melhores pais que um filho pode ter. Ao meu irmão, por sempre me ajudar quando precisei e por também acreditar em mim.

Agradeço ao meu amigo e namorado, Wesley, por sempre me apoiar em todos os desafios aos quais me propus a realizar, desde a época da faculdade.

A minha orientadora, Cinthia Melazzo, por acreditar neste trabalho e por estar sempre disposta a ensinar, explicar e encontrar respostas para os questionamentos. Com certeza, muito do que sei hoje, devo a ela. A Cássia, minha co-orientadora, por estar sempre disposta a ajudar, aconselhar e ser extremamente crítica sempre que necessário. Ao professor Alexandre Krause, pela paciência e dedicação ao ensinar

A toda equipe do LACVET: funcionários, pós-graduandos, residentes, ex-residentes e estagiários. Em especial à Dani, Nathi, Gabriel, Bernardo, Fernanda, Gui, Ju e Andressa Bueno.

A minha amiga e colega de profissão, Ana Martiele, por sempre ter me ajudado quando precisei. Com certeza, este trabalho também é dela. À mãe e amiga, Letícia, por sempre estar disposta a me ouvir e fazer eu acreditar em mim mesma.

Agradeço, também, a duas professoras e veterinárias muito especiais em minha vida e que também são responsáveis pelo o que sou hoje: Raqueli e professora Sônia.

Aos meus chefes e colegas de profissão, Gabriel e Everson, por terem me proporcionado aprender cada vez mais ao trabalhar na rotina de um laboratório particular e por me permitirem continuar meus estudos.

A Lu, que me ensina, me escuta, preocupa-se comigo e me faz companhia em Caxias do Sul, sempre que preciso.

Às professoras Glaucia e Mariana, do Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da UFSM, por terem aceitado contribuir com este trabalho e à colega de profissão Eryca, por ter realizado a busca dos exames nos arquivos do LPV.

Aos colegas do mestrado que ingressaram no mesmo ano, pelas companhias durante as aulas, em especial, às colegas Licia e Bruna, por todos os almoços e angústias compartilhadas. No final, deu tudo certo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, à CAPES e ao CNPq.

E por fim, mas não menos importante, agradeço àqueles que são os responsáveis por me fazerem escolher e não desistir da medicina veterinária: Real, Zulu, Susi, Salen, Saja, Zeus, Guga, Hércules, Ben-hur, Batman, Robin, Luque, Miúcha, Pretinha, Billy, Amyane, Bhasca, Hanna, Simba, Frederico, Evaristo, Pity, Pé de Pano, Feia, Bola, Rit, Catherine, Jean Pyerre, Lukaka, Blue, Cafu e Salah.

## RESUMO

### **CORRELAÇÃO DIAGNÓSTICA ENTRE A CITOLOGIA ASPIRATIVA POR AGULHA FINA E A HISTOPATOLOGIA DE TUMORES CUTÂNEOS E SUBCUTÂNEOS EM CÃES**

AUTOR: Camila Benaduce Emanuelli Mello  
ORIENTADORA: Dra. Cinthia Melazzo de Andrade

A pele e seus anexos cutâneos estão sujeitos a uma variedade de alterações tumorais não neoplásicas e neoplásicas e o exame histopatológico é a técnica padrão ouro para classificar a lesão. No entanto, o mesmo requer sedação ou anestesia geral do paciente para colheita de material, necessidade de fixação dos tecidos e, por isso, exige-se maior tempo para liberação do diagnóstico. A citologia, por sua vez, compreende o estudo das células com o objetivo de tentar avaliar a possível benignidade ou malignidade do espécime. A obtenção das amostras citológicas é simples, rápida, apresenta baixo custo, e, na maioria dos casos, é indolor e não há necessidade de submeter o paciente à sedação. Além disso, comparado à histopatologia, a liberação do laudo citológico é mais rápida. Dentre as diferentes formas para a colheita há a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) a qual é amplamente utilizada na medicina veterinária como uma importante ferramenta de triagem e auxílio ao diagnóstico. O objetivo deste estudo retrospectivo e prospectivo foi estabelecer a concordância diagnóstica entre a CAAF e a histopatologia para tumores cutâneos e subcutâneos em cães, a fim de determinar a sua acurácia, bem como sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) para o diagnóstico de neoplasmas. Lâminas citológicas de lesões tegumentares em cães, obtidas por meio da CAAF, entre janeiro de 2017 a maio de 2019, arquivadas no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVET) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e, para as quais havia o respectivo exame histopatológico, realizado no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV-UFSM), foram incluídas no desenho experimental. As lâminas de CAAF foram revisadas em microscopia óptica por uma patologista clínica com três anos de experiência e sem o conhecimento do laudo histopatológico. As amostras foram classificadas em não neoplásicas (lesões císticas e inflamações) e neoplásicas, de acordo a origem celular em epitelial, mesenquimal, de célula redonda ou tumor melanocítico e, quando possível, nas diferentes categorias específicas e em benignos ou malignos. Oitenta e cinco lâminas de CAAF foram revisadas. Destas, 70 foram classificadas como neoplásicas e 68 confirmadas no histopatológico. Já 15 lâminas de CAAF foram classificadas como não neoplásicas e destas, 11 foram confirmadas pela histopatologia. Duas lâminas citológicas receberam diagnósticos falso positivos e em quatro diagnósticos falso negativos. A acurácia da CAAF para o diagnóstico de tumores cutâneos e subcutâneos foi de 93% (79/85). Para o diagnóstico das neoplasias, a sensibilidade foi de 94,44% (68/72), especificidade de 84,62% (11/13), VPP de 97,14% (68/70) e VPN de 73,33% (11/15). Conclui-se que a CAAF configura-se como uma excelente ferramenta auxiliar diagnóstica para tumores cutâneos e subcutâneos em cães. A técnica apresenta possíveis desvantagens como a obtenção de amostras não diagnósticas ou de resultados falso negativos ou falso positivos. No entanto, a CAAF apresenta elevada sensibilidade para o diagnóstico de neoplasias. Portanto, a citologia aspirativa deve ser realizada, sempre que disponível, na rotina veterinária, podendo ser um aliado bastante fidedigno para a conduta imediata na abordagem clínica do paciente.

**Palavras-chave:** Acurácia Diagnóstica. Canino. Citopatologia. Histopatologia. Neoplasma.



## ABSTRACT

### DIAGNOSTIC CORRELATION BETWEEN FINE NEEDLE ASPIRATION CYTOLOGY AND HISTOPATHOLOGY OF CUTANEOUS AND SUBCUTANEOUS TUMORS IN DOGS

AUTHOR: Camila Benaduce Emanuelli Mello  
ADVISOR: Dra. Cinthia Melazzo de Andrade

The skin and its cutaneous adnexa are susceptible to a variety of tumoral neoplastic and non-neoplastic injuries and the histopathology is the gold standard technique to classify the lesion. However, the histopathology requires sedation or general anesthesia of the patient to sample collection, it is necessary to perform fixation of the tissues, and, consequently, release the diagnosis is slower. On the other hand, the cytology comprises the study of the cells to try evaluating if the specimen is benign or malignant. The cytology sample collection is simple, fast, low cost, and, in most cases, painless and it is not necessary to sedate the animal. Besides that, releasing cytological results is faster than histological results. Among the different cytological techniques to acquire samples there is the fine needle aspiration cytology (FNAC) which is widely used and studied in veterinary medicine as an important screening and assistant diagnosis tool. The aim of this retrospective and prospective study was to establish the diagnostic agreement between FNAC and histopathology performed in cutaneous and subcutaneous tumors in dogs, to determine the accuracy as well as the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (PPN) of FNAC in diagnosing cutaneous and subcutaneous neoplasms in dogs. Cytological samples from integumentary lesions in dogs collected by FNAC, between January 2017 and May 2019, archived in the Laboratory of Veterinary Clinical Analysis (LACVET) at Federal University of Santa Maria (UFSM), and for those there was the respective histopathological exam, performed at Veterinary Pathology Laboratory (LPV-UFSM), were included in the experimental design and reviewed. Cytological samples evaluation was performed by a clinical pathologist with three years of experience and who did not know the histopathological result. Samples were classified as non-neoplastic (cyst lesion and inflammation) and neoplastic, according to origin cellular in epithelial, mesenchymal, round cell tumor and melanocytic tumor. Indeed, always as possible, the neoplasms were classified in the specific categories and in benign or malignant. Eighty-five cytological samples were reevaluated. Of these, 70 were classified as neoplastic and 68 had the diagnosis of neoplasm confirmed by histopathology. Fifteen cytological slides were classified as non-neoplastic and, among them, 11 had the diagnosis confirmed by histopathological evaluation. In two cytological samples, it was performed false-positive diagnoses and in four a false-negative diagnoses. Overall, the cytology accuracy in diagnosing cutaneous and subcutaneous tumors was 93% (79/85). In diagnosing neoplasms, the FNAC had a sensitivity of 94,44% (68/72), a specificity of 84.62% (11/13), PPV of 97,14% (68/70) and PPN of 73.33% (11/15). In conclusion, the FNAC is an excellent diagnostic auxiliary tool for cutaneous and subcutaneous tumors in dogs. The technique displays possible disadvantages as obtaining cytologic samples non-diagnostic or false-negative and false-positive results. Nevertheless, the FNAC presents very high sensitivity in diagnosing neoplastic lesions. Therefore, aspiration cytology must be performed always as available in the clinic veterinary routine, being a strong support to prompt conduction in the clinical approach of the patient.

**Keywords:** Diagnostic accuracy. Canine. Cytopathology. Histopathology. Neoplasm.

## LISTA DE TABELAS

### INTRODUÇÃO

<b>Tabela 1</b> - Critérios gerais, nucleares e nucleolares de malignidade e outros para classificação de neoplasmas cutâneos e subcutâneos.....	17
<b>Tabela 1</b> - Critérios gerais, nucleares e nucleolares de malignidade e outros para classificação de neoplasmas cutâneos e subcutâneos.....	18
<b>Tabela 2</b> - Estudos realizados avaliando a concordância diagnóstica da citologia ao compará-la ao exame histopatológico. Os trabalhos incluem lesões neoplásicas e não neoplásicas, diferentes técnicas de colheita e espécies animais, e lesões em diferentes sistemas orgânicos.....	20

### MANUSCRITO

<b>Table 1</b> - Cytologic and histopathologic diagnoses for 85 cutaneous and subcutaneous neoplastic and non-neoplastic tumors in dogs.....	38
<b>Table 2</b> - Cytologic and histopathologic diagnoses for 68 cutaneous and subcutaneous neoplasms in dogs with the respective location.....	38
<b>Table 2</b> - Cytologic and histopathologic diagnoses for 68 cutaneous and subcutaneous neoplasms in dogs with the respective location.....	39
<b>Table 3</b> - Cytologic and histopathologic diagnoses for 11 cutaneous and subcutaneous non-neoplastic tumors in dogs with the respective location.....	40
<b>Table 4</b> - Cytologic and histopathologic diagnoses in disagreement for 6 cutaneous and subcutaneous tumors in dogs with the respective location.....	40

## LISTA DE FIGURAS

### MANUSCRITO

- Figure 1** - Fine needle aspiration cytology for 3 cutaneous samples (A: head, B: pelvic limb; C: pelvic limb) from dogs classified as melanocytic tumors. Note the variability presentation. The cells showed a pronounced quantity of dark-green to black pigment (black arrow) (A), from moderate to mild (red arrow) (B); shapes varying from spindle to rounded (orange arrow) (C). Histopathology classified all the samples as malignant (melanoma). Diff-quick, 1000x..... 41
- Figure 2** - Canine, fine needle aspiration cytology from a plaque lesion in the labial commissure interpreted as malignant neoplasm of indeterminate origin. The slide showed features of high cellularity (A). Cells displayed cytoplasm with distinct borders and rounded shape (B) (red arrow). Karyomegalia (C) (black arrow) and abnormal mitotic figures (D) (blue arrow) were observed. The histopathological evaluation classified the lesion as squamous cell carcinoma. A, Diff-quick, 200x. B, C, and D, Diff-quick, 1000x..... 42

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

### **INTRODUÇÃO**

BAAF	Biópsia Aspirativa por Agulha Fina
CAAF	Citologia Aspirativa por Agulha Fina
CAF	Citologia por Agulha Fina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
LACVET	Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
N	Neoplásico
NN	Não neoplásico
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria

### **MANUSCRITO**

FNAC	Fine Needle Aspiration Cytology
PPV	Positive Predictive Value
PPN	Negative Predictive Value

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 MANUSCRITO.....</b>	<b>22</b>
Abstract.....	25
Introduction.....	25
Materials and methods .....	26
<b>Cytological and histopathological samples selection .....</b>	<b>26</b>
<b>Cytological samples collection and stain .....</b>	<b>26</b>
<b>Cytological samples evaluation .....</b>	<b>26</b>
<b>Cytological Classification.....</b>	<b>27</b>
<b>Statistical Analysis.....</b>	<b>27</b>
Results.....	27
Discussion.....	30
References.....	34
Appendice 1 .....	43
<b>3 CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pele, o maior órgão do corpo, apresenta três constituintes morfológicos: epiderme, derme e panículo adiposo; e os anexos cutâneos: folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas (CONCEIÇÃO; LOURES, 2016). Dentre as suas diversas funções estão a proteção contra agressões físicas, químicas e biológicas, imunorregulação e fotoproteção (CONCEIÇÃO; LOURES, 2016). Consequentemente, a mesma está sujeita a uma variedade de alterações neoplásicas e não neoplásicas e o exame histopatológico é empregado para caracterizá-las e as classificar (WERNER; WERNER, 2009; SOUZA et al., 2006).

A histopatologia é considerada a técnica padrão ouro, pois permite a observação da arquitetura tecidual, além de prover informações, nos casos de neoplasmas, sobre o padrão de crescimento do tumor, característica infiltrativa, presença ou não de cápsula, de invasão vascular e/ou de êmbolos neoplásicos (WERNER; WERNER, 2009). Além disso, possibilita a avaliação das margens cirúrgicas a fim de informar se houve completa remoção da neoplasia (WERNER; WERNER, 2009). No entanto, para a realização do exame histopatológico há a necessidade de submeter o paciente à sedação ou anestesia geral para colheita de material, é necessário realizar a fixação dos tecidos e, por isso, exige-se maior tempo para a liberação do diagnóstico (BARGER, 2017; WERNER; WERNER, 2009). Assim, a citologia ou citopatologia, sobretudo a técnica de punção aspirativa, é amplamente utilizada e estudada na medicina veterinária como uma importante ferramenta de triagem e auxílio ao diagnóstico, anterior ao exame histopatológico (BRAZ et al., 2016; COLETO et al., 2016; SANTANA et al., 2016; GHISLENI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2001).

A citologia compreende o estudo das células, por meio da avaliação individual das mesmas, com o objetivo de identificar o tipo celular, buscar características anormais de núcleo e citoplasma e, assim, avaliar a provável benignidade ou malignidade da amostra (BURTON, 2017; MEINKOTH; COWELL, 2002). Ou seja, seu objetivo é classificar e determinar a causa e o tipo de lesão (GRANDI; ROCHA, 2014; RASKIN, 2016a). Nas amostras citopatológicas não é possível observar com detalhes a arquitetura tecidual (ROSOLEM et al., 2013; MAGALHÃES et al., 2001) porém, os arranjos citológicos das células esfoliadas retêm de forma parcial ou completa as características de arquitetura do tecido, o que pode auxiliar na identificação da origem tecidual (MASSERDOTTI, 2006)

Na medicina veterinária internacional, o uso da citologia como ferramenta para triagem e auxílio ao diagnóstico data da década de 80 (GRANDI; ROCHA, 2014; MÉNARD; FONTAINE; MORIN, 1986), a qual pode ser utilizada em espécies animais domésticas e

exóticas (VILALTA et al., 2016; VENTURA; COLODEL; ROCHA, 2012; MAGALHÃES et al., 2001; GUEDES et al., 2000). Clínicos gerais, dermatologistas e oncologistas são os mais beneficiados pelo seu uso (GRAÇA, 2007).

Para diagnóstico de lesões cutâneas e subcutâneas, a citologia é frequentemente utilizada, uma vez que possibilita a rápida identificação de alterações iniciais sofridas por esses tecidos e a sua colheita é relativamente simples (MARCOS et al., 2011). O material a ser avaliado pode ser obtido por diferentes técnicas: citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) ou biópsia aspirativa por agulha fina (BAAF), citologia não aspirativa (CAF), impressão, escarificação ou raspado; e *swab* (citologia esfoliativa) (MEINKOTH et al., 2019; MOORE, 2017; MACNEILL, 2011). As características macroscópicas da lesão e a sua localização são fatores determinantes para a escolha do método. Pústulas, pápulas, nódulos, tumores, placas ou abscessos são submetidos à CAAF ou CAF, ou seja, qualquer massa palpável pode ser submetida a essas técnicas (SANTANA et al., 2016; MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006).

No Brasil, o uso da citologia na medicina veterinária data da década de 90 (GRANDI; ROCHA, 2014; GUEDES et al., 2000) e a mesma vem ganhando espaço com o passar dos anos. Um estudo retrospectivo avaliou a prevalência do exame citológico, entre os anos de 1994 e 2008, ao comparar o número de atendimentos com o número de exames realizados, concluindo que houve incremento anual no uso da técnica, demonstrando sua utilidade em sugerir, confirmar ou eliminar o diagnóstico de diferentes afecções (VENTURA; COLODEL; ROCHA, 2012). Outro estudo retrospectivo que determinou a frequência de neoplasmas cutâneos em cães em um período de 10 anos (1996 – 2006), observou aumento de 88% no envio de material para exames citológicos (ROSSETTO et al., 2009). Braz e colaboradores (2016) estabeleceram o perfil dos exames citológicos colhidos por punção aspirativa realizados em Campo Grande (MS), entre os anos de 2008 e 2014, e concluíram que a maioria das amostras citológicas foi oriunda da espécie canina (92,2%) e do sistema tegumentar (36,1%). Outro estudo retrospectivo também avaliou o perfil epidemiológico dos exames citológicos obtidos por punção aspirativa realizados em um período de 5 anos, no qual a espécie canina foi a mais prevalente (ROSOLEM et al., 2013).

Para a realização da técnica aspirativa, o veterinário individualiza a massa ou o nódulo com uma das mãos e introduz a agulha, geralmente 0,7x25mm, já acoplada à uma seringa de 10 ou 20 ml, no centro da lesão. (BRAZ et al., 2016; MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006). Posteriormente, realiza-se a aspiração ao ser exercida a pressão negativa na seringa. Simultaneamente à aspiração, a agulha é redirecionada de três a quatro vezes para

ambos os lados, caracterizando o movimento de “leque”. Após, libera-se o êmbolo e se retira a agulha da lesão junto à seringa (SANTANA et al., 2016). A técnica não aspirativa é semelhante à aspirativa, no entanto, a pressão negativa não é exercida no momento da colheita. Nesse caso, a agulha é introduzida diretamente na lesão, o que caracteriza a obtenção das células por capilaridade, ou a agulha é introduzida já acoplada à seringa e com o êmbolo pressionado (MEYER, 2016). Após o término da colheita, a agulha é desacoplada da seringa, puxa-se o êmbolo até o volume máximo e se acopla novamente a agulha. O bisel é voltado para a porção distal da lâmina e o êmbolo é pressionado para que o material seja depositado, geralmente uma gota. Imediatamente, outra lâmina é disposta perpendicular à primeira para a realização de um deslizamento contínuo até o final da lâmina, caracterizando a técnica denominada *squash* (MEINKOTH et al., 2019; SANTANA et al., 2016; MEYER, 2016).

As lâminas obtidas são secas ao ar e, posteriormente, submetidas à coloração. As principais colorações utilizadas na rotina para as amostras citológicas são os corantes do tipo *Romanowsky*, dentre eles o Panótico Rápido, *Wright*, *Wright* modificado, *Giemsa* e *May-Grünwald-Giemsa*, pois são rápidos, de fácil execução e de baixo custo (MEINKOTH et al., 2019; MOORE, 2017; GHISLENI et al., 2006). Essas técnicas proporcionam a coloração permanente das amostras (ROTH, 2001; MAGALHÃES et al., 2001). Além disso, esses corantes permitem a visualização, com clareza, das características citoplasmáticas, incluindo inclusões, granulações e microrganismos, assim como critérios celulares nucleares, ou seja, são suficientes para diferenciar processo inflamatório do neoplásico e avaliar critérios de malignidade (CANIATTI et al., 2012; GHISLENI et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2001).

De forma geral, o objetivo da citologia é classificar as lesões em: tecido normal ou hiperplásico, lesão cística, inflamação, resposta à lesão tecidual ou neoplasia (MEINKOHT; COWELL; TYLER, 2019; RASKIN, 2016a; MACNEILL, 2011; MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006). Isso permite a triagem ou, até mesmo, o diagnóstico definitivo da injúria, e possibilita o início imediato do protocolo terapêutico e/ou o auxílio para a abordagem cirúrgica a ser realizada (MELLO et al., 2019; DE CECCO et al., 2018; BRAZ et al., 2016).

Os tecidos normal e/ou hiperplásicos caracterizam-se pela presença de células com características uniformes de tamanho, forma, núcleo e nucléolo (RASKIN, 2016a). Na hiperplasia, as células podem apresentar aumento na relação núcleo:citoplasma (RASKIN, 2016a). No entanto, a literatura também aborda que, do ponto de vista citológico, é praticamente impossível a diferenciação entre um processo hiperplásico e o neoplasma benigno, como por exemplo, a diferenciação entre hiperplasia sebácea e adenoma sebáceo



(RASKIN, 2016a). A lesão cística (seroma e mucocele salivar) apresenta baixa celularidade e baixo conteúdo proteico, além de líquido e/ou material semissólido (FISHER, 2019; RASKIN, 2016a). As reações à lesão tecidual incluem: hemorragia, caracterizada pela presença de eritrofagocitose e/ou macrófagos contendo hemossiderina e cristais de hematoidina; presença de resíduos proteicos no fundo da lâmina, os quais se caracterizam pela coloração levemente basofílica; presença de cristais de colesterol, os quais são observados também no fundo de lâmina, sendo angulares e transparentes; a necrose, caracterizada por células apresentando contornos indistinguíveis e conteúdo amorfo acinzentado; e a fibrose, caracterizada por fibrócitos reativos concomitantes com processo inflamatório (FISHER, 2019; RASKIN, 2016a). Essas respostas à lesão tecidual podem estar presentes de forma concomitante em processos císticos, inflamatórios e/ou neoplásicos (FISHER, 2019; RASKIN, 2016a).

Os processos inflamatórios dermatológicos podem ser divididos, a partir do tipo celular predominante, em: neutrofílico (supurativo ou purulento), granulomatoso (macrofágico ou histiocítico), piogranulomatoso, misto, linfoplasmocítico, plasmocítico, linfocítico ou eosinofílico (FISHER, 2019; ALBANESE, 2017; RASKIN, 2016b; MARCOS et al., 2011). Nos processos inflamatórios, também pode ser atribuída a característica de séptico ou asséptico, no que se refere a presença de bactérias ou não, respectivamente (FISHER, 2019). Além disso, há a possibilidade da identificação de outros agentes etiológicos como leveduras e hifas, por exemplo (MELLO et al., 2019; THOMPSON; MACNEILL, 2017).

O diagnóstico de neoplasma é feito quando o espécime observado apresenta uma população de células monomórficas sem a presença de significativa inflamação (MEINKOTH; COWELL; TYLER, 2019; RASKIN, 2016a). Após, a partir das características citomorfológicas presentes, os neoplasmas cutâneos e subcutâneos podem ser classificados em três categorias: epitelial, mesenquimal e de células redondas (MEINKOTH; COWELL; TYLER, 2019; JOHNSON; MYERS, 2017). Em relação aos tumores melanocíticos, a classificação varia entre os autores, sendo que alguns os incluem na categoria citomorfológica mesenquimal (RASKIN, 2016b), outros na categoria de células redondas (JACOCKS; HOEPP; DeNICOLA, 2019) e outros autores os incluem em uma quarta categoria denominada tumores/neoplasias melanocíticas (ALBANESE, 2017; GHISLENI et al, 2006). Por fim, de acordo com a presença ou não de critérios de malignidade, os quais estão descritos na Tabela 1, os neoplasmas são classificados em benignos ou malignos (MEINKOTH; COWELL; TYLER, 2019; BURTON, 2017; MEINKOTH; COWELL, 2002).

Os critérios de malignidade devem ser avaliados na mesma população celular ou seja, de provável mesma origem (ALBANESE, 2017; RASKIN, 2016a). Outro ponto importante é que alguns critérios não se aplicam a determinados tecidos, uma vez que a binucleação pode ser uma característica normal para determinado tecido/órgão; a elevada relação núcleo:citoplasma é esperada em linfócitos pequenos e maduros e nas células epiteliais basilares, assim como osteoclastos, são células normalmente multinucleadas, por exemplo (RESSEL, 2018). O patologista clínico deve ter conhecimento dessas particularidades ao avaliar e interpretar os critérios de malignidade presentes em uma amostra citológica. Além disso, é importante salientar que, sempre que possível, a avaliação desses critérios deve ser realizada na objetiva de 40x, uma vez que a imersão (1000x) pode superestimá-los (MEINKOTH; COWELL, 2002). A classificação de uma amostra como maligna faz-se a partir do momento em que se observam 3 critérios ou mais na maioria das células presentes em uma amostra (MEINKOTH; COWELL; TYLER, 2019). Atenção especial deve ser dada aos critérios nucleares, visto que alterações classificadas como gerais estão mais sujeitas aos efeitos da inflamação, por exemplo, o que pode levar ao diagnóstico errôneo de neoplasia (RASKIN, 2016a; GHISLENI et al., 2006).

De acordo com a literatura, os neoplasmas epiteliais podem ser classificados em: papiloma, carcinoma de células escamosas, neoplasias cutâneas epiteliais basilares/tricoblastoma, adenoma sebáceo, epitelioma sebáceo, carcinoma sebáceo, adenoma/adenocarcinoma da glândula perianal, adenoma da glândula de meibômio, adenocarcinoma glandular apócrino do saco anal, adenoma/adenocarcinoma da glândula ceruminosa, adenoma/adenocarcinoma, tumores do folículo piloso, tumores das glândulas sudoríparas, carcinomas cutâneos metastáticos e carcinomas indiferenciados (FISHER, 2019; ALBANESE, 2017; RASKIN; 2016b). As neoplasias mesenquimais em: fibroma, fibrossarcoma, mixoma, mixossarcoma, tumor de parede perivascular, tumor de bainha de nervo periférico, sarcoma anaplásico com células gigantes, lipoma, lipossarcoma, hemangioma, hemangiossarcoma e sarcoma indiferenciado (RASKIN, 2016b; FISHER, 2019; SILVA et al., 2007). As neoplasias de células redondas são classificadas em: histiocitoma, sarcoma histiocítico, histiocitose reativa, mastocitoma, plasmocitoma, linfoma cutâneo, tumor venéreo transmissível ou neoplasia redonda de origem indiferenciada (JACOBS; HOEPP; DeNICOLA, 2019; RASKIN, 2016b). E, por fim, neoplasias/tumores melanocíticos (ALBANESE, 2017; GHISLENI et al., 2006).

**Tabela 1** - Critérios gerais, nucleares e nucleolares de malignidade e outros para classificação de neoplasmas cutâneos e subcutâneos.

(continua)

<b>GERAIS</b>	<b>Características Citomoforológicas à microscopia</b>
Hipercelularidade	Amostra caracterizada por marcada quantidade de células esfoliadas. Esse padrão pode ser subjetivo entre avaliadores. Além disso, o tecido submetido a colheita de material deve ser levado em consideração, uma vez que, por exemplo, linfonodos e lesões inflamatórias tendem a esfoliar um grande número de células.
Pleomorfismo	Células apresentando formas e tamanhos diversos, e variação na maturação celular
Macrocitose	Células de dimensões aumentadas em relação ao tamanho normal
Anisocitose	Diferença de tamanho entre as células
Elevada relação núcleo:citoplasma	Células apresentando pouco citoplasma em relação a quantidade de núcleo, devido ao aumento do tamanho nuclear. Indicam, geralmente, pobre diferenciação celular.
Variação na relação núcleo:citoplasma	Alteração a ser avaliada na mesma população celular. Sugere alteração na sincronia de maturação celular.
Vacuolização perinuclear	Vacúolos claros localizados ao redor do núcleo. Característica importante nos carcinomas de células escamosas.
<b>NUCLEARES</b>	<b>Características Citomoforológicas à microscopia</b>
Múltiplos núcleos	Células apresentando dois ou mais núcleos, resultado da divisão nuclear sem divisão celular. A presença de núcleos em número ímpar deve ser avaliada.
Anisocariose	Diferença de tamanho e forma entre os núcleos. Anisocariose em uma mesma célula também deve ser avaliada.
Macrocariose (cariomegalia)	Núcleo de grandes dimensões, o qual pode ser, até mesmo, maior que outras células de mesma origem.
Núcleo irregular	Núcleos de formas variadas, por vezes denominados angulares
Amoldamento nuclear	Forma nuclear anormal consequente do rápido crescimento celular e perda da inibição por contato. Quando um núcleo desloca outro núcleo na mesma célula para a periferia da célula ou quando uma célula desloca o núcleo da célula adjacente
Cromatina grosseira	Cromatina distribuída de forma desigual
Figuras de mitose atípicas	Alinhamento anormal dos cromossomos. As mitoses observadas não são características das fases prófase, metáfase, anáfase e telófase.
Micronúcleos	Mesma célula apresenta múltiplos núcleos pequenos devido à amplificação do DNA
Núcleo satélite	Núcleo pequeno, localizado próximo a outro núcleo de dimensões maiores em uma mesma célula.
Fragmentação nuclear	Mesma célula apresentando múltiplos fragmentos nucleares devido à degeneração celular.
Hipercromasia	Núcleo apresentando cromatina escura em relação à cromatina das outras células de mesma origem.

**Tabela 1** - Critérios gerais, nucleares e nucleolares de malignidade e outros para classificação de neoplasmas cutâneos e subcutâneos.

(conclusão)

<b>NUCLEOLARES</b>	<b>Características Citomoforológicas à microscopia</b>
Nucléolos proeminentes	Nucléolos grandes e visíveis na objetiva de 40x. Por vezes, os mesmos são tão evidentes que podem ser observados na objetiva de 10x. Em amostras fracamente coradas, os nucléolos podem se tornar mais proeminentes e ocasionar uma interpretação errônea de malignidade caso o avaliador não identifique esse artefato de técnica.
Anisonucleólise	Diferença de tamanho e forma entre os nucléolos na mesma célula e entre as células de mesma origem
Nucléolos múltiplos	Dois ou mais nucléolos na mesma célula. A presença de nucléolos em número ímpar também deve ser avaliada
Nucléolos irregulares	Nucléolos apresentando alteração na forma, também denominados de nucléolos angulares/pleomórficos/fusifformes.
Macronucléolo	Nucléolo de grandes dimensões, evidente.
Pseudoestratificação nuclear	Característica a ser avaliada nas células colunares que, em condições normais, apresentam um núcleo basal. Nessa situação, a posição do núcleo varia, apresentando-se em vários planos e acima da posição basal.
<b>OUTROS</b>	<b>Características Citomoforológicas à microscopia</b>
Canibalismo	Observa-se atividade fagocítica de uma célula a qual, em condições normais, não a realiza. Há uma célula neoplásica fagocitando outra célula neoplásica
Emperipoese	Célula neoplásica fagocitando uma célula inflamatória
Perda da adesão celular	Característica importante para amostras de origem epitelial, na qual, em situações de normalidade, as células apresentam-se unidas entre si. Tal característica sugere diminuição ou perda da diferenciação celular por alterações nas moléculas de adesão e, provavelmente, está relacionada com migração das células neoplásicas.

Fonte: Meinkoth; Cowell; Tyler, 2019; Burton, 2018; Raskin, 2016a; Meléndez-Lazo, 2015; Fischer et al., 2010; Meinkoth; Cowell, 2002.

Estudos avaliando a concordância diagnóstica da citologia com a histopatologia estão ilustrados na Tabela 2. Pode-se observar que, dos 12 trabalhos citados, em 7 a concordância foi superior a 80%, exemplificando a importância e utilidade da citologia na medicina veterinária. Além da avaliação da acurácia diagnóstica, alguns trabalhos calcularam a sensibilidade e especificidade da citologia para o diagnóstico de neoplasia. No estudo realizado por Magalhães e colaboradores (2001), a sensibilidade diagnóstica foi de 86,6%, seja para amostras colhidas por meio da CAAF, impressão e/ou esfoliação. No estudo realizado por Ghisleni e colaboradores (2006), a partir de massas cutâneas e subcutâneas em cães e gatos e colhidas por meio da CAAF, a sensibilidade foi de 89,3% e especificidade de 97,9%. Simeonov (2010), utilizando a citologia aspirativa em lesões tegumentares em cães,

encontrou valores de sensibilidade e especificidade de 90,47% e 97,22% respectivamente. Para Braz e colaboradores (2016), a concordância entre CAAF e o exame histopatológico para neoplasmas cutâneos e subcutâneos de cães foi de 69,9%, ao considerar diagnósticos idênticos entre as duas técnicas. No entanto, a eficácia foi para 91,91% ao avaliar somente a diferenciação entre tumores neoplásicos e não neoplásicos.

Dentre as desvantagens apresentadas pela citologia há a possibilidade de as amostras não serem diagnósticas devido à baixa celularidade, ausência de material, marcada necrose e/ou contaminação sanguínea (GHISLENI et al., 2006; GRAÇA, 2007; ROTH, 2001). Outra desvantagem pode ser a marcada presença de células inflamatórias, as quais podem mascarar e/ou dificultar a identificação de células neoplásicas, assim como células epiteliais e mesenquimais podem sofrer hiperplasia ou displasia devido à presença do processo inflamatório (JOHNSON; MYERS, 2017; CANIATTI et al., 2012; MAGALHÃES et al., 2001). Outra desvantagem a ser citada é o fato de que, na maioria dos casos de neoplasmas de origem mesenquimal, o exame citológico possibilita o diagnóstico genérico de sarcoma e não a classificação específica do tipo celular (GHISLENI et al., 2006; MEINKOTH; COWELL, 2002). A classificação das amostras citológicas neoplásicas em uma das quatro categorias citomorfológicas pode não ser possível em alguns casos, porém, a avaliação da presença de critérios de malignidade deve ser realizada, uma vez que a identificação do processo como maligno já pode auxiliar no manejo do paciente (DE CECCO et al., 2018; MEINKOTH; COWELL, 2002).

Resultados satisfatórios na citologia dependem, dentre diversos fatores, da obtenção de amostras de qualidade, a qual é determinada pelo uso da técnica de colheita e preparação (coloração) adequadas (MOORE, 2017; ROTH, 2001). Massas de grandes dimensões, por exemplo, devem ser puncionadas em diferentes áreas para que as possíveis variabilidades presentes na mesma lesão possam ser identificadas, uma vez que áreas de inflamação e necrose podem estar concomitantes em neoplasmas de grandes dimensões (MEINKOTH; COWELL, 2002). Além disso, caso um cão apresente mais de uma lesão tumoral, todas devem ser submetidas à colheita de material, pois nem sempre serão lesões/patologias iguais (BRAZ et al., 2016; ROSSETTO et al., 2009; SOUZA et al., 2006). A comunicação eficiente entre o clínico e o patologista clínico que realizará a leitura e interpretação da amostra também é fundamental para o bom resultado do exame citológico (GRAÇA, 2007; MÉNARD; FONTAINE; MORIN, 1986). Esta comunicação compreende o conhecimento da história clínica, das características macroscópicas, localização e evolução da lesão (JOHNSON; MYERS, 2017).

**Tabela 2** - Estudos realizados avaliando a concordância diagnóstica da citologia ao compará-la ao exame histopatológico. Os trabalhos incluíram lesões neoplásicas e não neoplásicas, diferentes técnicas de colheita e espécies animais, e lesões em diferentes sistemas orgânicos.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Espécie(s)</b>	<b>Técnica(s) de Colheita</b>	<b>Local(is) da Lesão</b>	<b>Tipo(s) de lesão</b>	<b>Concordância Diagnóstica</b>
Guedes et al.	2000	Cão, gato, caprino, bovino e equino	CAAF ou impressão	Diversos*	N e NP	83,3%
Roth	2001	Cão e gato	CAAF	Fígado	N e NP	60,1%
Magalhães et al.	2001	Cão	CAAF, impressão e escarificação	Diversos+	N	85,3%
Ghisleni et al.	2006	Cão e gato	CAAF	Cutânea e subcutânea	N e NP	90,9%
Simeonov	2010	Cão	CAAF	Cutânea e subcutânea	N e NP	88,7%
Caniatti et al.	2012	Cão	Escarificação	Cavidade nasal	N e NP	86,2%
Bonfanti et al.#	2015	Cão	CAAF, CAF, impressão	Cavidade Oral	N	98,2%, 98,1% e 91,8% respectivamente
Bonfanti et al.#	2015	Gato	CAAF, CAF, impressão	Cavidade Oral	N	95,6%, 95,6% e 95,8% respectivamente
Coletto et al.	2016	Cão	CAAF	Cutânea e subcutânea	N e NP	67%
Braz et al.	2016	Cão	CAAF	Cutânea e subcutânea	N	69,9%
Yumusak, Kutsal	2016	Cão	CAAF	Cutânea, subcutânea, Tumores de anexos	N	86,06%
Ku et al.	2016	Cão e gato	CAAF e <i>imprint</i>	Linfonodos	N	77,2%

N: neoplásica; NN: não neoplásica; #mesmo trabalho; \*pele, cavidades nasal, bucal e genital, glândula mamária, tecido linfóide, cavidade abdominal, fígado, tecido ósseo, bexiga, testículo; +: não especificados.

A importância da citologia está no seu uso como ferramenta de triagem e auxílio diagnóstico de diversas afecções, facilitando o planejamento cirúrgico e/ou auxílio ao protocolo terapêutico (BRAZ et al., 2016; COLETO et al., 2016). O exame citológico também pode ser utilizado com o intuito de acompanhar terapias e pode sinalizar quando há alterações em condições infecciosas e/ou inflamatórias (MOORE, 2017; MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006). Sua metodologia caracteriza-se por ser de fácil execução, requerer o uso de poucos materiais, ser minimamente invasiva, segura, não necessitar de sedação e/ou anestesia do paciente na maior parte dos casos, apresentar baixa incidência de complicações e ter um baixo custo financeiro (BARGER, 2017; BONFANTI et al., 2015; VENTURA; COLODEL; ROCHA, 2012; GHISLENI et al., 2006; ROTH, 2001). A

qualidade do diagnóstico pode ser excelente e rápida, permitindo o início imediato do tratamento (BARGER, 2017; THOMPSON; MACNEILL, 2017; JOHNSON; MYERS, 2017; ROSOLOEM et al., 2013; MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006).

Na rotina do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVET) do Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), a citologia por agulha fina, tanto pela técnica aspirativa quanto pela não aspirativa, passou a ser realizada a partir de 2008, sendo evidente o incremento da solicitação deste exame por parte dos médicos veterinários ao longo dos anos. No entanto, um estudo avaliando a acurácia deste exame a partir das amostras obtidas em nosso laboratório ainda não foi realizado. Neste contexto, espera-se determinar a concordância entre a citologia aspirativa, realizada no LACVET, e o exame histopatológico de lesões tegumentares (cutâneas e subcutâneas) neoplásica e não neoplásicas em cães a fim de contribuir para maior confiabilidade da técnica para o auxílio diagnóstico e conduta terapêutica da rotina hospitalar.

## 2 MANUSCRITO

Os resultados deste trabalho encontram-se na forma de manuscrito, o qual será submetido para a revista *Veterinary and Comparative Oncology*. As normas da revista podem ser conferidas no site: <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/14765829>.



**Title Page****Fine needle aspiration cytology: high accuracy in diagnosing cutaneous and subcutaneous tumors in dogs****Aspiration cytology of tumors in dogs**

**Camila Benaduce Emanuelli Mello<sup>1</sup>, Ana Martiele Engelmann<sup>1</sup>, Glaucia Denise Kommers<sup>2</sup>, Mariana Martins Flores<sup>2</sup>, Rafael Almeida Figuera<sup>2</sup>, Bernardo Rodrigues e Rodrigues<sup>1</sup>, Eryca Ceolin Lamego<sup>2</sup>, Cássia Bagolin da Silva<sup>1</sup>, Andressa Bueno<sup>1</sup>, Cinthia Melazzo de Andrade<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Veterinary Clinical Pathology Laboratory, Department of Small Animal Clinic, Federal University of Santa Maria, Brazil

<sup>2</sup>Veterinary Pathology Laboratory, Department of Pathology, Federal University of Santa Maria, Brazil

**Corresponding author:** Camila Benaduce Emanuelli Mello.

Veterinary Clinical Pathology Laboratory, Department of Small Animal Clinic, Federal University of Santa Maria, Veterinary Hospital, Roraima Avenue, 1000, 97015-900, Brazil.

Email: [camilabenaduce@gmail.com](mailto:camilabenaduce@gmail.com).

ORCID: 0000-0003-4425-5067.

**Fine needle aspiration cytology: high accuracy in diagnosing cutaneous and subcutaneous tumors in dogs**

**Author's information:**

Camila Benaduce Emanuelli Mello – residency in Veterinary Clinical Pathology, DMV, Department of Small Animal Clinic, Federal University of Santa Maria. E-mail: camilabenaduce@gmail.com

Ana Martiele Engelmann – Msc, DMV, Department of Small Animal Clinic, Federal University of Santa Maria. Email: anamartiele@gmail.com

Bernardo Rodrigues e Rodrigues – veterinary student. Federal University of Santa Maria. Email:rerbernardo@gmail.com

Glauca Denise Kommers - PhD, DMV. Department of Pathology, Federal University of Santa Maria. Email: glauciakommers@yahoo.com.br.

Mariana Martins Flôres - PhD, DMV. Department of Pathology. Federal University of Santa Maria. E-mail: marianamflores@yahoo.com.br

Rafael Almeida Figuera – Dr., DMV. Department of Pathology, Federal University of Santa Maria. Email: anemiaveterinaria@yahoo.com.br

Eryca Ceolin Lamego – veterinary student. Federal University of Santa Maria. Email: erycalamego@gmail.com

Cássia Bagolin da Silva - Dra., DMV. Department of Small Animal Clinic. Federal University of Santa Maria. E-mail: cassiabagolin@gmail.com

Andressa Bueno – Dra., DMV. Department of Small Animal Clinic. Federal University of Santa Maria. E-mail: andressaequiservice@gmail.com

Cinthia Melazzo de Andrade, Dra., DMV, Department of Small Animal Clinic. Federal University of Santa Maria. E-mail: cmelazzoandrade1@gmail.com

**Funding:** Part of this study was funded by Higher Level Personnel Coordination – Brazil (CAPES) – Finance Code 830414/1999-1.

**Number of word:** 3.770

**Number of figures:** 2

**Number of tables:** 4

**Conflict of Interest:** The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article

## **Abstract**

The aim of this retrospective and prospective study was to establish the diagnostic agreement between fine needle aspiration cytology (FNAC) and histopathology performed in cutaneous and subcutaneous tumors in dogs, to determine accuracy as well as sensitivity and specificity of cytology in diagnosing cutaneous and subcutaneous neoplasms. Positive and negative predictive values in diagnosing neoplasms were also performed. Cytological samples from cutaneous and subcutaneous tumors in dogs collected by FNAC, between January 2017 and May 2019, for which there were the respective histopathological exam were included. The slides were reviewed by a clinical pathologist with 3 years of experience and who did not know the histopathological diagnosis. Eighty-five samples met the inclusion criteria. Of these samples, 70 were neoplastic (68 true-positive and 2 false-negative) and 15 samples were non-neoplastic by cytology (11 true-negative and 4 false-negative). The cytology had an accuracy of 93% (79/85); in diagnosing neoplasm the cytology had 94.44% (68/72) of sensitivity, 84.62% (11/13) of specificity; 97.14% (68/70) and 73.33% (11/15) of positive and negative predictive values, respectively. The FNAC is as an excellent auxiliary diagnostic tool due to its very high sensitivity in diagnosing cutaneous and subcutaneous neoplasms. Therefore, aspiration cytology must be performed always as possible in the veterinary clinic routine.

**Keywords:** diagnostic correlation, canine, cytopathology, histopathology, neoplasm.

## **Introduction**

The skin and its cutaneous adnexal are susceptible to a variety of neoplastic and non-neoplastic injuries and the histopathological exam is the gold standard technique to classify the lesion.<sup>1-3</sup> However, histopathology requires sedation or general anesthesia of the patient to sample collection, it is necessary to perform fixation of the tissues, and, consequently, release the diagnosis is slower.<sup>1,4</sup>

Cytology comprises the study of the cells to try to identify the cytomorphological category, searching nucleus and cytoplasm features and, thereby, evaluate if the specimen is benign or malignant.<sup>5-6</sup> Cytology sample collection is simple, fast, low cost, and, in most cases, painless and it does not require sedation.<sup>7-9</sup> Among the different techniques to acquire the samples, there is the fine needle aspiration cytology (FNAC), which is widely used and studied in veterinary medicine as an important screening tool and assistant diagnosis.<sup>8-14</sup> In our lab routine, the cytology, especially the FNAC, is a recent technique being performed since 2008, and an increasing demand is evident. However, until now, none study was performed using these samples.

The aim of this retrospective and prospective study was to establish the diagnostic agreement between FNAC and histopathological examination performed in cutaneous and subcutaneous tumors in dogs attending in the Veterinary Hospital (HV) of Federal University of Santa Maria (UFSM) diagnostic routine, in order to determine accuracy, as well as sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (PPN) of FNAC in diagnosing cutaneous and subcutaneous neoplasms.

## **Materials and methods**

### **Cytological and histopathological samples selection**

Cytological samples collected by FNAC between January 2017 and May 2019, referred to cutaneous and subcutaneous tumors in dogs, archived in the Laboratory of Veterinary Clinical Analysis (LACVET) at UFSM, which have the respective histopathological exam were included and reviewed. Histopathological analysis was performed in the Laboratory of Veterinary Pathology (LPV-UFSM) according to the International Histological Classification from World Health Organization (WHO) and by Meuten.<sup>15</sup> In this study, the samples were from dogs of different breeds, ages, and both genders.

### **Cytological samples collection and stain**

In our lab routine, cytological samples collection is performed by residents in clinical pathology or by post-graduated students. Therefore, the cytological samples collection was performed by vets who made the first cytological evaluation and choose the best method to perform the collection. The aspiration cytology is performed by vets who are doing this daily. The cytological slides were stained with Diff-Quick.

### **Cytological samples evaluation**

Cytological samples reevaluation was performed by a clinical pathologist with three years of experience and who did not know the histopathological diagnosis. To evaluate cellularity, cellular type and presence of cellular arrangements, the low-power magnification (10x objective) was assessed.<sup>16</sup> Then, the 40x objective was used to identify cytoplasmic and nucleus features and malignant criteria.<sup>6</sup> If the cytology sample was suggestive of an inflammatory process, oil immersion (100x objective) was used to improve infectious agents recognition, as well as for samples in which it was necessary to identify cytoplasmic granules or pigments. Poorly preserved, poorly cellular or hemodiluted samples were interpreted as

non-diagnostic and were excluded from the statistical analysis. Before conducting this study, a cytologic table (appendice 1) was prepared to describe the slides.

### **Cytological Classification**

Samples were classified as neoplastic or non-neoplastic. Cystic lesions, response to tissue injury and inflammation were non-neoplastic. Inflammatory patterns were classified as: 1) neutrophilic/suppurative/purulent, pyogranulomatous, macrophagic/granulomatous, lymphocytic/lymphoplasmacytic/plasmacytic, mixed or eosinophilic. 2) septic or nonseptic, 3) chronic or acute.<sup>17-19</sup> Cutaneous and subcutaneous neoplasms were classified according to cytomorphological characteristics in epithelial, mesenchymal, round cell tumors or melanocytic tumors and, whenever as possible, between the specific categories and benign or malignant.<sup>6,16,18-19</sup>

To reading and interpreting cytological slides, information about breed, age and animal gender, even as macroscopic features and evolution of the lesion were searched in the patient's files at the Veterinary Hospital (HV-UFSM), as well as blood count exams, biochemistry profile and imaging exams, whenever available. The site of the lesions was described according to the anatomic location present in the animal's files. In this study, tumor means any cutaneous swelling, neoplastic or non-neoplastic.

### **Statistical Analysis**

The cytological diagnosis was compared to the histopathological diagnosis (considered the gold standard) to determine FNAC accuracy in diagnosing cutaneous and subcutaneous tumors.<sup>20-21</sup> Sensitivity, specificity, PPV and PPN in diagnosing neoplasm were also made.<sup>20-21</sup> The sensitivity, specificity, PPV, and PPN values were classified as low if <70%, moderate if  $\geq 70\%$  and <80%, high if  $\geq 80\%$  and <90% and very high if  $\geq 90\%$ . Statistical analysis was conducted using Microsoft Excel 2013.<sup>8</sup>

### **Results**

In this study, 92 samples met the inclusion criteria. During microscopic revision, 7 samples were excluded because displayed only blood contamination. The diagnostic correlation was determined for 85 samples and are summarized in Table 1. Histopathological diagnoses from 7 samples excluded were: cavernous hemangioma cutaneous (1), hemangiosarcoma (3), fibrosarcoma (1), perivascular wall malignant tumor (1) and adenocarcinoma metastasis to skeletal muscle (1).

The cytological diagnoses of 68 neoplasms, according to specific classification, biological behavior and histopathological results are described in Table 2. The diagnosis of lesions classified correctly as non-neoplastic are described in Table 3. Through cytology it was possible to classify 67 samples according to tissue origin.

Nineteen samples were classified by cytomorphology as epithelial. Cytologically, perianal gland neoplasms (n=7) were characterized by high cellularity, showing trabecular and pavement cell arrangement, finely granular cytoplasm, round to oval nucleus located centrally and peripherally, single to double round prominent nucleolus and binucleation. Sebaceous epitheliomas (n=7) presented moderate to high cellularity, characterized by basal epithelia following, sometimes, groups of well-differentiated sebocytes. The sample classified as trichoblastoma in cytology, was characterized by small and large basilar epithelial groups with high nuclear to cytoplasmic ratio. Squamous cell carcinomas (SCC) (n=2) were characterized by a moderate to a high amount of squamous epithelial cells showing cytoplasmic and nuclear maturation asynchrony, concurrently with many neutrophils. In the sebaceous carcinoma diagnosed by cytology, besides the high cellularity and malignant criteria observed, the cytoplasm showed, sometimes, vacuolization, which was interpreted as suggestive of sebaceous differentiation.

In mesenchymal neoplasms (n=21), malignant classification was misdiagnosed in one case in which a hemangioma by cytology was diagnosed as a hemangiosarcoma by histopathology. In this case, the sample showed a moderate amount of spindle cells with fusiform/elongated to round aspect with no sufficient malignant criteria for suggesting sarcoma. The hemangioma confirmed by histopathology, in cytology presented a low amount of elongated to round cells sometimes with cytoplasmic vacuoles, beyond pronounced blood contamination and erythrophagocytosis. Leyomiomas (n=2) were characterized by a moderate to high amount of fusiform/elongated cells, arranged in bundles and showing elongated and uniform nucleus. Extracellular matrix was also observed. Aggregates of adipocytes with a clear background showing fat droplets and few erythrocytes were seen in the lipoma sample.

Thirteen mesenchymal neoplasms were classified generically as sarcomas. Cytological samples were characterized by a high amount of cells with fusiform, round to pleomorphic aspect, disposed individualized and in small clusters, sometimes with storiform cell arrangement, showing malignant criteria and moderate to pronounced amount of extracellular matrix. It was possible to perform the specific diagnosis of the type of sarcoma in 3 samples. Osteosarcoma and chondrosarcoma samples revealed a marked amount of pleomorphic cells. In the osteosarcoma specimen, most cells displayed plasmacytic appearance and deep blue

cytoplasm. In the chondrosarcoma sample, it was observed pronounced extracellular matrix. In these 2 cases, radiographic exams were characterized by bone lysis in their respective locations. A moderate amount of pleomorphic and isolated cells, characterized by multiple round to angular and pronounced nucleolus, as well as karyomegaly, anisocytosis and anisokaryosis were observed in the hemangiosarcoma sample.

The cytology was able to classify correctly all the round cell tumors (n=21). Mast cell tumors samples (n=19) were characterized by moderate to high cellularity, represented by well differentiated mast cells with variable amount of typical cytoplasmic granules. Among the samples, the amount of eosinophilic infiltrate, reactive fibroblasts and collagen strands it was variable. In 4 mast cell tumor samples, it was possible to recognize marked malignancy criteria such as anisocytosis, macrocytosis, macrokaryosis, anisokaryosis, macronucleoli, and multiple nucleoli. Both histiocytomas showed a marked amount of round cells, sometimes binucleated with reniform and peripheric nucleus. Anisocytosis, anisokaryosis, small and mature lymphocytes infiltrate and background slide slightly basophilic were also observed.

The 6 samples classified as melanocytic tumors by cytology were confirmed by histopathology regarding tissue origin and the biological behavior (determined as malignant). Cytological specimens in these cases revealed moderate to a high amount of cells in different shapes presenting slightly to a marked quantity of dark-green to black fine intracytoplasmic granules (Figure 1). Among the samples, only 1 was located in the axillary region showed marked malignancy criteria in cytology.

There is 1 case in which the histogenesis could not be determined by cytology and the sample was classified as malignant neoplasia of uncertain origin. Slide was characterized by marked amount of cells showing round shape and arranged as individuals cells or smalls groups of cells. Many malignancy criteria were observed: macrokaryosis, anisokaryosis, anisocytosis, increased nuclear-to-cytoplasmic ratio, nuclear molding and typical and abnormal mitotic figures (Figure 2). Histopathology confirmed the malignancy and classified as SCC.

The samples classified correctly by cytology as non-neoplastic (n=11) are showed in Table 3. Sebaceous hyperplasia by histopathology but pyogranulomatous inflammation by cytology was considered in agreement because both injuries are non-neoplastic.

Results in disagreement are in Table 4. In the false-negative results (n=4) the sample classified as eccrine carcinoma by histopathology displayed a low amount of dysplastic epithelial cells, marked infiltrate of neutrophils and some macrophages in cytology. Because of this, the specimen was interpreted as purulent inflammation and cellular dysplasia due to

the inflammation. In the case of tricholemmoma, the cytology was characterized only by suppurative (septic) inflammatory pattern. As well as trichoepithelioma and infundibular keratinizing acanthoma showed in cytology moderate to marked amount of anucleated keratinized squamous epithelial cells, keratin bars and, sometimes, ghost cells. Due to this, the specimens were interpreted as follicular cyst.

Regarding the false-positive (n=2), the sample diagnosed by histopathology as focal adnexal dysplasia showed in cytology moderate cellularity of basilar epithelial concurrent with groups of sebocytes and thus classified as sebaceous epithelioma. Lastly, the other false positive sample showed a moderate population of columnar to polygonal to cuboidal epithelial cells, sometimes presenting palisade arrangement or as individuals plus purulent inflammation. Due to this, the sample was classified as adnexal tumor, however, by histopathology it was diagnosed as pyogranulomatous inflammation.

The cytology accuracy in diagnosing cutaneous and subcutaneous tumors in dogs was 93% (79/85). To diagnose neoplasms, the FNAC showed sensitivity of 94.44% (68/72), specificity of 84.62% (11/13), PPV of 97,14% (68/70) and PPN of 73.33% (11/15).

### **Discussion**

Aspiration cytology is a simple, fast and low cost proceeding available in veterinary routine for evaluating cutaneous and subcutaneous tumors.<sup>4,10,14</sup> This technique is useful in differentiating neoplastic and non-neoplastic tumors, as well as in establishing histogenesis and biological behavior.<sup>8-9,11,16-19</sup>

Overall, diagnosing cutaneous and subcutaneous epithelial neoplasms is easy to perform by cytology.<sup>9</sup> Neoplasms classified as perianal gland tumors displayed features as described.<sup>19</sup> It is important to highlight that the benign cytologic appearance of this tumor does not reflect its possible malignancy.<sup>5,22</sup> Then, is difficult to classify the biological behavior in cytology.<sup>5,22</sup> Therefore we should not establish biological behavior in this type of tumor. Despite the difficulty to differentiate between gland perianal adenoma and carcinoma by cytologic examination, FNAC is extremely useful to perform a specific diagnostic of this gland neoplasm regarding its tissue origin.

The SCC diagnosis may be challenging by cytology because of the frequent presence of inflammatory infiltrate, making it difficult to realize if epithelial dysplasia is neoplastic or due to inflammation.<sup>19,23</sup> Although 2 SCC samples had shown an inflammatory pattern in cytology, the high cellularity of dysplastic squamous epithelial cells provided the correct diagnosis. The degree of differentiation of SSC can be well, moderate or poor.<sup>24</sup> This



characteristic influences in cytologic appearance<sup>24</sup> and may explain why it was not identified the tissue origin of the neoplasm classified just as malignant neoplasm of indeterminate origin. However, to correctly classify a tumor as neoplastic and malignant is already of great value to help treatment considerations<sup>9,13</sup> Sebaceous neoplasms were properly diagnosed due to their characteristic cytological appearance<sup>19</sup> in this study.

Of the 5 benign mesenchymal neoplasms diagnosed by cytology, 4 were interpreted correctly about benignity and specific cellular origin classification. Cytological features associated with the location of the tumors<sup>5</sup> enable make this diagnosis. In the case of hemangiosarcoma by histopathology but classified as hemangioma by cytology, the absence of malignant criteria in the analyzed sample allowed the mistaken diagnosis. Although there are cytological aspects described in the literature about both neoplasms<sup>19</sup> its diagnosis is a challenge. We believe these are one of the few neoplasms where cytology has limited diagnostic value.

According to the literature and based in our cytological routine, the lipoma is one of the most prevalent subcutaneous neoplasms in dogs,<sup>3,25-27</sup> but just one case was found in this study. There are other studies reporting a few cases of this neoplasm to be sent to histopathology.<sup>9,28</sup> Because of its benign characteristic, the surgical excision and submit for histopathological examination, in most cases, is not performed<sup>9</sup> and may justify the few samples.

In 13 of the 21 malignant mesenchymal neoplasms, it was only possible to realize a general classification of sarcoma. Cytology in this type of neoplasm often does not allow perform specific classification about the cellular type, but just about tissue origin and biological behavior.<sup>9,14,23,28</sup> Then, histopathology is extremely important to confirm the tissue origin, the malignancy and to establish the specific classification.<sup>4,9,23</sup> However, the correct interpretation about the tissue origin and the biological behavior, which was performed in this study as well as in similar studies,<sup>9,28</sup> may help regarding therapeutic conduct decision.<sup>4,14</sup>

Although osteosarcoma and chondrosarcoma are not neoplasms of integumentary origin, the dogs sent to the veterinary hospital displayed masses/swelling visible in the neoplasm location and therefore, samples were submitted to cytology. Cytological features described about these neoplasms associated with the injury location and radiographic exams<sup>7,9,28</sup> were able to provide the specific sarcoma classification. The osteosarcoma classified just as sarcoma by cytology, showed lysis and bone proliferation at the 11<sup>o</sup> rib by radiographic exam. However, only a sarcoma diagnosis was performed. The cytological

features observed and the experience time of the evaluator may be influenced the choice for this diagnosis.

Cytology is an excellent diagnostic tool in round cell tumors.<sup>6,9,30</sup> The agreement observed in this study was also described by other authors.<sup>9,30-32</sup> Round cell tumors are characterized by high amounts of exfoliated cells in cytology.<sup>6,32</sup> Indeed, the diagnosis is mainly based on cellular morphology because the architectural pattern is not an important criteria.<sup>6,31</sup> Thus, in these type of tumors the FNAC most of the time is sufficient in diagnosing the neoplasm.<sup>6,31</sup>

Regarding mast cell tumors it is well established the high sensitivity of cytology mainly due to the presence of the characteristic cytoplasmic granules observed in the mast cells.<sup>9,25,30-32</sup> In our cytological routine, we used Diff-quick stain, which is a *Romanowsky* stain. According to the literature this type of stain may difficult the diagnosis of mast cell tumor due to problems in the intensity of granule staining.<sup>5</sup> However, this problem was not found in this study. The high cytological diagnostic sensitivity in identifying mast cell tumors is extremely useful and important since it is one of the integumentary neoplasms most frequent in dogs.<sup>3,26,33-34</sup>

Histopathological evaluation confirmed the 6 cytological diagnoses of melanocytic tumors. Classify this neoplasm as benign or malignant may be difficult by cytology.<sup>35</sup> Some melanomas may mimic melanocytomas, which makes the histopathology necessary before deciding the therapy.<sup>35-36</sup> In cytology, the 6 melanocytic tumors showed among them morphological variability, however, all the cases received a histopathological diagnoses of melanoma. The tumor location is an important factor in dog's prognosis,<sup>37-38</sup> as well as the site and the cytology pleomorphism degree are used to determine biological behavior.<sup>37,38</sup> However, based on literature<sup>36-37</sup> and in the 6 cases observed, we believe that cytological samples suggestive of melanocytic tumors should be interpreted as potentially malignant. The histopathological evaluation and/or other diagnostics methods are able to define the biological behavior.<sup>37-38</sup> This interpretation by FNAC should be performed independently of the tumor location and cytologic characteristics.<sup>37-38</sup>

Regarding false-negative diagnoses and samples characterized by blood contamination, some factors may have contributed to these results. One of them is the possibility of the cytologic slide representative of the lesion that could allow the correct diagnosis has not been archived. This exemplify how important is to make and to send more than one slide to cytological evaluation.<sup>13,39</sup> Besides that, in 6 samples that displayed just blood cells, 4 were classified by histopathological evaluation in the group of sarcomas. These

neoplasms may exfoliate a few or none cells due to immersion in large amounts of collagenous material.<sup>6,25,30</sup>

In 4 false-negative results, 3 samples received the histological diagnosis of adnexal tumor neoplasms. Keratinocytes and keratin debris with a few amounts of basilar epithelial cells are observed in hair follicle neoplasms by cytology.<sup>9,14</sup> However there is no standardization to performed cytologic diagnostic of these tumors.<sup>14,36</sup> The differentiation between a follicular cyst and a hair follicle tumor by cytology is usually challenging.<sup>14,36</sup> In the specimen classified as a follicular cyst by cytology and as a trichoepithelioma by histopathology, basilar epithelial cells were not observed.

Inflammatory infiltrate was the only alteration observed by cytology in the sample characterized as tricholemmoma by histopathology. According to the records of the patient, this lesion was ulcerated, which may explain inflammation and the negative result since an inflammatory process may difficult diagnosis of neoplasms by cytology.<sup>9,23,40</sup> Focal adnexal dysplasia by histopathology showed characteristics of sebaceous epithelioma by cytological evaluation.<sup>14,19</sup> Possibly the cellularity overestimated regarding the sample may explain the mistaken diagnosis of neoplasm.

The sample classified by cytology as an adnexal tumor received the histological evaluation of pyogranulomatous dermatitis. According to the patient's clinical history, there was purulent secretion in the lesion. Possibly the inflammatory process allowed epithelial cells exfoliation, which were observed in moderate amount in cytology accompanied by pyogranulomatous inflammation. The histopathology notes tissue architecture<sup>1,4</sup> and, in this case, probably allowed to classify the epithelial component as normal. In cytology, we are able to assess individual cells that, sometimes, present arrangements that resemble the tissue architecture<sup>8</sup>, allowing a mistaken neoplasm diagnosis.

The diagnostic accuracy of FNAC in this study was of 93% and it is very high.<sup>8</sup> Ghisleni et al.<sup>9</sup> had found 90.1% accuracy when evaluated 243 cutaneous and subcutaneous masses in dogs and cats obtained by FNAC. Simeonov<sup>28</sup> established 88.7% of agreement between FNAC and histopathology in 278 samples from cutaneous and subcutaneous lesions in dogs. Braz et al.<sup>40</sup> ascertain 86.6% of accuracy in 99 samples of canine cutaneous neoplasms obtained by aspiration cytology and swab. The cytology accuracy for integumentary tumors may be considered high to very high. Factors related to good specimen quality, skills in the sample acquisition (which is represented, in our lab routine, by the fact that the clinical pathologist perform the collection and evaluation cytological sample), as well as pathologist knowledge and experience, are very important to these results. Access to

clinical history and to the macroscopic features of the lesion are also very important during slides evaluation. We believe that these factors were crucial regarding the results of this study.

Considering the diagnosis of neoplasms, the FNAC showed 94.44% of sensitivity and 84.62% of specificity. The sensitivity is very high and the specificity is high<sup>8</sup>, being similar to the previous studies<sup>9,28</sup>. The number of samples (n=85) may be considered one of the study limitations, since there is a low number comparing to similar studies.<sup>9,25,40</sup> In our hospital routine, sending the biopsy sample for histopathological examination is limited to the owner's choice, which may explain the number of cases. Sending samples to private laboratories or cytological slides that were not archived but there was the histopathology and, therefore, were not included in the study, may also explain the total cases.

Cytological samples not diagnostics due to the presence of just blood cells or absence of cells is one of the disadvantages the technique<sup>10,12</sup>. Possible causes are an inadequate collected sample, poorly staining of the slides and low skill of who is getting the sample.<sup>10,12</sup> In the cytological routine, specimen not able to help the diagnosis is a reality. However, we may consider that, in most of the time, the samples will be viable to allow an initial screening and suggesting a diagnosis.<sup>8-9</sup>

The cytology is mainly employed as a screening diagnostic tool.<sup>4,41</sup> Screening tests are used before gold standard exam performing<sup>20</sup> and the main purpose is to identify in the right way the animals true positivies.<sup>8,13,40-41</sup> In our cytological routine, these patients are those suffering of neoplasms.<sup>8,13,40-41</sup> In these cases, diagnostics tests presenting high sensitivity and PPV are preferred.<sup>20</sup> Our study displayed these results ratifying the FNAC diagnostic utility and importance.

In summary, our results strongly indicate that FNAC is an excellent diagnostic auxiliary tool for cutaneous and subcutaneous tumors in dogs in our hospital routine. Non-diagnostic samples as well as false-negative results due to inflammation or false-positive results are possible disadvantages of the technique. Nevertheless, the FNAC presents high sensitivity in diagnosing cutaneous and subcutaneous neoplasms. Besides that, there is a feature of this study regarding our cytological routine which may be also responsible for these results: cytological sample collection performed by a clinical pathologist. Thereby, aspiration cytology must be performed always as available in the veterinary clinic routine.

## References

1.Werner PR, Werner J. Avaliação Histopatológica In: Daleck CR, De Nardi AB. Oncologia em Cães e Gatos. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. 186-209p.

2. Conceição LG, Loures FH. Sistema Tegumentar. In: Santos RL, Alessi, AC. Patologia Veterinária. 2 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2009. 121-134p.
3. Souza TM, Figuera RA, Irigoyen LF, Barros CSL. Estudo Retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. *Cienc rural* 2006;36(2):555-5560.
4. De Cecco BS, Silva TM, Felin DV, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumor in a cat: cytological, histopathological, and immunohistochemical aspects. *Comp Clin Path* 2018;27:803-806.
5. Burton AG. *Clinical atlas of small animal cytology*. 1. ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2017. 980p.
6. Meinkoth JH, Cowell RL. Recognition of basic cell types and criteria of malignancy. *Vet Clin Small Anim* 2002;32:1209-1235.
7. Barger AM. Cytology of Bone. *Vet Clin Small Anim*. 2017;47:71-84.
8. Bonfanti U, Bertazzolo W, Gracis M, et al. Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: A prospective study on 114 cases. *Vet J* 2015; 205:322-327.
9. Ghisleni G, Roccabianca P, Ceruti R, et al. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 2006;35(1):2-30.
10. Moore AR. Preparation of Cytology Samples: Tricks of the Trade. *Vet Clin Small Anim* 2017;47:1-16.
11. Macneill AL. Cytology of Canine and Feline Cutaneous and Subcutaneous Lesions and Lymph Nodes. *Topical Review* 2011;26(2):62-76.
12. Meinkoth JH, Cowell RL, Tyler RD, Morton RJ. Coleta e Preparo de Amostras In: Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, De Nicola DB. *Diagnóstico Citológico e Hematologia de Cães e Gatos*. 3. ed. São Paulo: MedVet; 2009. 1-18p.
13. Ku CK, Kass PH, Christopher MM. Cytologic–histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymphnodes: a retrospective study of 367 cases. *Vet Comp Oncol* 2016;15(4):1206–1217.
14. Johnson MC, Meyer NA. Cytology of Skin Neoplasms. *Vet Clin Small Anim* 2017;47:85-110.
15. Meuten DJ. *Tumors in Domestic Animals*. 5th ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc.;2017.
16. Masserdotti C. Architectural patterns in cytology: correlation with histology. *Vet Clin Pathol* 2006;35(4):388-396.

17. Marcos R, Santos M, Pissarra H, Peleteiro MC. Pele, seus Anexos e Tecido Subcutâneos. In: Peleteiro MC, Marcos R, Santos M, Correia J, Pissarra H, Carvalho, T. Atlas de citologia veterinária. 1 ed. Liboa: Lidel, 2011. 45-99p.
18. Mendelsohn C, Rosenkrantz W, Griffin CE. Practical Cytology for Inflammatory Skin Diseases. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006;21:117-157.
19. Raskin RE. Skin and Subcutaneous Tissue. In: Raskin RE, Meyer DJ. *Canine and Feline Cytology: a color atlas and interpretation guide*. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016. 34-90p.
20. Cohen JF, Korevaar DA, Altman DG, et al. STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: explanation and elaboration. *BMJ Open*. 2015;6:e012799.
21. Weiser G, Alison RW. Considerações sobre Interpretação de Dados Laboratoriais e Diagnóstico de Doenças. In: Thrall MA, Weiser G, Alisson RW, Campbell TW. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro, RJ: Roca, 2015.
22. McCourt MR, Levine GM, Breshears MA, Wall CR, Meinkoth JH. Metastatic disease in a dog with well-differentiated perianal gland tumor. *Vet Clin Pathol*. 2018;47:649-653.
23. Ménard M, Fontaine M, Morin M. Fine Needle Aspiration Biopsy of Malignant Tumors in Dogs and Cats: A Report of 102 Cases. *Can Vet J* 1986;27(12):504-510.
24. Fernandes TR. Neoplasias epiteliais. In: Grandi F; Beserra HEO, Da Costa LD. *Citopatologia Diagnóstica Veterinária*. 1. ed. São Paulo: MedVet; 2014. 59-69p.
25. Magalhães AM, Ramadilha RR, Barros CSL, Peixoto PV. Estudos comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. *Pesqui Vet Bras* 2001;21(1):23-32.
26. Meirelles AEWB, Oliveira EC, Rodrigues BA, et al. Prevalência de neoplasmas cutâneos em cães da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS: 1.117 casos (2002-2007). *Pesqui Vet Bras* 2010;30(11):968-973.
27. Bastos RSC, Farias KM, Lopes CEB, Pacheco ACL, Viana DA. Estudo retrospectivo de neoplasias cutâneas em cães da região metropolitana de Fortaleza. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal* 2017;11(1):39-53.
28. Simeonov RS. The accuracy of fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of canine skin and subcutaneous mass. *Comp Clin Pathol* 2010;21(2).
29. Sabattini S, Renzi A, Buracco S, et al. Comparative Assesment of the accuracy of Cytological and Histological Biopsies in the diagnosis of canine bone lesions. *J V Intern Med*. 2017;31:864-871.
30. Guedes RMC, Zica KGB, Coelho-Guedes MIM, Oliveira SR. Acurácia do exame citológico no diagnóstico de processos inflamatórios e proliferativos dos animais domésticos. *Arq Bras Med Vet Zoot* 2000;52(5):1-5.

31. Duncan JR, Prasse KW. Cytology of Canine Cutaneous Round Cell Tumors. *Vet Pathol* 1979;16:673-679.
32. Scarpa F, Sabattini S, Bettini G. Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2016;14(3):245-251.
33. Moraes JRE, Baretta DC, Zanetti AS, Garrido E, Miyazato LG, Sevarolli AL. Skin Tumors in Dogs – A Retrospective Study of Ten Years. *Vet Not* 2009;15(1):59-68.
34. Bellei MHM, Neves DS, Gava A, Liz PP, Pilati C. Prevalência de neoplasias cutâneas diagnosticadas em caninos no estado de Santa Catarina, Brasil, no período entre 1998 a 2002. *Revista de Ciências Agroveterinárias* 2006; 5(1):73-79.
35. Smith SH, Goldschmidt MH, Mcmanus PM. A Comparative Review of Melanocytic Neoplasms. *Vet Pathol* 2002;39:651–678.
36. Grandi F, Rondelli MCH. Neoplasias Cutâneas. In: Daleck CR, De Nardi AB. *Oncologia em Cães e Gatos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. 501-540p.
37. Smedley RC, Spangler WL, Esplin DG, et al. Prognostic Markers for Canine Melanocytic Neoplasms: A Comparative Review of the Literature and Goals for Future Investigation. *Vet Pathol* 2011;48(1):54-72.
38. Schultheiss PC. Histologic features and clinical outcomes of melanomas of lip, haired skin, and nail bed locations of dogs. *J Vet Diagn Invest* 2006;18:422–425.
39. Hodges J. Using Cytology to Increase Small Animal Practice Revenue. *Vet Clin Small Anim* 2013;43:1385–1408.
40. Braz PH, Brum KB, Souza AI, Abdo MAGS. Comparação entre a citopatologia por biópsia com agulha fina e a histopatologia no diagnóstico das neoplasias cutâneas e subcutâneas de cães. *Pesqui Vet Bras* 2016; 36(3):197-203.
41. Caniatti M, Da Cunha NP, Avallone G, et al. Diagnostic accuracy of brush cytology in canine chronic intranasal disease. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(1):133-140.

**Table 1** Cytologic and histopathologic diagnoses for 85 cutaneous and subcutaneous neoplastic and non-neoplastic tumors in dogs.

Cytologic diagnosis	Histopathologic diagnosis		Total
	Neoplastic	Non-neoplastic	
Neoplastic	68	2	70
Non-neoplastic	4	11	15
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>13</b>	<b>85</b>

**Table 2.** Cytologic and histopathologic diagnoses for 68 cutaneous and subcutaneous neoplasms in dogs with the respective location.

Location	Cytologic Diagnoses	Histopathologic diagnoses
Perineum (3)	Gland perianal tumor (3)	Hepatoid gland adenoma (3)
Perineum (4)	Gland perianal tumor (4)	Hepatoid gland carcinoma (4)
Supra orbital (1)	Trichoblastoma (1)	Trichoblastoma (1)
Thorax (1)	Sebaceous epithelioma (1)	Sebaceous adenoma and hyperplasia (1)
Neck (1)	Sebaceous epithelioma (1)	Sebaceous epithelioma (1)
Dorsal cervical (1)	Sebaceous epithelioma (1)	Sebaceous epithelioma and sebaceous hyperplasia (1)
Ventral cervical (1)	Sebaceous epithelioma (1)	Sebaceous epithelioma and sebaceous hyperplasia (1)
Pelvic limb (2)	Sebaceous epithelioma (2)	Sebaceous epithelioma (2)
Ear (1)	Sebaceous epithelioma (1)	Sebaceous epithelioma (1)
Eyelid (1)	Meibomian gland neoplasm (1)	Meibomian epithelioma (1)
Thoracic limb (1)	Squamous cells carcinoma (1)	Squamous cells carcinoma (1)
Inguinal (1)	Squamous cells carcinoma (1)	Squamous cells carcinoma (1)
Neck (1)	Sebaceous carcinoma (1)	Apocrine carcinoma (1)
Lip (1)	Malignant neoplasm of undetermined origin (1)	Squamous cell carcinoma (1)
Vulva (2)	Leyomioma (2)	Leyomioma (2)
Thorax (1)	Lipoma (1)	Lipoma (1)
Abdomen (1)	Hemangioma (1)	Hemangioma (1)
Ventral (1)	Hemangioma (1)	Hemangiosarcoma (1)
Inguinal (1)	Hemangiosarcoma (1)	Hemangiosarcoma (1)
Mamma (1)	Sarcoma (1)	Mixosarcoma (1)
Thorax (1)	Sarcoma (1)	Osteosarcoma (1)
Pelvic limb (1)	Osteosarcoma (1)	Osteosarcoma (1)
Thoracic limb (1)	Chondrosarcoma (1)	Chondrosarcoma (1)
Lips (1)	Sarcoma (1)	Fibrosarcoma (1)
Abdominal (1)	Sarcoma (1)	Peripheral nerve sheath tumor (1)
Thorax (1)	Sarcoma (1)	Peripheral nerve sheath tumor (1)
Pelvic limb (1)	Sarcoma (1)	Peripheral nerve sheath tumor (1)



**Tabela 2.** Cytological and histopathological diagnoses for 68 cutaneous and subcutaneous neoplasms in dogs with the respective location.

<b>Location</b>	<b>Cytologic Diagnoses</b>	<b>Histopathologic diagnoses</b>
Ventral cervical (1)	Sarcoma (1)	Peripheral nerve sheath tumor (1)
Jaw (1)	Sarcoma (1)	Periosteal mandibular fibrosarcoma (1)
Abdomen (1)	Sarcoma (1)	Perivascular wall tumor malignant (1)
Ventral cervical (1)	Sarcoma (1)	Hemangiosarcoma/granulation tissue (1)
Prepuce (1)	Sarcoma (1)	Hemangiosarcoma/vascular hemartroma (1)
Scrotum (1)	Sarcoma (1)	Hemangiosarcoma (1)
Left pelvic limb (1)	Sarcoma (1)	Fibrosarcoma (1)
Thorax (2)	Mast cell tumor (2)	Mast cell tumor (2)
Thorax (1)	Mast cell tumor (1)	Mast cell tumor (1)
Vulva (1)	Mast cell tumor (1)	Mast cell tumor (1)
Scrotum (2)	Mast cell tumor (2)	Mast cell tumor (2)
Trunk (1)	Mast cell tumor (1)	Mast cell tumor (1)
Pelvic limb (2)	Mast cell tumor (2)	Mast cell tumor (2)
Prepuce (2)	Mast cell tumor (2)	Mast cell tumor (2)
Next to penis (1)	Mast cell tumor (1)	Mast cell tumor (1)
Scrotum (3)	Mast cell tumor (3)	Mast cell tumor (3)
Niple (1)	Mast cell tumor (1)	Mast cell tumor (1)
Abdomen (2)	Mast cell tumor (2)	Mast cell tumor (2)
Tail (1)	Mast cell tumor (1)	Mast cell tumor (1)
Thoracic limb (1)	Histiocitoma (1)	Histiocitoma (1)
Lips (1)	Histiocitoma (1)	Histiocitoma (1)
Head (1)	Melanocytic Tumor (1)	Melanoma (1)
Pelvic limb (2)	Melanocytic Tumor (2)	Melanoma (2)
Pelvic limb (1)	Melanocytic Tumor (1)	Amelanotic melanoma (1)
Nail bed (1)	Melanocytic Tumor (1)	Melanoma (1)
Left thoracic mama region (1)	Melanocytic Tumor (1)	Melanoma (1)

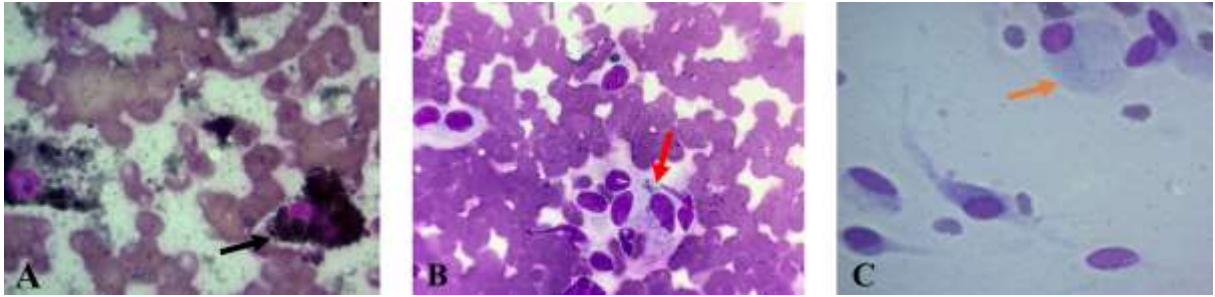
\*The number in parentheses indicates the number of cases for each diagnostic.

**Table 3.** Cytologic and histopathologic diagnoses for 11 cutaneous and subcutaneous non-neoplastic tumors in dogs with the respective location.

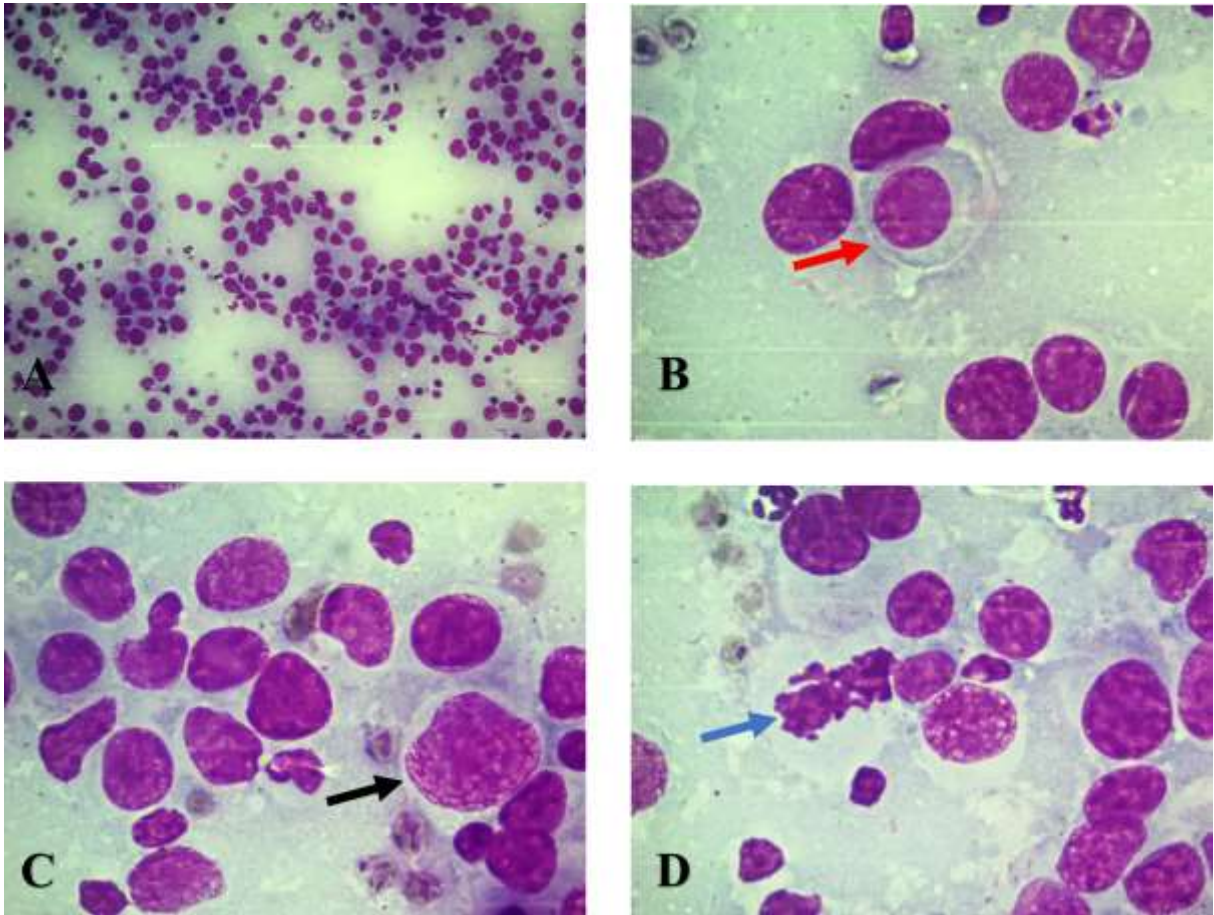
<b>Location</b>	<b>Cytologic diagnosis</b>	<b>Histopathologic diagnosis</b>
Thoracic limb	Pyogranulomatous inflammation	Multifocal pyogranulomatous dermatitis
Head (face)	Pyogranulomatous inflammation/ reactive fibroplasia	Folliculitis/furunculosis
Abdomen	Mixed inflammation/chronic	Lymphoplasmocytic inflammation
Head	Pyogranulomatous inflammation	Sebaceous gland hyperplasia
Head	Follicular/epidermic cyst	Multifocal dermoid cyst
Neck	Follicular/epidermic cyst	Multifocal dermoid cyst
Lower Eyelid	Pyogranulomatous inflammation	Pyogranulomatous dermatitis
Head	Neutrophilic inflammation	Apocrine cyst
Ear	Plasmacytic and macrophagic inflammation by <i>Mycobacterium</i> sp.	Leproid granuloma
Pelvic limb	Pyogranulomatous inflammation	Furunculosis/Lick granuloma
Scapula	Follicular/epidermic cyst	Collagenous nevus with follicular keratosis and furunculosis areas

**Table 4.** Cytologic and histopathologic diagnoses in disagreement for 6 cutaneous and subcutaneous tumors in dogs with the respective location.

<b>Location</b>	<b>Cytologic Diagnosis</b>	<b>Histopathologic Diagnosis</b>
Vulva	Suppurative inflammation	Tricholemoma
Digit	Purulent inflammation	Eccrine carcinoma
Thorax	Follicular/epidermic cyst	Trichoepithelioma
Digit	Sebaceous epithelioma	Focal adnexal dysplasia
Interdigital	Adnexal tumor	Pyogranulomatous dermatitis
Dorsolateral	Follicular cyst	Infundibular keratinizing acanthoma



**Figure 1** Fine needle aspiration cytology for 3 cutaneous samples (A: head, B: pelvic limb; C: pelvic limb) from dogs classified as melanocytic tumors. Note the variability presentation. The cells showed a pronounced quantity of dark-green to black pigment (black arrow) (A), from moderate to mild (red arrow) (B); shapes varying from spindle to rounded (orange arrow) (C). Histopathology classified all the samples as malignant (melanoma). Diff-quick, 1000x.



**Figure 2.** Canine, fine needle aspiration cytology from a plaque lesion in the labial commissure interpreted as malignant neoplasia of indeterminate origin. The slide showed features of high cellularity (A). Cells displayed cytoplasm with distinct borders and rounded shape (B) (red arrow). Karyomegalia (C) (black arrow) and abnormal mitotic figures (D) (blue arrow) were observed. The histopathological evaluation classified the lesion as squamous cell carcinoma. A, Diff-quick, x200. B, C, and D, Diff-quick, 1000x.

## Appendice 1

**RG:                      Breed:                      Age:                      Gender:**

**Lesion:**

**Diagnosis:**

<b>Cellularity</b>	Low ( )	Moderate ( )	High ( )
<b>Cells</b>	Epithelial ( ) Pleomorphic ( ) Individualized ( )	Mesenchymal ( ) Small groups ( )	Discrete ( ) Large groups ( )
<b>Arrangement</b>	Pavement ( ) Trabecular ( ) Honeycomb ( )	Papillary ( ) Palisade ( ) Storiform ( )	Acinar ( ) Perivascular ( )
<b>Citoplasm</b>			
Amount	Scarce ( )	Moderate ( )	Abundant ( )
Borders	Distinct ( ) Desmosomes ( )	Poorly distinct ( ) Cilia ( )	Indistinct ( )
Shape	Round ( ) Fusiform ( ) Columnar ( )	Oval ( ) Stellate ( ) Polygonal ( )	Spindle ( ) Pleomorphic ( ) Cuboidal ( )
Color	Clear ( ) Deep basophilia ( )	Mild basophilic ( )	Moderate basophilic ( )
Pigment/other	Basophilic ( ) Vacuoles ( )	Azurophilic ( ) Signet ring ( )	Black-green ( ) Finely granular ( )
<b>Nucleus</b>	Round ( ) Irregular ( ) Central ( ) Basal ( )	Oval ( ) Naked ( ) Peripheral ( ) Perinuclear vacuolization ( )	Reniform ( ) Anuclear ( )
<b>Chromatin</b>	Condensed ( ) Granular ( )	Coarse ( )	Reticular ( )
<b>Nucleoli</b>	Inconspicuous ( ) Single ( ) Round ( )	Small ( ) Multiple ( ) Oval ( )	Prominent ( ) Angular ( )
<b>Criteria</b>			
Anisocytosis	Mild ( )	Moderate ( )	Pronounced ( )
Anisokaryosis	Mild ( )	Moderate ( )	Pronounced ( )
Anisonucleolysis	Mild ( )	Moderate ( )	Pronounced ( )
Macrokaryosis ( )	Macronucleous ( )	Macrocytosis ( )	
Ratio N:C	Low ( )	Moderate ( )	High ( )
Canibalism ( )			
Binucleation ( )	Multinucleation ( )	Nuclear molding ( )	Emperipolesis ( )
Mitotic figures	Typical ( ) 40x	Abnormal ( ) 40x	
Eosinophilic amorphous material ( )	Collagenous fibers ( )	Clear background ( )	Hematic background ( )
Erithrofagocytosis ( )	Leukofagocytosis ( )	Basophilic proteinaceous ( )	Hemosiderin ( )
Fat ( )	Cholesterol crystal ( )	Hematoidin crystal ( )	Necrosis ( )

### 3 CONCLUSÃO

A partir da análise dos dados obtidos é possível concluir que a citologia aspirativa realizada no laboratório de Análises Clínicas Veterinária (LACVET) do Hospital Veterinário (HV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) apresenta elevada sensibilidade para o diagnóstico de neoplasmas tegumentares na espécie canina, fato que corrobora com outros estudos já realizados. Ainda, a citologia concordou com a histopatologia em todos os diagnósticos de mastocitoma. Esse dado é de extrema importância, uma vez que esse neoplasma é o tumor tegumentar mais frequente na espécie canina em nossa região.

Em relação às outras categorias citomorfológicas, pode-se concluir que a citologia é de grande valia para o diagnóstico de neoplasias epiteliais. Para os neoplasmas mesenquimais, mesmo que a classificação específica não seja possível na maioria dos casos, a citologia possibilita a identificação da origem tecidual e sua diferenciação em benigno ou maligno, auxiliando de forma rápida a escolha na conduta terapêutica. Os tumores melanocíticos, por sua vez, devem ser interpretados como potencialmente malignos, independentemente de sua localização e de sua sugestiva aparência citológica benigna.

O sucesso da avaliação citológica depende de vários fatores: conhecimento sobre características macroscópicas da lesão, histórico clínico, informações sobre raça, idade e sexo do paciente, amostras de qualidade e a prática do citologista. A obtenção de amostras de qualidade, por sua vez, depende da escolha correta da técnica de colheita de acordo com as características macroscópicas da lesão assim como adequada coloração das amostras. Em nossa rotina laboratorial, a realização da técnica aspirativa por parte dos residentes em patologia clínica, os quais executam esta tarefa diariamente, é um importante fator para a obtenção de amostras de qualidade e contribuiu para os resultados obtidos neste estudo.

Portanto, a citologia por punção aspirativa deve ser utilizada, sempre que disponível, na rotina veterinária como primeira opção diagnóstica, sobretudo como técnica de triagem, para lesões tumorais cutâneas e subcutâneas em cães, afim de classificá-las como neoplásicas ou não. Nossos resultados demonstram que há alta confiabilidade para esta técnica realizada no LACVET da UFSM.

## REFERÊNCIAS

- ALBANESE, F. **Canine and Feline Skin Cytology**. Springer: Arezzo, 2017. 521p.
- BARGER, A. M. Cytology of Bone. **Vet Clin Small Anim**, v.47, p.71-84, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561616300687?via%3Dihub>. Acesso em: 29 jul. 2018. DOI: 10.1016/j.cvsm.2016.07.005
- BONFANTI, U. et al. Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: A prospective study on 114 cases. **The Veterinary Journal**, v.205, p.322-327, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023314004353>. Acesso em: 26 jul. 2018. DOI: 10.1016/j.tvjl.2014.10.022.
- BRAZ, P. H. et al. Comparação entre a citopatologia por biópsia com agulha fina e a histopatologia no diagnóstico das neoplasias cutâneas e subcutâneas de cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.3, p.197-203, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v36n3/1678-5150-pvb-36-03-00197.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2018. DOI: 10.1590/S0100-736X2016000300008.
- BURTON, A. G. **Clinical atlas of small animal cytology**. 1. ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2017. 980p.
- CANIATTI, M. et al. Diagnostic accuracy of brush cytology in canine chronic intranasal disease. **Veterinary Clinical Pathology**, v.41, n.1, p.133-140, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-165X.2011.00388.x>. Acesso em: 26 jul. 2018. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2011.00388.x.
- COLETO, A. F. et al. Perfil de exames citológicos, sensibilidade e especificidade da punção por agulha fina em amostras cutâneas e subcutâneas em cães. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.38, n.3, p.311-315, 2016. Disponível em: <http://rbmv.com.br/?link=verart&tipo=ID&campo1=1124>. Acesso em: 27 jul. 2018.
- CONCEIÇÃO, L. G.; LOURES, F. H. Sistema Tegumentar. In: SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Rocca, 2016. cap.7. p. 406-486.
- DE CECCO, B. S. et al. Malignant peripheral nerve sheath tumor in a cat: cytological, histopathological, and immunohistochemical aspects. **Comparative Clinical Pathology**, v.27, p.803-806, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00580-018-2669-6>. Acesso em: 1 ago. 2018. DOI: 10.1007/s00580-018-2669-6
- FISHER, D. J. Cutaneous and Subcutaneous Lesions. In: VALENCIANO, A.G.; COWELL, R.L. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and the Cat**. 5<sup>th</sup>. Elsevier: 2019. cap. 5. p. 92-118.
- FISCHER, A. H., et al. The Cytologic Criteria of Malignancy. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.110, p.795-811, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcb.22585>. Acesso em: 24 jul. 2018. DOI: 10.1002/jcb.22585.

- GHISLENI, G. et al. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. **Veterinary Clinical Pathology**, v.35, n.1, p.24-30, 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00084.x>. Acesso em: 21 ago. 2018. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2006.tb00084.x
- GRANDI, F.; ROCHA, N. S. Introdução ao Citodiagnóstico em Medicina Veterinária. In: GRANDI, F; BESERRA, H. E. O.; Da COSTA, L. D. **Citopatologia Diagnóstica Veterinária**. 1. ed. São Paulo: MedVet, 2014. cap. 4. p.18-21.
- GRAÇA, R. F. Citologia para clínicos: como usar esta ferramenta diagnóstica. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, supl.2, p.267-269, 2007. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/actavet/35-suple-2/18%20-%20ANCLIVEPA.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2018.
- GUEDES, R. M. C. et al. Acurácia do exame citológico no diagnóstico de processos inflamatórios e proliferativos dos animais domésticos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.1-5, 2000. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010209352000000500004&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010209352000000500004&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 25 jul. 2018. DOI:10.1590/S0102-09352000000500004.
- JACOCKS, K.; HOEPP, N.; DENICOLA, D. B. Round Cells. In: VALENCIANO A.G.; COWELL R.L. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and the Cat**. 5<sup>th</sup>. ed. Elsevier: 2019. cap. 4. p. 65-71.
- JOHNSON, M. C.; MYERS, A. N. Cytology of Skin Neoplasms. **Vet Clin Small Anim**, v.47, p.85-110, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561616300699?via%3Dihub>. Acesso em: 31 Jul. 2018. DOI: 10.1016/j.cvsm.2016.07.006.
- KU, C. K.; KASS, P. H.; CHRISTOPHER, M. M. Cytologic-histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymph nodes: a retrospective study of 367 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n.4, p.1206-1207, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vco.12256>. Acesso em: 23 mai. 2019. DOI: :10.1111/vco.12256.
- MACNEILL, A. L. Cytology of Canine and Feline Cutaneous and Subcutaneous Lesions and Lymph Nodes. **Topical Review**, v.26, n.2, p.62-76, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1938973611000262>. Acesso em: 19 jul. 2018. DOI: 10.1053/j.tcam.2011.02.004.
- MAGALHÃES, A. M. et al. Estudos comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.1, p.23-32, 2001. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2001000100006&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2001000100006&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 9 ago. 2018. DOI: 10.1590/S0100-736X2001000100006
- MARCOS, R. et al. Pele, seus Anexos e Tecido Subcutâneo. In: PELETEIRO, M.C. et al. **Atlas de Citologia Veterinária**. Lisboa: Lidel, 2011. cap. 3. p. 45-100



MASSERDOTTI, C. Architectural patterns in cytology: correlation with histology.

**Veterinary Clinical Pathology**, v.35, n.4, 388-396, 2006. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00154.x>. Acesso em: 28 jul. 2018. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2006.tb00154.x.

MEINKOTH, J. H.; COWELL, R. L. Recognition of basic cell types and criteria of malignancy. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v.32, p.1209-1235, 2002.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561602000487?via%3Dihub>.

Acesso em: 2 ago. 2018. DOI: 10.1016/S0195-5616(02)00048-7.

MEINKOTH, J. H. et al. Sample Collection and Preparation. In: VALENCIANO A.G.;

COWELL R.L. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and the Cat**. 5<sup>th</sup>. Elsevier:

2019. cap. 1. p. 1-17.

MEINKOTH, J. H. COWELL R. L. TYLER, R. D. Cell Types and Criteria of Malignancy.

In: VALENCIANO A.G.; COWELL R.L. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and the Cat**. 5<sup>th</sup>. Elsevier: 2019. cap. 2. p.18-42.

MELÉNDEZ-LAZO, A. et al. Cell cannibalism by malignant neoplastic cells: three cases in dogs and a literature review. **Vet Clin Pathol**, v.44, n.2, p.287-294, 2015. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vcp.12242>. Acesso em: 3 ago. 2018. DOI: 10.1111/vcp.12242.

MELLO, C. B. E; LUCIO, B. M.; ENGELMANN A. M.; et al. Disseminated histoplasmosis in a Brazilian domestic cat: early diagnosis and successful treatment. **Comparative Clinical Pathology**. v.28, p.1835-1840, 2019. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00580-019-02954-7>. Acesso em: 1 de maio de 2019. DOI: 10.1007/s00580-019-02954-7.

MÉNARD, M.; FONTAINE, M.; MORIN, M. Fine Needle Aspiration Biopsy of Malignant Tumors in Dogs and Cats: A Report of 102 Cases. **Can Vet J**, v.27, n.12, p.504-510, 1986.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1680429/>. Acesso em: 7 ago. 2018.

MENDELSON, C; ROSENKRANTZ, W.; GRIFFIN, C. E. Practical Cytology for Inflammatory Skin Diseases. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.21, p.117-157, 2006. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096286706000326?via%3Dihubhttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1680429/>. Acesso em: 7 jul. 2018. DOI: 10.1053/j.ctsap.2006.05.004.

MEYER, D. J. The Acquisition and Management of Cytology Specimens. In: RASKIN R. E., MEYER D. J. **Canine and Feline Cytology: a color atlas and interpretation guide**. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016. cap. 1. p. 34-90.

MOORE, A. R. Preparation of Cytology Samples: Tricks of the Trade. **Vet Clin Small Anim**, v.47, p.1-16, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S019556161630064X?via%3Dihub>. Acesso em: 1 ago. 2018. DOI: 10.1016/j.cvsm.2016.07.001.

RASKIN, R. E. General Categories of Cytologic Interpretation. In: RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. **Canine and Feline Cytology**: a color atlas and interpretation guide. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016a. cap. 2. p. 16-33.

RASKIN, R. E. Skin and Subcutaneous Tissue. In: RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. **Canine and Feline Cytology**: a color atlas and interpretation guide. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016b. cap. 3. p. 34-90.

RESSEL, L. **Normal Cell Morphology in Canine and Feline Cytology**: an identification guide. 1th. ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2018. 173p.

ROSOLEM, M. C. et al. Estudo retrospectivo dos exames citológicos realizados em um Hospital Veterinário Escola em um período de cinco anos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.3, p.735-741, 2013. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352013000300019&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352013000300019&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 27 Ago. 2018.

ROSSETTO, V. J. V. et al. Frequência de neoplasmas em cães diagnosticados por exame citológico: estudo retrospectivo em um hospital-escola. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n.1, p.189-200, 2009. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/2662/2314>. Acesso em: 20 Jul. 2018.

ROTH, L. Comparison of Liver Cytology and Biopsy Diagnoses in Dogs and Cats: 56 cases. **Veterinary Clinical Pathology**, v.30, n.1, p.35-38, 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-165X.2001.tb00254.x>. Acesso em: 2 ago. 2018. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2001.tb00254.x.

SANTANA, A. E. et al. Citologia Aspirativa por Agulha Fina Aplicada ao Estudo das Neoplasias. In: DALECK, C. R.; De NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Rocca, 2016. cap. 5. p.112-132.

SILVA, C. M. O. et al. Tumor de bainha de nervo periférico em cães: relato de três casos. **Arq. Bras. Met. Vet. Zoot.**, v.59, n.3, p. 379-684, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352007000300020&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000300020&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 10 set. 2018. DOI: 10.1590/S0103-8478006000200030

SIMEONOV, R. S. The accuracy of fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of canine skin and subcutaneous mass. **Comp Clin Pathol**, v.21, n.2, 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/235447420\\_The\\_Accuracy\\_of\\_Fine-Needle\\_Aspiration\\_Cytology\\_in\\_the\\_Diagnosis\\_of\\_Canine\\_Skin\\_and\\_Subcutaneous\\_Masses](https://www.researchgate.net/publication/235447420_The_Accuracy_of_Fine-Needle_Aspiration_Cytology_in_the_Diagnosis_of_Canine_Skin_and_Subcutaneous_Masses) Acesso em: 23 jan. 2019. DOI:10.1007/s00580-010-1075-5

SOUZA, T. M. et al. Estudo Retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.555-560, 2006. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782006000200030&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782006000200030&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 12 ago. 2018. DOI: 10.1590/S0103-84782006000200030.

THOMPSON, C. A.; MACNEILL, A. L. Common Infectious Organisms. **Vet Clin Small Anim**, v.47, p.151-164, 2017. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561616300730?via%3Dihub>.  
Acesso em: 9 ago. 2018. DOI: 10.1016/j.cvsm.2016.07.010.

VENTURA, R. F. A.; COLODEL, M. M.; ROCHA, N. S. Exame citológico em medicina veterinária: estudo retrospectivo de 11.468 casos (1994-2008). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.11, p.1.1169-1.173, 2012. Disponível em:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2012001100016](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2012001100016). Acesso em: 27 ago. 2018. DOI: 10.1590/S0100-736X2012001100016.

VILALTA, L. et al. Clinical, Cytological, Histological, and Immunohistochemical Features of Cutaneous Mast Cell Tumors in Ferrets (*Mustela putoriusfuro*). **Journal Comparative Pathology**, v.155, p.346-355, 2016. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997516301025?via%3Dihub>.  
Acesso em: 14 mai. 2018. DOI: 10.1016/j.jcpa.2016.07.012

WERNER, P. R.; WERNER, J. Avaliação Histopatológica. In: DALECK, C.R.; DE NARDI, A.B.; RODASKI, S. **Oncologia em Cães e Gatos**. 1. ed. São Paulo: Rocca, 2009. cap. 6. p.121-134.

YUMUSAK, N.; KUTSAL, O. A comparative study between fine needle aspiration biopsy (FNAB) findings and histopathology in the evaluation of canine skin and skin adnexal tumors. **Ankara Univ Faj Derg**, v.63, p.393-400, 2016. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/306229412\\_A\\_comparative\\_study\\_between\\_fine\\_needle\\_aspiration\\_biopsy\\_FNAB\\_findings\\_and\\_histopathology\\_in\\_the\\_evaluation\\_of\\_canine\\_skin\\_and\\_skin\\_adnexal\\_tumors](https://www.researchgate.net/publication/306229412_A_comparative_study_between_fine_needle_aspiration_biopsy_FNAB_findings_and_histopathology_in_the_evaluation_of_canine_skin_and_skin_adnexal_tumors). Acesso em: 10 jan. 2019.