

AVALIAÇÃO CITOLÓGICA E CORRELAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM TUMORES MAMÁRIOS CANINOS: PRECISÃO DIAGNÓSTICA

(Cytological evaluation and histopathological correlations in canine mammary tumors: diagnostic accuracy)

Carla Régia Soares BEZERRA^{1*}; Francisco Wesley da Silva ALVES²; Michelle Costa e SILVA²; Wendy Camelo FREIRES³; Francisco Emanuel Pinheiro CAVALCANTE⁴; Breno Queiroz PINHEIRO⁴; Isaac Neto Goes da SILVA⁴

¹Programa de Residência em Área Multiprofissional da Saúde/Medicina (UECE). Av. Dr. Silas Munguba, 1700 – Campus Itaperi, Fortaleza/CE, CEP: 60.714.903.; ²Medico(a) Veterinário(a); ³Centro Universitário Christus; ⁴Universidade Estadual do Ceará. *E-mail: carlaregia16@gmail.com

RESUMO

As neofomações em glândula mamária possuem grande prevalência em cadelas, abrangendo mais de 50% de todas as neoplasias. Alguns fatores como raça, idade, exposição hormonal, dieta e obesidade podem influenciar no desenvolvimento desses tumores. O início da avaliação de neofomações mamárias em cadelas começa durante a anamnese clínica e exame físico, e é concluído por meio da realização do exame histopatológico, considerado padrão ouro. Na medicina veterinária, a análise citopatológica vem desempenhando um papel importante na abordagem inicial de neofomações, por ser um exame simples, rápido, de baixo custo, e com risco mínimo para o paciente. Sua utilização tem como propósito definir a natureza da neofomação, possibilitando uma abordagem clínica e cirúrgica mais direcionada. Dentre as neoplasias de glândula mamária, estudos mostram que a maior prevalência é de tumores malignos, ressaltando dessa forma a importância da utilização do exame citopatológico para uma abordagem terapêutica mais precoce. A acurácia diagnóstica da técnica é avaliada para diversos tipos de tecidos na qual é aplicada, apresentando uma precisão menos favorável para tumores mamários em comparação a outros tipos de tumores. Desta forma, o presente estudo investigou a acurácia diagnóstica da técnica de citologia por agulha fina para os tumores da glândula mamária canina quando comparados ao exame histopatológico, avaliando a sensibilidade, e especificidade, assim como os valores preditivos positivos e negativos associados à referida técnica.

Palavras-chave: Diagnóstico, acurácia, neoplasia.

ABSTRACT

Mammary gland neoplasms exhibit a high prevalence in female dogs, encompassing over 50% of all tumors. Some factors such as breed, age, hormonal exposure, diet, and obesity may influence their development. The evaluation of mammary gland neoformations begins during clinical anamnesis and physical examination, and it is completed by the histopathological examination, considered the gold standard for diagnosis. In veterinary medicine, cytopathological analysis plays an important role in the initial assessment of these neoplasms, since it is a simple, fast, and low-cost exam, presenting minimum risks for the patient. Its application aims to define the nature of the neoplasm, providing a more targeted clinical and surgical approach. Among mammary gland neoplasms, studies have shown a predominance of malignant tumors, underscoring the significance of cytopathological examination to provide an early therapeutic intervention. The diagnostic accuracy of this technique is evaluated across various types of tissues, demonstrating less favorable precision for mammary tumors compared to others. Thus, the present study investigated the diagnostic accuracy of the fine needle aspiration cytology in mammary gland tumors in bitches compared to the histopathological examination, evaluating the sensitivity and specificity, as well as positive and negative predictive values associated with the technique.

Keywords: Diagnosis, accuracy, neoplasia.

INTRODUÇÃO

As neoplasias mamárias são um dos tipos de tumores mais prevalentes em cadelas, podendo abranger até 52% de todas as neoplasias (FILHO *et al.*, 2010; SALAS *et al.*, 2015).

Recebido: fev./2024.

Publicado: jun./2024.

Os tumores mamários originam-se de células luminiais ou mioepiteliais, e podem apresentar metaplasias diversas (YILDIRIM e GUREL, 2012; CASSALI *et al.*, 2020).

Embora uma maior frequência de tumores da glândula mamária (TGM) tenha sido relatada em certas raças de cães, incluindo Poodle, o Cocker Spaniel e o Pastor Alemão, acredita-se que a predisposição racial varie de acordo com os animais domésticos dominantes na região ou país (SALAS *et al.*, 2015). Os TGM são mais comuns em cadelas intactas ou em cadelas com resquícios ovarianos, de modo que a idade, a exposição hormonal, a dieta e a obesidade aumentam o risco de desenvolvimento destes tumores. Ademais, possuem rara casuística em cães machos (SONTAS *et al.*, 2012).

O início da avaliação de tumores mamários em cadelas começa durante a anamnese clínica e exame físico, de forma que os primeiros critérios prognósticos, como tamanho e ulceração, já podem ser avaliados, e apresentam uma íntima relação com a frequência de malignidade (NUNES *et al.*, 2018). Outros fatores prognósticos, como o grau, a invasão tecidual e o estágio, são identificados apenas por meio do exame histopatológico, sendo este, portanto, o método definido como padrão ouro (SIMON *et al.*, 2009).

Os animais de estimação têm tumores com apresentação histopatológica e comportamento biológico similares àqueles que acometem o homem, sendo utilizados como modelos apropriados, e válidos, ao estudo da biologia do câncer (ZUCCARI *et al.*, 2001). Na medicina humana, a citologia é um método consolidado, para determinar a presença de malignidade, utilizado na avaliação pré-operatória de pacientes com neoplasias mamárias. Na medicina veterinária, o crescimento recente da utilização da citologia como método diagnóstico destaca sua eficácia (CASSALI *et al.*, 2007; YILDIRIM e GUREL, 2012; KUPPUSAMY *et al.*, 2019), promovendo avanços terapêuticos e diagnósticos.

A citologia por agulha fina (CAF) é um exame amplamente empregado para obtenção de amostras em diversos órgãos, sendo referido como um método simples, rápido e de baixo custo, com risco mínimo para o paciente. Tornando-se oportunamente utilizada para abordagem inicial de uma lesão com o propósito de definir a sua natureza, fornecendo informações valiosas que serão utilizadas como ferramenta prognóstica, orientando o manejo clínico e cirúrgico (MAGALHÃES *et al.*, 2001; ROCHA e TOSTES, 2005; EMANUELLI *et al.*, 2020).

Quando aplicado em lesões da glândula mamária, a CAF apresenta boa acurácia diagnóstica, auxiliando na diferenciação de tumores cutâneos, tumores mamários benignos e malignos (CASSALI *et al.*, 2007; EMANUELLI *et al.*, 2020). No contexto clínico, esse método diagnóstico tem por intuito evitar procedimentos invasivos, como a biópsia incisional, propiciando ao clínico e/ou cirurgião uma avaliação e abordagem mais racional e precisa de lesões mamárias (ROCHA e TOSTES, 2005; SORENMO *et al.*, 2020).

Na medicina veterinária, o uso da CAF é bem estabelecido para o diagnóstico de diversos tipos de tumores, apresentando uma alta concordância entre citologia e histopatologia (GOLDSCHMIDT *et al.*, 2011). Estudos em cães relataram uma precisão menos favorável do diagnóstico citológico para tumores mamários do que para outros tipos de tumores, com menor sensibilidade e especificidade (SIMON *et al.*, 2009).

O sucesso da CAF depende das diversas fases de condução da técnica, desde a obtenção da amostra, da preparação da lâmina e sua coloração, até o exame citoscópico do material aspirado. As dificuldades impostas a um ou mais passos da técnica podem afetar os resultados que serão obtidos (ZUCCARI *et al.*, 2001; SANGHA e SINGH, 2012).

Enquanto alguns estudos descreveram acurácia inadequada da CAF para o diagnóstico de tumores mamários, outros mostraram concordâncias razoáveis entre diagnósticos citológicos e histológicos. De forma que as discrepâncias entre esses estudos poderiam ser explicadas por fatores relacionados aos tipos de tumores, habilidades técnicas e desenhos de estudo (EMANUELLI *et al.*, 2020; CHOI *et al.*, 2004).

Neste estudo, foi investigada a precisão diagnóstica da técnica de citologia por agulha fina para os tumores da glândula mamária canina quando comparados ao exame histopatológico. O escopo da pesquisa compreendeu a caracterização dos parâmetros de sensibilidade, especificidade, assim como os valores preditivos positivos e negativos associados à referida técnica.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais do estudo

O presente trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso Animal da Universidade Estadual do Ceará (CEUA/UECE) sob o protocolo nº 11690648/2021. Foi realizado um estudo prospectivo com um total de 50 cadelas, oriundas da rotina de atendimentos do Hospital Veterinário Sylvio Barbosa Cardoso (HVSBC) da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (FAVET/UECE), entre junho de 2022 e julho de 2023.

As pacientes foram elegíveis para este estudo quando preenchiam os seguintes critérios: (1) presença de uma ou mais neoformação(ões) mamária(s); (2) amostras aspiradas por agulha fina obtidas antes da cirurgia; (3) excisão cirúrgica; e (4) exame histopatológico subsequente. Dos quais, foram obtidos dados de 65 neoformações.

Ademais, foi traçado o perfil epidemiológico das pacientes com base na idade, na raça e no status reprodutivo. Somando-se a isso, foi necessário o consentimento assinado do proprietário para utilização dos dados.

Obtenção de amostras

As cadelas atendidas no HVSBC, com histórico clínico de presença de uma ou mais neoformação(ões) em região mamária, realizaram o exame citopatológico na triagem para avaliar a necessidade de realização do procedimento cirúrgico.

As pacientes foram encaminhadas para o Setor de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) do HVSBC para a realização da coleta citopatológica, onde se procedeu a anamnese e a avaliação das alterações em glândula mamária. Posteriormente, após a limpeza da região a ser puncionada, utilizando álcool 70%, foram inseridas agulhas com calibre e diâmetro de 0,55 x 25mm acopladas a uma seringa de 10mL, ficando ao critério do patologista responsável a decisão de realizar a coleta por meio de aspiração ou não. Para nódulos maiores que 5 cm eram realizadas múltiplas coletas, em quatro diferentes quadrantes. A amostra citológica foi confeccionada por meio da técnica de squash, em seguida, as lâminas foram secas ao ar para coloração com corante tipo Romanowsky (Panótico Rápido®).

As técnicas cirúrgicas das mastectomias foram adotadas de acordo com as mamas envolvidas, tamanho, aderência e as características clínicas de cada paciente (CASSALI *et al.*, 2020). Foi dada prioridade, sempre que possível, a realização da mastectomia total unilateral em primeiro lugar e da mastectomia regional em segundo.

Após a remoção cirúrgica da cadeia mamária, amostras das mamas e linfonodos foram fixadas em solução formol-salina tamponada 10% de 24 a 48 horas e depois armazenadas em 70% álcool até o momento do processamento. Posteriormente foram incluídas em parafina e sendo realizados cortes de 4µm de espessura com auxílio de micrótomo, seguido de coloração com hematoxilina e eosina (H&E).

A lâminas então foram avaliadas em microscopia óptica para determinação do grau de diferenciação celular, pleomorfismo, anaplasia, embolização vascular ou linfática, margens e metástases em linfonodos adjacentes de acordo com o proposto por Cassali *et al.* (2014, 2017). O grau histológico (I, II, III) será considerado de acordo com a formação dos tubular, pleomorfismo e índice mitótico (ELSTON e ELLIS, 1998). Quando a paciente apresentou mais de uma neoformação aquela com apresentação histológica e grau mais agressivos (e.x.: carcinoma sólido, carcinossarcoma, carcinoma micropapilar, carcinoma lobular pleomórfico) foi considerada para análise (CASSALI *et al.*, 2020).

As lâminas citológicas e histopatológicas foram analisadas por microscopia óptica (Primostar 1 - ZEISS® - 100x, 400x e 1000x), de forma que os critérios citopatológicos adotados foram os propostos por Allen *et al.* (1986) e a classificação histopatológica utilizada foi a proposta por Cassali *et al.* (2020). No presente estudo, o diagnóstico histopatológico foi considerado como padrão ouro.

Análise estatística

Os achados citológicos foram comparados com o diagnóstico histopatológico, sendo este último o método padrão ouro. A validade do exame citológico como teste diagnóstico na detecção de malignidade foi analisada pela determinação da sensibilidade, da especificidade, dos valores preditivos positivos e negativos, e da acurácia. Ademais, a correlação entre os diagnósticos foi avaliada por meio da determinação do coeficiente de concordância de Kappa através do Programa Excel, sendo descrita como ruim ($\kappa < 0,2$), regular ($\kappa = 0,21-0,40$), moderada ($\kappa = 0,41-0,60$), substancial ($\kappa = 0,61-0,80$) ou excelente ($\kappa = 0,81-1,0$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, a idade das pacientes variou de 1 a 19 anos, com média e desvio padrão de $10,0 \pm 3,13$. Corroborando com Pierini *et al.* (2017), que ao analisar a idade média de 28 cadelas submetidas a procedimentos cirúrgicos em decorrência da presença de tumores mamários obteve que a idade média das pacientes foi de 9 anos, com variação de 4 a 16 anos. Ademais, Rocha e Tostes (2005), em estudo prospectivo com 148 cadelas, avaliaram que a idade média obtida foi de 7 anos, e acrescentou que a depender da região, nos quais forem realizados os estudos, o perfil dos animais acometidos pode mudar significativamente.

A maior incidência das neoformações mamárias foi em cadelas sem raça definida, perfazendo 50% dos animais do estudo. Em contraponto, das pacientes que possuíam raça definida, as que tiveram maior prevalência foram: Poodle (24%), Pinscher (8%) e Yorkshire (6%). Achados similares aos de Filho *et al.* (2010), que obteve prevalência de 42% de tumores mamários em pacientes sem raça definida, e dos animais que possuíam raça definida o Poodle, Cocker Spaniel, Dachshund, Pastor Alemão e Pinscher, estavam entre as mais prevalentes,

achado esse que pode apenas refletir a população do microambiente estudado não necessariamente indicando as raças predispostas.

O índice de risco para desenvolvimento das neofomações mamárias varia entre cadelas castradas e não-castradas, e depende ainda da idade em que o procedimento é realizado (Filho *et al.*, 2010). No presente estudo, durante a avaliação inicial das pacientes que foram atendidas com queixa de tumores em região mamária, 90% (45/50) não eram castradas. Do mesmo modo, Sontas *et al.* (2012) e Pierini *et al.* (2017) obtiveram achados similares com prevalência de animais férteis de aproximadamente 79% e 90%, respectivamente.

Existem estudos que avaliam o acometimento neoplásico entre as mamas de uma mesma cadeia, citando as inguinais como as mais prevalentes, atribuindo essa maior ocorrência ao fato dessas mamas possuírem maior quantidade de parênquima. Já outros autores, alegam ter associação com uma maior presença de receptores hormonais, favorecendo assim a ocorrência de neoplasias (Filho *et al.*, 2010). Em consonância, no presente estudo, as mamas inguinais apresentaram uma maior casuística tumoral (Fig. 01).

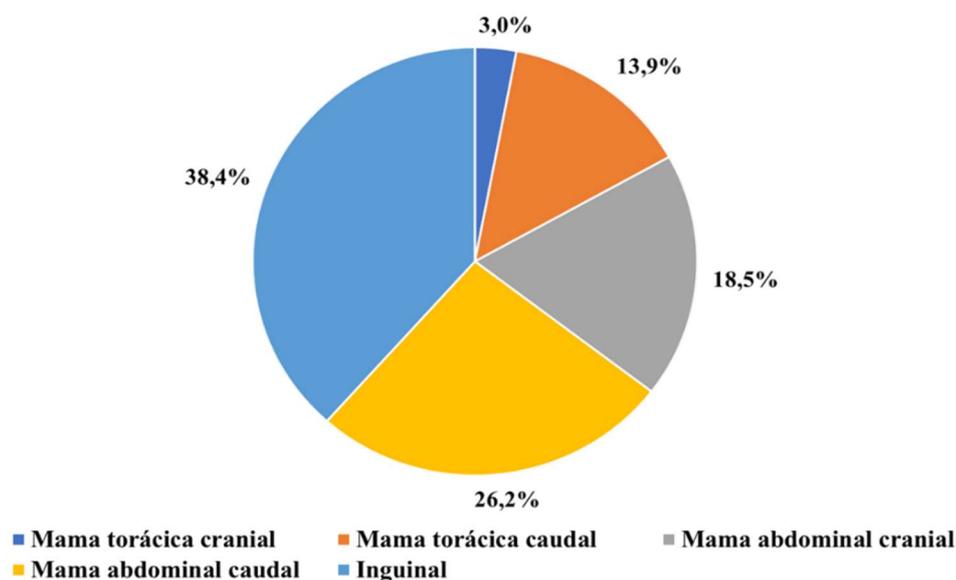


Figura 01: Frequência da localização dos tumores mamários apresentados pelas cadelas do estudo.

Dos 65 tumores avaliados, dois não entraram nas estatísticas do estudo por serem de origem do tecido cutâneo. No presente estudo, o diagnóstico citopatológico correlacionou-se com o diagnóstico histopatológico de tumores benignos e malignos em aproximadamente 68% (43/63) dos casos (Tab. 01), apresentando sensibilidade de 80%, especificidade de 23%, valor preditivo positivo de 80% e negativo de 23%. A baixa especificidade obtida, evidencia que a avaliação citológica subdiagnosticou lesões benignas de glândula mamária.

Vale ressaltar, que a baixa especificidade diagnóstica tem sido atribuída à presença de necrose ou inflamação em tumores mamários, pois esses processos podem resultar em atipias celulares. Outro fator importante, é a heterogeneidade dos tumores mamários caninos, nos quais as células apresentam morfologia variável em diferentes áreas do tumor, podendo levar a diagnósticos falso negativos ou, no caso de lesões benignas altamente proliferativas, a

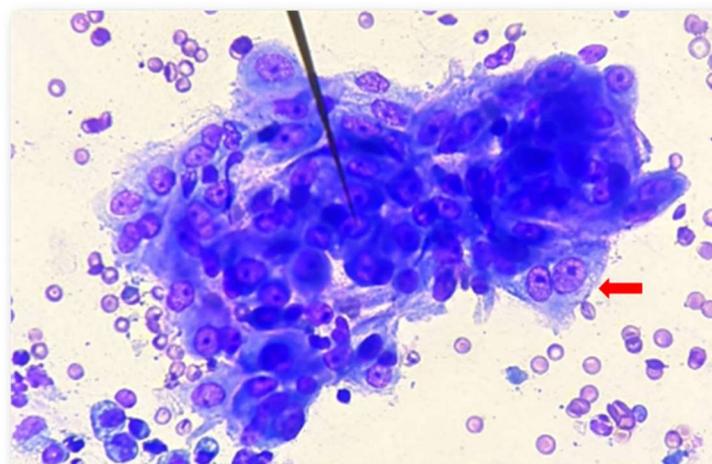
diagnósticos falso positivos se a amostra citológica não for adequadamente representativa da neoplasia (SIMON *et al.*, 2009).

Tabela 01: Comparação de resultados citológicos e histopatológicos para diferenciação de 63 tumores mamários caninos benignos e malignos.

DIAGNÓSTICO HITOPATOLOGICO	CITOPATOLÓGICO		TOTAL
	BENIGNO	MALIGNO	
BENIGNO	3	10	13
MALIGNO	10	40	50
TOTAL	13	50	63

É importante salientar que fatores relacionados às habilidades técnicas, como a coleta, a preparação de amostras e a experiência do citopatologista, além dos relacionados aos desenhos de estudo, como o número de amostras não diagnósticas e o de casos incluído no estudo, possuem grande impacto ao se avaliar a acurácia diagnóstica (EMANUELLI *et al.*, 2020).

A utilização, pela citologia, de colorações do tipo Romanowsky, permite uma melhor estimativa dos tamanhos relativos das células e do núcleo, e uma visualização superior de detalhes citoplasmáticos, de elementos de fundo do esfregaço e de componentes da matriz intercelular. Já a secagem ao ar influencia a estrutura da cromatina nuclear, que se torna condensada e, portanto, mais hipercromática. Ademais, a acentuação das diferenças de tamanho e cromaticidade entre núcleos normais e malignos produzidos, pelas colorações do tipo Romanowsky, é uma característica útil para avaliar aspirados com agulha fina, especialmente quando se trata de malignidades bem diferenciadas, como podemos observar na Fig. 02 (KRAFTS e PAMBUCCIAN, 2011).



(Fonte: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária - UECE, 2023)

Figura 02: Fotomicrografia da glândula mamária neoplásica em uma cadela.

Obs.: Agrupamento celular pouco coeso (seta preta); alterações celulares e nucleares, como binucleação e nucléolos evidentes (seta vermelha); coloração de Romanowsky (Panótico Rápido®, 400x, MO, ZEISS Zen 2.6 Blue Edition®).

Ademais, os tumores de glândula mamária (TGM) em caninos, podem ter apresentação histológica diferente entre demais neofomações de um mesmo animal, e às vezes, até em partes diferentes do mesmo nódulo, justificando coletas citológicas múltiplas em mais de uma

localização para aumentar a sensibilidade diagnóstica. Aliado a isso, ressalta-se a importância do envio de múltiplos fragmentos de uma mesma peça para análise histopatológica, para se ter uma maior representatividade e avaliação prognóstica do caso (ZUCCARI *et al.*, 2001).

Com base nos resultados histopatológicos, dentre os diagnósticos das neofomações de tecido mamário, a maior prevalência foi de lesões malignas com casuística de 79% (50/63). Achados similares aos de Yildirim e Gurel (2012), que obtiveram prevalência de 76% de tumores malignos na população estudada, e os de Filho *et al.* (2010) que ao analisar 1.465 resultados histopatológicos de TGM em cadelas obtiveram que 26,6% eram benignos e 73,3% eram malignos, ressaltando a maior frequência de malignidade em neofomações mamárias. Desse modo, alguns estudos associam que essa maior prevalência possa ter relação com a detecção tardia das massas tumorais (YILDIRIM e GUREL, 2012; NUNES *et al.*, 2018).

Bem como, a maior casuística de neoplasias malignas pode se relacionar a uma menor sobrevida das pacientes o que reforça a importância da citologia como um exame de execução mais rápida e de boa especificidade para avaliação preliminar, auxiliando a aplicação das diferentes modalidades terapêuticas utilizadas no câncer mamário com intensidade e eficácia adequadas e individualizadas (NUNES *et al.*, 2018).

No presente estudo, a maior representatividade dos tumores mamários caninos foi de carcinomas em tumor misto 49% (31/63), como podemos observar na Tab. 02. Por certo, Cassali *et al.* (2007) relatam que maioria dos tumores mamários caninos (TMC) são tumores mistos benignos ou malignos, caracterizados por uma mistura complexa de células epiteliais e mioepiteliais que ocasionalmente apresentam metaplasia condroide, óssea ou escamosa.

Tabela 02: Categorização citopatológica das neoplasias de glândula mamária canina em comparação com a respectiva classificação histopatológica.

DIAGNÓSTICO HITOPATOLOGICO	CITOPATOLÓGICO		TOTAL
	BENIGNO	MALIGNO	
Hiperplasia lobular	1	0	1
Mama lactante	1	0	1
Tumor filoides benigno	0	1	1
Adenomioepitelioma	0	1	1
Fibroadenoma	1	0	1
Tumor misto benigno	0	4	4
Papiloma	0	4	4
CA papilar	1	2	3
CA em tumor misto	4	27	31
Adenomioepitelioma maligno	2	2	4
CA cribiforme	0	1	1
CA tubular	2	0	2
CA in situ	0	4	4
CA sólido	1	0	1
CA complexo	0	2	2
Hemangiossarcoma de mama	0	2*	2
TOTAL	13	50	63

*Neoplasia identificada como maligna, mas com diferente origem celular.

Dentre as neoplasias benignas de glândula mamária, os papilomas (36%) e tumores mamários mistos (36%) se apresentaram com maior prevalência, achados que corroboram aos

obtidos por Nunes *et al.* (2018), entretanto com proporções de 83% para tumores mamários benignos e de 09% para papilomas.

CONCLUSÕES

Concluiu-se, portanto, que a CAF deve ser utilizada como um método auxiliar na triagem de TMC por proporcionar um diagnóstico simples, elucidativo e, em algumas situações, conclusivos, proporcionando ao clínico uma conduta rápida e objetiva com relação ao prognóstico e tratamento de seu paciente. Mesmo nos casos em que o diagnóstico não é definitivo, as características da CAF podem orientar o manejo clínico e cirúrgico. Dessa forma a obtenção de amostras representativas, bem como o treinamento do patologista responsável pelo diagnóstico, são essenciais para obter resultados clinicamente relevantes.

REFERÊNCIAS

- CASSALI, G.D.; GOBBI, H.; MALM, C.; SCHMITT, F.C. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours. **Cytopathology**, v.18, n.3, p.191–196, 2007.
- CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E.; ESTRELA-LIMA, A.; DE NARDI, A. B.; GHEVER, C.; TANAKA, N. M. Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors-2013. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.7, n.2, p.38-69, 2014.
- CASSALI, G.D.; DAMASCENO, K. ;BERTAGNOLLI, A. ; ESTRELA-LIMA, A.; LAVALLE, G.; SANTIS, G.; NARDI, A. B. ; FERNANDES, C.; COGLIATI, B.; SOBRAL, R.; COSTA, F.; FERREIRA, E.; SALGADO, B.; CAMPOS, C.; D'ASSIS, M.; SILVA, L.; MACHADO, M.; FIRMO, B.; NUNES, F.; NAKAGAKI, K. Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors: benign mixed tumors, carcinomas in mixed tumors and carcinosarcomas. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.10, p.87-99, 2017.
- CASSALI, G.D.; JARK, P.C.; GAMBA, C.; DAMASCENO, K.A.; LIMA, A.E.; NARDI, A.B.; FERREIRA, E.; HORTA, R.S.; FIRMO, B.F.; SUEIRO, F.A.R.; RODRIGUES, L.C.S.; NAKAGAKI, K.Y.R. Consenso Relativo ao Diagnóstico, Prognóstico e Tratamento dos Tumores Mamários Caninos e Felinos - 2019. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, n.13, v.3, p.555–574, 2020.
- CHOI, Y.D.; CHOI, Y.H.; LEE, J.H.; NAM, J.H.; JUHNG, S.W.; CHOI, C. Analysis of fine needle aspiration cytology of the breast: a review of 1,297 cases and correlation with histologic diagnoses. **Acta Cytologica**, v.48, n.6, p.801-806, 2004.
- ELSTON, C.W.; ELLIS, I.O. Assessment of Histological Grade. *In*: WRIGHT, G.P.; SYMMERS, W.S.C. **Systemic Pathology**. 3. ed., London: Churchill Livingstone, 1998, p.365–384.

EMANUELLI, M.P.; KOMMERS, G.D.; ANTONIAZZI, A.Q.; BERNARDES, F.C.S.; LOPES, S.T.A.; FIGHERA, R.A. Myoepithelial cells and extracellular matrix in the cytologic differentiation of canine mammary tumors. **Veterinary Clinical Pathology**, v.49, n.3, p.451–458, 2020.

FILHO, J.C.O.; KOMMERS, G.D.; MASUDA, E.K.; MARQUES, B.M.F.P.P.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.L. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.177-185, 2010.

GOLDSCHMIDT, M.; PENA, L.; RASOTTO, R.; ZAPPULLI, V. Classification and Grading of Canine Mammary Tumors. **Veterinary Pathology**, v.48, n.1, p.117-131, 2011.

KRAFTS, K.P; PAMBUCCIAN, S.E. Romanowsky staining in cytopathology: history, advantages and limitations. **Biotechnic & Histochemistry**, v.86, n.2, p.82–93, 2011.

KUPPUSAMY, K.; RAJAN, A.; WARRIER, A.; NADHAN, R.; PATRA, D.; SRINIVAS, P. Cytological Grading of Breast Tumors - The Human and Canine Perspective. **Frontiers in Veterinary Science**, v.6, p.283-290, 2019.

MAGALHÃES, A.M.; RAMADINHA, R.R.; BARROS, C.S.L.; PEIXOTO, P.V. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.1, p.23-32, 2001.

NUNES, F.C.; CAMPOS, C.B.; TEIXEIRA, S.V.; BERTAGNOLLI, A.C.; LAVALLE, G.E.; CASSALI, G.D. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, n.6, p.1714-1722, 2018.

PIERINI, A.; MILLANTA, F.; ZANFORLIN, R.; VANNOZZI, I.; MARCHETTI, V. Usefulness of cytologic criteria in ultrasound-guided fine-needle aspirates from subcentimeter canine mammary tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.29, n.6, p.869–873, 2017.

ROCHA, N.S.; TOSTES, R.A. diagnóstico comparativo entre citologia aspirativa por agulha fina e avaliação histológica da glândula mamária de cadelas. **Colloquium Agrariae**, v.1, n.2, p.38-42, 2005

SALAS, Y.; MÁRQUEZ, A.; DIAZ, D.; ROMERO, L. Estudio Epidemiológico de Tumores Mamários em Cadelas Diagnosticados Durante o Período 2002-2012: Um Problema Crescente de Saúde Animal. **PLOS UN**, v.10, n.5, p.1-15, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25992997/> . Acesso em: 15 fev. 2024.

SANGHA, S.; SINGH, A. Cytopathology of Canine Mammary Gland Affections. In: POBLET, E. **Histopathology - Reviews and Recent Advances**, 2012. p.97-120.

SIMON, D.; SCHOENROCK, D.; NOLTE, I.; BAUMGARTNER, W.; BARRON, R.; MISCHKE, R. Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. **Veterinary Clinical Pathology**, v.38, n.4, p.521–528, 2009.

SONTAS, B.H.; OZTURK, G.Y.; TOYDEMIR, T.F.S.; ARUN, S.S.; EKICI, H. Fine-Needle Aspiration Biopsy of Canine Mammary Gland Tumours: A Comparison Between Cytology and Histopathology. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, n.1, p.125–130, 2012.

SORENMO, K.U.; WORLEY, D.R.; ZAPPULLI V. Tumors of the Mammary Gland. In: VAIL, D.M.; THAMM, D.H.; LIPTAK, J.M. **Small Animal Clinical Oncology**. 6. ed., St. Louis, Missouri, Elsevier, 2020, p.04- 615.

YILDIRIM, F.; GUREL, A. Comparison between cytological and histopathological evaluations of canine mammary tumours. **Revue Médecine Vétérinaire**, v.163, n.3, p.116-122, 2012.

ZUCCARI, D.A.P.C.; SANTANA, A.E.; ROCHA, N.S. Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.1, p.38-41, 2001.