

# Avaliação *ex vivo* da coloração da cápsula anterior da lente de cavalos com três concentrações de violeta genciana para treinamento cirúrgico

## *Ex vivo* evaluation of anterior lens capsule staining in horses with three concentrations of gentian violet for surgical training

Marcelle Bettio<sup>1</sup> , Maiara Poersch Seibel<sup>1\*</sup> , Maria Eduarda Mattos Franceschini<sup>1</sup> , Rafaella Silva Rocha<sup>1</sup> , Renata Lima Baptista<sup>1</sup> , Anita Marchionatti Pigatto<sup>2</sup> , João Antonio Tadeu Pigatto<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil

\*Autor correspondente: [bettio.marcelle@gmail.com](mailto:bettio.marcelle@gmail.com)

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar a eficácia de três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) na coloração da cápsula anterior da lente em equinos. Trinta e seis olhos de equinos *post-mortem* foram utilizados. De acordo com a concentração de violeta genciana utilizada, os olhos foram subdivididos em três grupos compostos por 12 olhos cada. A avaliação da eficácia em coloração da cápsula anterior da lente com diferentes concentrações de violeta de genciana foi realizada por meio de um sistema empírico de avaliação da coloração adequada ou inadequada de retalhos capsulares. Com base na avaliação dos examinadores, as concentrações de 0,1% e 0,05% de violeta de genciana permitiram a visualização adequada da cápsula anterior para o treinamento da capsulotomia curvilínea contínua enquanto a concentração de 0,5% produziu uma coloração capsular forte e inadequada. O modelo desenvolvido com violeta genciana, nas concentrações de 0,1% e 0,05%, permitiu a visualização nítida do retalho capsular, o que o torna viável como modelo para treinamento da etapa de capsulotomia curvilínea contínua em cirurgia de catarata em equinos.

**Palavras-chave:** capsulotomia anterior; corantes vitais; equino; laboratório úmido; treinamento cirúrgico

### Abstract

The aim of this study was to evaluate and compare the effectiveness of three concentrations of gentian violet (0.5%, 0.1% and 0.05%) for staining the anterior capsule of the lens in horses. Thirty-six *post-mortem* equine eyes were collected. The eyes were subdivided into three groups composed of 12 eyes each, according to the concentration of gentian violet used. The effectiveness of staining the anterior capsule of the lens with different concentrations of gentian violet was assessed using an empirical system of evaluation on adequate or inadequate staining of capsular flaps. Based on the evaluation of the examiner, the 0.1% and 0.05% concentrations of gentian violet allowed adequate visualisation of the anterior capsule for continuous curvilinear capsulotomy training, whereas the 0.5% concentration produced strong and inadequate capsular staining. The model developed using gentian violet at concentrations of 0.1% and 0.05% allowed a clear visualisation of the capsular flap, which makes it viable as a model for training the continuous curvilinear capsulotomy step in cataract surgery in horses.

**Keywords:** anterior capsulotomy; vital dyes; equine; wet lab; surgical training

## 1. Introdução

A facoemulsificação tornou-se o procedimento cirúrgico preconizado para o tratamento de catarata <sup>(1,2,3)</sup>. A confecção de uma capsulotomia anterior adequada é uma etapa fundamental dessa técnica <sup>(2,4,5,6,7,8)</sup>. No entanto, a visibilidade necessária da cápsula anterior da lente para criar uma capsulorrexe ideal é comprometida em olhos com catarata madura <sup>(4,8,9,10,11,12,13)</sup>.

Em cirurgias oftálmicas, o uso de corantes vitais tornou-se uma ferramenta eficaz e útil para a visualização dos tecidos-alvo <sup>(2)</sup>. A utilização destes produtos para coloração seletiva da cápsula anterior da lente possibilita

a identificação adequada desta estrutura <sup>(8,11,14)</sup>, permitindo realizar uma capsulorrexe com maior controle. Além disso, a fácil identificação capsular é importante para os cirurgiões que estão na curva de aprendizado da técnica <sup>(4,15)</sup>.

A capsulotomia curvilínea contínua (CCC) está entre as manobras tecnicamente mais desafiadoras para dominar durante a facoemulsificação <sup>(16)</sup>. Uma capsulotomia mal executada pode levar a complicações graves intra e pós-operatórias <sup>(2,4,5,6,7,8)</sup>. Na oftalmologia humana, diversos estudos já foram realizados com o intuito de avaliar diferentes corantes vitais para coloração

Recebido: 21 de maio de 2023. Aceito: 31 de julho de 2023. Publicado: 28 de agosto de 2023.



Este é um artigo de Acesso Aberto distribuído sob os termos da Creative Commons Attribution License, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

<https://revistas.ufg.br/vet/index>

da cápsula anterior da lente, explorando uma ampla gama de concentrações e analisando seus efeitos nocivos nas estruturas intraoculares<sup>(8,15,20,21)</sup>.

No conhecimento dos autores, não há estudos avaliando o violeta genciana para coloração da cápsula anterior da lente em equinos. Assim, com o objetivo de facilitar a identificação da cápsula anterior da lente para o treinamento do CCC, foi investigada a eficácia de três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) em olhos de cavalo *ex vivo*.

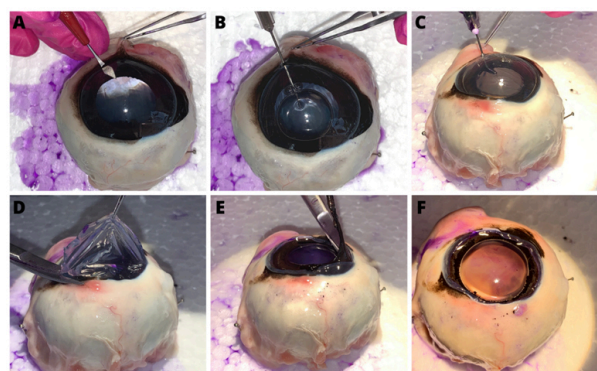
## 2. Materiais e métodos

Trinta e seis olhos de 18 equinos (*Equus caballus*), machos ou fêmeas, de diferentes idades e raças foram obtidos de um abatedouro (Foresta, São Gabriel, RS, Brazil). Os animais foram abatidos por motivos não relacionados a este estudo. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Pesquisa da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os olhos foram enucleados imediatamente após o abate e mantidos em câmara úmida por 2 horas até a realização do experimento. Todos os olhos foram submetidos ao exame oftálmico, que incluiu biomicroscopia com lâmpada de fenda (Lâmpada de fenda portátil, Kowa SL 15, Nagoya, Japão) e prova da fluoresceína (Fluoresceína sódica 1%, Allergan®). Todos os olhos de equinos utilizados neste estudo apresentavam cristalino transparente e não possuíam alterações oculares dignas de nota.

Três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) (Violeta Genciana, Álcool Etilíco, Água Purificada), Violeta Genciana (Solução de Violeta Genciana 2%, Needs® 30 mL) foram utilizadas para a coloração da cápsula anterior da lente. As concentrações foram preparadas da seguinte forma: 0,5%: diluição de 1 mL de corante em 3 mL de ringer lactato; 0,1%: 1 mL de corante em 19 mL de solução de ringer lactato; 0,05%: 1 mL de corante em 39 mL de solução de ringer lactato.

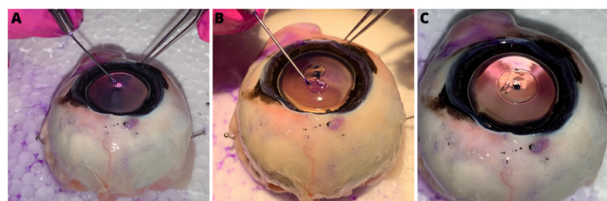
Os olhos foram divididos aleatoriamente em três grupos, composto por 12 olhos cada, com base na concentração de corante: Grupo A (0,5%), Grupo B (0,1%) e Grupo C (0,05%). Cada olho foi fixado no isopor com auxílio de alfinetes, sob microscópio cirúrgico (DFVasconcellos MU-M19, Rio de Janeiro, Brasil). Todas as colorações e execuções da CCC foram realizadas pela mesma cirurgiã. Sob o microscópio cirúrgico, uma incisão em córnea clara, com um bisturi corneano de 2,75 mm, foi realizada para acessar à câmara anterior. Pela incisão, uma grande bolha de ar foi injetada, utilizando uma cânula de calibre 27-gauge (G) conectada à seringa de 3 mL, a fim de reconstruir a câmara anterior. Com a cânula 27 G conectada a uma seringa contendo corante, 0,4 mL da respectiva concentração de violeta genciana foi injetada suavemente abaixo da bolha de ar sobre a superfície da cápsula. Aguardou-se 1 minuto para

a impregnação do corante; posteriormente, a câmara anterior foi irrigada com solução de ringer lactato para remover o corante remanescente. Em seguida, a córnea foi dissecada através de uma incisão límbica de 360 graus a 2 mm da esclera e a íris foi removida para facilitar a visualização da cápsula e a execução da CCC (Figura 1).



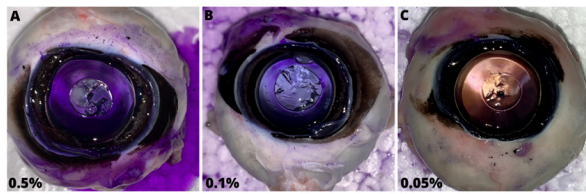
**Figura 1.** Coloração da cápsula anterior da lente de equinos com solução de violeta genciana na concentração de 0,05%. (A) incisão em córnea clara com bisturi 2,75 mm; (B) injeção de uma grande bolha de ar na câmara anterior; (C) 0,4 mL de corante injetado na câmara anterior entre a cápsula anterior e a bolha de ar; (D) excisão do botão corneoescleral; (E) remoção da íris; (F) impregnação da cápsula anterior com corante violeta genciana 0,05%.

A CCC foi realizada após a excisão do botão corneoescleral (D) e da remoção da íris (E) na configuração de céu aberto (sem a câmara anterior), utilizando o aumento do microscópio cirúrgico e um cistítomo. Este instrumento foi elaborado com uma agulha dobrada 26 G. A manobra começa com uma perfuração no centro da cápsula anterior com o cistótomo, no intuito de levantar um retalho capsular. Em seguida, a borda deste retalho é segurada, rasgando a cápsula no sentido horário ou anti-horário até atingir o lado oposto da incisão inicial (Figura 2).



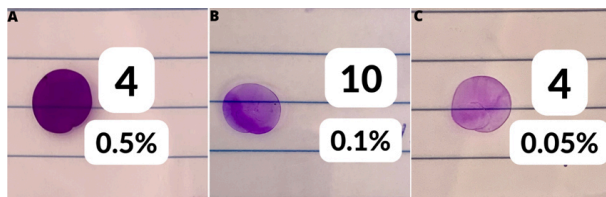
**Figura 2.** Técnica de capsulotomia curvilínea contínua após coloração da cápsula anterior com solução de violeta genciana 0,05% e remoção do botão corneoescleral e da íris. (A) perfuração no centro da cápsula anterior com auxílio de cistítomo; (B) retalho capsular elevado, rasgando-o no sentido anti-horário até atingir a incisão inicial do lado oposto; (C) finalização da capsulotomia curvilínea contínua.

A CCC foi realizada com os três grupos de concentrações de violeta genciana preparadas (Figura 3).



**Figura 3.** Capsulotomia curvilínea contínua com três concentrações de violeta genciana. (A) 0,5%, (B) 0,1%, (C) 0,05%.

As amostras consistiam em retalhos capsulares obtidos logo após a técnica de coloração e a elaboração da CCC. Estas capsulotomias anteriores foram colocadas sob uma lâmina de vidro e posicionadas sobre um papel pautado, com a respectiva solução ao lado, e posteriormente fotografadas com câmera digital (Canon EOS REBEL T3i digital SLR, tempo de exposição 1/60s e ISO 400) (Figura 4). O papel pautado serviu de adjuvante para a análise dos examinadores. O fundo branco do papel criava contraste para o corante, e as linhas contribuíam para diferenciar o grau de intensidade das amostras por meio da sua visibilidade.



**Figura 4.** Avaliação macroscópica do retalho capsular com diferentes concentrações de violeta genciana. (A) 0,5%, (B) 0,1%. (C) 0,05%.

A avaliação da eficácia da coloração da cápsula anterior da lente com diferentes concentrações de violeta genciana (0,05%, 0,1% e 0,5%) foi graduada conforme um sistema de empírica avaliação, por dois examinadores experientes em cirurgia de facoemulsificação, em coloração adequada ou inadequada. Esta análise ocorreu após todas as amostras terem sido fotografadas. Os avaliadores analisaram as imagens de forma aleatória e às cegas. As imagens foram embaralhadas manualmente. Após legendadas com numerais de 1 a 36. As legendas das amostras e suas respectivas concentrações foram adicionadas a uma tabela do software Microsoft-Excel 2013. Em seguida, foi ocultada a concentração das amostras de todas as fotografias. Assim, os examinadores não sabiam a que grupo pertencia a amostra. As análises foram realizadas no software IBM-SPSS for Windows versão 22.0 e tabuladas no software Microsoft-Excel 2013, os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

### 3. Resultados

Todas as concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) foram capazes de manchar a cápsula anterior da lente, possibilitando a realização da capsulotomia anterior em todos os 36 olhos. No entanto, apenas 25 retalhos capsulares foram classificados como adequados pelos examinadores. Dos dados cruzados entre os avaliadores, o percentual de concordância foi de 98,2%, havendo apenas uma amostra divergente, sendo a reprodutibilidade/concordância entre eles quase perfeita (Kappa = 0,936) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Descrição dos resultados da classificação da coloração, inadequada ou adequada, entre os examinadores, e resultado do coeficiente de reprodutibilidade/concordância entre eles.

	Examinador 1	Examinador 2	Kappa (IC: 95%)
Não adequada	11 (30,6)	12 (33,3)	0,936
Adequada	25 (69,4)	24 (66,67)	(0,813; 1,000)
Total	36 (100)	36 (100)	

Dados expressos como n (%).

Na Tabela 2 está demonstrada a associação estatisticamente significativa entre as concentrações do corante e os resultados de adequação da coloração dos retalhos capsulares para ambos os examinadores ( $p < 0,001$ ), sendo a concentração de violeta genciana 0,5% a única que apresentou resultados não adequados para ambos os examinadores.

**Tabela 2.** Descrição da adequação dos resultados de acordo com a concentração do corante para cada examinador e os resultados dos testes de associação.

Resultado	Concentração			p
	0,05	0,1	0,5	
<b>Examinador 1</b>				
Não adequada	0 (0)	0 (0)	11 (91,7)	<0,001
Adequada	12 (100)	12 (100)	1 (8,3)	
<b>Examinador 2</b>				
Não adequada	0 (0)	0 (0)	12 (100)	<0,001
Adequada	12 (100)	12 (100)	0 (0)	
<b>Total</b>	<b>12 (100)</b>	<b>12 (100)</b>	<b>12 (100)</b>	

Dados expressos como n (%); Teste da razão de verossimilhanças

Todas as amostras das capsulotomias anteriores coradas com violeta genciana 0,1% e 0,05% foram classificadas como coloração adequadas para a prática cirúrgica por ambos os examinadores. A concentração de 0,5% teve apenas uma amostra categorizada pelo examinador 1 como adequada, não representando um percentual significativo.

#### 4. Discussão

Os corantes vitais tornaram-se ferramentas essenciais para melhorar a visualização da cápsula anterior da lente, e seu uso já está bem estabelecido e difundido<sup>(2)</sup>. Diferentes tipos de corantes, incluindo azul de tripano, indocianina verde, fluoresceína sódica, violeta genciana<sup>(8,15,20)</sup>, azul de metileno<sup>(20)</sup> e azul brilhante<sup>(21)</sup>, já foram propostos e testados. No entanto, por questões de segurança, apenas o azul de tripano é aprovado para uso *in vivo*<sup>(2,20)</sup>. No presente estudo, a escolha do corante vital violeta genciana foi justificada pelo uso *ex vivo* em animais e, portanto, sua toxicidade não foi levada em consideração.

O violeta genciana é um corante com uma extensa e diversificada história como agente medicinal<sup>(24,25)</sup>, principalmente devido sua ação antisséptica<sup>(26)</sup>. Na oftalmologia, há relatos de seu uso como marcador de córnea, conjuntiva e cápsula anterior da lente<sup>(11)</sup>. Optou-se pelo uso deste corante para este estudo por ser uma solução de fácil obtenção, disponível comercialmente em farmácias, de baixo custo, simples de diluir e de coloração intensa.

A utilização de corantes na cápsula anterior também é empregada para o domínio da técnica de CCC em laboratórios úmidos (*wet lab*). Os *wet labs* são modelos de treinamento cirúrgico que utilizam olhos de animais, *in vivo* ou *ex vivo*, ou cadáveres humanos. Embora existam diferentes modelos de prática cirúrgica da CCC, Pujari *et al.*<sup>(19)</sup> defendem o modelo de treinamento em *wet labs* pois auxilia a curva de aprendizado e aumenta as habilidades operatórias e a segurança dos cirurgiões. Em acordo, Moharana *et al.*<sup>(27)</sup> classificam o uso de *wet labs* associado a coloração vital como um método altamente fidedigno para mimetizar o procedimento cirúrgico. Além disso, esta abordagem é um modelo barato, aplicável e reproduzível da prática cirúrgica. Assim, avaliamos três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,01% e 0,05%) na cápsula anterior da lente de equinos *post-mortem*, no intuito de evidenciar as concentrações adequadas deste corante para a realização da prática cirúrgica da CCC em um laboratório experimental.

Diferentes técnicas de coloração da cápsula da lente são descritas. Fernández *et al.*<sup>(28)</sup> injetaram o corante sob uma bolha de ar, conforme descrito originalmente por Melles *et al.*<sup>(10)</sup>. No presente estudo, optou-se pela técnica de coloração sob bolha de ar, pois é um método que já havia sido descrito em estudos de treinamento de faoemulsificação<sup>(10,28)</sup>. Além disso, é uma técnica fácil, econômica, reproduzível e que possibilita a coloração homogênea da cápsula. Ainda não está estabelecido o tempo adequado de exposição da cápsula anterior ao corante vital. Em estudos anteriores foram estabelecidos períodos de exposição de 10<sup>(14)</sup>, 30<sup>(28)</sup> e 60 segundos<sup>(11,20)</sup>. Em nosso estudo, o tempo de contato entre o corante e a

cápsula anterior foi de 60 segundos. A divergência entre a duração da exposição publicada em estudos anteriores pode ser devido ao método de coloração utilizado ou ao corante vital escolhido.

No estudo de Dong *et al.*<sup>(18)</sup> os grupos e subgrupos foram divididos de acordo com a experiência na manipulação da capsulorrexe e a dificuldade crescente no treinamento do aparelho, respectivamente. No subgrupo 01, o dispositivo não possuía a tampa, o que representava a córnea no sistema. Dong *et al.*<sup>(18)</sup> afirmam que esta condição é indicada para cirurgiões sem experiência, pois facilita a percepção da realização de uma capsulotomia curvilínea contínua, bem como a aquisição da coordenação motora fina. Em nosso experimento, como o treinamento foi realizado em olhos *post mortem*, optou-se pela elaboração da CCC sem a presença da córnea e da íris. Esta escolha ocorreu pela falta de midríase dos olhos e para facilitar o treinamento do cirurgião inexperiente. Essa metodologia já foi utilizada em outro estudo e mostrou-se eficaz<sup>(11)</sup>.

A capsulotomia foi realizada com um cistítimo confeccionado a partir de uma agulha dobrada calibre 26 G. O uso deste instrumento não é universal; entretanto, é uma alternativa simples, barata e de fácil elaboração, e tem sido utilizada com sucesso em outros experimentos e na rotina cirúrgica<sup>(29)</sup>. Além disso, Plummer<sup>(30)</sup> comenta que devido aos equinos possuírem um bulbo ocular maior, uma câmara anterior rasa e a incisão na córnea para acesso ser pequena, as pinças Utrata padrão ou as alongadas não permitem a execução da técnica. Isto torna necessário o uso de pinças de capsulorrexe adequadas para a espécie, o que encarece o treinamento.

Apesar do azul de tripano ser o único corante aprovado para uso *in vivo* por ser eficaz, seguro e manchar a cápsula anterior de modo confiável e seletivo<sup>(2,20)</sup>. Quando seu uso é direcionado para treinamento cirúrgico, o custo-benefício não é vantajoso: é um material de uso hospitalar, o que dificulta a aquisição, além de ser apresentado em frascos de apenas 1 mL e comercializado apenas em caixas de 10 frascos, o que aumenta os custos do treinamento.

O uso do violeta genciana para coloração da cápsula foi proposto em 1998. Desde então, estudos têm sido realizados para avaliar a eficácia do corante e sua segurança para uso intraocular. No entanto, no presente estudo, não levamos em consideração a toxicidade do corante, pois o objetivo do experimento era identificar concentrações adequadas do corante sob a cápsula anterior da lente para auxiliar no treinamento cirúrgico para CCC em laboratórios úmidos. Optou-se, portanto, pela solução de violeta genciana 2%, vendida em drogarias para uso antisséptico tópico, devido a fácil disponibilidade desse produto.

Eldin *et al.*<sup>(9)</sup> avaliaram concentrações de 0,05% a 2% em um estudo *ex vivo* em coelhos, obtendo resultados

satisfatórios com todas as concentrações. Outros pesquisadores usaram concentrações de 0,01% e 0,001% para corar cápsulas anteriores de ratos e humanos, e concluíram que a concentração de 0,01% proporcionou uma melhor visualização da cápsula. Chang *et al.* <sup>(20)</sup> examinaram o potencial de coloração de diferentes tipos de corantes, incluindo violeta genciana nas concentrações de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% por 01 minuto, para corar a cápsula anterior de coelho, e concluíram que a concentração mínima necessário para produzir uma coloração efetiva foi de 0,01%. Outro estudo *in vitro* comparou 13 corantes vitais para coloração de cápsulas, incluindo violeta genciana em concentrações de 0,5% e 0,05%. Os autores relataram que a concentração de 0,5% produziu coloração moderada e a concentração de 0,05% produziu coloração leve <sup>(11)</sup>.

No presente estudo, em contraste com esses resultados, encontrou-se a coloração adequada para a prática cirúrgica com as concentrações de 0,1% e 0,05%, e coloração classificada como inadequada em 0,5% por ocasionar coloração excessiva, o que pode dificultar a diferenciação com clareza da cápsula e do córtex durante a capsulorrexe. A classificação inadequada de concentrações elevadas de violeta genciana já foi descrita em outro estudo <sup>(20)</sup>, o que corrobora os resultados do presente estudo.

Algumas explicações para os resultados divergentes observados na literatura incluem o tempo de exposição da cápsula ao corante em cada experimento, a técnica utilizada para aplicação do corante, diferenças entre as purezas dos produtos de violeta genciana utilizados, já que alguns estudos utilizam corante em pó, e diferenças anatômicas das cápsulas anteriores de diferentes espécies utilizadas como modelos nos estudos. Portanto, estudos clínicos que padronizem os métodos de coloração e tempos de exposição são necessários.

Métodos de análise e classificação de intensidade de coloração da cápsula anterior da lente não são pré-estabelecidos. O uso de avaliação macroscópica e subjetiva para avaliar se a coloração está adequada foi empregada em estudos anteriores <sup>(11,14)</sup>. No estudo de Wilinska *et al.* <sup>(14)</sup>, além de avaliar a toxicidade das soluções, a análise da coloração das amostras por fotodocumentação, avaliando o contraste entre a cápsula corada e o córtex, foi um dos critérios adotados para determinar uma coloração eficaz. Já, Chang *et al.* <sup>(20)</sup> usaram um sistema de pontuação semiquantitativo para avaliar a eficácia da coloração, onde zero representava baixo contraste entre cápsula e córtex e 4 representava excelente contraste. Os avaliadores foram representados por cirurgiões experientes em cirurgia de catarata. Fernández-Bueneo <sup>(28)</sup> avaliou a coloração macro e microscopicamente e afirmou que a avaliação macroscópica é um método rápido e útil para os cirurgiões escolherem um produto para uso em cirurgias diárias. No

presente estudo, optamos pela avaliação macroscópica e subjetiva de dois examinadores com experiência cirúrgica. A análise foi realizada de forma às cegas e aleatória, e após isso, os dados foram cruzados. A escolha do número de examinadores foi feita para aumentar a fidelidade do estudo. A escolha do método foi baseada na intenção de uma análise que reproduzisse o ambiente cirúrgico real.

## 5. Conclusões

Com base nos resultados, as concentrações de 0,1% e 0,05% de violeta genciana foram adequadas para a coloração da cápsula anterior da lente em equinos. O presente estudo contribui para o treinamento em cirurgia de catarata em equinos.

### Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

### Contribuições do autor

*Conceituação:* M. Bettio e J.A.T. Pigatto. *Metodologia:* M. Bettio, M.P. Seibel, M.E.M. Franceschini, R.S. Rocha, R. Baptista, A.M. Pigatto e J.A.T. Pigatto. *Investigação:* M. Bettio e J.A.T. Pigatto. *Administração do projeto:* J.A.T. Pigatto. *Redação (esboço original, revisão e edição):* M. Bettio e J.A.T. Pigatto.

### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao abatedouro Floresta por fornecer os olhos utilizados nesta pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de uma bolsa de pesquisa para um dos autores (M.B.).

### Referências

- 1 McMullen Junior RJ, Utter ME. Current developments in equine cataract surgery. *Equine Veterinary Journal. Supplement.* 2010;37:38-45. Available from: doi: <http://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.tb05633.x>.
- 2 Jhanju V, Chan E, Das S, Zhang H, Vajpayee RB. Trypan blue dye for anterior segment surgeries. *Eye (Lond)* 2011;25(9):1113-1120. Available from: doi: <http://doi.org/10.1038/eye.2011.139>.
- 3 McMULLEN RJ, Stoppini R. Diseases and surgery of the lens. In: Gilger BC, editor. *Equine Ophthalmology*. 4<sup>th</sup> ed. Hoboken : John Wiley & Sons; 2017. p.416-452. Available from: doi: <http://doi.org/10.1002/9781119782285.ch7>.
- 4 Jacobs DS, Cox TA, Wagoner MD, Ariyasu RG, Karp CL. Capsule staining as an adjunct to cataract surgery. *Ophthalmology.* 2006;113(4):707-713. Available from: doi: <http://doi.org/10.1016/j.optha.2006.01.024>.
- 5 Hassaballa MAM, Osman AAEL. Delineating the extent of anterior capsulorhexis with gentian violet using capsulorhexis marker: a preliminary study of efficacy and toxicity in an animal model. *Clinical Ophthalmology.* 2011;5:831-836. Available from: doi: <http://doi.org/10.2147/OPHTH.S21791>.

- 6 Haeussler-Sinangin Y, Dahlhoff D, Schultz T, Dick HB. Clinical performance in continuous curvilinear capsulorhexis creation supported by a digital image guidance system. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2017;43(3):348-352. Available from: doi: <http://doi.org/10.1016/j.jcrs.2016.12.027>.
- 7 Hu WF, Chen SH. Advances in capsulorhexis. *Current Opinion Ophthalmology*. 2019;30(1):19-24. Available from: doi: <http://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000539>.
- 8 Sharma B, Abell RG, Arora T, Antony T, Vajpayee RB. Techniques of anterior capsulotomy in cataract surgery. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2019;67(4):450-460. Available from: doi: [http://doi.org/10.4103/ijo.IJO\\_1728\\_18](http://doi.org/10.4103/ijo.IJO_1728_18).
- 9 Eldin SAG, Mehelmy EM, Shazli EM, Mostafa YM. Experimental staining of the anterior lens capsule in albino rabbits. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 1999;25(9):1289-1294. Available from: doi: [http://doi.org/10.1016/s0886-3350\(99\)00153-4](http://doi.org/10.1016/s0886-3350(99)00153-4).
- 10 Melles GRJ, Waard PW, Pameyer JH, Beekhuis WH. Trypan blue capsule staining I'm visualizethe capsulorhexis in cataract surgery. *Journal of Cataract Refractive Surgery*. 1999;25(1):7-9. Available from: doi: [http://doi.org/10.1016/s0886-3350\(99\)80004-2](http://doi.org/10.1016/s0886-3350(99)80004-2).
- 11 Rodrigues EB, Costa EF, Penha FM, Melo GB, Bottós J, Dib E, et al. The use of vital dyes in ocular surgery. *Survey of Ophthalmology*. 2009;54(5):576-617. Available from: doi: <http://doi.org/10.1016/j.survophthal.2009.04.011>.
- 12 Anđelić S, Zupančić G, Hawlina M. The effect of gentian violet on human previous lens epithelial cells. *Current Eye Research*. 2014;39(10):1020-1025. Available from: doi: <http://doi.org/10.3109/02713683.2014.894077>.
- 13 Simsek C, Gokmen O. The effects of vital dyes on mechanic properties of the human previous lens capsule. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2020;68:66-70. Available from: doi: [http://doi.org/10.4103/ijo.IJO\\_285\\_19](http://doi.org/10.4103/ijo.IJO_285_19).
- 14 Wilińska, J, Mocanu, B, Awad, D, Gousia, D, Hillner, C, Brannath, W, et al. New stains for anterior capsule surgery. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2019;45(2): 213–218. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.jcrs.2018.09.016>.
- 15 Dada VK, Sharma MDM, Sudan R, Sethi H, Dada T, Pangtey MS, et al. Anterior capsule staining for capsulorhexis in cases of white cataract. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2004;30(2):326-333. Available from: doi: [http://doi.org/10.1016/S0886-3350\(03\)00573-X](http://doi.org/10.1016/S0886-3350(03)00573-X).
- 16 Prakash G, Jhanji V, Sharma N, Gupta K, Titiyal JS, Vajpayee RB. Assessment of perceived difficulties by residents in performing routine steps in phacoemulsification surgery and in managing complications. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2009;44(3):284-287. Available from: doi: <http://doi.org/10.3129/i09-051>.
- 17 Ofiaz AB, Köktekir, BE, Okudan S. Does cataract surgery simulation correlate with real- life experience? *Turkish Journal of Ophthalmology*. 2018;48(3):122-6. Available from: doi: <http://doi.org/10.4274/tjo.10586>.
- 18 Dong J, Yang X, Yang X, Li J. A practical continuous curvilinear capsulorhexis self-training system. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2021;69(10):2678-286. Available from: doi: [http://doi.org/10.4103/ijo.IJO\\_210\\_21](http://doi.org/10.4103/ijo.IJO_210_21).
- 19 Pujari A, Saluja G, Bhaskaran K, Modaboyina S, Asif MI, Agarwal T, et al. Animal and corpse human eyes for residents' surgical training in ophthalmology. *Survey Ophthalmology*. 2021;67(1):226-251. Available from: doi: <http://doi.org/10.1016/j.survophthal.2021.05.004>.
- 20 Chang YS, Tseng S, Tseng S. Comparison of dyes for cataract surgery: Part 2: Effectiveness of capsule staining in a rabbit model. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2005;31(4):799-804. Available from: doi: <http://doi.org/10.1016/j.jcrs.2004.09.029>.
- 21 Hisatomi T, Enaida H, Matsumoto H, Kagimoto T, Ueno A, Hata Y, et al. staining ability and biocompatibility of brilliant blue G. *Archives of Ophthalmology*. 2006;124(4):514-9. Available from: doi: <http://doi.org/10.1001/archophth.124.4.514>.
- 22 Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33:159-74 . Available from: <https://doi.org/10.2307/2529310>
- 23 Kirkwood BR, Sterne JAC. *Essential medical statistics*. 2nd ed. Massachusetts: Blackwell Science; 2006. Available from: <https://bcs.wiley.com/he-bcs/Books?action=index&bcsId=11848&itemId=0865428719>
- 24 Pona A, Quan, EY, Cline A, Feldman SR. Review of the use of gentian violet in dermatology practice. *Dermatology Online Journal*. 2020;26(5):13030. Available from: <https://doi.org/10.5070/D3265048772>
- 25 Prabha N, Arora RD, Ganguly S, Chhabra N. Gentian violet: revisited. *Indian Journal of Dermatology Venereology and Leprology*. 2020;86:600-603. Available from: doi: [http://doi.org/10.4103/ijdv.IJDVL\\_579\\_19](http://doi.org/10.4103/ijdv.IJDVL_579_19).
- 26 Ünlü K, Askünger A, Söker S, Kiliç N, Karaca C, Erdinc M. Gentian violet solution for staining the previous capsule. *Indian Journal of Dermatology Venereology and Leprology*. 2020;86(5):600-603. Available from: doi: [http://doi.org/10.1016/s0886-3350\(00\)00360-6](http://doi.org/10.1016/s0886-3350(00)00360-6).
- 27 Moharana B, Singh P, Patel S, Srivastava P, Sharma B. Commentary: High fidelity and cost-effective cataract surgery training system: need of the hour. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2021;69(10):2686-2687. doi: [http://doi.org/10.4103/ijo.IJO\\_1877\\_21](http://doi.org/10.4103/ijo.IJO_1877_21).
- (28) Fernandez-Bueno I, Usategui-Martín R, Pastor JC, Andrés-Iglesias C. Ex-vivo method to quantifiably the staining effectiveness of anterior lens capsule dyes. *Translational Vision Science & Technology*. 2021;10(17):1-6. Available from: <http://doi.org/10.1167/tvst.10.14.17>.
- (29) Naik MP, Sethi H, Kasiviswanathan P. Modified bandage-contact-lens used as a guide-marker for performing continuous curvilinear capsulorhexis by a first year post graduate ophthalmology resident. *American Journal of Ophthalmology Case Reports*. 2020; 20:100889. Available from: doi: <http://doi.org/10.1016/j.ajoc.2020.100889>.
- (30) Plummer EC. *Equine ophthalmology*. In: Gellat K. (org.). *Veterinary Ophthalmology*. 6th ed. New York: Wiley-Blackwell; 2021. Available from: <https://www.wiley.com/en-us/Veterinary+Ophthalmology,+2+Volume+Set,+6th+Edition-p-9781119441830>.