

## Estudo clínico e histológico das pálpebras e conjuntiva hígdas submetidas ao tratamento tópico com soluções anestésicas em coelhos

[Clinical and histological evaluation of healthy eyelid and conjunctiva subject to local treatment with anesthetic solutions in rabbits]

A.V.C. Amaral<sup>1</sup>, N.S.T. Chaves<sup>1</sup>, L.A.F. Silva<sup>1</sup>, L.F.F. Fleury<sup>2</sup>, L.B. Menezes<sup>3</sup>,  
F.G. Lima<sup>1</sup>, A.M.V. Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola de Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Goiás – Goiânia, GO

<sup>2</sup>Escola de Medicina – Universidade Federal de Goiás – Goiânia, GO

<sup>3</sup>IPTESP – Universidade Federal de Goiás – Goiânia, GO

### RESUMO

Avaliaram-se as apresentações comerciais de colírios anestésicos aplicados em 63 coelhos da raça Nova Zelândia, distribuídos em três grupos (G1, G2 e G3) de 21 animais cada e que receberam instilação de uma gota em cada olho seis vezes ao dia. Os animais do G1 foram tratados com colírio de cloridrato de proparacaína a 0,5%; os do G2, com colírio de cloridrato de tetracaína a 1% associado à fenilefrina a 0,1%; e os do G3, com solução fisiológica. Cada grupo foi subdividido em três subgrupos com sete animais cada, os quais foram tratados por três, sete e 15 dias. No final de cada tratamento, dois animais de cada subgrupo foram sacrificados para exame histológico de fragmentos retirados da conjuntiva, da terceira pálpebra e das pálpebras. Observou-se, ao exame clínico, episclerite em graus diversos em 100% dos animais do G1, no terceiro, sétimo e 15º dia, e em apenas 17,8% nos do G2, nestes mesmos dias. Ao exame microscópico, observaram-se aumento do número de células califormes, proliferação de folículos linfóides, aumento do número de eosinófilos e aumento do espaço intersticial nas pálpebras dos animais do G1. Pôde-se concluir que o colírio de tetracaína a 1% associado à fenilefrina a 0,1% promoveu maior toxicidade à conjuntiva ocular e às pálpebras de coelhos quando comparado ao colírio de proparacaína a 0,5%.

Palavras-chave: coelho, colírio, tetracaína, proparacaína, blefarite

### ABSTRACT

*This work aimed to evaluate commercial presentations of anesthetic eye drops in sixty three New Zealand rabbits which were separated equally in three groups (G1, G2 and G3). The G1 group was treated with 0.5% proparacaine chloridrate eye drop, G2 group with 1% tetracaine chloridrate associated with 0.1% phenylephrine eye drop and G3 group with 0.9% physiologic solution eye drop. All of them received one drop in each eye six times a day. Each group was subdivided into three subgroups (seven rabbits), which are treated for 3, 7 and 15 days. At the end of each treatment, two animals in each subgroup were subject to euthanasia, for the purpose of conjunctiva, eyelids and third eyelids histological evaluation. At the clinical exam, different grades of episcleritis were found in all rabbits in G2 group and only in 17.8% of the rabbits in G1 group. Eye and eyelid histologic evaluation of G2 group revealed an upgrade of goblet cells and eosinophil number, lymphoid follicle proliferation and increase of interstitial space in the eyelids. We could conclude that 1% tetracaine associated with 0.1% phenylephrine eye drop caused more eyelid and ocular conjunctiva toxicity than 0.5% proparacaine eye drop.*

Keywords: blepharitis, eye drop, proparacaine, rabbit, tetracaine

---

Recebido em 13 de agosto de 2011

Aceito em 19 de agosto de 2012

E-mail: andreiavcvet@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

Os colírios anestésicos desempenham papel de fundamental importância na oftalmologia humana e veterinária, sendo mais comumente utilizados o cloridrato de tetracaína e o cloridrato de proparacaína (Bartfield *et al.*, 1994; Marsh *et al.*, 2005). Manipulações simples para fins de diagnóstico, tais como a tonometria, a inspeção em busca de corpo estranho ocular, a inspeção da terceira pálpebra e do ducto nasolacrimal, seriam praticamente impossíveis sem a utilização desses fármacos. Tais substâncias bloqueiam, de forma reversível, a transmissão de estímulos nervosos, interrompendo o processo de excitação e condução do estímulo nervoso nas fibras periféricas (Stebbing e Bornstein, 1994; Cepeda *et al.*, 2002; Becker e Reed, 2006).

As soluções anestésicas mais comumente utilizadas para anestesia da superfície ocular são o cloridrato de tetracaína e o cloridrato de proparacaína (Stiles *et al.*, 2001). O cloridrato de tetracaína é um derivado do ácido para-aminobenzoico, e soluções para uso oftalmológico de 1% a 2% podem ser instiladas diretamente no fundo do saco conjuntival. A tetracaína é o mais potente anestésico local e o de maior penetração na córnea, daí a sua grande utilização. O cloridrato de proparacaína, que também recebe a denominação brasileira de cloridrato de proximetacaína, é um derivado éster do ácido benzoico e possui características similares às da tetracaína. O fármaco é apresentado na solução de 0,5%, e o tempo para início da anestesia é em torno de 13 segundos, perdurando por 15 minutos em média. (Bartfield *et al.*, 1994; Campos *et al.*, 1994; Grant e Acosta, 1994; Marcondes, 1999).

Já são bem conhecidas as lesões no epitélio corneal e no estroma promovidas pelo uso de colírios anestésicos. Estas estão associadas, principalmente, a uma série de fenômenos tóxicos no epitélio corneal e no estroma, cuja lesão clássica decorrente do abuso desses fármacos consiste num infiltrado em forma de anel no estroma corneal. Instilações repetidas desses fármacos retardam o processo de cicatrização de lesões corneais ao interferir na regeneração epitelial, por meio da diminuição da mitose e da migração celular (Cherry *et al.*, 1994; Arshinoff *et al.*, 1996; Verma e Marshall, 1996; Moreira *et al.*, 1999). Entretanto, as

descrições sobre a toxicidade de soluções anestésicas na conjuntiva e nas pálpebras foram evidenciadas somente em relato de caso no homem (Dannaker *et al.*, 2001).

Os modelos experimentais com coelhos são utilizados com frequência em estudos de oftalmologia. Nestes, os colírios anestésicos são necessários, invariavelmente, para a aferição da pressão intraocular, para a eletrorretinografia e para o teste lacrimal de Schirmer do tipo dois (Gelatt, 2007; Maggs *et al.*, 2008). Assim, o conhecimento da ação desses fármacos sobre as conjuntivas e pálpebras na espécie é de grande importância.

O propósito deste estudo foi comparar, utilizando parâmetros clínicos e histológicos, as alterações palpebrais e conjuntivais promovidas pelo uso tópico de soluções anestésicas à base de cloridrato de proparacaína a 0,5% e de cloridrato de tetracaína a 1%, utilizando o coelho como modelo experimental.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 63 coelhos da raça Nova Zelândia, espécie *Oryctolagus cuniculus*, saudáveis, de peso corpóreo médio de 2500g, com seis a oito meses de idade. Desses, 21 eram de pelagem vermelha, sendo 13 machos e oito fêmeas, e 42 albinos homozigotos, sendo 31 machos e 11 fêmeas, distribuídos, por meio de sorteio, em três grupos (G1, G2 e G3) de 21 animais cada. O protocolo terapêutico instituído foi o mesmo para todos os grupos, constando de instilação de uma gota da solução em cada olho, a cada duas horas, durante 12 horas do dia, perfazendo um total de seis instilações diárias em cada olho. Os animais do G1 foram tratados com colírio de cloridrato de proparacaína a 0,5% (Anestalcon®, Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.); os do G2, com colírio de cloridrato de tetracaína a 1% associado à fenilefrina a 0,1% (Colírio Anestésico®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.); e os do G3, com solução fisiológica a 0,9% (Fisiológico 0,9%, Equiplex® Produtos Farmacêuticos Ltda.). Cada grupo foi dividido em três subgrupos de sete animais, tratados por três, sete e 15 dias. No final de cada tratamento, dois animais de cada subgrupo, machos albinos homozigotos, foram eutanasiados para exame histológico de

fragmentos retirados da conjuntiva, da terceira pálpebra e das pálpebras.

Durante o período correspondente a cada tratamento, os animais foram submetidos diariamente ao exame clínico ocular para avaliação da conjuntiva e pálpebras. Para tal, foram utilizados foco de luz (Transiluminador de Finoff, Heine, Alemanha), lupa (Lupa de Pala, Estek, São Paulo, SP) e oftalmoscópio direto (Miroflex – Heine, Alemanha). Avaliaram-se as superfícies conjuntival e palpebral, quanto à ausência ou presença de hiperemia e edema; ainda, a presença de secreção ocular, blefaroespasma, epífora e prurido. Para tabulação dos resultados do exame clínico (Tab. 1 e 2), em cada animal, foram adotados os seguintes critérios: Secreção: (0) ausente, (1) leve – traços de secreção no fundo de saco conjuntival ou aderida às margens palpebrais –, (2) moderado – pequena quantidade de secreção, facilmente visível na conjuntiva e margem palpebral –, (3) acentuado – grande quantidade de secreção conjuntival e palpebral, permitindo, porém, a observação do bulbo ocular –, (4) intenso – grande quantidade de secreção conjuntival e palpebral, dificultando a abertura da fenda palpebral –; Episclerite: (0) ausente, (1) leve – discreta hiperemia episcleral –, (2) moderado – hiperemia episcleral em grau moderado, discreta quemose e epífora –, (3) acentuado: moderada a intensa hiperemia episcleral, discreta quemose e epífora –, (4) intenso – intensa hiperemia episcleral, quemose, epífora e blefaroespasma –; Blefarite: (0) ausente, (1) leve – discreta hiperemia palpebral –, (2) moderado – hiperemia moderada e discreto edema palpebral –, (3) acentuado – hiperemia acentuada e moderado edema palpebral, prurido –, (4) intenso – intensa hiperemia e edema palpebral, prurido –; Secreção ocular (tipos): serosa – secreção límpida e transparente –, seromucosa – presença de fração serosa e fração mucosa –, mucosa – secreção esbranquiçada –, purulenta – secreção amarelada na vigência de infecção. Para registro das informações acima citadas, foi feita uma ficha de avaliação clínica para cada animal, onde se identificou o sexo, a cor da pelagem e os olhos (direito e esquerdo),

para posterior observação do efeito dessas variáveis sobre o resultado.

Ao final dos tratamentos, os animais foram eutanasiados utilizando-se injeção de thiopental sódico (Thiopentax®, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.), na dose de 65mg por quilograma de peso vivo, na veia marginal da orelha. Para a avaliação histológica, foram utilizados dois animais machos albinos homozigotos de cada subgrupo experimental, perfazendo um total de 36 olhos. Realizou-se a retirada das pálpebras e da terceira pálpebra. Após fixação em formol tamponado a 10% (Dinâmica Química Contemporânea, São Paulo, SP), as amostras foram seccionadas ao meio, em corte vertical, para retirada de fragmentos de aproximadamente 30mm de espessura para impregnação em parafina. Os fragmentos colhidos foram seccionadas numa espessura de 4µm e coradas pela hematoxilina e eosina (HE), conforme descrito por Luna (1968). As lâminas foram examinadas em fotomicroscópio óptico de campo claro Microscópio triocular – Modelo Jenaval – Carl Zeiss, Alemanha), e as imagens selecionadas registradas por máquina filmadora (CCD Color câmera SAC – 410ND – Samsung), acoplada ao microscópio e armazenadas digitalmente empregando-se o *software* PCTV Vision (PCTV Vision (versão 1.04) – Pinnacle Systems Inc). Para leitura das lâminas foram avaliados: infiltrado inflamatório, vasodilatação e quantidade de hemácias presentes nos vasos sanguíneos, hiperplasia de células calciformes, hiperplasia de folículos linfóides e linfoangiectasia.

Utilizou-se teste de Kruskal-Wallis para comparar os efeitos de tratamentos e dia da avaliação clínica sobre o escore. Pelo teste de Wilcoxon, verificou-se o efeito do sexo e da cor da pelagem sobre o escore final. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *software* estatístico SAEG (Sistema..., 2007) e adotando-se a significância de 0,05. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – COEP/UFG, sob protocolo n.º 002/07.

Tabela 1. Resultados da avaliação clínica dos olhos em que se instilou colírio de cloridrato de proparacaína a 0,5% (G1)

	Avaliação	Secreção	Episclerite	Blefarite
3º dia (n= 42)	Leve	0	7 (16,67%)	0
	Moderada	0	0	0
	Grave	0	0	0
	Intensa	0	0	0
	Total		7 (16,67%)	
7º dia (n= 28)	Leve	0	6 (21,43)	0
	Moderada	0	0	0
	Grave	0	0	0
	Intensa	0	0	0
	Total		6 (21,43)	
15º dia (n= 14)	Leve	0	2 (14,28%)	0
	Moderada	0	0	0
	Grave	0	0	0
	Intensa	0	0	0
	Total		2 (14,28%)	

Tabela 2. Resultados da avaliação clínica dos olhos em que se instilou colírio de cloridrato de tetracaína a 1% (G2)

	Avaliação	Secreção	Episclerite	Blefarite
3º dia (n= 42)	Leve	11 (26,19 %)	0	6 (14,29%)
	Moderada	15 (35,72 %)	21 (50%)	13 (30,95%)
	Grave	3 (7,14%)	19 (54,24%)	2 (4,76%)
	Intensa	0	2 (4,76%)	0
	Total	29 (69,05%)	42 (100%)	21 (50%)
7º dia (n= 28)	Leve	10 (35,71%)	0	9 (32,14%)
	Moderada	8 (28,57%)	10 (35,71%)	12 (42,86%)
	Grave	10 (35,71%)	18 (64,29%)	5 (17,86%)
	Intensa	0	0	0
	Total	28 (100%)	28 (100%)	26 (92,86%)
15º dia (n= 14)		2 (14,29%)	0	4 (28,57%)
		6 (42,86%)	4 (28,57%)	6 (42,86%)
		5 (35,71%)	7 (50,00%)	3 (21,43%)
		0	3 (21,43%)	1 (7,14%)
	Total	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise estatística, foi verificado efeito dos tratamentos sobre o escore das alterações clínicas ( $P < 0,05$ ). Verificou-se diferença significativa entre os escores do grupo tratado com cloridrato de proparacaína (G1) e o tratado com tetracaína (G2), assim como entre o grupo tratado com cloridrato de tetracaína e o que recebeu solução fisiológica (G3) ( $P > 0,05$ ). Porém, ao comparar-se o G1 ao G3, não foi evidenciada diferença significativa ( $P > 0,05$ ).

Sabe-se que a gravidade das lesões promovidas pelo uso contínuo de colírios anestésicos pode

estar relacionada com o tempo de uso, ou seja, quanto maior o tempo de tratamento, maior a gravidade das lesões (Marcondes, 1999). Entretanto, nas condições do presente estudo, quando se comparou o tempo de utilização dos colírios com o escore total de alterações clínicas, não foi verificada influência em nenhum dos tratamentos ( $P > 0,05$ ). Também, não foi detectado efeito do olho direito ou esquerdo ( $P = 0,47$ ), do sexo ( $P = 0,17$ ) e da cor da pelagem ( $P = 0,28$ ) sobre o escore das alterações clínicas.

Foi observada menor incidência de alterações clínicas no G1 (Tab. 1) do que no G2 em todos os períodos avaliados (Tab. 2). Tais resultados

estão de acordo com Bartfield *et al.* (1994), Campos *et al.* (1994) e Grant e Acosta (1994), que descreveram maior toxicidade do cloridrato de tetracaína quando comparado ao cloridrato de proparacaína.

Os achados clínicos encontrados nas pálpebras e conjuntivas nos olhos dos coelhos tratados com o cloridrato de tetracaína, como edema, hiperemia conjuntival, presença de secreção mucosa e prurido, indicaram manifestações de toxicidade ao colírio (Fig. 1A a 1D). Tais reações são semelhantes àquelas imunomediadas do tipo IV, também chamadas de reações de hipersensibilidade tardia, que se caracterizam pela presença de edema, prurido e hiperemia local, desenvolvendo-se em algumas horas após exposição ao antígeno (Abelson e Udell, 2000). Neste grupo, evidenciou-se episclerite em 100% dos casos, variando de grau moderado a intenso; presença de secreção de aspecto mucoso de grau leve a acentuado de 69 a 100% das observações e blefarite de grau leve a intenso em, no mínimo, 50% das observações. Dannaker *et al.* (2001) relataram um caso de dermatite alérgica por contato num paciente que utilizou as duas soluções anestésicas, com presença de episclerite e blefarite com prurido periocular, alterações condizentes àquelas encontradas neste estudo.

Imediatamente após a instilação do colírio de tetracaína, foi observado intenso desconforto ocular, conforme citado por Marcondes (1999), visto que os animais apresentavam imediato blefaroespasma. O desconforto ocular não foi verificado em nenhum animal que recebeu colírio de proparacaína do presente experimento, assim como nas avaliações feitas por Bartfield *et al.* (1994) e Marsh *et al.* (2005).

As alterações microscópicas observadas nos grupos tratados com o cloridrato de tetracaína consistiram em aumento do número de hemácias presentes dentro dos vasos sanguíneos, edema (Fig. 2A), linfoangiectasia (Fig. 2B) e hiperplasia de folículos linfoides das conjuntivas palpebral,

bulbar e da terceira pálpebra. Foram também observados infiltrados inflamatórios contendo eosinófilos, linfócitos, macrófagos, mastócitos e poucos neutrófilos nas conjuntivas palpebral e bulbar, caracterizados principalmente como do tipo linfoplasmocitário (Fig. 2C), além de hiperplasia de células caliciformes na lâmina própria da conjuntiva palpebral, principalmente no fórnice conjuntival (Fig. 2D).

As alterações encontradas na conjuntiva ocular dos animais tratados com soluções anestésicas, segundo Chang (1997) e Abelson e Udell (2000), podem ser sugestivas tanto de um processo tóxico quanto alérgico. De forma semelhante ao encontrado neste experimento, Santos *et al.* (2003) já haviam evidenciado a presença de infiltrados inflamatórios contendo eosinófilos, macrófagos, linfócitos e monócitos em coelhos com conjuntivite responsiva a um fármaco. No entanto, não se pode afirmar que a natureza da patologia decorrente do uso local de anestésicos seja alérgica pela presença de eosinófilos, pois Limberg *et al.* (1986) postularam que esse tipo celular foi descrito em pacientes portadores de uma variedade de doenças oftálmicas.

A hiperplasia de células caliciformes e de pequenos agregados linfoides, distribuídos ao longo da lâmina própria da conjuntiva palpebral, evidenciada nos animais que receberam colírio de cloridrato de tetracaína e, em menor intensidade, nos animais tratados com o cloridrato de proparacaína, constitui um achado inespecífico. De acordo com Spencer (1996) e Render e Carlton (1998), poderia ocorrer em conjuntivite de qualquer natureza, podendo, inclusive, progredir até formação de folículos gigantes. O edema estromal, evidenciado nas conjuntivas palpebral e bulbar caracterizou-se por afastamento das fibras reticulares e a presença de linfoangiectasia, confirmando a presença de excesso de líquido a ser drenado. Essas alterações estão de acordo com aquelas referenciadas por Cotran *et al.* (1994), em resposta à presença de um agente químico.

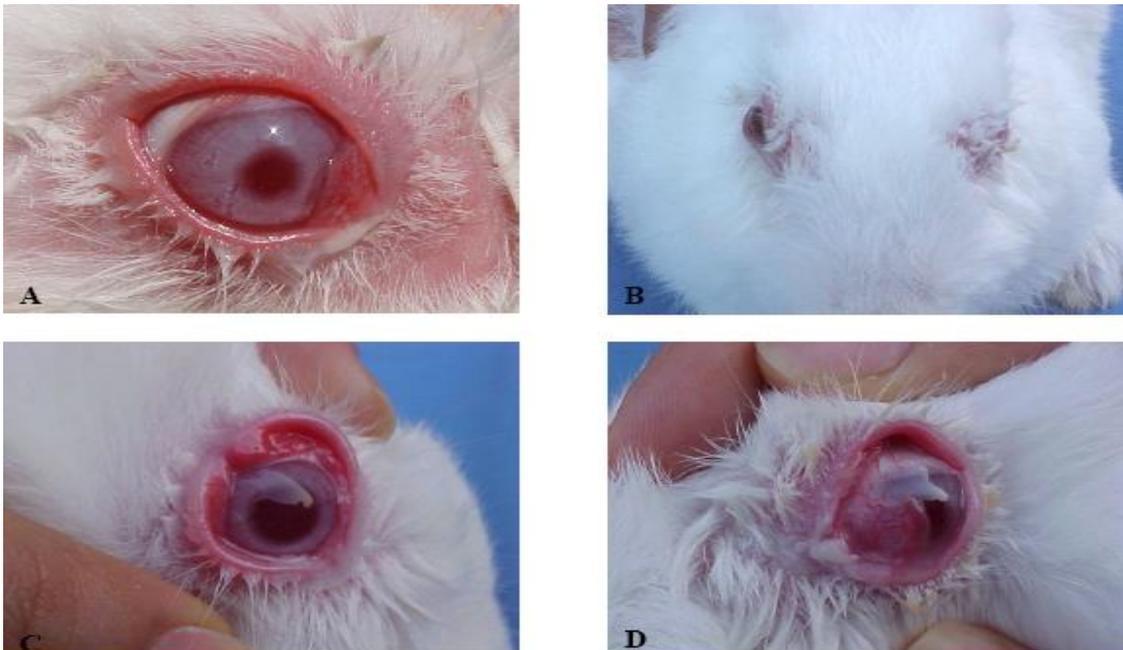


Figura 1. Animais que receberam tratamento com colírios anestésicos. (A): olho direito de um coelho tratado por três dias com colírio de cloridrato de tetracaína apresentando blefarite com presença de secreção mucoide; (B): coelho tratado com colírio de cloridrato de tetracaína por sete dias, ao quinto dia de tratamento, apresentando blefaroespanto no olho esquerdo; (C): olho direito de coelho tratado com colírio de proparacaína por três dias, apresentando hiperemia conjuntival e quemose; (D): olho esquerdo de coelho tratado com colírio de tetracaína por sete dias, apresentando quemose, projeção da terceira pálpebra com hiperemia e edema e secreção mucoide.

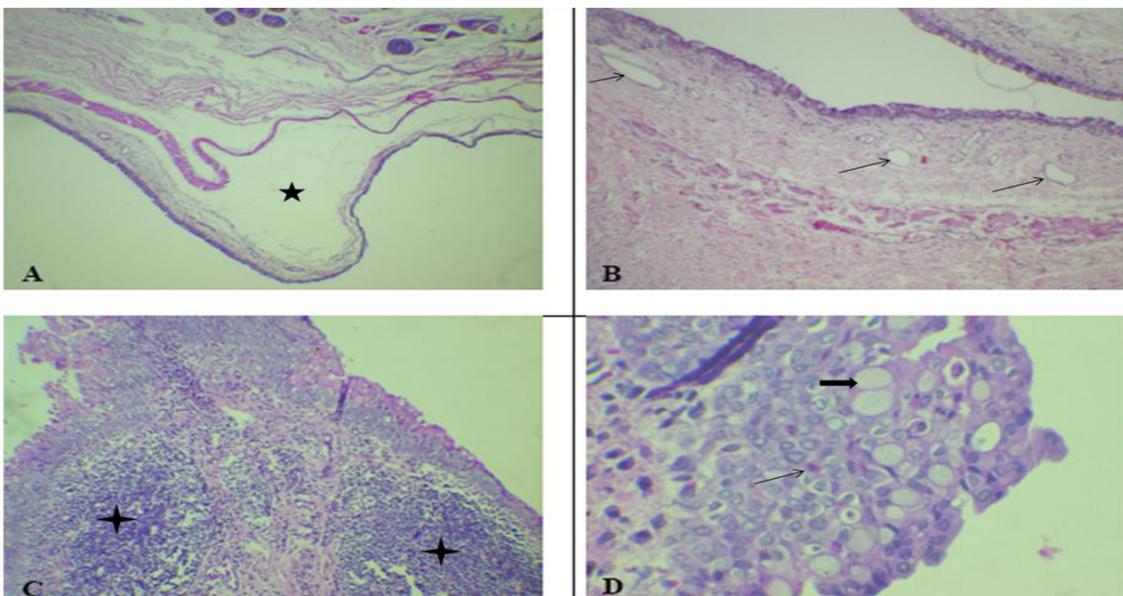


Figura 2. (A): Fotomicrografia de fragmento palpebral de coelho tratado com colírio de cloridrato de tetracaína por sete dias, mostrando edema acentuado (★) (HE,250X). (B): Fragmento palpebral de animal tratado com colírio de cloridrato de tetracaína por três dias, mostrando linfoangiectasia em grau moderado (setas) (HE,125X). (C) Fragmento palpebral de coelho tratado com colírio de cloridrato de tetracaína por 15 dias, mostrando presença de infiltrado linfoplasmocitário em grau intenso (★) (HE,125X). (D): Fragmento palpebral de coelho tratado com colírio de cloridrato de tetracaína por 15 dias, mostrando hiperplasia de células caliciformes (seta larga) e presença de eosinófilos (seta) em grau leve, infiltrando o epitélio (HE,1000X).

## CONCLUSÕES

A instilação de colírio anestésico à base de cloridrato de tetracaína a 1% promove acentuada toxicidade à conjuntiva ocular, às pálpebras e à terceira pálpebra de coelhos quando comparado com colírio de proparacaína a 0,5%, quando realizadas em períodos de três, sete e 15 dias, sendo, portanto, não indicada a sua utilização nessa espécie.

## REFERÊNCIAS

- ABELSON, M.B.; UDELL, I.J. Allergic and toxic reactions. In: ALBERT, D.M. JAKOBIEC, F.A. *Principles and practice of ophthalmology*. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p.781-803.
- ARSHINOFF, S.A.; MILLS, M.D.; HABER, S. The pharmacotherapy of photorefractive keratectomy. *J. Cataract Refract. Surg.*, v.22, p.1037-1044, 1996.
- BARTFIELD, J.M.; HOLMES, T.J.; RACCIO-ROBAK, N.A. Comparision of proparacaine and tetracaine eye anesthetics. *Acad. Emerg. Med.*, v.1, p.364-367, 1994.
- BECKER, D.E.; REED, K.L. Essentials of local anesthetic Pharmacology. *Anesth. Prog.*, v.53, p.98-109, 2006.
- CAMPOS, M.; RAMAN, S.; LEE, M. *et al.* Keratocyte loss after different methods of de-epithelialization. *Ophthalmology*, v.101, p.890-894, 1994.
- CEPEDA, M.S.; LAU, J.; CARR, D.B. Defining the therapeutic role of local anesthetic sympathetic blockade in complex regional pain syndrome: a narrative and systematic review. *Clin. J. Pain*, v.18, p.216-33, 2002.
- CHANG, S.D. Toxic conjunctivitis. In: KRACHMER, J.H.; MANNIS, M.J.; HOLLAND, E.J. *Cornea*. St. Louis: Mosby-Year Book, 1997. p.847-856.
- CHERRY, P.M.H.; TUTTON, M.K.; ADHIKARY, H. The treatment of pain following photorefractive keratectomy. *J. Cat. Refract. Surg.*, v.10, p.222-225, 1994.
- COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. *Robbins pathologic basis of disease*. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. 1277p.
- DANNAKER, C.J.; MAIBACH, H.I.; AUSTIN, E. Allergic contact dermatitis to proparacaine with subsequent cross-sensitization tetracaine fron ophthalmic preparation. *Am. J. Contact. Dermat.*, v.12, p.177-179, 2001.
- GELATT, K.N. *Veterinary Ophthalmology*. 4th ed. Hardcover: Wiley-Blackwell, 2007. 1696p.
- GRANT, R.L.; ACOSTA, D. Comparative toxicity of tetracaine, proparacaine and cocaine evaluated with primary cultures of rabbit corneal epithelial cells. *Exp. Eye Res.*, v.59, p.469-478, 1994.
- LIMBERG M.B.; MARGO, C.E.; LYMAN, G.H. Eosinophis in córneas removed by penetrating keratoplasty. *Br. J. Ophthalmol.*, v.70, p.343-346, 1986.
- LUNA, L.G. *Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 3th ed. New York: McGraw Hill, 1968. 258p.
- MAGGS, D.J.; MILLER, P.E.; OFRI, R. *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2008. 478p.
- MARCONDES, A.M. Anestésicos tópicos. In: VITA SOBRINHO, J.B. *Farmacologia e terapêutica ocular*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1999. p.29-34.
- MARSH, V.A.; YOUNG, W.O.; DUNAWAY, K.K. *et al.* Efficacy of topical anesthetics to reduce pain in premature infants during eye examinations for retinopathy of prematurity. *Ann. Pharmacother.*, v.39, p.829-833, 2005.
- MOREIRA, L.B.; KASETSWAN.; SANCHEZ, D. *et al.* Toxicity of topical anesthetic agents to human keratocytes in vivo. *J. Cataract Refract. Surg.*, v.25, p.975-980, 1999.
- RENDER, J.; CARLTON, W. Patologia do olho e ouvido. In: CARLTON, W.; MacGAVIN, M.D. *Patologia veterinária especial de Thompson*. 2.ed. Porto Alegre: ArtMed, 1998. p.590-636.
- SAEG *Sistema para Análises Estatísticas*. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANTOS, N.C.; SOUSA, L.B.; FREITAS, D. *et al.* Toxicidade córneo-conjuntival do colírio de iodo-povidona: estudo experimental. *Arq. Bras. Oftalmol.*, v.66, p.279-288, 2003.

SPENCER, W.H. *Ophthalmic pathology*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. 295p.

STEBBING, M.J.; BORNSTEIN, J.C. Electrophysiological analysis of the convergence of peripheral inputs onto neurons of the celiac ganglion in the guinea pig. *J. Auton. Nerv. Syst.*, v.46, p.93-105, 1994.

STILES, J.; KROHNE, S.; RANKIN, A. *et al.* The efficacy of 0.5% proparacaine stored at room temperature. *Vet. Ophthalmol.*, v.4, p.205-207, 2001.

VERMA, S.; MARSHALL, J. Control of pain after photorefractive keratectomy. *J. Cat. Refract. Surg.*, v.12, p.358-364, 1996.