

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

PARAMÊTROS OFTÁLMICOS EM ESPÉCIMES DE
***Cuniculus paca* CRIADAS EM CATIVEIRO**

Camila Pinho Balthazar da Silveira

Médica Veterinária

Jaboticabal, São Paulo.

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

PARAMÊTROS OFTÁLMICOS EM ESPÉCIMES DE
***Cuniculus paca* CRIADAS EM CATIVEIRO**

Camila Pinho Balthazar da Silveira

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Laus

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como
parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

Jaboticabal, São Paulo.

2014

S587p Balthazar da Silveira, Camila Pinho
Parâmetros oftálmicos em espécimes de *Cuniculus paca* criadas em cativeiro / Camila Pinho Balthazar da Silveira. -- Jaboticabal, 2014
vii, 45 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014

Orientador: José Luiz Laus

Banca examinadora: Fabrício Singaretti de Oliveira, Cristiane dos Santos Honscho

Bibliografia

1. Silvestre. 2. Oftalmologia. 3. Pacas. 4. Roedores. 5. Olho. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:617.7:599.324.5

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

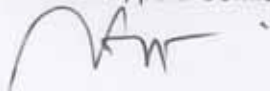
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: PARAMÊTROS OFTÁLMICOS EM ESPÉCIMES DE *Cuniculus* paca CRIADAS EM CATIVEIRO

AUTORA: CAMILA PINHO BALTHAZAR DA SILVEIRA

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSE LUIZ LAUS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. JOSE LUIZ LAUS

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Profa. Dra. CRISTIANE DOS SANTOS HONSHO

Universidade de Franca / Franca/SP

Data da realização: 18 de julho de 2014.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAMILA PINHO BALTHAZAR DA SILVEIRA – nascida em 08 de agosto de 1984, na cidade de Salvador, Bahia. Graduada pela em Medicina veterinária pela Universidade Federal da Bahia, em fevereiro de 2010. Residência em Clínica Cirúrgica e Cirurgia, pela Universidade Federal da Bahia no ano de 2010 – 2012. Atualmente, Aluna regularmente do programa de Pós – Graduação em Cirurgia Veterinária, nível Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP - Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Laus.

“Não há necessidade de saber para onde você está indo; não a necessidade de saber o porquê você está indo; tudo que você precisa saber é que está indo alegremente, pois se está indo alegremente nunca pode estar errado”.

(Autor Desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, que sempre me guiou e iluminou os meus caminhos. Obrigada Senhor! (“tudo aquilo que pedido foi, ouvi de tua boca: te abençoarei!”).

Agradeço aos meus pais, Alice (in memória) e Carlos Magno, por todo apoio, incentivo, ensinamentos, determinação e amor incondicional. Não haverá tempo, nem distância, que apague esse sentimento maravilhoso que sinto por vocês. Amo, Amo, Amo!

Aos meus irmãos, Analice, Rafael, Jéssica e Nathaly. Vocês fazem minha vida muito mais feliz!

À minha avó Dona Gil (a super vovozinha!). A sua sabedoria e o seu amor enriquecem a minha vida. Obrigada!

Ao meu marido Cláudio Muricy e meu filho Júlio, vocês são: a **LUZ** dos meus olhos, o calor da minha alma, o motivo de cada dia!

Aos meus tios, tias e primos, por todo apoio e incentivo!

A Margarida Balthazar, por todo o carinho e paciência.

Aos meus filhos de pelos: Paizinho, Flor, Minho, Su, Amim e Thor. A amizade que não tem tempo nem hora!

Aos meus amigos, Caroline Aoki, Reinaldo Garrido, Mariana Rondelli, Flávia Vieira, Claudênia Ferreira, Josiane Pazzini, Rafaela Bortolotti, Fabrícia Filgueira, Fábio Marinho, Tiago Barbalho, Karina Kamachi, Roberta Renzo, Luciana Lacerda, Alexandre Sobrinho, Roberta Crivelaro, Marcela Aldrovani, Gisele Valdetaro e Ivan Martinez. Obrigada!

Aos Serviços de Oftalmologia e Oncologia veterinária dessa instituição, pela oportunidade e ensinamentos!

Ao professor Dr. José Luiz Laus, pela oportunidade, permissão, conversas e ensinamentos dos quais levarei por toda vida!

Aos professores José Luiz Laus, Fabrício Oliveira, Paola Moraes, Andrigo Nardi, Arianne Oriá e João Moreira. Vocês despertam as aptidões naturais das pessoas. Orientam, instruem, aprendem e ensinam, e assim fazem arte! A arte de educar!

À professora Márcia Rita Fernandes Machado, pelo espaço concedido e permissão em utilizar o criatório experimental das pacas.

Aos animais e a natureza, vocês me mostram todo dia o que é o mais importante! Saber viver! Obrigada!

Ao CNPq, pela bolsa durante todo o Mestrado, e a Fapesp pelo apoio com os equipamentos concedidos ao Serviço de Oftalmologia Veterinária dessa instituição.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 Filme Lacrimal Pré Corneal	4
3.2 Endotélio Corneal	6
3.3 Microbiota bacteriana conjuntival	8
3.4 Microscopia especular de não contato	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1 Aspectos éticos	11
4.2 Delineamento Experimental	11
4.2.1 Animais	11
4.2.2 Técnicas de Contenção	11
4.2.3 Parâmetros Oftálmicos	12
4.2.3.1 Teste lacrimal de Schirmer I	12
4.2.3.2 Microbiota bacteriana conjuntival	12
4.2.3.3 Biomicroscopia com lâmpada em fenda	15
4.2.3.4 Pressão Intraocular	15
4.2.3.5 Oftalmoscopia binocular indireta	15
4.2.3.6 Microscopia especular de não contato	15
4.3 ESTATÍSTICA	16
5. RESULTADOS	17
5.1 Teste lacrimal de Schirmer I	17
5.2 Microbiota bacteriana conjuntival	18
5.3 Biomicroscopia com lâmpada em fenda	22
5.3 Pressão Intraocular	23
5.4 Oftalmoscopia binocular indireta	23
5.6 Microscopia especular de não contato	24
6. DISCUSSÃO	26
7. CONCLUSÕES	31
8. REFERÊNCIAS	32



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 01387/14 do trabalho de pesquisa intitulado "**Parâmetros oftálmicos em espécimes de *Cuniculus paca* mantidos em cativeiro**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Luiz Laus está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 03 de fevereiro de 2014.

Jaboticabal, 03 de fevereiro de 2014.

Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora - CEUA

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC: *American Type Culture Collection*

BHI: *Brain Heart Infusion*

Kg: Quilograma

μL: microlitro

μm: micrômetro

μm²: Micrômetros quadrados

mg : Miligrama

mL: Mililitro

mm: Milímetros

mmHg: Milímetro de mercúrio

mm²: Milímetros quadrados

min: minutos

PBS: *Phosphate-buffered saline*

pb: Pares de base

PCR: *Polimerase Chain Reaction*

TSL: Teste lacrimal de Schirmer

TSL-I: Teste lacrimal de Schirmer I

TSL-II: Teste lacrimal de Schirmer II

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01.** *Boxplots* de distribuição dos valores do Teste lacrimal de Schirmer (TLS), em milímetros por minuto, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....17
- Figura 02.** Amostras de secreção conjuntival dos olhos direito e esquerdo que apresentaram crescimento de colônias em caldo BHI, em anaerobiose e em aerobiose, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....18
- Figura 03.** Produto de PCR com o “primer” Ps_for/Ps_rev (990 pb) da cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa*, indicando a amplificação das amostras, exceto as amostras CE3 e CE4, representadas pelos números 6 e 8, respectivamente. PM: padrão de tamanho molecular 100 pb DNA “Ladder Plus” (Fermentas). CP: controle positivo, cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa*. CN: controle negativo (mix sem DNA), em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....19
- Figura 04.** Produto de PCR com o “primer” C1/C2 (200 pb) da cepa padrão de *Streptococcus pneumoniae*, indicando a amplificação das amostras. PM: padrão de tamanho molecular 100 pb DNA “Ladder Plus” (Fermentas). CP: controle positivo, cepa padrão de *Streptococcus pneumoniae*. CN: controle negativo (mix sem DNA), em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....19
- Figura 05.** Produto de PCR do gene *pta* (320 pb) da cepa padrão de *Staphylococcus spp.*, indicando a amplificação das amostras. PM: padrão de tamanho molecular 100 pb DNA Ladder Plus (Fermentas). CP: controle positivo, cepa padrão de *Staphylococcus spp.*. CN: controle negativo (mix sem DNA), em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....20

- Figura 06.** Imagens fotográficas de achados à inspeção por biomicroscopia e oftalmoscopia binocular. Em A, a seta sinaliza coloração marrom-azulada da conjuntiva bulbar. Em B, cílios apenas em pálpebra superior. Em C, íris marrom e pupila circular. Em D, vestígio da membrana nictitante, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....22
- Figura 07.** Imagem fotográfica de retina anangiótica e disco óptico circular em área não tapetal, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....23
- Figura 08.** Fotomicrografia especular de endotélio corneal normal do olho esquerdo. Notam-se células poligonais com padrão regular e bordas nítidas, com espessura corneal de 0,396 mm, área média celular de 468,2 μm^2 , densidade celular de 2135, 8 células/mm², hexagonalidade de 56%, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....25

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Agentes pesquisados (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp.), e respectivos alvos, “primers”, sequências de oligonucleotídeos e tamanhos, em pares de bases (pb), utilizados nas PCRs das amostras do saco conjuntival, em espécimes de <i>Cuniculus paca</i> adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....	14
Tabela 02. Resultados das amplificações, para a identificação por PCR, de <i>Staphylococcus</i> spp., de <i>Staphylococcus aureus</i> , de <i>Pseudomonas</i> spp. e de <i>Streptococcus</i> spp., em espécimes de <i>Cuniculus paca</i> adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....	21
Tabela 03. Resultados da microscopia especular de não contato relativamente à espessura, à área, à densidade e à hexagonalidade das células endoteliais, em espécimes de <i>Cuniculus paca</i> adultos. Jaboticabal, SP, 2014.....	24

PARAMÊTROS OFTÁLMICOS EM ESPÉCIMES DE *Cuniculus paca* CRIADAS EM CATIVEIRO

RESUMO - Conhecimentos gerados a partir de estudos específicos são necessários para a abordagem frente às diferentes afecções oftálmicas. Variações nos parâmetros oftálmicos entre as espécies podem ocorrer, notadamente para as espécies selvagens. Para tanto, estudaram-se alguns parâmetros oftálmicos em 13 indivíduos de espécimes de *Cuniculus paca*, quantificando-se a produção lacrimal, avaliando-se a bactérias da microbiota conjuntival, a pressão intraocular e o endotélio corneal. Empregou-se o Teste Lacrimal de Schirmer, a tonometria de aplanção, e a microscopia especular de não contato para avaliação das variáveis. A microbiota conjuntival foi avaliada por meio de cultura “Brain Heart Infusion” (BHI) e “Polimerase Chain Reaction” (PCR) investigando-se a presença dos microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Pseudomonas* spp. Ao teste lacrimal de Schirmer I, os resultados foram, na média, $4,10 \pm 0,44$ mm/min, não houve diferença significativa entre os olhos direito e esquerdo ($p = 0,8275$). A média da PIO foi de $6,34 \pm 0,43$ mmHg, sem diferença significativa entre os olhos direito e esquerdo ($p = 0,9314$). O exame oftálmico revelou conjuntiva bulbar pigmentada em coloração marrom-azulada, cílios verdadeiros, apenas em pálpebra superior e pontos lacrimais superior e inferior, além de íris com coloração marrom, pupila circular e vestígio da membrana nictitante. Encontraram-se retinas anangióticas. Identificou-se que 100% dos indivíduos foram positivos para as bactérias *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp, 80% para *Pseudomonas* spp e todos foram negativos para *Staphylococcus aureus*. As médias e erro padrão, no que concerne à espessura corneal foram de $0,353 \pm 0,010$ mm. Quanto à área foram de $486,30 \pm 9,56 \mu\text{m}^2$; à densidade de células endoteliais, foram de $2083,15 \pm 42,47$ céls/mm² e em relação à hexagonalidade, de $67,07 \pm 3,30$ %. Com os resultados obtidos, admite-se que os parâmetros estabelecidos no presente estudo, poderão servir de referência para estudos futuros, bem como serão úteis na abordagem terapêutica frente a diferentes oftalmopatias, contribuindo para a preservação da espécie.

Palavras-chave: silvestre, oftalmologia, pacas, roedor, olho

OPHTHALMIC PARAMETERS IN *Cuniculus paca* SPECIMENS RAISED IN CAPTIVITY

ABSTRACT - Knowledge generated through specific studies is necessary for an approach about ophthalmic affections. Ophthalmic parameter variations may occur between species, specially regarding feral ones. Therefore, some ophthalmic parameters were studied in 13 *Cuniculus paca* individuals. Lacrimal production was quantified, corneal endothelium, intraocular pressure and also bacterial presence at the conjunctival microbiota were evaluated. Schirmer's tear test, applanation tonometry and non-contact specular microscopy were employed in order to evaluate the variables. Conjunctival microbiota was evaluated through *Brain Heart Infusion* (BHI) culture and *Polimerase Chain Reaction* (PCR), so the presence of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* and *Pseudomonas spp.* microorganisms was investigated. Schirmer's test I results were 4.10 ± 0.44 mm/min, and there has been no significant difference between right and left eyes ($p = 0.8275$). IOP average range was 6.34 ± 0.43 mmHg, with no significant difference between right and left eyes ($p = 0.9314$). Ophthalmic examination revealed (blue/brown) pigmented bulbar conjunctiva, real eyelashes (only at superior eyelid), superior and inferior lacrimal points, brown iris, round pupil and nictitating membrane vestige. Anangiotic retinas were found. 100% of the individuals tested positive for *Staphylococcus spp.* and *Streptococcus spp.*, 80% for *Pseudomonas spp.* and all of them tested negative for *Staphylococcus aureus*. Averages and standard errors, concerning corneal thickness were 0.353 ± 0.010 mm; regarding to area: $486.30 \pm 9.56 \mu\text{m}^2$; referring to endothelial cells density: 2083.15 ± 42.47 cells/ mm^2 ; and relating to hexagonality: $67.07 \pm 3.30\%$. The results obtained allow the conclusion that parameters set through this study might be used as reference to future ones, and also contribute to ophthalmopathy treatment and species preservation.

Key words: feral, ophthalmology, lowland pacas, rodent, eye

1. INTRODUÇÃO

A fauna é patrimônio da humanidade, notadamente quando se consideram os aspectos ecológico, científico, econômico e cultural, muito embora boa parte da população brasileira não a reconheça em sua relevância. A maioria dos governantes e a maior parte da sociedade não detém consciência da importância ambiental das diferentes espécies na estruturação, na manutenção e no equilíbrio biológico dos ecossistemas, essenciais a todas as formas de vida (VIDOLIN et al., 2004).

O Instituto Ambiental do Paraná elaborou relatório quanto às apreensões de animais silvestres naquele Estado no interregno de 1980 a 2002. De acordo com o documento, dentre os mamíferos, a ordem *Rodentia* foi a que mais sofreu com a caça predatória. A constatação reflete a tendência de captura de espécies de interesse cinegético, ou mesmo para a reprodução em cativeiro, visto que sua carne é muito apreciada (PARANÁ, 2003). Segundo estudo realizado por Gomes e colaboradores (2013), a carne de paca foi considerada como de grande potencial para consumo, mediante a realização de teste de perfil sensorial e força de cisalhamento.

Cuniculus paca, também chamada de *Agouti paca*, pertence à ordem *Rodentia* e à família *Cuniculidae*. Dentre as espécies de mamíferos apreendidas na região do Paraná, ela deteve os maiores índices, e boa parte encontrava-se em sistema de criação ilegal (PARANÁ, 2003).

A paca é o segundo maior roedor da América Latina, sendo o primeiro a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (REIS et al., 2011). Trata-se de uma espécie de hábitos noturnos, com larga distribuição na América do Sul, sendo encontrada em quase todo o território brasileiro. Suas tocas possuem de um a três orifícios de acesso apenas para entrada e saída, de um a quatro para fuga circunstancial e uma cavidade interna para sono diurno (AQUINO et al., 2009).

A espécie ocupa, preferencialmente, florestas tropicais úmidas, embora ocorra também em uma variedade de habitats, como manguezais, florestas decíduas e semidecíduas, e áreas florestadas próximas a cursos d'água (AQUINO et al., 2009). É considerada generalista quanto à dieta e alimenta-se principalmente de frutos e de sementes disponíveis no ambiente (ZUCARATTO et al., 2010). Zucaratto

e colaboradores (2010) verificaram, em área de cultura agrícola na floresta Atlântica brasileira, marcas de incisivos de pacas em frutos de espécies nativas e exóticas, tais como sapucainha, sapucaia, cajá-mirim, cacau, arrediabo, maracujá do mato, laranja, limão, mexerica, jaca e banana.

As pacas nascem com doze dentes, sendo três em cada hemiarcada. O pré-molar é decíduo e os demais, incluindo os incisivos de crescimento contínuo por toda a vida e os molares, são permanentes. A troca dos dentes acontece regularmente ao longo de trinta meses, o que possibilita estimar a idade dos animais valendo-se de imagens radiográficas das arcadas dentais (OLIVEIRA et al., 2006a).

Na tentativa de se minimizar a caça predatória, tem-se buscado a criação de pacas em cativeiro. Tal atividade representa alternativa de conservação, porquanto enseja o aumento de seu estoque populacional e atua como forma de diminuição da sua caça e, conseqüentemente, do tráfico, além de contribuir para a conservação das áreas marginais às florestas ou às reservas, muito embora o custo envolvido seja alto (LOURENÇO et al., 2008). Afigura-se importante conhecer os hábitos desses animais, no que concerne aos aspectos reprodutivos (NOGUEIRA et al., 2005; GUIMARÃES et al., 2008), ao comportamento social e às enfermidades que os acometem, o que contribui para a prevenção, o diagnóstico e o tratamento de doenças, e também para o manejo (MENEZES et al., 1990).

As fêmeas em cativeiro tendem à uniparidade (OLIVEIRA et al., 2007a). São quatro as fases do ciclo estral (anestro, proestro, estro e metaestro) (NOGUEIRA et al., 2005), com período gestacional variando entre 135 e 139 dias, e um a dois partos por ano (OLIVEIRA et al., 2003a). Os filhotes nascem com peso e comprimento médios de 754 gramas e 33 cm, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2003a). Quando adultos, o peso corpóreo varia de 10-12 kg. O corpo é robusto e vigoroso, especialmente a garupa e os membros pélvicos (GUIMARÃES et al., 2008).

Animais mantidos em cativeiro estão sujeitos a traumas e, não raro, os olhos são acometidos (OLIVEIRA et al., 2009a). Afecções oftálmicas decorrentes de erros no manejo nutricional também têm sido encontradas em animais exóticos criados em cativeiro (MILLICHAMP, 2002).

2. JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

A espécie *Cuniculus paca* tem sido alvo de modelo experimental em estudos envolvendo morfologia dos sistemas cardiovascular (ÁVILA et al., 2010; GARCIA FILHO et al., 2013), genital masculino (BORGES et al., 2013; BORGES et al., 2014) e feminino (BONATELLI et al., 2005), bem como da anatomia radiográfica dos dentes (OLIVEIRA et al., 2006 a) e dos esqueletos axial (OLIVEIRA et al., 2006b) e apendicular (OLIVEIRA et al., 2007b). Têm sido produzidos trabalhos envolvendo procedimentos em cirurgia experimental (OLIVEIRA et al., 2003b) e ultrassonografia (OLIVEIRA et al., 2003a).

Estudos relativos aos parâmetros e às alterações oftálmicas em roedores de vida selvagem, mantidos ou não em cativeiro, têm sido pouco realizados. Montiani-Ferreira e colaboradores (2008), em pesquisa com capivaras, estabeleceram valores de referência quanto ao teste lacrimal de Schirmer, à pressão intraocular, à espessura central da córnea e à microbiota conjuntival. Trabalho semelhante foi conduzido em chinchilas, introduzindo-se a avaliação da sensibilidade corneal e o teste da fita de fenol vermelho, em substituição ao teste lacrimal de Schirmer (MULLER et al., 2010).

É consenso que o conhecimento gerado a partir de estudos espécie-específicos é necessário para a correta abordagem diagnóstica e terapêutica das diferentes afecções oftálmicas. Cabe ressaltar que variações entre espécies são muitas (OFRI et al., 2001; MARTINS et al., 2007; MONTIANI-FERREIRA et al., 2008; MULLER et al., 2010), e que nem sempre adaptações são factíveis, notadamente em se tratando de espécies selvagens.

Na presente pesquisa, foram estudadas variáveis que pudessem subvencionar estudos futuros em oftalmologia veterinária, colaborando com o aproveitamento controlado e racional da espécie *Cuniculus paca* e com sua preservação. Para tanto, avaliaram-se à produção lacrimal, à microbiota conjuntival, à pressão intraocular e ao endotélio corneal. Empregou-se o Teste Lacrimal de Schirmer, o cultivo em caldo “Brain Heart Infusion” (BHI) e “Polimerase Chain Reaction” (PCR), a tonometria de aplanção e a microscopia especular de não contato.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Filme Lacrimal pré corneal

O filme lacrimal pré corneal desempenha um papel decisivo na manutenção da saúde da superfície ocular. Ele é responsável pela lubrificação das pálpebras e da superfície ocular, pela oxigenação primária da córnea e pela remoção de debris e de células esfoliadas. Ademais, detém propriedades antimicrobianas que protegem a superfície ocular (DAVIDSON; KUONEN, 2004; BROADWATER et al., 2010).

Três camadas compõem o filme lacrimal pré corneal: a lâmina lipídica, localizada mais externamente, produzida pelas glândulas tarsais; uma camada intermediária aquosa, produzida principalmente pelas glândulas lacrimal principal e membrana nictitante; e uma camada interior de mucina, formada primariamente pelas células caliciformes da conjuntiva (DAVIDSON; KUONEN, 2004; LIM; CULLEN, 2005; PIGATTO et al., 2007).

O teste lacrimal de Schirmer (TLS) é o teste padrão para se quantificar a porção aquosa da lágrima, podendo ser realizado de duas maneiras: sem colírio anestésico (TLS-I) ou após o seu uso (TL-II). O teste de Schirmer I (TLS-I) possibilita que se avalie a produção basal e reflexa da lágrima, sendo o mais empregado em medicina veterinária. O teste de Schirmer II (TLS-II) permite avaliar a produção basal da lágrima (BROADWATER et al., 2010; TRBOLOVA; GHAFARI, 2012).

De maneira geral, a quantificação da porção aquosa do filme lacrimal pré corneal em olhos sadios dos animais não demonstra ter diferença significativa entre os olhos direito e esquerdo (MONTIANI - FERREIRA et al., 2008; LIMA et al., 2010; RODARTE- ALMEIDA et al., 2013). Contudo, em algumas situações, alterações na produção lacrimal podem se tornar evidentes, notadamente na ceratoconjuntivite seca unilateral por aplasia ou por hipoplasia da glândula lacrimal (HERRERA et al., 2007).

Para a avaliação qualitativa do filme lacrimal pré corneal em animais utiliza-se o teste de tempo de ruptura do filme lacrimal, que oferece informações acerca da estabilidade do filme lacrimal (LIM; CULLEN, 2005). Vários são os fatores que interferem na produção lacrimal, entre o quais se destacam a espécie (OFRI et al.,

1999; CULLEN, 2003; MONTIANI- FERREIRA et al., 2008), a idade (HARTLEY et al., 2006; TRBOLOVA; GHAFARI, 2012), o gênero, o peso (BROADWATER et al., 2010) e a sazonalidade (BEECH et al., 2003).

Estudos têm sido desenvolvidos com o propósito de se compreenderem os efeitos locais e sistêmicos de fármacos sobre a produção lacrimal (DODAM et al., 1998; SANCHEZ et al., 2006; GHAFARI et al., 2009b; GHAFARI et al., 2010; SANTOS et al., 2013). Em boa parte dos estudos com mamíferos selvagens torna-se inevitável o uso de contenção química durante a realização dos exames (CULLEN, 2003; MONTIANI - FERREIRA et al., 2008; GRUNDON et al., 2011). Sabe-se, todavia, que eles podem interferir na produção lacrimal (DODAM et al., 1998; SANCHEZ et al., 2006; GHAFARI et al., 2009a; GHAFARI et al., 2010; SANTOS et al., 2013).

Conforme reportado por Ghaffari e colaboradores (2010), gatos sedados com xilazina ou com acepromazina, isoladamente, apresentaram uma redução na produção da porção aquosa do filme lacrimal, o que foi igualmente relatado por Santos e colaboradores (2013) em cães sedados com acepromazina. Associação de fármacos pré-anestésicos como a acepromazina com a oximorfina, o diazepam com o butorfanol, a xilazina com o butorfanol e a medetomidina com o butorfanol também pode igualmente ensejar uma redução na produção do filme lacrimal (DODAM et al., 1998; SANCHEZ et al., 2006). Pontes e colaboradores (2010) informaram que cães que passaram por indução anestésica com propofol ou com tiopental apresentaram diminuição da produção lacrimal.

Em estudos empregando-se colírio à base de tropicamida 1%, não se constatou qualquer efeito sobre a produção lacrimal em cães; contudo, em gatos e em cavalos os valores se mostraram inferiores aos normais (MARGADANT et al., 2003; GHAFARI et al., 2009a). Outros fármacos induzem o aumento da produção lacrimal. Os mais conhecidos são o tacrolimus e a ciclosporina (BERDOULAY et al., 2005; HENDRIX et al., 2011).

3.2 Endotélio Corneal

A túnica externa do bulbo do olho é composta pela esclera e pela córnea. A córnea é a superfície de refração óptica mais potente do olho, desempenhando funções como refração e transmissão da luz. Apresenta-se transparente, avascular, não pigmentada e com superfície óptica lisa; exhibe disposição regular e organizada de suas fibrilas de colágeno estromais e capacidade de se manter em relativo estado de desidratação (SLATTER, 2005; SAMUELSON, 2007).

A córnea é constituída por cinco camadas: o filme lacrimal pré corneal, o epitélio, o estroma, a membrana de Descemet e o endotélio (SLATTER, 2005). O endotélio está localizado posteriormente à membrana de Descemet e é formado por um único leito de células justapostas entre si, que atuam no transporte de fluidos e na manutenção da transparência corneal. Lesões endoteliais podem resultar em alterações neste mecanismo, em edema corneal e na diminuição ou na perda da percepção visual, por perda da transparência corneal (JUMBLATT; WILLER, 1996).

Em sua maioria, as células endoteliais corneais (CEC) são hexagonais, entretanto podem ser encontradas células com quatro, cinco, sete, e até oito lados (SAILSTAD; PEIFFER JR, 1981; COLLIN; COLLIN, 1998; PIGATTO et al., 2005; PIGATTO et al., 2009; TAMAYO-ARANGO et al., 2009). Trata-se de células provenientes da crista neural, que se especializam ainda durante o desenvolvimento embrionário (STUMPF; NOSÉ, 2006). O endotélio possui baixa capacidade de regeneração em indivíduos adultos, mas detém maior condição de fazê-lo em indivíduos jovens, com variações entre espécies. Atribui-se ao endotélio e ao epitélio a manutenção da deturgescência da córnea (MILLER, 2001; SAMUELSON, 2007).

As dimensões das CEC variam conforme as espécies. Segundo Sailstad e Peiffer jr (1981), a média do diâmetro das células endoteliais em coelhos é de 18,6 a 23,2 μm . Em bovinos adultos, por exemplo, o valor encontrado foi de 25,4 μm (DOUGHTY et al., 1997).

No que tange aos aspectos estruturais da superfície das CEC, sabe-se que são planas e achatadas, com exceção dos cílios, microvilosidades e interdigitações (COLLIN; COLLIN, 1998; DOUGHTY, 1998; TAMAYO-ARANGO et al., 2009). Os cílios estão localizados na superfície posterior da célula endotelial, centralizados e direcionados para a câmara anterior, já tendo sido identificados em alguns

mamíferos como homem, macaco, porco e coelhos, em aves e peixes (COLLIN e COLLIN, 1998; TAMAYO-ARANGO et al., 2009). Suas funções ainda não são bem conhecidas, entretanto admite-se que possam desempenhar um papel importante na quimiorrecepção, na osmorregulação e na detecção de variações de pressão (BERCHT, 2012).

Células endoteliais de mamíferos apresentam microvilosidades em sua superfície posterior (DOUGHTY, 1998; JOYCE, 2003; TAMAYO-ARANGO et al., 2009). Em coelhos, verificou-se grande quantitativo delas à microscopia eletrônica de varredura (DOUGHTY, 1998).

Prolongamentos tortuosos da membrana basal lateral das células endoteliais, conhecidos como interdigitação, são estruturas responsáveis pelo aumento da superfície de contato entre as células. Trata-se de estruturas já descritas em muitas espécies (COLLIN e COLLIN, 1998; OJEDA et al., 2001; TAMAYO-ARANGO et al., 2009).

As CEC contêm citoplasma rico em organelas como mitocôndrias, retículo endoplasmático liso e rugoso, assim como um desenvolvido aparelho de Golgi, o que sinaliza para a ocorrência de uma acentuada síntese protéica. Essas células dispõem ainda de sistema de bomba fluídica, que previne a passagem excessiva de fluidos e de solutos para o estroma, além de atuar na captação de nutrientes. O transporte de fluido pelas células endoteliais está vinculado ao metabolismo aeróbico (JOYCE, 2003). O transporte de água é passivo e segue o fluxo do transporte ativo de íons da membrana posterior das células endoteliais (SLATTER, 2005; DELMONTE; KIM, 2011).

Lesões endoteliais e perda da celularidade podem decorrer de fatores como envelhecimento (RODRIGUES et al., 2006), uveítes (OLIVEIRA et al., 2009b), trauma, glaucoma, procedimentos intraoculares (STUMPF; NOSÉ, 2006), toxicidade a fármacos, entre outros (OLLIVIER et al., 2007; ALVES et al., 2013). O mau funcionamento do endotélio enseja edema corneal e, conseqüentemente, aumento da sua espessura (STUMPF; NOSÉ, 2006).

A diminuição, fisiológica ou não, da densidade das CEC já foi bem documentada (RODRIGUES et al., 2006; STUMPF; NOSÉ, 2006; DELMONTE; KIM, 2011). Alterações no tamanho (polimegatismo) e na forma (pleomorfismo) são

variáveis importantes, já que podem indicar dano endotelial. Em seres humanos (DELMONTE; KIM, 2011), sabe-se que a densidade celular é de, aproximadamente, 3500 células/mm² ao nascimento, e que há diminuição gradual ao longo da vida, dado esse que corrobora com estudos realizados em cães (RODRIGUES et al., 2006) e gatos (FRANZEN et al., 2010).

A morfologia das CEC (tamanho e forma) também parece estar correlacionada à função de bomba. Polimegatismo e pleomorfismo guardam relação com a capacidade reduzida de realização da deturpção da córnea por parte das células endoteliais (POLSE et al., 1990).

3.3 Microbiota bacteriana conjuntival

A conjuntiva é considerada a membrana mais exposta do organismo, sendo de importância para a dinâmica ocular. Ela mantém relação direta com o meio externo e atua na proteção mecânica do bulbo do olho. Microrganismos de sua flora ajudam na defesa e, juntamente com fatores humorais, previnem contra o estabelecimento de agentes patógenos (GALERA et al., 2002; HENDRIX, 2007; SANTOS et al., 2009).

Microrganismos inerentes à conjuntiva podem se tornar patógenos em uma córnea aviltada (GALERA et al., 2002; PRADO et al., 2005; WANG et al., 2008). A *Pseudomonas sp.*, presente na microbiota conjuntival de alguns animais, é fator complicador em úlceras de córnea e em cirurgias oculares por produzir enzimas líticas em grande quantidade. Outros exemplares têm sido isolados em ceratite ulcerativa, como as bactérias *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, e *Corynebacterium spp.* (PRADO et al., 2005; LEDBETTER; SCARLETT, 2008).

A microbiota conjuntival pode sofrer variações sazonais, regionais, de temperatura, entre espécies, habitat e quanto aos métodos de coleta (PISANI et al., 1997; ANDREW et al., 2003; MARTINS et al., 2007).

Estudos foram conduzidos para a identificação dos principais agentes presentes na microbiota dos animais domésticos e de espécies selvagens (MARTINS et al., 2007; MONTIANI-FERREIRA et al., 2008) e exóticas (CULLEN, 2003). Em cães, bactérias como *Bacillus spp.*, *Staphylococcus intermedius*,

Staphylococcus β-haemolyticus, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Micrococcus* sp. e *Pseudomonas aeruginosa*; e agentes fúngicos como *Candida* spp., *Malassezia pachydermatis*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Dermatium* sp. e *Curvularia* sp já fora isolados em animais hígidos (ANDRADE et al., 2002; SANTOS, et al., 2009).

Souza e colaboradores (2010), estudando a microbiota conjuntival de felinos, detectaram a presença de Gram-positivos como *Staphylococcus coagulase negativo*, *Enterococcus* sp., *Micrococcus* sp. e *Streptococcus pyogenes*, e de Gram-negativos como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. e *Pseudomonas* sp.

Segundo Pisani e colaboradores (1997), a microbiota conjuntival de equinos em diferentes estações do ano assemelha-se à de cães, à de felinos e à de lhamas (*Lama glama*). Em estudo envolvendo capivaras, as bactérias *Corynebacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. e *Staphylococcus* sp. foram isoladas do saco conjuntival de 40 animais (MONTIANI - FERREIRA et al., 2008). Os dados corroboram com achados em espécimes de castor canadense (*Castor canadensis*), em que também se encontraram *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Clostridium sordellii* e *Peptostreptococcus* sp. (CULLEN, 2003).

Na maioria dos estudos em que se visa à avaliação da microbiota conjuntival de animais, o cultivo celular e testes bioquímicos são utilizados como fontes de identificação dos agentes. Entretanto, esses métodos só permitem identificar o gênero do microorganismo. A técnica de PCR, rápida e de fácil execução, possibilita que se amplifiquem fragmentos de DNA de interesse, que se identifiquem e que se sequenciem genes, valorizando os resultados e os tornando mais fidedignos (NERCESSIAN et al., 2005; MIZRAHI-MAN et al., 2013).

Não obstante a variedade de agentes bacterianos isolados no saco conjuntival de diferentes espécies de animais, estudos com cultivo celular e PCR mostraram que alguns gêneros se repetem. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Pseudomonas* spp são alguns dos exemplos de bactérias identificadas em animais domésticos (SANTOS et al., 2009; SOUZA et al., 2010) e em selvagens clinicamente sadios (PISANI et al., 1997; CULLEN, 2003).

3.4 Microscopia Especular de não contato

A microscopia especular é técnica não invasiva, utilizada na avaliação de celularidade do endotélio corneal. Baseia-se na reflexão de um feixe luminoso incidente em que parte reflete de forma especular (MELO, 2007; MELO et al., 2008). É procedimento de fácil execução, rápido e que oferece riscos mínimos de lesão corneal, além de não carecer da instilação de colírio anestésico. Equipamentos modernos oferecem focalização automática, promovendo reflexo especular menor, por não aplainar a curvatura da córnea. Os aparelhos automatizados disponibilizam recursos informatizados para a análise do mosaico endotelial, requerendo pouca intervenção do operador (BERCHT, 2012).

A microscopia especular é ferramenta importante na avaliação de condições endoteliais pré e pós-cirurgias intraoculares. Diminuição da densidade celular e alterações morfológicas são frequentes após traumas cirúrgicos (STUMPF e NOSÉ, 2006; CHIURCIU et al., 2010).

Os parâmetros que podem ser avaliados à microscopia especular podem ser divididos em morfológicos e morfométricos. Dentre os morfológicos estão o polimegatismo (tamanho) e o pleomorfismo (formato). A morfometria refere-se à densidade e à área celulares médias (MELO, 2007).

Pigatto e colaboradores (2006) observaram que valores médios da área e da densidade celulares à microscopia especular, em cães adultos, foram de $395 \pm 36 \mu\text{m}^2$ e 2555 ± 240 células/ mm^2 , respectivamente. Em felinos, os valores médios variam de $348 \pm 37,9 \mu\text{m}^2$ e de $2873 \pm 319,3$ células/ mm^2 , respectivamente (FRANZEN et al., 2010). Sailstad e Peiffer (1981) documentaram valores médios de densidade endotelial de 2998 ± 326 células/ mm^2 em coelhos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

A pesquisa foi submetida à apreciação e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo número: 01387/14). Cumpre ressaltar que foram adotados cuidados bioéticos, de consoante com as normas da Association for Research in Vision and Ophthalmology – ARVO e de acordo com o código de Nüremberg (SHUSTER, 1998). Contou-se com a anuência do SISBIO - Sistema de autorização e informação em biodiversidade (cadastro de número 42778-1).

4.2 Delineamento experimental

Todos os animais, em aparente estado hígido, foram submetidos a exame oftálmico, em ambos os olhos, balizado no teste lacrimal de Schirmer I, na análise da microbiota conjuntival, na biomicroscopia com lâmpada em fenda, na tonometria digital de aplanção e na oftalmoscopia binocular indireta. Avaliou-se o endotélio corneal à microscopia especular de não contato.

4.2.1 Animais

Foram utilizados até 13 animais da espécie *Cuniculus paca*, adultos, sendo nove fêmeas, provenientes do Setor de Animais Silvestres do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal – UNESP, credenciado pelo IBAMA (cadastro de número 484508) como criatório experimental. Os animais se encontravam confinados em baias de 15 m², com toca coberta de 03 m² e lâmina d'água. Em cada baia havia um macho para cada duas ou três fêmeas.

4.2.2 Técnicas de contenção

Os animais foram capturados com o auxílio de um puçá de polipropileno. Em seguida pesados e contidos quimicamente empregando-se a combinação de

diazepan¹ (0,5 mg/ kg) com cloridrato de tramadol² (04 mg/ kg) na musculatura do membro pélvico dos indivíduos. Empregou-se, ainda, anestesia dissociativa valendo-se da associação do cloridrato de xilazina 2%³(01 mg /kg) com o cloridrato de cetamina 10%⁴ (30 mg/kg), pela via intramuscular, após transcorrido 05 minutos da administração da medicação pré anestésica. Protocolo adaptado de Oliveira e colaboradores (2003b).

4.2.3 Parâmetros oftálmicos

4.2.3.1 Teste lacrimal de Schirmer I

Quantificou-se a porção aquosa do filme lacrimal empregando-se fita absorvente⁵, delicadamente posicionada no saco conjuntival, por um minuto em 10 animais (20 olhos) (OLLIVIER et al., 2007). As avaliações ocorreram entre 08 e 11 horas da manhã, durante o verão.

4.2.3.2 Microbiota bacteriana conjuntival

Colheram-se amostras de secreção conjuntival de ambos os olhos de 10 animais, em separado, imediatamente após a indução anestésica e o teste lacrimal de Schirmer. As amostras foram colhidas em duplicata (40 amostras) para o cultivo bacteriano em aerobiose e em anaerobiose. Estudou-se a microbiota conjuntival quanto à presença das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Pseudomonas* spp.

O cultivo foi realizado a partir dos “swabs” secos⁶ coletados da secreção conjuntival dos olhos das pacas. O material foi introduzido em tubos contendo 5,0 mL de caldo BHI ⁷. Um tubo de cada amostra foi incubado a 37°C por 18 horas, em aerobiose, e o outro em anaerobiose, utilizando-se jarra e “kit” Anaerobac⁸.

¹ Diazepan 5mg/ml, Hipolab, Brasil

² Cloridrato de tramadol 50mg/ml, Cristália, Brasil.

³ Xylasina 2%, Dopaser, Brasil

⁴ Ketamina 10% Agener, Brasil

⁵ Teste da lágrima de Schirmer, Ophtalmos LTDA, Brasil

⁶ Swabs estereis, Cral, Coitia, Sp

⁷ Brain Heart Infusion Broth - Oxoid.

⁸ Anaerobac - Probac do Brasil.

Amostras com crescimento bacteriano em caldo BHI foram submetidas à extração do DNA pelo método de fervura. Para tanto, 1,0 mL do cultivo foi transferido para “eppendorfs” de 2,0 mL. Os tubos foram centrifugados por 2 minutos a 13.400 x g. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e ao “pellet” de colônias foi acrescido 1,0 mL de solução “phosphate-buffered saline” (PBS) (8 mM Na₂HPO₄.12H₂O; 1,76 mM KH₂PO₄; 137 mM NaCl; 2,7 mM KCl). O “pellet” foi dissolvido em vórtex e, em seguida, as amostras foram novamente centrifugadas valendo-se do mesmo critério. O sobrenadante foi descartado e ao “pellet” foi acrescido 0,5 mL de água milli-Q estéril, na qual foi dissolvido. A extração de DNA realizou-se por fervura, em equipamento térmico⁹, à temperatura de 99°C, por 10 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas e 0,4 mL do sobrenadante foi acondicionado em novos tubos.

O DNA extraído das amostras foi submetido à técnica de PCR, para identificação quanto à eventual presença de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Pseudomonas* spp.. Os gêneros e espécies bacterianos escolhidos foram selecionados levando-se em conta a literatura compulsada, que os elenca como os mais encontrados (ANDRADE et al., 2002; PRADO et al., 2005; WANG et al., 2008). Na PCR com os “primers” coa_f/coa_r e pta_f1/pta_r1, utilizou-se a cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC (“American Type Culture Collection”) 6538 (Departamento de Patologia Veterinária/Laboratório de Microbiologia Veterinária/UNESP/Câmpus de Jaboticabal/SP). Na amplificação com os primers Ps_for/Ps_rev, empregou-se cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa* (doada pelo Centro de Pesquisa em Virologia/Laboratório de Virologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP/Câmpus de Ribeirão Preto/SP).

As amostras que apresentaram crescimento bacteriano em anaerobiose foram submetidas à técnica de PCR de amplificação com os “primers” C1 (5' - GCGTGCCTAATACATGCAA - 3') e C2 (5' -TACAACGCAGGTCCATCT - 3'), utilizando cepa padrão de *Streptococcus pneumoniae* (doada pelo Centro de

⁹ Thermomixer Compact - Eppendorf®, USA.

Pesquisa em Virologia/Laboratório de Virologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP/Câmpus de Ribeirão Preto/ SP).

Para a PCR de amplificação dos fragmentos (tabela 01), utilizou-se tampão 1X [100 mM Tris-HCl pH 8,8; 500 mM KCl; 0,8% (v/v) Nonidet P40]; MgCl₂ 2 mM; dNTP's 0,2 mM, 1,5 U de "Taq DNA polimerase", 5 pmol de cada primer, 100 ng de DNA genômico e água pura estéril q.s.p. 20 µL. A amplificação foi realizada em termociclador¹⁰, programado para um ciclo a 95°C, por 4 minutos; 35 ciclos a 94°C, por 30 segundos; temperatura de anelamento do "primer", por 30 segundos e a 72°C, por um minuto. Finalizando, realizou-se um ciclo a 72°C, por 10 minutos. As amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose 1% (p/v), contendo corante¹¹ e padrão de tamanho molecular¹². Os fragmentos foram visibilizados sob a luz ultravioleta, em equipamento de fotodocumentação¹³.

Tabela 01. Agentes pesquisados (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Pseudomonas* spp.) e respectivos alvos, "primers", sequências de oligonucleotídeos e tamanhos, em pares de bases (pb), utilizados nas PCRs das amostras do saco conjuntival, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

Agente	Alvo	Primer	Sequência de oligonucleotídeos	Tamanho (pb)
<i>Staphylococcus. Aureus</i>	Côa	coa_f	GAACAAAGCGGCCCATCATTA	930
		coa_r	TAAGAAATATGCTCCGATTGTCTG	
<i>Staphylococcus</i> spp.	Pta	pta_f1 pta_r1	AAAGACAAACTTTTCAGGTAA GCATAACAAGCATTGTACCG	320
<i>Streptococcus</i> spp.	16S rRNA	C1	GCGTGCCTAATACATGCAA	200
		C2	TACAACGCAGGTCCATCT	

¹⁰ Veriti Thermal Cycler - Applied Biosystems®.USA

¹¹ SYBR® Safe DNA Gel Stain - Invitrogen™,USA

¹² 100pb DNA Ladder - Invitrogen™,USA

¹³ GEL DOC XR - BioRad.

<i>Pseudomonas</i> spp.	16S rRNA	<i>Ps_for</i>	GGTCTGAGAGGATGATCAGT	990
		<i>Ps_rev</i>	TTAGCTCCACCTCGCGGC	

4.2.3.3 Biomicroscopia com lâmpada em fenda

Os olhos de 12 animais (24 olhos) foram avaliados à biomicroscopia com lâmpada em fenda¹⁴. Foram examinadas as pálpebras superior, inferior e membrana nictitante, os cílios, as conjuntivas bulbar e palpebral, a córnea, a câmara anterior, a íris, e a lente (OLLIVIER et al., 2007; MONTIANI - FERREIRA et al., 2008).

4.2.3.4 Pressão Intraocular

Avaliou-se a pressão intraocular à tonometria digital de aplanção¹⁵ em 13 animais. O aparelho foi calibrado antes da realização do teste. Os olhos foram previamente anestesiados com colírio à base de cloridrato de proximetacaína 0,5%¹⁶. Foram considerados os valores obtidos a partir da média de três avaliações consecutivas, com desvio padrão de 5%. (KOBASHIGAWA, 2014).

4.2.3.5 Oftalmoscopia binocular indireta

Os olhos de 12 animais (24 olhos) foram avaliados à oftalmoscopia binocular indireta¹⁷. Avaliou-se o fundo de olho quanto às condições da retina, da cabeça do nervo óptico e das condições vasculares. As imagens foram registradas com o auxílio do retinógrafo¹⁸

4.2.3.6 Microscopia especular de não contato

Avaliou-se a região central da córnea à microscopia especular de não contato¹⁹ em 13 animais. Por meio de “software”²⁰, as células endoteliais foram quantificadas e as imagens foram analisadas quanto à espessura corneal (mm),

¹⁴ Kowa SL-14; Kowa, Tokyo, Japan

¹⁵ Tonopen Vet Reischert, German

¹⁶ Anestalcon, Alcon, Brasil

¹⁷ Oftalmoscópio binocular indireto, eyetec, São Paulo

¹⁸ Retinógrafo, Topcon, Japan

¹⁹ Specular Microscope SP- 3000 P, Topcom Corporation, Japan.

²⁰ software Cell Count, Japan

densidade (células/mm²), área das células endoteliais (μm²) e hexagonalidade (%). Um mínimo de 30 células bem definidas foi avaliado (NAGASTUSYU et al., 2014).

4.3 ESTATÍSTICA

As amostras foram testadas quanto à distribuição gaussiana e avaliadas à estatística descritiva. Comparações foram feitas usando-se o teste t. Os dados foram expressos como média e erro padrão da média, mediana e intervalo de confiança (95%). Diferenças foram consideradas significativas para os valores de p menores ou iguais a 0,05. Todos os cálculos foram efetuados empregando-se o “software” MedCalc²¹.

²¹ MedCalc INC, Mariakerke, Belgica

5. RESULTADOS

5.1 Teste lacrimal de Schirmer I

A Figura 01 ilustra a distribuição dos dados relativos ao Teste lacrimal de Schirmer I, em amostra de 20 olhos de espécimes de *Cuniculus paca*. A média encontrada foi de $4,10 \pm 0,44$ mm/min, a mediana de 4,00 mm/min, e o intervalo de confiança da média (95%) entre 3,17 e 5,02 mm/min. Não houve diferença significativa entre os olhos direito e esquerdo ($p = 0,8275$).

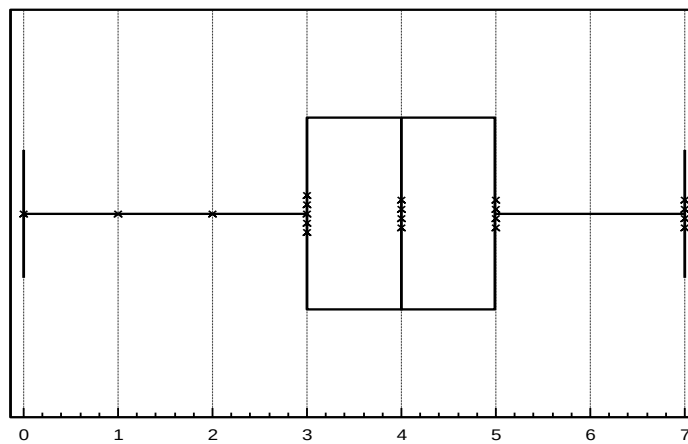


Figura 01. Boxplots de distribuição dos valores do Teste lacrimal de Schirmer (TLS), em milímetros por minuto, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

5.2 Microbiota bacteriana conjuntival

As 40 amostras cresceram em aerobiose e em anaerobiose em caldo BHI, (Figura 02).



Figura 02. Amostras de secreção conjuntival dos olhos direito e esquerdo que apresentaram crescimento de colônias em caldo BHI, em anaerobiose e em aerobiose, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

Nas amostras em que houve crescimento em caldo BHI, realizou-se PCR. As amplificações encontram-se apresentadas nas Figuras 03, 04 e 05, e os resultados dispostos na Tabela 02. Nenhuma das amostras exibiu amplificação para o gene *coa*.

Identificou-se que 100% dos indivíduos eram positivos para as bactérias *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp, e 80% para *Pseudomonas* spp. Todos foram negativos para *Staphylococcus aureus* (Tabela 02).

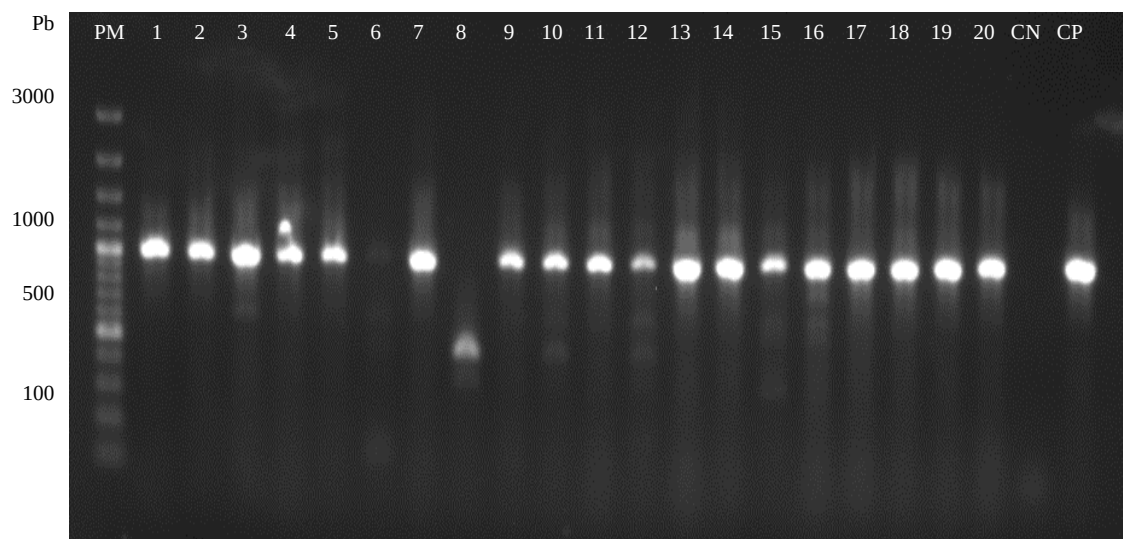


Figura 03. Produto de PCR com o “primer” Ps_for/Ps_rev (990 pb) da cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa*, indicando a amplificação das amostras, exceto CE3 e CE4, representadas pelos números 6 e 8, respectivamente. PM: padrão de tamanho molecular 100 pb DNA “Ladder Plus” (Fermentas). CP: controle positivo, cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa*. CN: controle negativo (“mix” sem DNA), em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

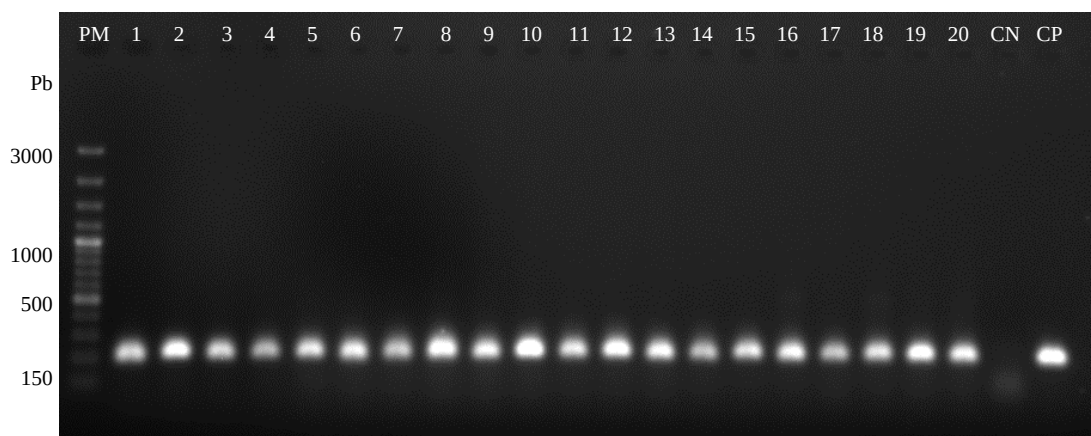


Figura 04. Produto de PCR com o “primer” C1/C2 (200 pb) da cepa padrão de *Streptococcus pneumoniae*, indicando a amplificação das amostras. PM: padrão de tamanho molecular 100 pb DNA “Ladder Plus” (Fermentas). CP: controle positivo, cepa padrão de *Streptococcus pneumoniae*. CN: controle negativo (“mix” sem DNA), em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

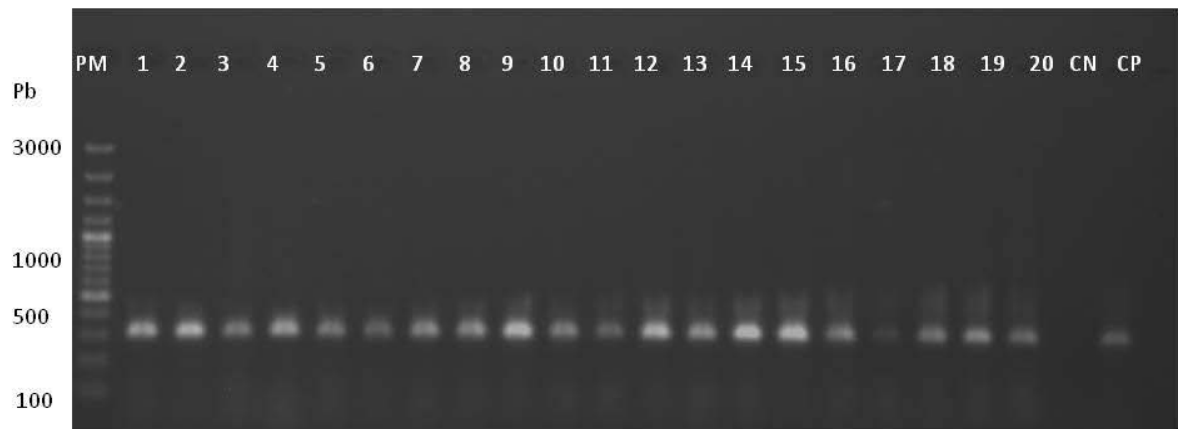


Figura 05. Produto de PCR do gene *pta* (320 pb) da cepa padrão de *Staphylococcus* spp., indicando a amplificação das amostras. PM: padrão de tamanho molecular 100 pb DNA “Ladder Plus” (Fermentas). CP: controle positivo, cepa padrão de *Staphylococcus* spp. CN: controle negativo (“mix” sem DNA) em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

Tabela 02. Resultados das amplificações, para a identificação por PCR, de *Staphylococcus* spp., de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas* spp. e de *Streptococcus* spp., em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

	Amostras	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.
Animal 1	CD1	X	–	X	X
	CE1	X	–	X	X
Animal 2	CD2	X	–	X	X
	CE2	X	–	X	X
Animal 3	CD3	X	–	X	X
	CE3	X	–	–	X
Animal 4	CD4	X	–	X	X
	CE4	X	–	–	X
Animal 5	CD5	X	–	X	X
	CE5	X	–	X	X
Animal 6	CD6	X	–	X	X
	CE6	X	–	X	X
Animal 7	CD7	X	–	X	X
	CE7	X	–	X	X
Animal 8	CD8	X	–	X	X
	CE8	X	–	X	X
Animal 9	CD9	X	–	X	X
	CE9	X	–	X	X
Animal 10	CD10	X	–	X	X
	CE10	X	–	X	X

X= Presença de amplificação; - = Ausência de amplificação

5.3 Biomicroscopia com lâmpada em fenda

O exame oftálmico revelou olhos normais, conjuntiva bulbar pigmentada com coloração marrom-azulada, cílios verdadeiros (apenas em pálpebra superior) e pontos lacrimais superior e inferior. Íris com coloração marrom, pupila circular e vestígio da membrana nictitante também foram identificados.

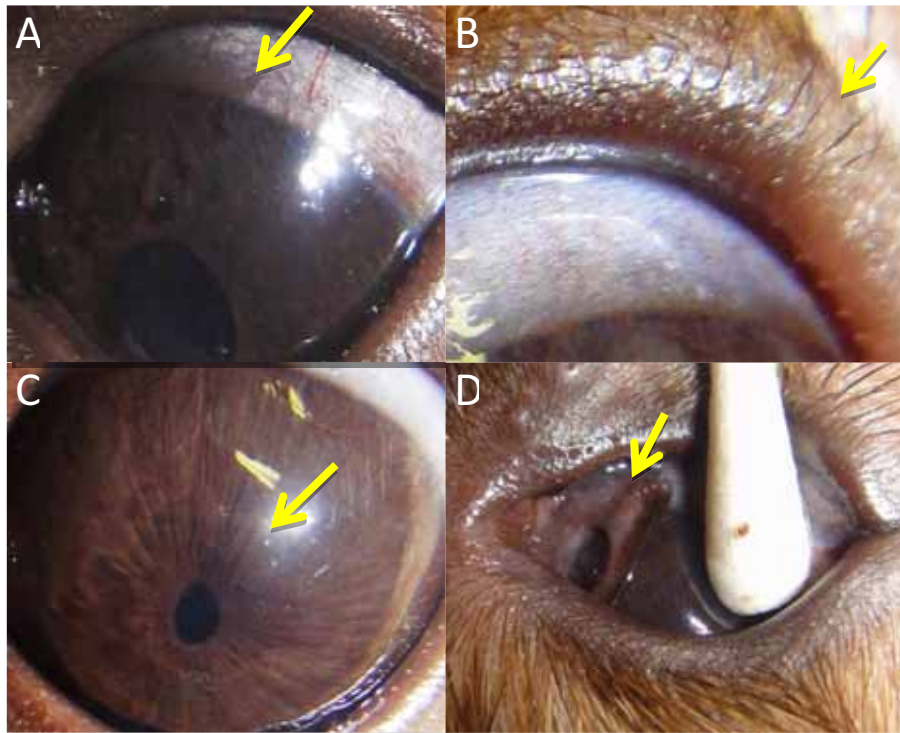


Figura 06. Imagens fotográficas de achados à inspeção por biomicroscopia. Em A, a seta sinaliza coloração marrom-azulada da conjuntiva bulbar. Em B, cílios apenas em pálpebra superior. Em C, íris marrom e pupila circular. Em D, vestígio da membrana nictitante, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal/SP, 2014.

5.4 Pressão intraocular

Os valores encontrados relativos à pressão intraocular em 26 olhos de *Cuniculus paca* foram: média de $6,34 \pm 0,43$ mmHg, mediana de 6,00 mmHg e o intervalo de confiança (95%) entre 5,45 e 7,23 mmHg. Não houve diferença estatística significativa entre os olhos direito e esquerdo ($p= 0,9314$).

5.5 Oftalmoscopia binocular indireta

A oftalmoscopia revelou retinas anangióticas e disco óptico circular, com uma pequena depressão em região central, localizado em área não tapetal (Figura 07).

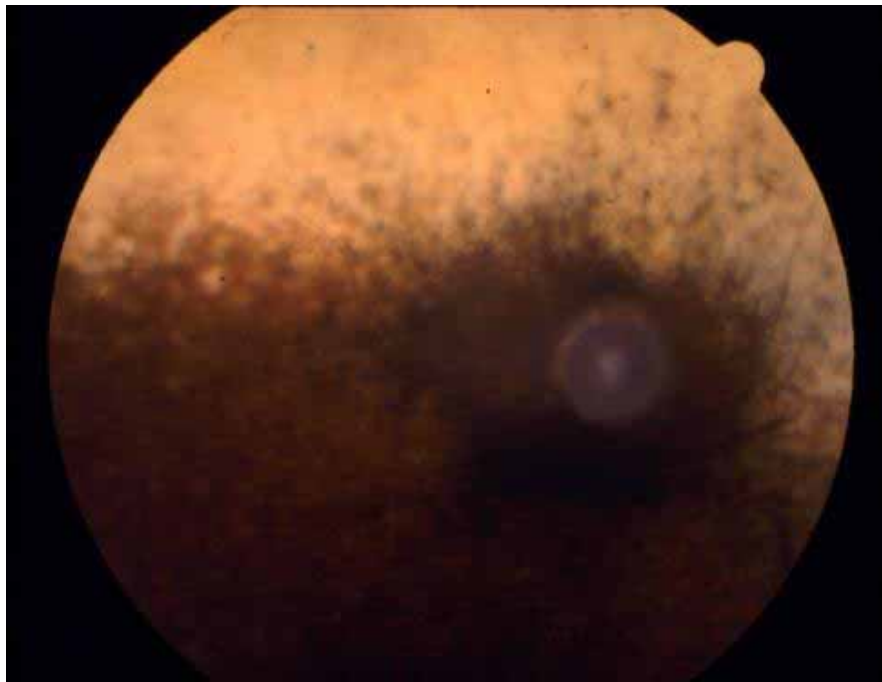


Figura 07. Imagem fotográfica de retina anangiótica e disco óptico circular em área não tapetal, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

5.6 Microscopia especular de não contato

Dados da estatística descritiva (espessura da córnea, densidade, área e hexagonalidade das células) foram avaliados em 26 olhos (Tabela 03). As células foram, em sua maioria, hexagonais (Figura 08).

Tabela 03. Resultados da microscopia especular de não contato relativamente à espessura, à densidade, à área e à hexagonalidade das células endoteliais, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal – SP, 2014.

	Valor Mínimo	Valor Máximo	Média ± erro padrão	Intervalo de confiança de 95%		Mediana
				Mínimo	Máximo	
Espessura da córnea (mm)	0,30	0,47	0,35 ± 0,010	0,33	0,37	0,33
Densidade das células (cél/mm ²)	1725,00	2694,90	2083,15 ± 42,47	1995,67	2170,64	2071,30
Área das células (µm ²)	371,10	579,70	486,30 ± 9,56	466,59	506,00	486,90
Hexagonalidade (%)	45,00	100,00	67,07 ± 3,30	60,26	73,88	64,50

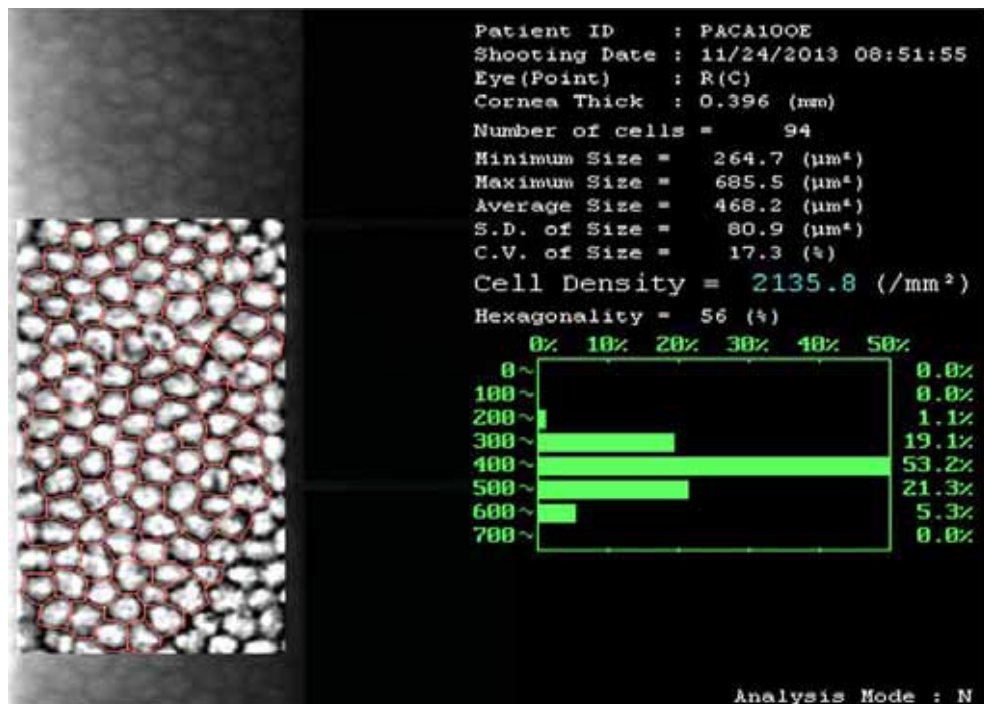


Figura 08. Fotomicrografia especular de endotélio corneal normal do olho esquerdo. Notam-se células poligonais com padrão regular e bordas nítidas, com espessura corneal de 0,396 mm, área média celular de 468,2 μm^2 , densidade celular de 2135, 8 células/mm², hexagonalidade de 56%, em espécimes de *Cuniculus paca* adultos. Jaboticabal, SP, 2014.

6. DISCUSSÃO

Adaptações referentes a protocolos de contenção química em pacas foram levados em consideração, principalmente quanto à utilização da cetamina e xilazina. Oliveira e colaboradores (2003b) utilizaram dosagens mais baixas de cetamina (20mg/kg) e mais altas de xilazina (1,5 mg/kg), por via intramuscular, em pacas na realização de hemi-ovariosalpingohisterectomia, contrapondo-se às empregadas no presente estudo. As doses usadas no presente pesquisa, por via intramuscular, mostraram-se seguras e eficazes para a realização dos testes ora propostos. Nenhuma complicação anestésica foi observada no transcorrer do estudo.

O TSL I é parte integrante do exame oftálmico em mamíferos. Ele possibilita a quantificação da produção do componente aquoso do filme lacrimal. Vários são os fatores intrínsecos e extrínsecos que interferem na produção lacrimal, entre o quais se destacam a espécie, a idade (HARTLEY et al., 2006; TRBOLOVA; GHAFARI, 2012), o gênero, o peso (BROADWATER et al., 2010), a sazonalidade (BEECH et al., 2003) e os efeitos provocados por fármacos (DODAM et al., 1998; SANCHEZ et al., 2006; GHAFARI et al., 2009b; GHAFARI et al., 2010; SANTOS et al., 2013). Na presente pesquisa tais variáveis foram consideradas.

A média encontrada no TLS I foi considerada baixa ($4,10 \pm 0,44$ mm/min) quando comparada aos valores descritos para animais domésticos sem contenção química (> 15 mm/min) (BEECH et al., 2003; HARDLEY et al., 2006; TRBOLOVA; GHAFARI, 2012) e capivaras contidas quimicamente (14, 97 mm/min) (MONTIANI – FERREIRA et al., 2008). A utilização de fármacos na contenção química pode ter contribuído para a obtenção dos resultados no presente estudo. Sabe-se que agentes anestésicos interferem na produção lacrimal (HERRING et al., 2000) e na pressão intraocular. Ghaffari e colaboradores (2010) demonstram que a xilazina reduz a produção lacrimal em felinos, contrapondo o que foi descrito por Dodam e colaboradores (1998) em cães.

A associação de cetamina com xilazina pode reduzir a pressão arterial e a frequência cardíaca em roedores, suscitando diminuição do influxo sanguíneo para a glândula lacrimal e, conseqüentemente, reduzindo a produção da lágrima (SANDFORD; COLBY, 1980; ERHARDT et al., 1984; PEETERS et al., 1988; HENKE

et al., 2005). Outro ponto a se considerar é a ação dos agentes anestésicos, que suprimem as vias autonômicas durante a anestesia, fato este que contribui para a diminuição da produção reflexa da lágrima (CROSS; KRUPIN, 1977). Esses dois fatores podem justificar a ocorrência dos resultados registrados na presente pesquisa. Não obstante, fármacos como cloridrato de tramadol (SANTOS et al., 2013) e diazepam (DODAM et al., 1998; GHAFARI et al., 2009b) pouco interferem na produção da porção aquosa da lágrima em coelhos e cães.

Especula-se ainda a respeito do lapso temporal entre o efeito da cetamina e xilazina e a realização do teste. Ainda que curto (inferior a 5 minutos), o interstício pode ter sido suficientemente capaz de provocar uma diminuição do reflexo palpebral e, conseqüentemente, maior evaporação da lágrima. Achados dessa natureza foram encontrados por Lipman e colaboradores (1990) quando discorreram sobre a rápida perda e certa demora no retorno do reflexo palpebral em coelhos anestesiados com cetamina e xilazina, o que também pode justificar os valores encontrados no presente estudo.

Na presente pesquisa, todos os indivíduos foram positivos para os gêneros *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.*, e 80% para *Pseudomonas spp.*, dados estes que se assemelham aos reportados em estudos de microbiota conjuntival em animais selvagens (CULLEN, 2003; MARTINS et al., 2007; GALLES et al., 2007) e domésticos saudáveis (SANTOS et al., 2009; SOUZA et al., 2010). Prato e colaboradores (2005), Wang e colaboradores (2008) e Ledbetter e Scarlett (2008) também isolaram os três gêneros em ceratites ulcerativas de animais domésticos.

A técnica de PCR contribuiu para a identificação dos gêneros bacterianos no presente estudo. Contudo, para a confirmação das espécies, faz-se necessária a utilização de técnicas mais específicas, como o emprego de sequenciamento genético (NERCESSIAN et al., 2005; MIZRAHI-MAN et al., 2013).

À biomicroscopia com lâmpada em fenda, os achados foram similares aos descritos para outras espécies de roedores selvagens (CULLEN, 2003; MONTIANI-FERREIRA et al., 2008; MULLER et al., 2010). Vestígios da membrana nictitante foram igualmente relatadas em castores canadenses (CULLEN, 2003), capivaras (MONTIANI-FERREIRA et al., 2008) e chinchilas (MULLER et al., 2010). Outrossim, a presença de pupila circular, identificada na espécie em questão, não diverge do

quanto descrito por Muller e colaboradores (2010) em chinchilas, mas contrapõe-se ao padrão observado por Montiani-Ferreira e colaboradores (2008), que reportaram a presença de pupila com formato oval em estudo com capivaras.

Conjuntiva bulbar pigmentada (marrom-azulada) foi uma característica comum a todos os indivíduos avaliados no presente estudo. A identificação de cílios verdadeiros apenas nas pálpebras superiores é igualmente encontrada em cães, cavalos e capivaras (SAMUELSON, 2007; MONTIANI-FERREIRA et al., 2008). Coloração amarronzada da íris não divergiu do reportado por Montiani-Ferreira e colaboradores (2008) quando estudaram capivaras.

A oftalmoscopia binocular indireta revelou retinas anangióticas nos espécimes avaliados. Trata-se de achado compatível com o descrito em aves (RODARTE-ALMEIDA et al., 2013), morcegos (SAMUELSON, 2007) e algumas espécies de roedores como chinchilas (MULLER et al., 2010), castores (CULLEN, 2003), cobaias e capivaras (FERNANDEZ e DUBIELZIG, 2013; RODARTE-ALMEIDA et al., 2013). Distinto é o padrão retiniano merangiótico descrito em coelhos e holangiótico em ratos, camundongos, cães e gatos (WILLIAMS, 2007). A presença de disco óptico circular é semelhante ao descrito em castores e capivara (CULLEN, 2003; MONTIANI-FERREIRA et al., 2008).

A média dos valores encontrados na pressão intraocular foi considerada inferior ($6,34 \pm 0,43$ mmHg) à estabelecida para outros roedores selvagens (CULLEN, 2003; MONTIANI – FERREIRA et al., 2008; LIMA et al., 2010; PERREIRA et al., 2011). Variações na pressão intraocular estão relacionadas a casos de inflamação intraocular (BLOUIN, 1984; ORIÁ et al., 2004; VEIGA et al., 2013), glaucoma (GELLAT e MACKAY, 2004), oscilações da pressão sanguínea, senilidade, sazonalidade, ritmo circadiano (KARTZ et al., 1975; VARELLES et al., 1977; DEL SOLE et al., 2007) e ação de fármacos (MURPHY, 1985).

Apesar de os valores referentes à PIO terem sido registrados em patamar inferior ao esperado, não havia sinais de doença ocular (BLOUIN, 1984; ORIÁ et al., 2004; VEIGA et al., 2013) ou alterações de qualquer ordem que pudessem justificar o ocorrido, salvo a sazonalidade, o ritmo circadiano e a ação de fármacos (KARTZ et al., 1975; VARELLES et al., 1977; DEL SOLE et al., 2007).

Os benzodiazepínicos contribuem para a diminuição da pressão intraocular. O

relaxamento dos músculos extraoculares e o aumento da drenagem do humor aquoso são variáveis que justificariam a ocorrência do evento (MURPHY, 1985; KOVALCUKA, et al., 2013). Outro fármaco que colabora para redução da PIO é a xilazina, um excelente analgésico e relaxante muscular que pode reduzir a pressão intraocular por suprimir a função neuronal simpática e diminuir o fluxo do aquoso (BURKE; POTTER, 1986).

Cunnigham e Barry (1986) ratificaram que a maioria dos agentes anestésicos reduz a pressão intraocular, à exceção da cetamina. Kovalcuka e colaboradores (2013) e Hofmeister e colaboradores (2006), estudando o efeito do fármaco em cães, observaram o mesmo efeito. Peuler e colaboradores (1975), em pacientes humanos, não identificaram aumento da pressão intraocular ao empregarem cetamina pela via intravenosa.

Pressões intraoculares baixas foram identificadas em cavalos, camundongos e coelhos (TRIM et al., 1985; DING et al., 2011; MATTOS-JUNIOR et al., 2014) anestesiados com cetamina e xilazina, o que se coaduna com o resultado encontrado neste estudo. Admite-se que os fármacos diazepam e xilazina podem ter contribuído para a redução da PIO na espécie estudada.

Não se pode olvidar que aspectos anatômicos como espessura, curvatura e rigidez da córnea, bem como o tamanho do olho, podem contribuir para alterações na pressão intraocular (SAKATA et al., 2000; PARK et al., 2011).

A microscopia especular permite avaliar a morfologia e a densidade celular do endotélio corneal, “in vivo” ou “ex vivo”, sem danos para a córnea (MELO, 2008). Todavia, estudos envolvendo o uso de microscópio especular de não contato em medicina veterinária são ainda escassos (KOBASHIGAWA et al., 2012; RENZO et al., 2014), embora venham sendo incrementados.

Analisando-se os resultados à microscopia especular de não contato, preponderaram células endoteliais com formato hexagonal, à similitude de outras espécies (SAILSTAD e PEIFFER JR, 1981; COLLIN e COLLIN, 1998; PIGATTO et al., 2005; PIGATTO et al., 2009; TAMAYO-ARANGO et al., 2009).

A espessura média da córnea foi de $0,35 \pm 0,010$ mm. Kobashigawa e colaboradores (2012) encontraram valores médios semelhantes em coelhos ($0,344 \pm 0,007$ mm), utilizando o mesmo equipamento empregado no presente estudo.

A densidade celular reportada por Sailstad e Peiffer Jr (1981), de 2998 ± 326 (cél/mm²), e Kobashigawa e colaboradores (2012), de $2518 \pm 134,9$ (células/mm²) em coelhos difere da identificada na presente investigação ($2083,15 \pm 42,47$ células/mm²). Não obstante, os resultados se aproximaram daqueles encontrados em chinchilas adultas por Bercht (2013). Analisando-se os dados de trabalho realizado por Renzo e colaboradores (2014) em cães, foi possível perceber que a densidade celular não divergiu da observada na presente pesquisa, ainda que aqueles indivíduos não pertençam à ordem Rodentia.

Relativamente à área celular, os dados mostraram valores superiores ($486,30 \pm 9,56 \mu\text{m}^2$) aos reportados por Kobashigawa e colaboradores (2012) ($397,2 \pm 34,67 \mu\text{m}^2$) em coelhos e inferiores aos registrados por Bercht (2013) ($545 \pm 36,64 \mu\text{m}^2$) em chinchilas adultas. A partir da análise dos percentuais de hexagonalidade das células endoteliais, verificou-se semelhança com o que foi descrito em chinchilas adultas (BERCHT, 2013) e em cães (RENZO et al., 2014).

Lesões graves no endotélio corneal resultam em espessamento da córnea, alterações no tamanho, forma, densidade e área das células endoteliais (PIGATTO et al., 2006; RENZO et al., 2014). Alterações dessa natureza podem ser avaliadas de maneira rápida e não invasiva à microscopia especular (MELO, 2008). Até que a presente pesquisa fosse concluída, não se encontravam dados em microscopia especular para a espécie estudada. Em verdade, poucos foram os trabalhos cujos protocolos envolveram a microscopia especular de não contato em animais. Diante disso, admite-se que a divergência entre os resultados ora obtidos e aqueles provenientes da literatura comparada se deve, notadamente, aos métodos utilizados e às particularidades da espécie.

7. CONCLUSÕES

Considerando-se a maneira como a pesquisa foi concebida e levando-se em conta as injunções do meio onde ela foi realizada, percebeu-se que os parâmetros encontrados no presente estudo, relativamente a espécimes de *Cuniculus paca*, servirão de referência para estudos futuros, bem como serão úteis na abordagem terapêutica frente a diferentes oftalmopatias, contribuindo para a preservação da espécie.

8. REFERÊNCIAS

ALVES, L. F. A.; KAC, M. J. ; BISOL, T; FERNANDES, B. F.; ESKENAZI, D. T. Síndrome tóxica do segmento anterior. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 72, n. 1, p. 29-33, 2013.

ANDRADE, A. L.; STRINGHINI, G.; BONELLO, F. L.; MARINHO, M.; PERRI, S.H.V. Microbiota conjuntival de cães saudáveis da cidade de Araçatuba (SP). **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.65, p.323-326, 2002.

ANDREW, S. E.; NGUYEN, A.; JONES, G. L.; BROOKS, D. E. Seasonal effects on the aerobic bacterial and fungal conjunctival flora of normal thoroughbred brood mares in Florida. **Veterinary Ophthalmology**, v.6, n.1, p.45-50, 2003.

AQUINO R.; GIL, D. ;PEZO, E. Aspectos ecológicos y sostenibilidad de la caza del majás (*Cuniculus paca*) en la cuenca del río Itaya, Amazonía peruana. **Revista Peruana de biología**, v.16, n.1 p. 67- 72, 2009.

ÀVILA, B. H. I.; MACHADO, M. R. F.; OLIVEIRA, F. S. Descrição anátomo-radiográfica do coração da paca (*Agouti paca*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.38, n.2, p.191-195, 2010.

BEECH, J.; ZAPPALA, R. A.; SMITH, G.; LINDBORG, S. Schirmer tear test results in normal horses and ponies: effect of age, season, environment, sex, time of day and placement of strips. **Veterinary Ophthalmology**, v.6, n.3, p. 251–254, 2003.

BERCHT, B. S. **Avaliação do endotélio da córnea de chinchilas (*Chinchilla lanigera*) em diferentes faixas etárias utilizando a microscopia especular**. 2012, 56f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em ciências veterinárias, Porto Alegre, 2012.

BERDOULAY, A.; ENGLISH, R. V.; NADELSTEIN, B. Effect of topical 0.02% tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v.8, n.4, p.225–232, 2005.

BLOUIM, P. Uveitis in the Dog and Cat: Causes, Diagnosis and Treatment. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 25, n. 3 p.15-323, 1984.

BONATELLI, M.; CARTER, A. M.; MACHADO, M. R. F.; OLIVEIRA, M. F.; LIMA, M. C.; MIGLINO, M. A. Placentation in the paca (Agouti paca L). **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 3, n. 9, p. 1-12, 2005.

BORGES, E. M.; BRANCO, E. ; LIMA, A. R.; LEAL, L. M.; MARTINS, L. L.; REIS, A. C. G.; CRUZ, C.; MACHADO, M. R. F.; MIGLINO, M. A. Morfologia e topografia dos órgãos genitais masculinos externos da paca (Cuniculus paca Linnaeus, 1766). **Biotemas**, v.26, n.4, p. 209-220, 2013.

BORGES, E. M.; BRANCO, E.; LIMA, A. R.; LEAL, L. M.; LEANDRO LUIZ MARTINS, L. L.; REIS, A. C. G. CRUZ, C. ; Machado, M. R. F. Miglino, M.A. Morphology of accessory genital glands of spotted paca (Agouti paca Linnaeus, 1766). **Animal Reproduction Science**, v.145, p. 75–80, 2014.

BROADWATER, J. J.; COLITZ, C.; CARASTRO, S.; SAVILLE, W. Tear production in normal juvenile dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. 5, p. 321–325, 2010.

BURKE, J. A.; POTTER, D. E. The ocular effects of xylazine in rabbits, cats, and monkeys. **Journal Ocular Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 9-21, 1986.

CHIURCIU, J. L. V.; BRANDÃO, C. V. S.; RODRIGUES, A. C. L.; RANZANI, J. J. T.; FERREIRA, T. H.; PADOVANI, C. R. Uso de viscoelásticos na facoemulsificação em cães portadores de catarata: efeitos sobre a pressão intraocular, a morfologia das células endoteliais e a espessura corneana. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.3, p.570-577, 2010.

COLLIN, S. P.; COLLIN, H. B. A comparative study of the corneal endothelium in vertebrates. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 81, n.6, p. 245- 254, 1998.

CROSS, D.A.; KRUPIN, T. Implications of the Effects of General Anesthesia on Basal Tear Production. **Anesthesia and Analgesia**, v.56, n. 1, p. 35 – 37, 1977.

CULLEN, C.L. Normal ocular features, conjunctival microflora and intraocular pressure in the Canadian beaver (*Castor canadensis*). **Veterinary Ophthalmology**, v.6, n. 4, p. 279–284, 2003.

CUNNINGHAM, A. J.; BARRY, P. Intraocular pressure -physiology and implications for anaesthetic management. **Canadian anaesthetists society journal**, v. 33, n.2, p.

195-208, 1986.

DAVIDSON, H. J.; KUONEN, V. J. The tear film and ocular mucins. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 2, p. 71–77, 2004.

DELMONTE, D. W.; KIM, T. Anatomy and physiology of the cornea. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 37, p. 588–598, 2011.

DEL SOLE, M. J.; PABLO H. SANDE, P. H.; BERNADES, J. M.; ABA, M. A.; ROSENSTEIN, R.E. Circadian rhythm of intraocular pressure in cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 3, p. 155-161, 2007.

DING, C.; WANG, P.; TIAN, N. Effect of general anesthetics on IOP in elevated IOP mouse model. **Experimental Eye Research**, v.92, p. 512-520, 2011.

DODAM, J. R.; BRANSON, K. R.; MARTIN, D. D. Effects of intramuscular sedative and opioid combinations on tear production in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 1, n. 1, p. 57 - 59, 1998.

DOUGHTY, M. J.; SPITERI, M.; DILTS, D. M. Determination of the unit size of the corneal endothelial cell mosaic from Fourier component image analysis. **Tissue and Cell**, v.29, n. 2, p. 229-238, 1997.

DOUGHTY, M.J. Changes in cell surface primary cilia and microvilli concurrent with measurements of fluid flow across the rabbit corneal endothelium ex vivo. **Tissue and cell**, v. 30, n. 6, p. 634- 643, 1998.

ERHARDT, W.; HEBESTEDT, A.; ASCHENBRENNER, G.; PICHOTKA, B.; BLIIMEL, G. A Comparative Study with Various Anesthetics in Mice (Pentobarbitone, Ketamine-Xylazine, Carfentanyl-Etomidate). **Research in Experimental Medicine**, v. 184, p.159-169, 1984.

FERNANDEZ, J, R. R.; DUBIELZIG, R.R. Ocular comparative anatomy of the family Rodentia. **Veterinary Ophthalmology**, v. 16, Supplement 1, 94–99, 2013.

FRANZEN, A .A.; PIGATTO, J. A.T.; ABIB, F. C.; ALBUQUERQUE,L, L.; LAUS, J.L. Use of specular microscopy to determine corneal endothelial cell morphology and

morphometry in enucleated cat eyes. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. 4, p. 222–226, 2010.

GALERA, P. D.; ÁVILA, M. O; RIBEIRO, C . R.; DOS SANTOS, F. V. Estudo da microbiota da conjuntiva ocular de Macacos-prego (*Cebus apella* – linnaeus, 1758) e macacos bugio (*Alouatta caraya* –Humboldt, 1812), provenientes do reservatório de manso, MT, Brasil **Arquivo do Instituto Biológico**, v.69, n.2, p.33-36, 2002.

GALLES, L. E.; MOORE, C. P. Clinical microbiology. In: GELATT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**.4ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2007, p.37-148.

GARCIA FILHO, S. P. MARTINS, L. L.; REIS, A. C. G.; PACHECO, M. R.; MACHADO, M. R. F. Estrutura, ultraestrutura e morfometria da veia cava de paca (*Cuniculus paca* Linnaeus, 1766) criada em cativeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.5, p.683-687, 2013.

GELATT, K. N.; MACKAY, E. O. Secondary glaucomas in the dog in North America. **Veterinary Ophtalmology**, v. 7, n. 4, p. 245-259, 2004.

GHAFFARI, M. S.; SABZEVARI, A.; RADMEHR, B. Effect of topical 1% tropicamide on Schirmer tear test results in clinically normal horses. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 6, p. 369–371, 2009a.

GHAFFARI, M. S.; MOGHADDASSI, A. P.; BOKAIE, S. Effects of intramuscular acepromazine and diazepam on tear production in rabbits. **Veterinary Record**, v.164, p. 147-148, 2009b.

GHAFFARI, M. S.; MALMASI, A.;B BOKAIE, S. Effect of acepromazine or xylazine on tear production as measured by Schirmer tear test in normal cats. **Veterinary Ophthalmology** , v. 13, n. 1, p. 01–03, 2010.

GOMES, C.; KARAM, L. B.; MACEDO, R. E. F. Atributos de qualidade da carne de paca (*Agouti paca*): perfil sensorial e força de cisalhamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.559-565, 2013.

GRUNDON, R. A.; ANDERSON, G. A.; LYNCH, M.; HARDMAN, C.; O'REILLY, A.; STANLEY, R. G. Schirmer tear tests and intraocular pressures in conscious and

anesthetized koalas (*Phascolarctus cinereus*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 14, n. 5, p. 292–295, 2011.

GUIMARÃES, D. A. A.; BASTOS, L. V.; FERREIRA, A. C. S.; LUZ-RAMOS, R. S.; OHASHI, O. M.; RIBEIRO, H. L. Características reprodutivas da paca fêmea (*Agouti paca*) criada em cativeiro. **Acta Amazonica**, v. 38, n.3, p. 531-538, 2008.

HARTLEY, C.; WILLIAMS, D.L.; ADAMS, V.J. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n.1, p. 53-57, 2006.

HENDRIX, D. V. H. Canine conjunctiva and nictitating membrane. In: GELLAT. K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 4 ed Iowa: Backwell Publishing. vol.1, p.662 – 689, 2007.

HENDRIX, D. V. H.; ADKINS, E. A.; WARD, D. A.; STUFFLE, J.; SKOROBHACH, B. An Investigation comparing the efficacy of topical ocular application of Tacrolimus and Cyclosporine in Dogs. **Veterinary Medicine International**, v. 1, p. 1- 5, 2011.

HENKE, J.; ASTNER, S.; BRILL, T.; EISSNER, B.; BUSCH, R.; ERHARDT, W. Comparative study of three intramuscular anaesthetic combinations (medetomidine/ketamine, medetomidine/fentanyl/midazolam and xylazine/ketamine) in rabbits. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.32, p.261–270, 2005.

HERRERA, H. D.; WEICHSLER, N.; GÓMEZ, J. R.; JALÓN, J. A. G. Severe, unilateral, unresponsive keratoconjunctivitis sicca in 16 juvenile Yorkshire Terriers. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 5, p. 285–288, 2007.

HERRING, I. P.; PICKETT, J. P.; CHAMPAGNE, E. S.; MARINI, M. Evaluation of aqueous Tear production in dogs following general anesthesia. **Journal of The American animal hospital association**, v. 36, p. 427- 430, 2000.

HOFMEISTER, E. H.; MOSUNIC, C. B.; TORRES, B. T.; RALPH, A. G.; MOORE, P. A.; READ, M. R. Effects of ketamine, diazepam, and their combination on intraocular pressures in clinically normal dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 67, n. 7, p. 1136-1139, 2006.

JOYCE, N. C. Proliferative capacity of the corneal endothelium. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 22, p. 359–389, 2003.

JUMBLATT, M. M.; WILIER, S. S. Corneal Endothelial Repair: Regulation of Prostaglandin E2 Synthesis. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 37, p.1294-1301, 1996.

KATZ, R. S.; HENKIND, P.; WEITZMAN, E. D. The circadian rhythm of the intraocular pressure in the New Zealand White rabbit. **Investigative Ophthalmology**, v. 14, n.10, p.775- 779, 1975.

KOBASHIGAWA, K. K.; SOUZA, E.S.; PADUA, I.R.M.; ANDRADE, A.L.; RIBEIRO, A.P.; BARROS, S.V.S.G.; MARTINS, B.C.; LAUS, J.L. Clinical features, cellularity of corneal endothelium, laser flaremetry and aqueous humor total protein concentration in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with uveitis following treatment with 1% morphine sulfate. Presented in **ECVO Conference 2012** in Trieste, Italy.

KOBASHIGAWA, K. K. **Parâmetros oftálmicos em cães adultos da raça Shih tzu**. 2014, 33f. Faculdade de Ciência Agrária e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

KOVALCUKA, L.; BIRGELE,E.; BANDERE, D.; AND , WILLIAMS, D, L. The effects of ketamine hydrochloride and diazepam on the intraocular pressure and pupil diameter of the dog’s eye. **Veterinary Ophthalmology**, v. 16, n.1, p. 29–34, 2013.

LEDBETTER, E. C.; SCARLETT, J. M. Isolation of obligate anaerobic bacteria from ulcerative keratitis in domestic animals. **Veterinary Ophthalmology**, v. 11, n. 2, p. 114-122, 2008.

LIM, C.C.; CULLEN, C. L. Schirmer tear test values and tear film break up time in cats with conjunctivitis. **Veterinary Ophthalmology**, v.5, n. 5, p. 505-310, 2005.

LIMA, L.; MONTIANI-FERREIRA, F.; TRAMONTIN,M.; SANTOS,L. L.; MACHADO, M.; LANGE, R, R.; RUSS, H. H. A. The chinchilla eye: morphologic observations, echobiometric findings and reference values for selected ophthalmic diagnostic tests. **Veterinary Ophthalmology**, v.13, Suplemento 01, p. 14–25, 2010.

LIPMAN N. S.; MARINI, R. P.; ERDMAN, S.E. A comparison of ketamine/xylazine and ketamine/xylazine/acepromazine anesthesia in the rabbit. **Laboratory animals Science**, v. 40, n. 4, p. 395- 398, 1990.

LOURENÇO R. F. S, DIAS R. S.; GOMES A. P. A. Criação de paca (*Agouti paca*) como alternativa de diversificação de produção e renda em Minas Gerais. Anais 46^o Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Rio Branco, AC, p.1-20. (Resumo), 2008.

MARGADANT , D. L.; KIRKBY,K.; ANDREW, S. E.; GELATT, K. N. Effect of topical tropicamide on tear production as measured by Schirmer's tear test in normal dogs and cats. **Veterinary Ophthalmology** v. 6, n. 4, p. 315–320, 2003.

MARTINS, B. C.; ORIÁ, A. P.; SOUZA, A. L. G.; CAMPOS, C. F.; ALMEIDA, D. E. ; DUARTE, R. A.; SOARES, C, P.; ZUANON, J. A. S.; NETO, C. B.; DUARTE, J. M. B.; SHOCKER- ITURRINO, R. P.; LAUS. J. L. Ophthalmic patterns of captive brown brocket deer (*Mazama Gouazoubira*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 38, n.4, p.526–532, 2007.

MATTOS-JUNIOR, E.; CUNHA, O.; BARROS , L F. M.;MINERVINO, A.H. H.; NISHIMURA, L. T.; DIAS, L. G. G. G.; CORTOPASSI, S. R. G. Dissociative anesthetic combination reduces intraocular pressure (IOP) in rabbits. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 905-910, 2014.

MELO, C. M.; SANTOS, P. M.; SANTOS, R. C. .R.; ABIB, F. C. Utilização do programa Cells Analyser® no estudo comparativo entre imagens do endotélio de córneas obtidas por microscopia especular. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 71, n.1, p. 79- 82, 2008.

MELO, C, M. **Estudo das amostras endoteliais de Microscopia especular de córnea**. 2007. 116 f. Tese (Doutorado em Oftalmologia) - Faculdade de Ciência da Saúde da UnB, Brasília, 2007.

MENEGHELLI, U. G.; MARTINELLI E, A. L. C.; VELLUDO, M. A. S. L. Cistos de *Echinococcus vogeli* em fígado de paca (*Cuniculus paca*) originária do Estado do Acre, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.23, n.3, p. 153-155, 1990.

MILLER, W. W. Evaluation and management of corneal ulcerations: A Systematic approach. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 16, n.1, p. 51-57, 2001.

MILLICHAMP, N. J. Ophthalmic disease in exotic species. **Veterinary Clinic Exotic Animals**, n. 5, p. 223–241, 2002.

MIZRAHI-MAN, O.; DAVENPORT, E. R.; GILAD, Y. Taxonomic Classification of Bacterial 16S rRNA Genes Using Short Sequencing Reads: Evaluation of Effective Study Designs. **PLOS ONE**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2013.

MONTIANI-FERREIRA, F.; TRUPPEL, J.; TRAMONTIN, M. H.; VILANI, R. G. D.; LANGE, R. R. The capybara eye: clinical tests, anatomic and biometric features. **Veterinary Ophthalmology**, v.11, n.6, p.386–394, 2008.

MULLER, K.; MAULER, D. A.; EULE, J. C. Reference values for selected ophthalmic diagnostic tests and clinical characteristics of chinchilla eyes (*Chinchilla lanigera*). **Veterinary Ophthalmology**, v.13, Suplemento 1, p. 29–34, 2010.

MURPHY, D. F. Anesthesia and Intraocular Pressure. **Anesthesia and Analgesia**, v.64, n. 5, p. 520-30, 1985.

NAGASTUYU, C. E.; ABREU, P.B.; KOBASHIGAWA, K. K. CONCEIÇÃO, L. F.; MORALES, A.; ANDRADE, A. L.; PADUA, I. R. M.; MARTINS, B. C.; LAUS, J. L. Non contact specular microscopy in aphakic and pseudophakic dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, prelo, 2014.

NERCESSIAN, O.; FOUQUET, Y.; PIERRE, C.; PRIEUR, D.; JEANTHON, C. Diversity of Bacteria and Archaea associated with a carbonate-rich metalliferous sediment sample from the Rainbow vent field on the Mid-Atlantic Ridge. **Environmental Microbiology**, v. 7, n. 5, p. 698-714, 2005.

NOGUEIRA, T. M. R.; TONIOLLO, G. H.; GIANNONI, M. L. Estrous cycle colpocytology in captive pacas (*Agouti paca*, Linnaeus, 1766), **Ars Veterinaria**, v. 21, Suplemento, p. 209-214, 2005.

OFRI, R.; HOROWITZ, I.; KASS, P.H. Tear production in three captive wild herbivores in Israel. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35 n.1, p. 134–136, 1999.

OFRI, R.; HOROWITZ, I. H.; LEVISON, M.; KASS, P. H. Intraocular Pressure and Tear Production in Captive Eland and Fallow Deer. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 37, n.2, p. 387–390, 2001.

OJEDA, J. L.; VENTOSA, J. A.; PIEDRA, S. The three-dimensional microanatomy of the rabbit and human cornea. A chemical and mechanical microdissection-SEM approach. **Journal of Anatomy**. v. 199, p. 567-576, 2001.

OLLIVIER, F. J.; PLUMMER, C. E.; BARRIE, K. P.; The eye examination and diagnostic procedures. In: GELLAT. K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 4 ed Iowa: Backwell Publishing. vol.1, p.438 – 476, 2007.

OLIVEIRA, F. S.; MACHADO, M. R. F.; CANOLA, J. C Real time B-mode ultrasound in pacas pregnancy (Agouti paca, Linnaeus, 1766). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 1, p.73-78, 2003a.

OLIVEIRA, F. S.; TONIOLLO, G. H.; MACHADO, M. R. F.; PAURA, D. Hemi-ovariossalpingohisterectomy em pacas prenhes e posterior ocorrência de prenhez (Agouti paca, Linnaeus, 1766). **Ciência Rural**, v.33, n.3, p.547-551, 2003b.

OLIVEIRA, F. S.; CANOLA, J. C; OLIVEIRA, P. T.;PÉCORA, J. D.; CAPELLI, A. Anatomoradiographic Description of the Teeth of Pacas Bred in Captivity (Agouti paca, Linnaeus, 1766). **Anatomia Histologia Embryologia**, 35, n. 5, p. 316–318, 2006a.

OLIVEIRA, F. S.; CANOLA, J. C.; MACHADO, M. R. F.; CAMARGO, M. H. B. Descrição anátomo-radiográfica do esqueleto axial da paca (Agouti paca, Linnaeus, 1766). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.3, p. 331-334, 2006b.

OLIVEIRA, F. S.; MACHADO, M. R. F.; CANOLA, J. C.; CAMARGO, M. H. B. Uniparidade em pacas criadas em cativeiro (Agouti paca, Linnaeus, 1766). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.387-389, 2007a.

OLIVEIRA, F. S.; CANOLA, J. C.; MACHADO, M. R. F.; CAMARGO, M. H. B. Descrição anátomo-radiográfica do esqueleto apendicular da paca (Agouti paca). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.1, p. 83-87, 2007b.

OLIVEIRA, F. S.; ALMEIDA, D. E. ; VICENTI, F. A. M.; MACHADO, M. R. F.; CANOLA, J. C. Ulcerative keratitis in paca (Agouti paca). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 4, p. 401-403, 2009 a.

OLIVEIRA, F.; MOTTA, A. C. O.; MUCCIOLI, C. Corneal specular microscopy in infectious and noninfectious uveitis. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 72, n.4, p 457-61, 2009b.

ORIÁ, A. P.; PEREIRA. P. M.; LAUS, J. L. Uveitis in dogs infected with Ehrlichia canis. **Ciência Rural**, v. 34, n.4, p.1289-1295, 2004.

PARANÁ. Programa Estadual de Manejo de Fauna Silvestre Apreendida. *Relatório*. Curitiba:Silviconsult Engenharia:IAP. 2003. 179 p.

PARK, Y.; JEONG, M.; KIM, T.; AHN, J.; AHN, J.; PARK, S. ; KIM , S.; SEO, K. Effect of central corneal thickness on intraocular pressure with the rebound tonometer and the applanation tonometer in normal dogs. **Veterinary ophtalmology**, v. 14, n.3, p. 169–173, 2011.

PEETERS, M. E.; GIL, D.; TESKE, E.; EYZENBACH, V.; BROM, W. E. V. D.; LUMEI, J.T.; DE VRIES, H. W. Four methods for general anaesthesia in the rabbit: a comparative study. **Laboratory Animals**, v. 22, p.355-360, 1988.

PEREIRA, F. Q.; BERCHT, B. S.;SOARES,M.G.; MOTA, M. G. B.; PIGATTO; J.A. T. Comparison of a rebound and an applanation tonometer for measuring intraocular pressure in normal rabbits. **Veterinary Ophtalmology**, v. 14, n. 4, p. 1–6, 2011.

PEULER, M. GLASS, D., ARENS, J. F. Ketamine and intraocular pressure. **Anesthesiology**, v. 43, n. 5, p. 575- 578, 1975.

PIGATTO, J. A. T.; LAUS, J. L.; SANTOS, J. M. ; CERVA, C. ; CUNHA,L. S.; RUOPPOLO, V.; BARROS, P. S. M. Corneal endothelium of the magellanic penguin (*spheniscus magellanicus*) by scanning electron microscopy. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n.4, p. 702–705, 2005.

PIGATTO, J. A.T; ABIB, F. C.; PEREIRA G. T.; BARROS, P. S. M.; FREIRE C.D.; LAUS, J. L. Density of corneal endothelial cells in eyes of dogs using specular microscopy. **Brazilian Journal of Veterinary Research animal Science**, v. 43, n. 4, p. 476-480, 2006.

PIGATTO, J. A. T.; PEREIRA, F. Q.; ALMEIDA, A. C. V. R.; RODAELI, R.; FAGANELLO, C. S.; FRANZEN, A. A. Ceratoconjuntivite seca em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suplemento 2, p. 250 -251, 2007.

PIGATTO, J. A. T.; FRANZEN, A. A.; PEREIRA, F. Q.; ALMEIDA, A. C. V. R.; LAUS, J. L.; SANTOS, J. M.; GUEDES, P. M.; BARROS, P. S. M. Scanning electron microscopy of the corneal endothelium of ostrich. **Ciência Rural**, v.39, n.3, p.926-929, 2009.

PISANI, E. H. R.; BARROS, P. S. M.; VILA, F. A. Microbiota conjuntival normal de equinos. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 34, n. 5, p. 261-265, 1997.

POLSE, K. A.; BRAND, R. J.; COHEN, S. R.; GUILLON, M. Hypoxic Effects on Corneal Morphology and Function. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 31, n. 8, p.1542-1554, 1990.

PONTES, K. C. S.; BORGES, A. P. B.; ELEOTÉRIO, R. B.; FERREIRA, P. S.; DUARTE, T. S. A comparison of the effects of Propofol and Thiopental on tear production in dogs. **Revista Ceres**, v. 57, n.6, p. 757-761, 2010.

PRADO, M.R.; ROCHA, M.F.; BRITO, E.H.; GIRÃO, M.D.; MONTEIRO, A.J.; TEIXEIRA, M.F.; SIDRIM, J.J. Survey of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Fortaleza, Ceará, Brazil. **Veterinary Ophthalmology**, v.8, n.1, p.33-37, 2005.

REIS, A. C. G.; GERBASI, S. H. B.; MARTINS, C.; MACHADO, M. R. F.; OLIVEIRA, C. A. Morfologia do sistema genital feminino da paca (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766). **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 48, n. 3, p. 183-191, 2011.

RENZO, R.; RIBEIRO, A.P.; SILVA, M. L.; SILVA, G. A.; ORTENCIO, K. P.; ALEXANDRE A. F. BARROS SOBRINHO, A. A. F.; MINEO, T. W. P; LAUS, J. L. Intraocular pressure, specular microscopy, and prostaglandin E2 concentration in dogs with mature and hypermature cataract. **Veterinary Ophthalmology**, p. 1–6, 2014.

RODARTE-ALMEIDA, A. C. V.; MACHADO, M.; BALDOTTOS, B.; SANTOS, L. L.; LIMA, L.; LANGE, R. R.; FROES, T. R.; MONTIANI-FERREIRA, F. O olho da coruja-orelhuda: observações morfológicas, biométricas e valores de referência para testes de diagnóstico oftálmico. **Pesquisa Veterinária brasileira**, v.33, n.10, p.1275-1289, 2013.

RODRIGUES, G. N.; LAUS, J. L.; SANTOS, J. M.; RIGUEIRO, M. P.; SMITH, R. L. Corneal endothelial cell morphology of normal dogs in different ages. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n.2, p.101 – 107, 2006.

SAILSTAD, D. M.; PEIFFER JR, R. L. Specular microscopic observations of the corneal endothelium in the normal rabbit. **Laboratory Animals**, v.15, p.393-395, 1981.

SAKATA, K.; FIGUEIRA, A. L. M.; GUIMARÃES, A. C. P.; SCHMITT, A. J.; SCAPUCIN, L.; BARROS, L. G. R.; DELAI, N. Estudo da correlação entre pressão intra-ocular e espessura corneana central (projeto glaucoma). **Arquivo Brasileiro de oftalmologia**, v.63, n.5, p. 354-357, 2000.

SAMUELSON, D.A. Ophthalmic Anatomy. In: GELATT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**. 4ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2007, p.37-148.

SANCHEZ, R. F.; MELLOR, D.; MOULD, J. Effects of medetomidine and medetomidine-butorphanol combination on Schirmer tear test 1 readings in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 1, p. 33- 37, 2006.

SANFORD, T.D.; COLBY, E. D. Effect of xylazine and ketamine on blood pressure, heart rate and respiratory rate in rabbits. **Laboratory Animal Science**, v. 30, n.3, p.519-523, 1980.

SANTOS, L. G. F.; ALMEIDA, A. B. P. F.; SILVA, M. C., OLIVEIRA, J. T.; DUTRA, V.; SOUZA V. R. F. Microbiota conjuntival de cães hígidos e com afecções oftálmicas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, n.2, p. 165-169, 2009.

SANTOS, P. H. A.; PONTES, K. C. S.; PINTO, R.; RIOS, P. B. S.; SILVA, G. M. M.; BORGES, A. P. B.; FAVARATO, L. S. C. Comparison of pupil diameter and tear production in dogs treated with acepromazine, tramadol and their combination. **Revista Ceres**, v. 60, n.2, p. 166-172, 2013.

SHUSTER, E. The Nuremberg Code: Hippocratic ethics and human rights. **The Lancet**, v. 351, n. 9107, p. 974-977, 1998.

SLATTER, D. Córnea e esclera. In: SLATTER, D. Fundamentos da Oftalmologia veterinária. 3.ed. São Paulo: Rocca, 2005. p. 283-338.

SOUZA, J. O. T.; ANGÊLO, F. F.; HOMEM, L. A. S. Microbiota bacteriana conjuntival de felinos domésticos (felis s. Catus, linnaeus, 1758) sadios da cidade de Juiz de Fora – MG. **Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VIII, n.15, 2010.

STUMPF, S.; NOSÉ, W. Estudo do endotélio corneano em cirurgias de cataratas duras: extração extracapsular planejada da catarata e facoemulsificação. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.69, n.4, p.491-496, 2006.

TAMAYO-ARANGO, L. J. ; BARALDI-ARTONI, S. M.; LAUS, J. L.; MENDES-VICENTI, F. A.; PIGATTO, J. A. T.; ABIB, F. C. Ultrastructural morphology and morphometry of the normal corneal endothelium of adult crossbred pig. **Ciência rural**, v. 39, n. 1, p. 117-122, 2009.

TRBOLOVA, A.; GHAFARI, M. S. Reference values for Schirmer tear tests I and II in clinically normal pigs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 15, n. 3, p.180–182, 2012.

TRIM, C. M.; COLBERN, G. T. MARTIN, C. L. Effect of xylazine and ketamine on intraocular pressure in horses. **Veterinary Record**, v.117, p.442-443, 1985.

VAREILLES, P.; CONQUET, P.; LE DOUAREC, J. A Method for the Routine Intraocular Pressure (IOP) Measurement in the Rabbit: Range of IOP Variations in this Species. **Experimental Eye Research**, v. 24, p. 369-375, 1977.

VEIGA, C.C. P.; BOMFIM, P. C.; OLIVEIRA P. C.; SOUZA, B. G.; LASMAR, P.; OLIVEIRA, G. F.; PERLMANN, E. ; RODRIGUES, B. D. Aspecto ultrassonográfico da uveíte unilateral canina - relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n.1, p.11-14, 2013.

VIDOLIN, G. P., MANGINI, P. R., MOURA - BRITTO, M., MUCHAILH, M. C. Programa Estadual de Manejo de Fauna Silvestre Apreendida - Estado do Paraná, Brasil. **Cadernos da Biodiversidade**, v. 4, n. 2, dez. 2004.

ZUCARATTO, R.; CARRARA, R.; FRANCO, B. K. S. Dieta da paca (*Cuniculus paca*) usando métodos indiretos numa área de cultura agrícola na Floresta Atlântica brasileira. **Biotemas**, v. 23, n. 1 p. 235-239, 2010.

WANG, L.; QINGSHAN, P.; LIBO, Z.; XUE, Q.; JUN, C.; QI, C. Investigation of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis. **Veterinary Ophthalmology**, v.11, p.145-149, 2008.

WILLAMS, D. Laboratory Animals Ophtalmology. In: GELATT, K.N. **Veterinary Ophthalmology**. 4ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2007, p.1336-1369.