

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**TESTES OFTALMOLÓGICOS EM CALOPSITAS  
(*NYMPHICUS HOLLANDICUS*): PRODUÇÃO LACRIMAL,  
MICROBIOTA CONJUNTIVAL E TONOMETRIA**

**JULIANA PINATTI BARDELLA**

**Botucatu – SP**

**2022**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**TESTES OFTALMOLÓGICOS EM CALOPSITAS  
(*NYMPHICUS HOLLANDICUS*): PRODUÇÃO LACRIMAL,  
MICROBIOTA CONJUNTIVAL E TONOMETRIA**

**JULIANA PINATTI BARDELLA**

Dissertação apresentada junto ao  
Programa de Pós-Graduação em Animais  
Selvagens para a obtenção do título de  
Mestre.

**Orientadora:** Profa. Titular Cláudia Valéria  
Seullner Brandão

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Bardella, Juliana Pinatti.

Testes oftalmológicos em Calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) : produção lacrimal, microbiota conjuntival e tonometria / Juliana Pinatti Bardella. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Cláudia Valéria Seullner Brandão

Capes: 50501003

1. Aves. 2. Cacatuas. 3. Tratamento oftalmológico.  
4. Microbioma. 5. Aparelho lacrimal. 6. Efeito rebote.

Palavras-chave: Ave; Lacrimal; Microbioma; Rebote; Tonometro.

Nome do autor: **Juliana Pinatti Bardella**

TÍTULO: TESTES OFTALMOLÓGICOS EM CALOPSITAS (*NYMPHICUS HOLLANDICUS*): PRODUÇÃO LACRIMAL, MICROBIOTA CONJUNTIVAL E TONOMETRIA

### **COMISSÃO EXAMINADORA**

**Profª Titular Cláudia Valéria Seullner Brandão**

Presidente e Orientadora

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ/UNESP - Botucatu - SP.

**Prof. Titular Márcio Garcia Ribeiro**

Membro

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva

FMVZ/UNESP - Botucatu - SP

**Dra Cintia Sesso Perches**

Membro

Médica Veterinária Autônoma

Data do exame: 26 de setembro de 2022

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais **Vlademir Bardella** e **Ercília Pinatti Bardella** por todo incentivo, suporte e amor. Vocês são as minhas maiores inspirações e base que tornou a continuidade dos meus estudos possíveis. Juntamente agradeço aos meus irmãos **Fabio Pinatti Bardella** e **Henrique Pinatti Bardella**, que juntos formamos uma corrente de força e união inseparável. Ao membro mais novo da nossa família, agradeço a **Morena Bardella Calil** por me permitir aprender sobre o amor de tia, e espero poder incentivá-la a todas as suas ambições, assim como foi feito comigo por minha família.

Ao meu namorado, **Rafael Costa**, agradeço por todo companheirismo, amor, carinho, amizade, cumplicidade e incentivo que me dá todos os dias desde o momento que nos conhecemos. Juntos aprendemos a cada dia o que é o amor e continuaremos assim por todo tempo que nos for dado.

A minha professora e orientadora **Cláudia Valéria Seullner Brandão**, que me acompanha desde a graduação por meio de iniciação científica, estágios, treinamentos de vivência, aulas e finalmente orientação no mestrado. Agradeço imensamente, por todo conhecimento transmitido e por tornar todos os trabalhos possíveis.

Agradeço a todos meus colegas pós-graduandos e ex-pós-graduandos do ambulatório de oftalmologia veterinária, que juntos formaram uma equipe capacitada, incentivada pelo amor a profissão e especialmente pela oftalmologia veterinária.

Gostaria de agradecer especialmente minhas amigas **Caroline Medeiros Geraldini** e **Juliana Marques Sousa**, que seguem comigo desde o momento que entramos na graduação e continuamos nossa jornada como profissionais e companheiras na pós-graduação de oftalmologia veterinária. Carol que além de amiga é minha colega de moradia, deixando nosso lar sempre animado e com cheiro de incenso. Ju que foi minha grande parceira na realização dos testes deste trabalho, sem pestanejar diante das dificuldades do mesmo.

Também devo meu agradecimento a todos as pessoas a qual fiz amizade em Botucatu, que estiveram do meu lado nos momentos mais felizes assim como nos mais difíceis, principalmente minhas amigas e amigo da República Topa Tudo agradeço por toda a parceria. Mesmo não morando mais juntos, sei que posso contar com vocês para qualquer coisa em qualquer momento. Sinto uma saudade imensa de poder estar todos os dias com vocês. Juntamente agradeço a todos os amigos que participam da minha vida além de Botucatu e também meu amigo Dr. Fabricio Meccheri, que se dispôs a me ajudar com as correções do meu trabalho.

Ao professor **Márcio Garcia Ribeiro** e ao técnico de laboratório **Fernando Jose Paganini Listoni**, pela ajuda com as análises microbiológicas e disponibilidade em me receber nos momentos de dúvida.

Ao professor **Carlos Roberto Padovani** pelos ensinamentos e por ter desenvolvido a análise estatística desse trabalho.

Ao veterinário residente de animais selvagens do CEMPAS, **Gabriel C. de Camargo** que auxiliou e passou seu conhecimento sobre calopsitas para realização desse trabalho.

Minha gratidão aos meus cães, Dora, Nina e especialmente o Theo, que é meu maior companheiro desde que me mudei para Botucatu.

Agradeço aos meus pacientes e a seus tutores, que atendi no Ambulatório de Oftalmologia Veterinária, por me ensinarem e serem fundamentais a minha formação profissional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Finalmente agradeço e dedico esse trabalho a minha calopsita Titi, que entrou na minha vida quando esse trabalho já estava em andamento. Ela me ensinou da maneira mais inocente e simples o quão amável é essa espécie, tornando esse trabalho ainda mais especial.

# Sumário

LISTA DE TABELAS.....	viii
<b>Resumo.....</b>	<b>ix</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>x</b>
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>xi</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Calopsitas.....	5
2.2 Olhos e visão.....	6
2.3 Testes oftalmológicos.....	9
2.3.1 Reflexos oftalmológicos.....	10
2.3.2 Avaliação da produção lacrimal.....	11
2.3.3 Pressão intraocular.....	13
2.2.5 Microbiota conjuntival.....	16
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>4 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>22</b>
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>29</b>
<b>TESTES OFTALMOLÓGICOS EM <i>NYMPHICUS HOLLANDICUS</i>.....</b>	<b>31</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
<i>Animais, local e temperatura.....</i>	<i>33</i>
<i>Critérios de inclusão e exclusão.....</i>	<i>33</i>
<i>Contenção.....</i>	<i>34</i>
<i>Avaliação ocular e testes oftalmológicos.....</i>	<i>34</i>
<i>Cultivo microbiológico e MALDI-TOF MSTM.....</i>	<i>37</i>
<i>Análise estatística.....</i>	<i>38</i>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>46</b>

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Valores dos testes oftalmológicos de produção lacrimal e pressão intraocular (mmHg) em calopsitas(n=15), segundo o olho.....	37
<b>Tabela 2.</b> Valores médios gerais (n=30 olhos), representados em média e desvio padrão, da PIO em calopsitas pelo tonômetro de rebote Icare® TONOVET Plus , segundo o modo.....	37
<b>Tabela 3.</b> Medida de associação linear de Pearson da PIO entre os diferentes modos do tonômetro Icare® TONOVET Plus utilizados na mensuração em calopsitas.....	38

BARDELLA, J.P. **Testes oftalmológicos em Calopsitas (*Nymphicus hollandicus*): Produção lacrimal, microbiota conjuntival e tonometria.** Botucatu, 2022. 58p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## **RESUMO**

Faz-se necessária a descrição de valores de normalidade em testes diagnósticos oftalmológicos para Calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), ave exótica cada vez mais inserida no ambiente urbano e adquirida como “pet” no meio doméstico, aumentando assim a importância de atendimento veterinário especializado para essa espécie. Foram avaliadas 15 calopsitas, totalizando 30 olhos, provenientes de criadores domésticos, adultos e saudáveis ao exame clínico e oftalmológico. As aves foram contidas fisicamente e realizada a avaliação de produção lacrimal, coleta de microbiota conjuntival com ponta de papel endodôntica padronizada (PPEP), e pressão intraocular com tonômetro de rebote (Icare® Tonovet plus). Os resultados obtidos foram: PPEP  $10,73 \pm 2,59$  mm/min; pressão intraocular Tonovet plus modo cão ( $11,87 \pm 1,43$  mmHg), modo gato ( $6,73 \pm 1,36$  mmHg), modo coelho ( $13,13 \pm 1,85$  mmHg) e modo cavalo ( $9,50 \pm 1,28$  mmHg). Na microbiota conjuntival verificou-se predomínio de bactérias gram-positivas. A tonometria de rebote, avaliação de produção lacrimal e coleta de microbiota conjuntival com PPEP são métodos de fácil execução e acurados para utilização nas calopsitas, são mais indicados devido ao tamanho dos olhos. Os resultados auxiliarão os médicos veterinários oftalmologistas no diagnóstico e tratamento de doenças oculares em calopsitas, além de contribuir para pesquisas na área de visão.

**Palavras-chave:** ave; lacrimal; microbioma; rebote; tonômetro.

BARDELLA, J.P. **Ophthalmic diagnostic tests in Cockatiels (*Nymphicus hollandicus*): Tear production, Conjunctival microbiota and Tonometry.** Botucatu, 2022. 58p. Dissertation (Masters) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

### **ABSTRACT**

This study aimed to describe normal values in ophthalmological diagnostic tests for cockatiels (*Nymphicus hollandicus*), an exotic bird increasingly inserted in the urban environment and acquired as a "pet" in the domestic environment, thus increasing the importance of specialized veterinary care for this species. Fifteen cockatiels from domestic breeders, adults, and healthy, were subjected to a complete ophthalmic examination. The birds were physically restrained for the tests. The tear production and conjunctival microbiota were performed by a standardized endodontic absorbent paper point tear test (PPTT), and intraocular pressure with a rebound tonometer (icare® tonovet plus). Species of microorganisms isolated were identified by mass spectrometry. The results obtained were: PPTT  $10.73 \pm 2.59$  mm/min; intraocular pressure Tonovet plus dog mode ( $11.87 \pm 1.43$  mmhg), cat mode ( $6.73 \pm 1.36$  mmhg), rabbit mode ( $13.13 \pm 1.85$  mmhg) and horse mode ( $9.50 \pm 1.36$  mmhg). In the conjunctival microbiota, gram-positive bacteria were predominant. Rebound tonometry, tear production assessment, and conjunctival microbiota collection with PPTT are easy and accurate methods for use in cockatiels; they are indicated due to the size of the eyes. The results will help veterinary ophthalmologists diagnose and treat eye diseases in cockatiels, in addition to contributing to research in the area of vision.

**Key words:** bird; lacrimal; microbiome; rebound; tonometer

# **CAPÍTULO 1**

# INTRODUÇÃO

# 1 INTRODUÇÃO

A calopsita (*Nymphicus hollandicus*) é uma ave da ordem Psittaciformes, constituída pela família Cacatuidae (cacatuas, calopsitas) e Psittacidae (araras, papagaios, periquitos, maritacas) (GRESPLAN & RASO, 2014; GALETTI et al., 2002; CUBAS, 2006).

Segundo Cubas (2006), as aves desta ordem estão distribuídas no mundo todo, sobretudo nos neotrópicos. O maior número de espécies se concentra na América do Sul e Austrália. O Brasil é o país com a maior diversidade de psitacídeos. Em geral, os Psittaciformes são aves diurnas e arborícolas. São caracterizados por grande diversidade de tamanhos, formas e cores. As calopsitas são originárias da Austrália, pesam de 80 a 102g e têm expectativa de vida em cativeiro de 10 a 12 anos.

Os Psittaciformes são aves extremamente populares pela natureza sociável, inteligência, coloração exuberante e capacidade de imitar sons, o que os torna, de modo geral, as aves mais frequentemente mantidas como animais de estimação no mundo, e com o desenvolvimento desse mercado, é exigido cada vez mais capacitação do médico veterinário de aves (CUBAS, 2006).

Enquanto a oftalmologia de mamíferos nas espécies domésticas já está bem estabelecida, nota-se que ainda existe a necessidade de informação sobre parâmetros básicos de diferentes espécies de animais selvagens, tais como a mensuração da camada aquosa do filme lacrimal, medidas oculares aferidas com paquímetro convencional, espessura corneal, pressão intraocular e sensibilidade da superfície corneal. Tais limitações em exames prejudicam a qualidade dos procedimentos clínicos e cirúrgicos da oftalmologia dos animais selvagens (CARVALHO, 2018; LANGE, 2012).

Neste contexto, considerando o crescente atendimento oftalmológico especializado para animais exóticos e selvagens, e a

escassez de publicações nesta área, foi idealizado o presente estudo visando descrever valores de referência de variáveis no exame oftalmológico das calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), relacionadas à mensuração da produção lacrimal e pressão intraocular, usando o tonômetro de rebote Tono Vet® plus bem como identificar a microbiota conjuntival. Particularmente para o tonômetro de rebote Tono Vet® plus, pretende-se avaliar os diferentes modos para a espécie, visto que o aparelho não possui o modo aves, calibrado para o modo cão, gato, cavalo e coelho.

# **REVISÃO DA LITERATURA**

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Calopsitas

Segundo Tarciano (2010), a criação de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) tem se intensificado recentemente, em virtude de características próprias como baixo custo de aquisição, facilidade de manejo, dispensa de registro comercial pelo IBAMA e ótima adaptação aos locais de criação. Com o crescente interesse pela comercialização dessas aves, torna-se de fundamental importância estudos com a fisiologia e patologia desses animais, com o intuito de auxiliar os veterinários nos diagnósticos das possíveis doenças que acometem as calopsitas.

Conforme Benez (2001), em 1838, John Gould, ornitólogo inglês, autor bem sucedido de livros sobre história natural, enfocando principalmente aves, visitou a Austrália objetivando conhecer sua fauna, ainda pouco descrita. Nas suas publicações em 1840 destacou a beleza das aves daquele continente, em especial a calopsita.

Essas aves têm seu nome derivado da palavra alemã "kakatielje", que significa "pequena cacatua" e o nome científico é *Nymphicus hollandicus*, que significa "Deusa da Nova Holanda", antigo nome da Austrália (entre 1700-1800). Ainda é creditado ao pesquisador John Gould como sendo o primeiro a levar calopsitas para fora da Austrália, contribuindo decisivamente para a divulgação da espécie (BENEZ, 2001).

Na natureza, as calopsitas possuem o chamado padrão silvestre ou normal, mas quando surgem aves mutantes, ostentando outras combinações de cores, elas dificilmente sobrevivem por se apresentarem como vítimas mais fáceis de predadores, visto a coloração destacada promover identificação rápida da ave (RUPLEY, 1999).

Segundo RUPLEY (1999), em cativeiro, o sistema social é bastante complexo. Os adultos apresentam comportamento social pouco gregário, ao contrário dos jovens que tendem à aglomeração, comumente permanecendo em grupos compactos como forma de defesa. Além disso, se forem amansadas desde filhotes, adquirem comportamento dócil, podem assobiar e algumas chegam até a “falar”. Os machos têm essa capacidade, sendo que as fêmeas apenas assobiam.

Conforme Cubas (2006), a maioria das espécies de psitacídeos é considerada generalista quanto à dieta, envolvendo sementes, brotos, castanhas, coquinhos, frutas, flores e outros vegetais. Determinadas espécies consomem também insetos e pequenos animais. Outras se alimentam de frutos verdes, que contêm grande quantidade de taninos potencialmente tóxicos e, para eliminar os efeitos prejudiciais, comem argila de barrancos de rios, material que atua como suplemento de sais minerais.

## **2.2 Olhos e visão**

A visão é de vital importância para as aves. Assim entender a anatomia e fisiologia específica do olho e seu diferencial, comparado com outras espécies, é crucial para firmar o diagnóstico preciso da doença ocular (WILLIAMS, 2012).

Nos papagaios os olhos são posicionados lateralmente na cabeça, com pouca sobreposição em seus campos visuais. Esta característica resulta em visão mais abrangente, explicando o giro frequente da cabeça lateralmente, objetivando melhor visão dos objetos (MARTIN, 2021).

Machado et al. (2006) descreveram em detalhes a variação interespecies na estrutura óssea orbital de aves psitacíformes, classificados em dois grupos. Um grupo tinha uma órbita óssea completa formada pela junção dos processos orbital e pós-orbital formando um arco suborbital. O segundo grupo não tinha o arco suborbital e tinha uma órbita óssea incompleta aberta típica de aves mais evoluídas; mesmo neste grupo, processo orbital e pós-orbital estavam presentes. O grupo que

possuía órbita completa, representado por: periquito (*Melopsittacus undulates*), calopsita (*Nymphicus hollandicus*) e cacatua (*Cacatua sulfurea*), tinham uma característica distintiva adicional. O processo zigomático desses crânios aderiu ao processo pós-orbital e ao arco suborbital, resultando em um pequeno forame localizado entre essa estrutura fundida e a fossa temporal.

Os bulbos oculares das aves são grandes e apresentam-se de três formas: plana, globosa ou tubular, sendo a forma plana a mais comum, um eixo antero-posterior curto e uma região ciliar parcialmente côncava (HOLMBERG, 2008). A maioria das aves, incluindo passeriformes e psitacíformes, apresenta um bulbo anterior-posteriormente um pouco achatado, formando um esferóide oblato com um segmento posterior hemisférico (WILLIAMS, 2012).

Segundo Holberg (2008) a forma do bulbo é mantido pela cartilagem escleral hialina, juntamente com 10 a 18 ossículos esclerais, que contribuem para a acomodação, tornando-se um suporte para a ação do músculo ciliar na lente. Os seis músculos extraoculares comuns aos mamíferos estão presentes: quatro retos e dois oblíquos, mas são pouco desenvolvidos, o que limita a movimentação do bulbo ocular. O músculo retrator do bulbo está ausente, mas é substituído pelos músculos piramidal e quadrado, que são responsáveis pelo movimento da terceira pálpebra. As aves têm pálpebras superiores e inferiores, sendo a inferior mais móvel e as glândulas meibomianas estão ausentes.

Nas aves, a membrana nictitante ou terceira pálpebra, é bem desenvolvida, ativamente móvel, 90% transparente, fina e coberta por uma camada papilar de epitélio. Origina-se na órbita dorsomedial, cobre o globo e estende-se ventrolateralmente. A borda da terceira pálpebra atua coletando e distribuindo o filme lacrimal ao longo da superfície da córnea (HOLMBERG, 2008; GELATT, 2014).

O filme lacrimal é produzido pela glândula lacrimal, localizada inferotemporalmente, e glândula de Harder, adjacente a esclera, próxima a base da membrana nictitante, mas não pertence a mesma (HOLMBERG, 2008; GELATT, 2014). A glândula de Harder é a principal

fonte lacrimal nas aves (WILLIS e WILKIE, 1999; BAYÓN, 2007). A drenagem de lágrima ocorre através do ducto nasolacrimal (HOLMBERG, 2008).

Na maioria das espécies de aves, a córnea é relativamente fina (CANDIOTO, 2011; WILLIAMS, 2012), com exceção de algumas aves de rapina diurnas e aves aquáticas (CANDIOTO, 2011). Possui cinco camadas (epitélio, membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet e endotélio) (WILLIS & WILKIE, 1999).

Segundo Kafarnik et al. (2007), após avaliação por microscopia confocal in vivo (MCIV) em 37 cães, 34 gatos e cinco Psittaciformes, concluíram que aves apresentaram várias diferenças estruturais em suas córneas. As células do epitélio exibiam núcleos muito maiores e de formato irregular. A membrana de Bowman apresentou-se como uma camada acelular com refletividade homogênea e estrutura semelhante à dos primatas. Os ceratócitos tinham núcleos radiais e se localizavam de forma estritamente paralela. As células endoteliais mantinham forma hexagonal uniforme.

A câmara anterior da maioria dos olhos das aves é consideravelmente mais rasa em comparação aos mamíferos, exceto nas corujas que têm uma câmara anterior profunda (WILLIAMS, 2012).

Conforme Holberg (2008) a musculatura da íris é predominantemente estriada, embora apresente quantidade limitada de músculo liso e mioepitélio dentro do músculo dilatador. A acomodação do olho das aves é realizada por meio de três mecanismos: mudança na curvatura da córnea, deformação e movimento anterior da lente, também denominada cristalino. Três músculos estão envolvidos na acomodação: músculo de Crampton, músculo de Brücke e o músculo de Müller.

Para permitir a acomodação mais rápida, a lente aviária é mais macia e maleável que a dos mamíferos, sendo relativamente esférica nas espécies noturnas e achatadas anteriormente nas espécies diurnas (HOLMBERG, 2008). Sua deformação é também causada pela pressão do músculo circunferencial da íris, que abaula a porção central da lente aumentando seu poder de refração (WILLIAMS, 2012).

O ângulo iridocorneal é bem desenvolvido e apresenta dois canais anulares de drenagem (GELATT, 2014). Possui malhas trabeculares extensas e ligamentos pectinados bem desenvolvidos; em algumas aves é possível observar essa conformação, sem auxílio da lente para gonioscopia (RODARTE ALMEIDA et al., 2013).

O fundo do olho aviário caracteriza-se por ser um dos mais interessantes entre as espécies. Na oftalmoscopia indireta revela um grande pecten vascular pigmentado, apresentando tamanho variável, estendendo-se no vítreo (HOLMBERG, 2008, GELATT, 2014); este cobre o disco óptico, obscurecendo sua visão (GELATT, 2014).

O pecten é relacionado com a nutrição da retina, participação da produção e movimentação de fluidos intraoculares e, conseqüentemente, da pressão intraocular (BELLHORN, 1997; FERREIRA et al., 2016). As três formas de pecten descritas são as plissadas, encontradas na maioria das espécies, em forma de asa ou palhetas, presente nos avestruzes e cônico no kiwi (HOLMBERG, 2008).

A retina das aves é atapetal e a maioria das espécies apresentam uma fóvea distinta (WILLIAMS, 2012). A fóvea apresenta-se como uma pequena depressão central na retina onde existe um denso arranjo de células receptoras e no centro é obtida maior acuidade visual, devido à ausência de outras camadas da retina sobre os fotorreceptores. Como consequência, esta região apresenta alta capacidade de resolução (CANDIOTO, 2011).

### **2.3 Testes oftalmológicos**

Diagnóstico precoce e correto das afecções oculares é essencial para um resultado clínico de sucesso e um tutor satisfeito. Depende quase completamente de sistema ordenado e exame ocular completo (MAGGS, 2008).

De acordo com Bayón et al. (2007) o exame oftalmológico em aves é semelhante ao que é realizado em mamíferos, com algumas peculiaridades derivadas de suas diferenças anatômicas e fisiológicas.

Inicialmente, deve-se obter dados da história clínica completa, bem como um estudo do habitat e nutrição.

O exame é realizado em etapas e segue uma ordem de realização para não comprometer alguns resultados; a sequência correta inclui inspeção, avaliação de reflexos, teste de produção lacrimal, coleta de amostras, avaliação do segmento anterior com feixe de luz, tonometria, teste de fluoresceína, indução de midríase e avaliação do segmento posterior com auxílio de oftalmoscopia direta ou indireta (MAGGS, 2008).

Segundo Willis e Wilkie (1999), é importante a avaliação da aparência geral da cabeça, região periocular, posição ocular, mobilidade e simetria do globo, tamanho e simetria das pupilas. Observar também as penas periculares e quaisquer descargas oculares, incluindo descarga das narinas, que podem indicar infecção concomitante do trato respiratório superior.

O exame do segmento anterior e estrutura periocular são realizados por meio de um feixe de luz de um biomicroscópio de lâmpada de fenda, necessário para examinar os olhos pequenos de algumas espécies de aves, pois permite a ampliação e visualização de pequenas lesões (MAGGS, 2008).

### **2.3.1 Reflexos oftalmológicos**

Segundo Gelatt (2014), as respostas das aves aos reflexos relacionados aos olhos diferem dos mamíferos em alguns aspectos. A resposta palpebral está presente com a pálpebra inferior cobrindo o bulbo mais extensivamente do que a pálpebra superior; os movimentos da membrana nictante são proeminentes. As respostas de ameaça parecem inconsistentes mesmo em aves com visão evidentemente normal. Assim, a resposta de ameaça ausente tem pouco significado diagnóstico.

O reflexo pupilar direto à luz pode ser avaliado com o uso de um feixe de luz em uma sala com pouca iluminação, porém movimentos

espontâneos da pupila podem ocorrer em situações de excitação, por conta do controle voluntário. Dessa forma, os reflexos indireto ou consensual não são esperados em aves, devido à interseção completa das fibras do nervo óptico (BAYÓN et al, 2007). No entanto, eventualmente respostas discretas podem ser evidenciadas, já que os olhos são separados pelo delgado septo interorbital (BAYÓN et al, 2007). O comportamento de evitação é um indicador mais confiável de visão do que o reflexo de ameaça (GELATT, 2014).

O reflexo corneal não é examinado rotineiramente em aves, quando realizado pode-se observar a resposta pelo movimento de piscar e movimento da terceira pálpebra (BAYÓN et al, 2007). Como os músculos retratores do bulbo estão ausentes nas aves, a retração do bulbo não é uma característica relacionada à resposta de reflexo ocular (GELATT, 2014).

### **2.3.2 Avaliação da produção lacrimal**

A fração aquosa do filme lacrimal é um importante parâmetro fisiológico avaliado durante o exame oftálmico (CUBAS, 2007; FOWLER, 2008). Em muitas espécies, o pequeno tamanho do bulbo dificulta o uso de técnicas convencionais para sua aferição, necessitando de técnicas alternativas para as quais não há valor de referência padrão (LANGE, 2014).

Os principais métodos quantitativos descritos para a avaliação da porção aquosa do filme lacrimal em aves são: o teste lacrimal de Schirmer (TLS), teste lacrimal de Schirmer modificado (TLSm), teste lacrimal de fenol vermelho (TLFV) e teste lacrimal com ponta de papel endodôntica padronizada (PPEP) (LANGE et al., 2012; LANGE et al., 2014)

Segundo Maggs (2008), o teste lacrimal de Schirmer (TLS) é um método semiquantitativo de avaliar a produção da porção aquosa do filme lacrimal. Deve ser realizado antes da instilação de qualquer colírio, porque aumentariam artificialmente, mas temporariamente, o valor do TLS. Procedimentos manipulativos, como raspagens de córnea ou

conjuntiva, lavagem do aparelho lacrimal e até mesmo a aplicação de luzes brilhantes em um olho inflamado resultará em valores de TLS artificialmente elevados. Por estas razões, se o TLS for executado, deve ser feito como o primeiro componente do exame oftalmológico.

A técnica consiste em inserir a extremidade de uma tira de papel de 0,5 cm de largura por 3,5 cm de comprimento, milimetrada, no saco conjuntival inferior, de modo que toque a córnea e 1 minuto em animais (OLLIVIER et al., 2007). A tira de teste de lágrima de Schirmer é muito larga para ser colocada em muitos olhos de aves e, mesmo que fosse do tamanho certo, a quantidade de lágrimas produzidas em um minuto não seria suficiente para produzir um comprimento mensurável de umedecimento (WILLIAMS, 2012).

No teste lacrimal de Schirmer modificado (TLSm) corta-se a tira de papel de filtro longitudinalmente para reduzir pela metade sua largura (KORBEL, 1998). Os problemas desse teste é que existem poucos dados para espécies diferentes de aves sobre qual é a molhabilidade normal de uma tira de teste de meia largura e se tratando de um método de confecção manual e não padronizado, sua acurácia se tornou questionável (WILLIAMS, 2012; SMITH et al., 2015).

HOLT et al. (2006) foram pioneiros na utilização de fenol vermelho em aves. O teste consistiu na impregnação de um fio de algodão com um corante amarelo (fenol vermelho). Este corante é sensível ao pH alcalino e quando absorve a lágrima (que é ligeiramente alcalina) torna-se vermelho. O fio de algodão é posicionado sob o rebordo da pálpebra com o auxílio de uma pequena pinça. As pálpebras foram mantidas fechadas e o fio removido após 15 s. Todo o comprimento da porção vermelha (área molhada) do fio é medida a partir da ponta (não da dobra) e os resultados registrados em milímetros.

As pontas de papel endodônticas padronizadas (PPEP) são feitas de cânhamo de manila (*Musa textillis*), também conhecida como planta de abacá (LANGE et al., 2012). PPEP são utilizadas em tratamentos odontológicos para secar canais radiculares, aplicar medicamentos e selantes, controlar hemorragias em pulpectomia parcial e

obter amostras de culturas microbiológicas intracanal (BOYD, 2019; CUNHA et al., 2008). Esses cones de papel estéril são padronizados com um diâmetro distal de 0,30 mm, permitindo a inserção no fórnice conjuntival mesmo nas menores espécies de interesse do oftalmologista veterinário (LANGE et al., 2012 e LANGE et al., 2014).

Devido às suas dimensões e propriedade absorvível, as PPEP ganharam espaço na oftalmologia como um novo método de quantificar a lágrima, principalmente em espécies as quais outros métodos não são uma opção (LANGE et al., 2012 e LANGE et al., 2014). As PPEP tem como objetivo superar as limitações e permitir a comparação entre as espécies (LANGE et al., 2012 e LANGE et al., 2014). Apresentam diferentes dimensões, de acordo com a marca, assim como o poder de absorção. Zipperer, Maillefer e Roeko são as marcas com menor desvio padrão e, portanto, mais usadas em estudos (PUMAROLA-RUNE et al., 1998).

Após a inserção da PPEP no fórnice conjuntival inferior lateral, espera-se 1 minuto para a leitura; a porção umedecida se torna flexível e é possível dobrá-la sobre uma régua padrão e determinar seu valor em milímetros (LANGE et al., 2012).

KANE et al. (2021) em um estudo com 25 calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), obteve valor médio para fissura palpebral horizontal de 5,45mm e elegeram as PPEP para este estudo devido à pequena fissura palpebral observada em calopsitas. Os autores empregaram um intervalo de 15 segundos de duração no teste, para acomodar o temperamento do paciente e minimizar o estresse associado a uma contenção mais prolongada. Conclui-se que as PPEP foram bem toleradas por grande parte das aves ao longo no estudo.

### **2.3.3 Pressão intraocular**

De acordo com Maggs (2008), por muito tempo a tonometria tem sido utilizada simplesmente como um método de diagnóstico de glaucoma. No entanto, também é um método de diagnóstico de uveíte anterior e de confirmação do diagnóstico de todas as outras causas de

olho vermelho, como ceratite, conjuntivite, esclerite e celulite orbitária. Para seguir a confirmação de uveíte e glaucoma, a tonometria é um método essencial e talvez o mais importante para monitorar a resposta à terapia.

O tonômetro de aplanção é um dos instrumentos mais precisos e confiáveis para diagnosticar doenças intraoculares de animais (JEONG,2007). No entanto, fatores físicos oculares como curvatura e espessura da córnea, rigidez escleral e viscosidade do filme lacrimal podem influenciar a avaliação de PIO por tonometria de aplanção (JEONG,2007).

Segundo Maggs (2008), o princípio da tonometria de aplanção é que a força necessária para achatar uma determinada área de uma esfera é igual à pressão dentro da esfera (a lei de Imbert-Fick). Portanto, se a área for conhecida (o tamanho da plataforma) e a força é medida, a pressão pode ser calculada. Apesar de existirem vários tipos de tonômetros de aplanção, a maioria comumente usada na prática veterinária geral e especializada é o Tono-Pen. Antes do uso, é necessária a instilação de uma gota de anestésico tópico na córnea.

A mensuração da PIO em animais exóticos é realizada com os mesmos tonômetros utilizados em animais domésticos, contudo, em determinadas espécies de aves, há limitação do uso de alguns aparelhos devido ao tamanho do olho (WILLIAMS, 2012). Em olhos pequenos, o problema é que a tonometria de aplanção usando o Tono-Pen, tem uma plataforma muito grande para olhos com diâmetro da córnea menor que 5 mm, como no caso das calopsitas (WILLIS & WILKIE, 1999; WILLIAMS, 2012). O tonômetro de rebote Tonovet, projetado primeiro para uso em roedores de laboratório, é inestimável em muitas espécies pequenas (WILLIAMS, 2012).

A tonometria de rebote (impacto ou dinâmica) usa um diferente princípio mecânico para aferir a PIO (GELATT, 2014). Uma pequena sonda (como um pino de metal com uma extremidade arredondada) é eletromagneticamente impulsionada rapidamente, de uma distância fixa da córnea, para entrar em contato com a córnea antes de retornar

(rebote) para o instrumento (GELATT, 2014). O instrumento avalia as características de rebote (desaceleração da sonda): olhos com PIO mais alta causam uma desaceleração mais rápida da sonda e menor tempo de retorno ao instrumento do que aqueles com menor PIO (GELATT, 2014). A técnica é afetada pela tensão da superfície ocular e deve ser realizada idealmente antes da aplicação de qualquer medicamento tópico, incluindo anestésicos tópicos (GELATT, 2014). Apesar dessa recomendação, dois estudos revelaram que os resultados da PIO não foram afetados pela anestesia tópica (GORIG et al., 2006; RUSANEN et al., 2010).

A técnica foi desenvolvida há mais de 50 anos e só recentemente passou por um ressurgimento da popularidade devido ao lançamento de um novo tonômetro de rebote, fabricado como Tonovet ou iCare (MAGGS, 2008).

Segundo Gloe (2019), o Tono Vet® plus contém atualizações destinadas para melhorar a precisão e a facilidade de uso. Possui configurações específicas para coelhos, gatos, cães e cavalos. Além disso, foram adicionados recursos que garantem que as leituras sejam obtidas apenas quando o tonômetro é mantido a uma distância apropriada e no plano correto em relação à superfície ocular.

A mensuração do tonômetro de rebote é feita a uma distância de 4 a 8 mm do olho (KONTIOLA, 2000; REUTER et al, 2010; Icare® Tonovet tonometer instruction manual, 2013; Icare® Tonovet Plus tonometer instruction manual, 2016). Tanto para Tonovet ou Tonovet Plus o resultado da PIO é uma média de seis medições, fornecido em mmHg de forma rápida e também possuem desvio padrão indicados no visor e recomendam que a pressão seja refeita em casos de desvios entre 2,5 a 3,5 mmHg (KONTIOLA, 2000; Tono-Pen XL® tonometer user's guide, 2012, Icare® TONOVET tonometer instruction manual, 2013; Icare® TONOVET Plus tonometer instruction manual, 2016).

Vantagens significativas deste método sobre outros incluem portabilidade entre usuários e a capacidade de obter medições *in vivo* sem anestésicos tópicos (DANIAS, 2003). Outras vantagens do tonômetro de rebote são: ter uma ponta de sonda muito pequena (1,3- 1,8 mm) que

torna adequado para olhos muito pequenos, como em muitas espécies exóticas, e a ponta é descartável, podendo ser trocada na presença de doenças significativas (GELATT, 2014).

Não foram identificados, do conhecimento dos autores, outros estudos da PIO utilizando Tonovet Plus em calopsitas para comparação, nem qual seria o melhor padrão, considerando as espécies disponíveis no tonômetro de rebote (Tonovet Plus), já que ainda não há um modo específico para aves disponível.

#### **2.3.4 Microbiota conjuntival**

A microbiota ocular é formada pela associação de microorganismos presentes na conjuntiva do hospedeiro, usualmente, encontrados no ambiente em que vivem e interagem com o sistema imune do hospedeiro, mantendo-se estável em animais clinicamente sadios (EICHENBAUM et al., 1987; ANDRADE et al., 2002).

Após realizar o exame oftalmológico completo, quando na presença de secreção ocular, o médico deve obter swabs conjuntivais para exame citológico e cultura apropriada (HOLMBERG, 2008). A coleta de amostras para cultivo microbiológico usualmente é realizada utilizando-se swabs estéreis, sem a aplicação de colírio anestésico prévio, que podem inibir o isolamento de microorganismos (LEBER, 2016). O swab é colocado em contato com a conjuntiva ocular, sem tocar nas pálpebras, e inserido no meio de transporte para cultivo até que seja realizado o cultivo microbiológico (LEBER, 2016).

As PPEP são recomendadas como método de diagnóstico microbiológico de amostras subgengivais, por não ser um método invasivo e serem transportadas de maneira fácil (HARTROTH, 1999).

Sessa (2020) descreveu o uso de PPEP para coleta de material microbiológico conjuntival em sagui de tufo preto e concluiu que o método foi eficiente e de fácil uso, tornando-a alternativa na avaliação microbiana conjuntival de animais com aberturas palpebrais pequenas.

Ressalta-se, também, que se encontra de forma industrial o material esterilizado, possibilitando amplo acesso.

A infecção da conjuntiva ocorre quando há aderência, penetração, invasão, persistência e replicação de microorganismos potencialmente patogênicos (UESUGUI et al., 2002). A conjuntivite é a doença ocular mais comum em aves de cativeiro (HOLMBERG, 2008). Os sinais clínicos geralmente envolvem secreção serosa ou seropurulenta, blefaroespasmos e hiperemia conjuntival (HOLMBERG, 2008). Patógenos oculares induzem conjuntivites, ceratites, endoftalmites e uveítes e quando não tratadas corretamente e precocemente podem ameaçar a visão (BANKS et al., 2019).

Zenoble et al. (1983) realizaram estudo da microbiota bacteriana da conjuntiva e córnea em psitacídeos sadios, sendo eles: Papagaio amazona (*Amazona spp.*), papagaio-cinzento (*Psittacus erithacus*), papagaio do senegal (*Poicephalus senegalus*) e cacatua (*Cacatua spp.*). Em de 151 olhos foram isoladas bactérias em 63% das amostras. A microbiota mais comum presente no saco conjuntival em psitacídeos é constituída por bactérias gram positivas, incluindo *Staphylococcus epidermidis* (25%), *Streptococcus* alfa-hemolitico (25%), *Corynebacterium sp.* (7%) e *Staphylococcus aureus* (5%). As bactérias Gram negativas são raras e relatadas em cerca de 1% das amostras.

Em levantamento da microbiota bacteriana conjuntival, coletadas com swabs tradicionais, em 65 aves de rapina, Dupont et al. (1994) estabeleceram que as bactérias gram-positivas predominaram sobre as gram-negativas, sendo que 97 (89,0%) de todos os 109 isolados bacterianos foram gram-positivos e *Staphylococcus* foi o gênero mais frequente (49,5%), seguido de *Corynebacterium spp* (27,5%).

Miller et al. (1995) isolaram 112 bactérias do saco conjuntival de 48 diferentes espécies de grouis usando método de coleta swab com mini-ponta de alginato de cálcio umedecida. Relataram que 58% das bactérias isoladas foram gram-positivas, das quais *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Bacillus spp.* foram as mais prevalentes.

Monção et al. (2016) realizaram estudo com parâmetros oftalmológicos com araras, e realizaram cultura do fornix conjuntival em 12 aves, utilizando swabs estéreis tradicionais. Dos isolados, 74,28% foram gram-positivos, incluindo: *Staphylococcus* sp. (37,14%) *Micrococcus* sp. (11,43%) *Staphylococcus epidermidis* (11,43%) *Staphylococcus aureus* (14,28%).

Na última década, a utilização da análise proteômica por espectrometria de massas (MALDI-TOF) difundiu-se para a identificação de bactérias, proporcionando diagnóstico molecular de alta precisão, em curto espaço de tempo (MAKITA, 2019). A técnica se fundamenta na ionização de proteínas, cuja proporção de massa por carga e espectro de massa podem ser estimados sob a forma de espectros, únicos para cada agente (SINGHAL et al., 2015). O MALDI-TOF MS é uma tecnologia automatizada, de alto rendimento, aplicável a grande variedade de microorganismos e indiscutivelmente benéfica para diagnóstico de microbiota clínica (CROXATTO, 2012; PATEL, 2014).

## **OBJETIVOS**

### 3. OBJETIVOS

Descrever valores de referência de normalidade de produção lacrimal, análise da microbiota conjuntival e pressão intraocular de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) com o tonômetro de rebote Tono Vet® plus.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Avaliar a produção lacrimal com teste de Schirmer (TSL-I), utilizando ponta de papel endodôntica padronizada (PPEP);

2) Analisar a microbiota conjuntival em olhos normais empregando o método de coleta com ponta de papel endodôntica padronizada (PPEP);

3) Avaliar a pressão intraocular das calopsitas com os tonômetros de rebote Tono Vet® plus e definir valores médios para cada modo (cão, gato, cavalo e coelho).

## ***REFERÊNCIAS***

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. L. *et al.* Microbiota conjuntival de cães da cidade de Araçatuba – SP. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, São Paulo, v. 65, n. 3, p. 323-336, 2002.
- ANSARI MOOD, M. *et al.* Measurement of tear production and intraocular pressure in ducks and geese. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 20, n. 1, p. 53-57, 2017.
- BAYÓN, A. *et al.* Avian ophthalmology. **European Journal of Companion Animal Practice**, Paris, v. 17, n. 3, p. 253-266, 2008.
- BENEZ, S. M. **Aves: criação-clínica-teoria-prática; silvestres ornamentais-avinhadados**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004.
- BEDFORD, P. G. The aetiology of canine glaucoma. **Veterinary Record**, London, v. 107, n. 4, p. 76-82, 1980.
- BELLHORN, R. W. Retinal nutritive systems in vertebrates. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, Philadelphia, v. 6, n. 3, p. 108-118, 1997.
- BETINJANE, A. J. Tonometria, tonografia e testes de sobregarga. *In*: YAMANE, R. **Semiologia ocular**. 3. ed. Rio de Janeiro. Cultura médica, 2009. cap. 12, p. 183-191.
- BOYD, R. C. Basic endodontic therapy. *In*: Lobprise, H. B.; Dodd, J. R. (eds.). **Wiggs's veterinary dentistry: principles and practice**. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2nd ed. p. 311-334, 2019.
- CANDIOTO, C. G. **Histomorfometria do bulbo do olho de peneireiro-de-dorso-malhado (*Falco tinnunculus*–LINNAEUS, 1758)**. 2011. 57 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.
- CARVALHO, C. M. *et al.* Particularidades oftálmicas em aves. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 12, p. e20170904, 2018.
- CAPRIOLI, J. *et al.* Forskolín lowers intraocular pressure by reducing aqueous inflow. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, St. Louis, v. 25, n. 3, p. 268-277, 1984.
- CESCHIN, A. *et al.* Mensuração da produção lacrimal, sensibilidade corneana e pressão intraocular em *Psittacara leucophthalmus*. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 51, 2015.

CUBAS, Z. L. Psittaciformes (Araras, Papagaios, Ceriquitos, Calopsitas e Cacatuas) *In*: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C.; DIAS, J. L. D. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2007, cap. 15, p. 210-221.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**: medicina veterinária. São Paulo: Roca, 2007.

DA CUNHA PEREIRA, C. *et al.* Evaluation of two methods of measuring the absorbing capacity of paper points. **Dental Materials**, Washington, v. 24, n. 3, p. 399-402, 2008.

DUPONT, C.; CARRIER, M.; HIGGINS, R. Bacterial and fungal flora in healthy eyes of birds of prey. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 35, n. 11, p. 699, 1994.

CUNNINGHAM, A. J.; BARRY, P. Intraocular pressure – physiology and implications for anaesthetic management. **Canadian Anaesthetists' Society Journal**, Toronto, v. 33, n. 2, p. 195-208, 1986.

DANIAS, J. *et al.* Method for the noninvasive measurement of intraocular pressure in mice. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, St. Louis, v. 44, n. 3, p. 1138-1141, 2003.

DE ROETTH, A. Lacrimation in normal eyes. **AMA Archives of Ophthalmology**, Chicago, v. 49, n. 2, p. 185-189, 1953.

DE STEFANO, M. E.; MUGNAINI, E. Fine structure of the choroidal coat of the avian eye. Lymphatic vessels. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, St. Louis, v. 38, n. 6, p. 1241-1260, 1997.

EICHENBAUM, J. D. *et al.* Immunology of the ocular surface. **Compendium on Continuing Education for the Practice Veterinarian**, Philadelphia, v. 9, p. 1101-1109, 1987.

FERREIRA, T. A. C.; TURNER GIANNICO, A.; MONTIANI-FERREIRA, F. Hemodynamics of the pectinis oculi artery in American pekin ducks (*Anas platyrhynchos domestica*). **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 19, n. 5, p. 409-413, 2016.

FOWLER, M.; CUBAS, Z. S. (eds.). **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2008. 536 p.

GALETTI, M.; GUIMARÃES JÚNIOR, P. R.; MARSDEN, S. J. Padrões de riqueza, risco de extinção e conservação dos psitacídeos neotropicais. *In*: GALETTI, M.; PIZO, M. A. (eds.). **Ecologia e conservação de psitacídeos no Brasil**. Belo Horizonte: Melopsittacus Publicações Científicas, 2002. p. 17-26.

GELATT, K. N. (ed.). **Essentials of veterinary ophthalmology**. Ames: John Wiley & Sons, 2014. 720 p.

GIANNAKOPOULOU, N.; WILLIAMS, D. Comparison of intraocular pressure measurement by three tonometers, the TonopenXL, Tonovet and TonovetPlus in the eyes of 50 dogs with a range of normal and abnormal intraocular pressures. *In: BSAVA CONGRESS, 2019, Birmingham. Proceedings* [...]. Birmingham: BSAVA Library, 2019. p. 509.

GLOE, S. *et al.* Validation of the Icare® TONOVET plus rebound tonometer in normal rabbit eyes. **Experimental Eye Research**, London, v. 185, p. 107698, 2019.

GOLDBLUM, D. *et al.* Non-invasive determination of intraocular pressure in the rat eye. Comparison of an electronic tonometer (TonoPen), and a rebound (impact probe) tonometer. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, Berlin, v. 240, n. 11, p. 942-946, 2002.

GÖRIG, C. *et al.* Comparison of the use of new handheld tonometers and established applanation tonometers in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 67, n. 1, p. 134-144, 2006.

GRESPLAN, A.; RASO, T. F. Psittaciformes (araras, papagaios, periquitos, calopsitas e cacatuas). *In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de animais selvagens: medicina veterinária. 2. ed. São Paulo: Rocca, 2014. p. 550-589.*

HARTROTH, B.; SEYFAHRT, I.; CONRADS, G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. **Oral Microbiology And Immunology**, Copenhagen, v. 14, n. 5, p. 326-330, 1999.

HOLMBERG, B. J. Ophthalmology of exotic pets. *In: MAGGS, D. J.; MILLER, P. E.; OFRI, R. (eds.). Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. St. Louis: Saunders Elsevier, 2008. p. 427.*

HOLT, E.; ROSENTHAL, K.; SHOFER, F. S. The phenol red thread tear test in large Psittaciformes. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 9, n. 2, p. 109-113, 2006.

Icare®. **Icare TONOVET Plus tonometer Instruction Manual TV011-002 EN-1.1** [Internet]. Vantaa, Finland: Icare®, 2016 [citado 15 jan. 2021]. Disponível em:

[https://tonovet.com/wpcontent/uploads/2019/07/Icare\\_TONOVET\\_Plus\\_instruction\\_manual\\_TV011-002-EN-1.1\\_LO.pdf](https://tonovet.com/wpcontent/uploads/2019/07/Icare_TONOVET_Plus_instruction_manual_TV011-002-EN-1.1_LO.pdf)

Icare®. **Icare TONOVET tonometer Instruction Manual TV01 v.2.0** [Internet]. Vantaa, Finland: Icare®, 2013 [citado 15 jan. 2021]. Disponível em: <https://tonovet.com/wp-content/uploads/2015/12/TONOVET-Manual-2.1-English.pdf>

JEONG, M.-B. *et al.* Comparison of the rebound tonometer (TonoVet®) with thapplanation tonometer (TonoPen XL®) in normal Eurasian Eagle owls (*Bubo bubo*). **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 10, n. 6, p. 376-379, 2007.

JOHNSON, D. H. Trabecular meshwork and uveoscleral outflow models. **Journal of Glaucoma**, Philadelphia, v. 14, n. 4, p. 308-310, 2005.

JOHNSON, M. C.; KAMM, R. D. The role of Schlemm's canal in aqueous outflow from the human eye. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, St. Louis, v. 24, n. 3, p. 320-325, 1983.

JONES, M. P.; WARD, D. A. Fluorophotometric determination of aqueous humor flow rates in red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*). **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 73, n. 4, p. 551-555, 2012.

KAFARNIK, C.; FRITSCHKE, J.; REESE, S. In vivo confocal microscopy in the normal corneas of cats, dogs and birds. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 10, n. 4, p. 222-230, 2007.

KANE, L. P. *et al.* Ophthalmic diagnostic tests and ocular findings in healthy adult cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). **Journal of Exotic Pet Medicine**, New York, v. 39, n. 3, p. 17-23, 2021.

KERN, T. J. Disorders of the special senses. *In*: ALTMAN, R. B. **Avian medicine and surgery**. Philadelphia: WB Saunders, 1997. p. 563-589.

KONTIOLA, A. I. A new induction-based impact method for measuring intraocular pressure. **Acta Ophthalmologica Scandinavica**, Hvidovre, v. 78, n. 2, p. 142-145, 2000.

KORBEL, R.; LEITENSTORFER, P. The modified Schirmer tear test in birds--a method for checking lacrimal gland function. **Tierärztliche Praxis**. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere, Stuttgart, v. 26, n. 4, p. 284-294, 1998.

LANGE, R. R. **Anatomia, morfologia e fisiologia ocular de algumas espécies de interesse na medicina de animais selvagens e de laboratório com ênfase em primatas neotropicais**. 2012. 84 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

LANGE, R. R.; LIMA, L.; MONTIANI-FERREIRA, F. Measurement of tear production in black-tufted marmosets (*Callithrix penicillata*) using three different methods: modified Schirmer's I, phenol red thread and standardized endodontic absorbent paper points. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 15, n. 6, p. 376-382, 2012.

LANGE, R. R. *et al.* Reference values for the production of the aqueous fraction of the tear film measured by the standardized endodontic absorbent paper point test in different exotic and laboratory animal species. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 17, n. 1, p. 41-45, 2014.

LEBER, A. L. **Clinical microbiology procedures handbook**. 4th ed. Washington: ASM Press, 2016. 2891 p.

MACHADO, M.; DOS SANTOS SCHMIDT, E. M.; MONTIANI-FERREIRA, F. Interspecies variation in orbital bone structure of psittaciform birds (with emphasis on Psittacidae). **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 9, n. 3, p. 191-194, 2006.

MACRI, F. J.; CEVAREO, S. J. Ciliary ganglion stimulation: II. Neurogenic intraocular pathway for excitatory effects on aqueous humor production and outflow. **Investigative Ophthalmology**, St. Louis, v. 14, n. 6, p. 471-475, 1975.

MAGGS, D. J. Basic diagnostic techniques. *In*: MAGGS, D. J.; MILLER, P. E.; OFRI, R. (eds.). **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. St. Louis: Saunders Elsevier, 2008. v. 4, p. 81-106.

MAKITA, M.T. **Caracterização de *Malassezia* spp. isoladas de conduto auditivo de cães e gatos e avaliação dos fatores de virulência**. 2019. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2019.

MARTIN, G. R.; MARTIN, R. O. Psittaciformes Sensory Systems. *In*: VONK, J.; SHACKELFORD, T. (eds.). **Encyclopedia of animal cognition and behavior**. Cham: Springer, 2021. p. 1704-1.

MARTIN, G. R.; OSORIO, D. Vision in birds. *In*: BASBAUM, A. I. *et al.* **The senses: a comprehensive reference**. Amsterdam: Academic Press, 2008. p. 25-52.

MILLER, P. E.; LANGENBERG, J. A.; HARTMANN, F. A. The normal conjunctival aerobic bacterial flora of three species of captive cranes. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, p. 545-549, 1995.

MONÇÃO-SILVA, R. M. *et al.* Ophthalmic parameters of Blue-and-yellow Macaws (*Ara ararauna*) and Lear's Macaws (*Anodorhynchus leari*). **Avian Biology Research**, London, v. 9, n. 4, p. 240-249, 2016.

OLLIVIER, F. J.; PLUMMER, C. E.; BARRIE, K. P. Ophthalmic examination and diagnostics. Part 1: the eye examination and diagnostic procedures. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 4, p. 438-483, 2007.

PATEL, R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. **Clinical Chemistry**, New York, v. 61, n. 1, p. 100-111, 2015.

PUMAROLA-SUÑÉ, J. *et al.* Absorbency properties of different brands of standardized endodontic paper points. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 24, n. 12, p. 796-798, 1998.

REUTER, A. *et al.* Accuracy and reproducibility of the TonoVet® rebound tonometer in birds of prey. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 13, p. 80-85, 2010. Suppl.

ROBERT, Y. C. What do we measure with various techniques when assessing IOP? **Survey of Ophthalmology**, Boston, v. 52, n. 2, p. 105-107, 2007.

RODARTE-ALMEIDA, A. C. V. *et al.* O olho da coruja-orelhuda: observações morfológicas, biométricas e valores de referência para testes de diagnóstico oftálmico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, p. 1275-1289, 2013.

RUPLEY, A. E. Manual de clínica aviária. São Paulo: Roca, 1999. 582 p.

RUSANEN, E. *et al.* Evaluation of a rebound tonometer (Tonovet®) in clinically normal cat eyes. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 13, n. 1, p. 31-36, 2010.

SESSA, M. **Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*)**. 2020. 48 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.

SINGHAL, N. *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.6, p.1-16, 2015.

SMITH, S. P.; BARBON, A. R.; FORBES, N. A. Evaluation of the phenol red thread tear test in Falconiformes. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, Boca Raton, v. 29, n. 1, p. 25-29, 2015.

TARCITANO, C. F. *et al.* **Hemograma de Calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) criadas no estado do Rio de Janeiro**. 2010. 42 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

TRIPATHI, R. C.; TRIPATHI, B. J. The mechanism of aqueous outflow in birds: I. An ultrastructural study of normal eyes. **Experimental Eye Research**, New York, v. 15, n. 3, p. 409-423, 1973.

UESUGUI, E. *et al.* Identificação laboratorial dos patógenos oculares mais freqüentes e sua suscetibilidade in vitro aos agentes antimicrobianos. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v. 65, n. 3, p. 339 -342, 2002.

WILENSKY, J. T. Epidemiology of open-angle glaucoma. *In*: KAUFMAN, P. L.; MITTAG, T. W. (eds.). **Textbook of ophthalmology**. Mosby: St. Louis, 1994. v. 7, p. 29-33.

WILLIAMS, D. L. **Ophthalmology of exotic pets**. Chichester: John Wiley & Sons, 2012.

WILLIS, A. M.; WILKIE, D. A. Avian ophthalmology part 1: anatomy, examination, and diagnostic techniques. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, Boca Raton, v. 13, n. 3, p. 160-166, 1999.

WILLIS, A. M.; WILKIE, D. A. Avian ophthalmology, part 2: review of ophthalmic diseases. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, Boca Raton, v. 13, n. 4, p. 245-251, 1999.

ZENOBLE, R. D.; GRIFFITH, R. W.; CLUBB, S. L. Survey of bacteriologic flora of conjunctiva and cornea in healthy psittacine birds. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 44, n. 10, p. 1966-1967, 1983.

## **CAPÍTULO 2**

1 Trabalho a ser enviado para a revista “Journal of Veterinary Medical Science”,  
2 seguindo as seguintes normas: [http://jsvetsci.jp/jvms/wp-content/themes/jvms-](http://jsvetsci.jp/jvms/wp-content/themes/jvms-green/img/instruction_en.pdf)  
3 [green/img/instruction\\_en.pdf](http://jsvetsci.jp/jvms/wp-content/themes/jvms-green/img/instruction_en.pdf)

4  
5 **FULL PAPER: Wildlife Science**

6  
7 **TESTES OFTALMOLÓGICOS EM CALOPSITAS (*NYMPHICUS***  
8 ***HOLLANDICUS*)**

9  
10 Juliana Pinatti BARDELLA1)\* ,Cláudia Valéria Seullner BRANDÃO1)\*

11  
12 1)Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal- Faculdade de  
13 Medicina Veterinária e Zootecnia (Unesp)- Botucatu, São Paulo 18616-681,  
14 Brasil

15  
16 Correspondence to: Cláudia Valéria Seullner BRANDÃO

17 Email: [valeria.brandao@unesp.br](mailto:valeria.brandao@unesp.br)

18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

26

27 **ABSTRACT**

28 This study aimed to describe normal values in ophthalmological diagnostic tests  
29 for cockatiels (*Nymphicus hollandicus*), an exotic bird increasingly inserted in the  
30 urban environment and acquired as a "pet" in the domestic environment, thus  
31 increasing the importance of specialized veterinary care for this species. Fifteen  
32 cockatiels from domestic breeders, adults, and healthy, were subjected to a  
33 complete ophthalmic examination. The birds were physically restrained for the  
34 tests. The tear production and conjunctival microbiota were performed by a  
35 standardized endodontic absorbent paper point tear test (PPTT), and intraocular  
36 pressure with a rebound tonometer (icare® tonovet plus). Species of  
37 microorganisms isolated were identified by mass spectrometry. The results  
38 obtained were: PPTT  $10.73 \pm 2.59$  mm/min; intraocular pressure Tonovet plus  
39 dog mode ( $11.87 \pm 1.43$  mmhg), cat mode ( $6.73 \pm 1.36$  mmhg), rabbit mode  
40 ( $13.13 \pm 1.85$  mmhg) and horse mode ( $9.50 \pm 1.36$  mmhg). In the conjunctival  
41 microbiota, gram-positive bacteria were predominant. Rebound tonometry, tear  
42 production assessment, and conjunctival microbiota collection with PPTT are  
43 easy and accurate methods for use in cockatiels; they are indicated due to the  
44 size of the eyes. The results will help veterinary ophthalmologists diagnose and  
45 treat eye diseases in cockatiels, in addition to contributing to research in the area  
46 of vision.

47

48 **Key words:** bird; lacrimal; microbiome; rebound; tonometer

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

## INTRODUÇÃO

60 A calopsita (*Nymphicus hollandicus*) pertence à ordem Psittaciformes e  
61 família Cacatuidae (calopsitas, cacatuas), originária na Austrália e amplamente  
62 difundida como pet em diversos países, inclusive no Brasil [5, 18, 20]. As  
63 características de natureza sociável, inteligência, coloração exuberante e  
64 capacidade de imitar sons tornam os psittaciformes extremamente populares [20].

65 O aparelho da visão é especialmente importante em aves devido à  
66 influência direta no voo, alimentação e reprodução [3]. Métodos e equipamentos  
67 desenvolvidos para o exame ocular em mamíferos são frequentemente utilizados  
68 em aves, embora com as limitações do pequeno tamanho de alguns pássaros [3].  
69 A aferição da produção lacrimal em animais de pequeno porte, com abertura de  
70 fenda palpebral diminuta apresenta-se ainda como um desafio no exame  
71 oftalmológico [21, 23]. As pontas de papel endodônticas padronizadas (PPEP)  
72 podem ser utilizadas como método alternativo, e caracterizam-se por serem  
73 estéreis e manter padrão regular [21, 23].

74 A tonometria é fundamental na avaliação de pressão intraocular (PIO), no  
75 diagnóstico oftalmológico e evolução do tratamento de afecções como a uveíte e  
76 o glaucoma [12]. Uma nova geração de tonômetro de rebote, o Icare® TONOVET  
77 Plus, foi introduzido na prática veterinária. Comparado com o modelo anterior de  
78 tonômetro de rebote da mesma empresa, essa tecnologia tem a vantagem de  
79 indicar o correto posicionamento do equipamento com uma luz colorida próxima à  
80 sonda, presumivelmente aumentando a precisão da medição e sua repetibilidade  
81 [6,16].

82 Para coleta de material de cultura conjuntival, o uso de swabs tradicionais  
83 é impraticável em calopsitas, devido a seu fornix conjuntival diminuto. Dessa  
84 forma, o uso de ponta de papel endodôntica tamanho 45 se mostra simples e  
85 eficaz para essa finalidade [32].

86           Adicionalmente, a disbiose conjuntival predispõem o tecido a patógenos;  
87 portanto, a identificação dos microorganismos é importante para determinar o  
88 padrão normal e as decisões terapêuticas em infecções [12, 34]

89           A espectrometria de massas (MALDI-TOF MS) representa um dos  
90 métodos mais precisos, confiáveis e rápidos para a identificação de espécies  
91 bacterianas. Essa tecnologia é automatizada, de alto rendimento, aplicável a  
92 ampla gama de bactérias e indiscutivelmente benéfica para diagnóstico de  
93 microbiologia clínica [7,28].

94           A escassez de valores descritos em aves, especialmente nas calopsitas,  
95 associado aos fatores acima citados, estimularam o desenvolvimento do estudo  
96 da avaliação da produção lacrimal com PEPP em 1min, da tonometria com  
97 aparelho de rebote Icare® TONOVET Plus nos modos cão, gato, equino e coelho,  
98 bem como da microbiota conjuntival normal, utilizando a análise de proteômica  
99 por espectrometria de massa. Pelo conhecimento dos autores, estes métodos  
100 ainda não foram descritos em calopsitas.

101

## 102           **MATERIAIS E MÉTODOS**

103           A metodologia foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais  
104 (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
105 Estadual Paulista (UNESP) – Botucatu SP-Brasil (processo 0188/2020).

106

### 107           *Animais, local e temperatura*

108           Foram utilizados 15 calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), adultas, sem  
109 diferenciação de sexo, sadias ao exame clínico, provenientes de criadores  
110 domésticos. O estudo foi realizado em horas mais frescas do dia, com  
111 temperatura variando entre 21 a 26°C.

112

### 113           *Crítérios de inclusão*

114           As calopsitas foram avaliadas clinicamente, incluindo o histórico a fim de  
115 detectar possíveis comorbidades que pudessem interferir no estudo, incluindo  
116 fezes alteradas, apatia, inapetência, exame observacional, escore de condição  
117 corporal classificado de 1 a 5 (Apêndice 1)[35]; e a aparência dos membros, bico,  
118 asas e penas. A avaliação oftalmológica, conforme descrita a seguir, também foi

119 realizada e as aves com alteração no padrão normal para a espécie foram  
120 excluídas da pesquisa.

121

### 122 *Contenção*

123 As calopsitas foram contidas manualmente, apenas quando necessário  
124 com o auxílio de puçás de pano ou luvas de couro, promovendo o mínimo  
125 desconforto para as aves. Foram então mantidas em posição vertical e a cabeça  
126 da ave imobilizada com o polegar de um lado da mandíbula e o dedo indicador do  
127 outro. As asas foram posicionadas junto ao corpo e pés do animal (Figura 1). A  
128 região cervical não foi manipulada, a fim de não promover interferência no valor  
129 da PIO por pressão venosa mecânica. O exame oftalmológico foi realizado por um  
130 único avaliador.

131

### 132 *Avaliação e testes oftalmológicos*

133 As aves foram submetidas ao exame oftalmológico nos dois olhos (n=30),  
134 seguindo ordem de realização: inspeção de anexos e superfície ocular, teste de  
135 produção lacrimal, coleta de amostras, avaliação do segmento anterior com feixe  
136 de luz, tonometria e teste de fluoresceína.

137 Na inspeção foram investigadas alterações na conformação da face,  
138 disposição e simetria dos olhos, tumefações, secreções, blefaroespasmos e  
139 neoformações.

140 O teste de produção lacrimal (Figura 1) foi realizado com a ponta de papel  
141 endodôntica padronizada (PPEP) (Roeko 146 Color size 30; Langenau,  
142 Germany), a qual era inserida no saco conjuntival inferior temporalmente e ato  
143 contínuo, avaliação numérica (mm/min) da parte umedecida após 60 segundos,  
144 utilizando-se régua milimetrada padrão.

145 A seguir, foi coletada amostra conjuntival utilizando-se PPEP estéril  
146 (Roeko Color size 45; Langenau, Germany) (Figura 2). Com o auxílio de luvas e  
147 pinça estéris, foi inserido com movimento suave da ponta de papel no fórnice  
148 conjuntival inferior, sem realizar contato com face externa da pálpebra; As  
149 amostras foram armazenadas em meio STUART estéril (FIRSTLAB, modelo FL4-  
150 0102) e submetidas a exames microbiológicos, para a realização e posterior  
151 análise por MALDI-TOF.

152 Para avaliação da pressão intraocular (Figura 3), foi utilizado o  
153 tonômetros de rebote Icare® TONOVET Plus, nos modos cão, gato, equino e  
154 coelho. Todas as aferições foram realizadas no centro da córnea, a uma distância  
155 de 4 a 8 mm do olho, com a ave na posição vertical. O aparelho disponibiliza o  
156 valor médio de 6 mensurações, sendo essa considerada o valor final. A aferição  
157 foi repetida apenas nos casos em que o visor do aparelho indicou coloração  
158 amarela ou vermelha (desvio padrão entre 2,5 a 3,5 mmHg).

159

#### 160 *Cultivo microbiológico e Análise MALDI-TOF MS™*

161 As amostras em PPEP foram imersas em tubos com caldo BHI e mantidas  
162 em estufa a 37° C por 20h. Após turvação foram cultivadas em condições de  
163 aerobiose no meio de ágar sangue (Oxoid®, São Paulo, Brasil) acrescido de  
164 sangue ovino (5-7%), mantidas por 72 horas, a 37°C, e no meio seletivo de  
165 MacConkey (Oxoid®, São Paulo, Brasil), nas mesmas condições. Os  
166 microorganismos isolados foram classificados de acordo com características  
167 morfológicas e bioquímicas [30].

168 Todas as colônias foram submetidas à espectrometria de massas no  
169 laboratório de Pesquisa de Qualidade do Leite (QUALILEITE) da FMVZ–USP de  
170 Pirassununga- SP, pelo aparelho MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption  
171 ionization time-of-flight mass spectrometry).

172 As culturas bacterianas foram centrifugadas, nas diferentes etapas,  
173 inativadas em 75% etanol, e submetidas à extração bacteriana. O sobrenadante  
174 foi novamente centrifugado, o líquido remanescente foi removido com auxílio de  
175 pipeta e secado à temperatura ambiente durante 5 a 10 min. A seguir, foi  
176 adicionada à amostra solução de ácido fórmico a 70% para lisar células  
177 bacterianas e liberar as proteínas da célula interna, predominantemente proteínas  
178 ribossomais que produzem íons necessários para diagnóstico dos espectros  
179 bacterianos pelo aparelho [11,31]. Em seguida foi adicionada solução de ácido  
180 fórmico a 70% e acetonitrila a 100% a cada amostra em volumes iguais,  
181 produzindo assim um extrato bacteriano na proporção de 1:1. Uma etapa final de  
182 centrifugação foi realizada para separar os restos de células bacterianas do  
183 sobrenadante contendo as proteínas usadas para a identificação de MALDI-TOF  
184 MS. Em sequência, 1µL da solução de cada amostra foi adicionada em placas

185 específicas contendo 96 poços (Bruker e Daltonics™, Bremen, Alemanha) e  
186 secas em temperatura ambiente para posterior preenchimento com 1µL de  
187 solução matriz (ácido 2-ciano-4-hidroxicinâmico diluído a 50% de acetomil e 2,5%  
188 de ácido trifluoracético). As placas foram dispostas no receptáculo do  
189 equipamento MALDI-TOF MS™ (Bruker e Daltonics™, Bremen, Alemanha),  
190 operado com 337-nm de laser [2].

191 O MALDI-TOF MS foi realizado usando Software *FlexControl 3.3*. Os dados  
192 dos espectros foram analisados dentro da faixa de massa de 2.000 a 20.000 m/z.  
193 O resultado foi fornecido por meio de pontuação de log com um valor máximo de  
194 3,0. Valores de pontuação superiores a 1,7 foram considerados confiáveis para  
195 identificação do gênero, e pontuações superiores a 2,0 foram consideradas  
196 prováveis para identificação de espécies [2].

197

#### 198 *Análise estatística*

199 Foi realizada a análise estatística descritiva; e os dados foram expressos  
200 em média, desvio padrão e mediana. O Teste-t de Student foi utilizado para  
201 amostras pareadas na comparação entre olhos direito e esquerdo, adotando o  
202 nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ) [37]. Para a comparação da PIO nos  
203 diferentes modos do tonometro foi utilizada a técnica de análise de variância para  
204 modelo de medidas repetidas, completando com o teste de comparações  
205 múltiplas de Bonferoni [14]. A correlação linear de Pearson foi avaliada entre os  
206 diferentes modos do tonometro de rebote (cão, gato, cavalo, coelho) [37].

207

208

## 209 **RESULTADOS**

210 Na comparação dos testes oftalmológicos não houve diferença significativa  
211 entre olhos direito e esquerdo (Tabela 1) nas variáveis ( $P > 0,05$ ), exceto na PIO  
212 com Tonovet Plus modo gato (direito>esquerdo).

213

214 **TABELA 1.** Valores dos testes oftalmológicos de produção lacrimal e  
215 pressão intraocular (mmHg) em calopsitas(n=15), segundo o olho.

Variável	olho	Valor mínimo	Mediana	Valor máximo	Média	Desvio padrão
Teste lacrimal PPEP (mm/min)	Direito	7,00	10,00	15,00	11,13	2,58
	Esquerdo	6,00	11,00	14,00	10,33	2,72
Tonovet Plus cão	Direito	9,00	12,00	14,00	11,53	1,42
	Esquerdo	6,00	11,00	14,00	11,53	1,41
Tonovet Plus gato	Direito	6,00	7,00	10,00	7,13	0,99
	Esquerdo	4,00	6,00	9,00	6,33	1,59
Tonovet Plus coelho	Direito	11,00	13,00	17,00	13,33	1,45
	Esquerdo	9,00	13,00	16,00	12,93	2,22
Tonovet Plus cavalo	Direito	8,00	10,00	11,00	9,73	1,03
	Esquerdo	6,00	9,00	11,00	9,27	1,49

216

217 Na mensuração quantitativa da lágrima com PPEP, em 30 olhos, obteve-se  
218 valores médios de  $10,73 \pm 2,59$  mm/min e mediana de 10,5 (6,00-15) mm/min.

219 As médias gerais da PIO, nos diferentes modos disponíveis no Tonovet  
220 plus e a associação linear de Pearson foram apresentadas nas Tabelas 2 e 3  
221 respectivamente; verificou-se diferença entre os modos, sendo que o modo  
222 coelho > cão > cavalo > gato ( $P < 0,05$ ). Tonovet Plus cavalo x gato foram os modos  
223 do Tonovet Plus mais associados (Tabela 3);

224

225 **TABELA 2** Valores médios gerais (n=30 olhos), representados em média  
226 e desvio padrão, da PIO em calopsitas pelo tonometro de Rebote tonovet plus,  
227 segundo o modo.

Modo				Valor p
Cão	Gato	Coelho	Cavalo	
$11,87 \pm 1,43$ c	$6,73 \pm 1,36$ a	$13,13 \pm 1,85$ d	$9,50 \pm 1,28$ b	$P < 0,01$

228 Duas médias seguidas de letras diferentes ( $P < 0,05$ ).

229

230

231

232

233

234

235 **TABELA 3.** Medida de associação linear de Pearson da PIO entre os  
 236 diferentes modos do tonômetro Tonovet Plus utilizados na mensuração em  
 237 calopsitas.

Associação	Coefficiente de correlação	Valor p
Tonovet Plus cão x gato	-0,072	P>0,05
Tonovet Plus cão x coelho	0,072	P>0,05
Tonovet Plus cão x cavalo	0,038	P>0,05
Tonovet Plus gato x coelho	0,438	P<0,05*
Tonovet Plus gato x cavalo	0,474	P<0,01*
Tonovet Plus coelho x cavalo	0,451	P<0,05*

238 \* Correlação significativa entre os métodos de avaliação (P<0,05)

239  
 240 Bactérias foram isoladas em 93,33% dos olhos, enquanto dois olhos da  
 241 mesma calopsita foram negativos. Em 92,85% dos olhos foram identificadas  
 242 bactérias gram-positivas. Do total de isolados, 75% foram gram-positivas, com  
 243 predomínio de: *Rothia nasimurium* (22,85%), *Staphylococcus sciuri* (14,28%),  
 244 *Staphylococcus saprophyticus* (8,57%), *Staphylococcus xylosus* (5,71%),  
 245 *Staphylococcus piscifermentans* (2,85%), *Weissella confusa* (2,85%),  
 246 *Staphylococcus kloosii* (2,85%), *Bacillus subtilis* (2,85%), *Staphylococcus*  
 247 *haemolyticus* (2,85%), *Lactococcus lactis* (2,85%), *Staphylococcus schleiferi*  
 248 (2,85%), *Kocuria kristinae* (2,85%), *Staphylococcus pseudintermedius* (2,85%) e  
 249 *Staphylococcus hominis* (2,85%). Em 25% dos isolados foram identificadas  
 250 bactérias gram-negativas, incluindo: *Acinetobacter* sp. (5,71%), *Pseudomonas*  
 251 sp. (2,85%), *Pseudomonas oryzihabitans* (2,85%), *Acinetobacter radioresistens*  
 252 (2,85%), *Pseudomonas fulva* (2,85%).

253 Em 70% dos olhos foi isolada somente uma bactéria, e em 7,2% dos olhos  
 254 apresentaram unicamente bactérias gram negativas; mais de uma bactéria foram  
 255 observadas em 23,33% dos olhos. A totalidade dos microorganismos isolados  
 256 pela espectrometria de massa estão apresentadas no Apendice 2

257

## 258 DISCUSSÃO

259 Este estudo descreveu valores de normalidade com base em testes  
 260 oftalmológicos, ferramentas importantes no diagnóstico e tratamento de  
 261 enfermidades oftalmológicas em calopsitas, ampliando os conhecimentos da área  
 262 e especificidades das espécies.

263 O valor médio descrito para fissura palpebral em calopsitas foi de 5,45  
264 mm, portanto o teste de Schirmer com fita padrão milimetrada de 0,5 cm, pela  
265 diminuta fissura palpebral, torna sua utilização prática inexecutável [15].

266 Os valores de produção lacrimal encontrados nesta pesquisa foram  
267 superiores aos de Kane et al (2021) empregando 25 calopsitas, que obtiveram  
268 valor médio de 9.39 (6-14) mm/15s, usando PPEP (iM3 Inc., Vancouver, WA size  
269 30). No entanto, os autores utilizaram o tempo de 15 segundos para o teste. O  
270 menor tempo utilizado foi com o intuito de minimizar o estresse associado a uma  
271 contenção mais prolongada [15]. Diferentemente, deste estudo, que foi  
272 padronizado um minuto, durante sua realização foi possível aplicar a PPEP  
273 simultaneamente nos dois olhos da ave, reduzindo o tempo total de contenção e  
274 de estresse, similar o relato de Lange et al., (2014) [23].

275 Similar ao presente estudo, a metodologia utilizando a PPEP da marca  
276 Roeko no tempo de um minuto, foi descrito em algumas outras aves da ordem  
277 Psittaciformes: em araras da espécie azul-de-lear ( $15,37 \pm 1,22$ mm/min) e  
278 canindé ( $16,74 \pm 1,38$  mm/min) [26].

279 Pumarola-suñé (1998) descreveu as propriedades de absorção de pontas  
280 de papel endodôntico padronizadas (PPEP) e relatou que as marcas Zipperer,  
281 Maillefer e Roeko, no diâmetro de 0,3 mm, apresentaram melhor padronização  
282 [29].

283 Na tonometria ocular, limita-se a reprodutibilidade do uso do Tonopen, por  
284 apresentar plataforma muito grande em sua ponta para olhos com diâmetro da  
285 córnea entre que 5mm a 9 mm e inviabiliza o uso em córneas com diâmetro  
286 menor que 5mm [37]; dessa forma o tonômetro de rebote Tonovet, é inestimável  
287 em muitas espécies pequenas como as calopsitas [36].

288 O tonômetro de rebote tem uma ponta muito pequena (1.3- 1,8 mm), que  
289 torna o aparelho adequado a ser utilizado em olhos diminutos, além de a ponta  
290 ser descartável, podendo ser trocada na presença de doenças significativas [19].

291 Este método minimiza erros de aferição, pois se apresenta como  
292 examinador não dependente, portabilidade entre diferentes laboratórios,  
293 capacidade de obter medições *in vivo* sem uso de anestésicos tópicos e o contato  
294 com a córnea, promovendo apenas impacto sutil e rápido no olho [8, 24].

295 KANE et al (2021), descreveram valores de PIO em calopsitas usando  
296 tonômetro de rebote TonoVet<sup>®</sup> no modo “p” de 13mmHg  $\pm$  3,3 mmHg. Neste  
297 estudo, o modo coelho do Tonovet plus foi similar ao descrito, sugerindo que esse  
298 pode ser um modo interessante de mensuração em calopsitas. Entretanto, mais  
299 estudos nesse campo devem ser estimulados pela importância desse valor  
300 durante o exame oftalmológico, considerando a limitação do uso do Tonopen em  
301 espécies pequenas e das grandes vantagens que o Tonovet traz pela facilidade e  
302 acurácia na avaliação da PIO. Uma limitação no presente estudo, impossibilitada  
303 por aspectos éticos, seria a mensuração invasiva da PIO e sua comparação entre  
304 os modos [15].

305 MOORE (2019) em beija-flores, apresentando fissura palpebral de  $2.59 \pm$   
306  $0.19\text{mm}$ ; utilizando o tonometro de rebote Tonolab, obtiveram valores de  $11,12 \pm$   
307  $2,20 \text{ mmHg}$ , similares a PIO com TonoVet plus modo cão encontrado no  
308 presente trabalho [27].

309 Em tucanos-toco [12] com tonômetros de rebote (Icare<sup>®</sup> Tonovet e  
310 Tonovet plus), foram verificados valores maiores da PIO, em todos os modos  
311 utilizados, indicando a necessidade de estudos direcionados para a espécie. Os  
312 modos mais concordantes em seu estudo [12] com TonoVet plus foram: cão x  
313 coelho e gato x cavalo, este último também verificado em neste estudo, acrescido  
314 do Tonovet Plus gato x coelho e Tonovet Plus coelho x cavalo.

315 A correlação positiva da associação linear de Pearson entre as PIOs nos  
316 diferentes modos do TonoVet Plus, no presente estudo e corroborando a  
317 FERREIRA (2021) [12], sugere-se que o TonoVet Plus gato x cavalo tem  
318 interessante associação durante a mensuração, podendo eventualmente ser  
319 intercambiável.

320 Considerando a dificuldade de inserção de swabs tradicionais no fornix  
321 conjuntival para coleta de material, institui-se a metodologia previamente descrita  
322 [12,32], utilizando pontas de papel endodônticas tamanho 45 para a avaliação da  
323 microbiota normal. A técnica promoveu pouco desconforto ocular as aves, e  
324 apresentou-se eficiente, simples, prática e rápida nas calopsitas, podendo ser  
325 indicada para outras espécies com abertura de fissuras palpebrais pequenas, de  
326 modo similar aos achados de SESSA (2020) e FERREIRA (2021) [12, 32].

327 Na microbiota conjuntival neste estudo houve predominância de bactérias  
328 gram-positivas (75%), em 92,85% dos olhos, concordando com os achados de  
329 ZENOBLE et al. (1967), após análise de microbiota bacteriana da conjuntiva e  
330 córnea em 151 olhos de psitacídeos sadios (Papagaio amazona, papagaio-  
331 cinzento, papagaio do senegal e cacatua). No presente estudo, foi observado que  
332 a microbiota mais frequente presente no saco conjuntival em psitacídeos inclui  
333 bactérias gram-positivas: *Staphylococcus epidermidis* (25%), *Streptococcus* alfa-  
334 hemolítico (25%), *Corynebacterium* sp (7%) e *Staphylococcus aureus* (5%);  
335 enquanto as bactérias gram-negativas foram raras e mais de uma espécie  
336 bacteriana foi encontrada em vários olhos [38]. As bactérias mais frequentes  
337 neste estudo foram *Rothia nasimurium*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus*  
338 *saprophyticus* e *Staphylococcus xylosum*, identificadas por espectrometria de  
339 massas.

340 Em estudos similares com aves de rapina [9], e araras [26], com método  
341 de coleta com swab estéril tradicional e em grou [25] com swab de mini-ponta de  
342 alginato de cálcio umedecida, realizando a análise das amostras com  
343 identificação de acordo com sua morfologia, também foi encontrado  
344 predominância no isolamento de bactérias gram-positivas, com diferencial que no  
345 presente estudo foi utilizado a espectrometria de massa.

346 A espectrometria de massa (MALDI-TOF) é uma tecnologia inovadora,  
347 automatizada e de alta precisão para identificação de bactérias, além de  
348 proporcionar diagnóstico molecular em curto espaço de tempo [28]. Não há  
349 estudos utilizando o MALDI-TOF na identificação de microbiota conjuntival em aves  
350 no conhecimento dos autores.

351 Os resultados obtidos para os importantes testes oftalmológicos auxiliarão  
352 médicos veterinários oftalmologistas a diagnosticar enfermidades oculares de  
353 maneira mais eficaz e precoce, para manutenção do sentido mais importante para  
354 a espécie. Mais estudos devem ser estimulados, objetivando-se obter cada vez  
355 mais dados específicos de aves que são mantidas como “pets”, considerando o  
356 aumento dessa prática nos últimos tempos que culmina no aumento do  
357 atendimento veterinário oftalmológico para tais espécies, além da importância da  
358 conservação da fauna.

359

## CONCLUSÃO

360

361 A utilização da ponta de papel endodôntica foi efetiva na mensuração da  
362 produção lacrimal em calopsitas, bem como para a coleta de amostras para a  
363 determinação da microbiota conjuntival, apresentando baixo desconforto para as  
364 aves e simples execução.

365 A metodologia estabelecida no estudo da microbiota conjuntival de  
366 calopsitas possibilitou o isolamento bacteriano na grande maioria das amostras e  
367 a cultura bacteriana associada à análise por espectrometria de massas resultou  
368 em maior frequência de bactérias gram-positivas na microbiota conjuntival de  
369 calopsitas.

370 Uso tonômetro de rebote Tonovet plus, nos diferentes modos, foi factível em  
371 calopsitas e os maiores valores disponibilizados no modo coelho.

372

## REFERÊNCIAS

373

- 374 1. Andrade, A. L. D., Stringhini, G., Bonello, F. L., Marinho, M., and Perri, S.  
375 H. V. 2002. Microbiota conjuntival de cães sadios da cidade de Araçatuba  
376 (SP). *Arq. Bras. Oftalmol.* 65: 323-336.
- 377 2. Barreiro, J. R., Ferreira, C. R., Sanvido, G. B., Kostrzewa, M., Maier, T.,  
378 Wegemann, B., Böttcher, V., Eberlin, M. N., and Dos Santos, M. V. 2010.  
379 Identification of subclinical cow mastitis pathogens in milk by matrix-  
380 assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J.*  
381 *Dairy Sci.* 93: 5661-5667.
- 382 3. Bayón, A., Almela, R. M., and Talavera, J. 2008. Avian  
383 ophthalmology. *Eur. J. Companion Anim. Pract.* 17: 253-266.
- 384 4. Bedford, P. G. 1980. The aetiology of canine glaucoma. *Vet. Rec.* 107:  
385 76-82.
- 386 5. Benez, S. M. 2004. Aves: criação-clínica-teoria-prática; silvestres-  
387 ornamentais-avinhadados. Tecmedd, Ribeirão Preto.
- 388 6. Carvalho, C. M., Rodarte-Almeida, A. C., Beanes, A. S., Machado, M. T.,  
389 and Galera, P. D. 2020. Ophthalmic contributions to assessing eyes of two  
390 neotropical canids: *Cerdocyon thous* and *Chrysocyon brachyurus*. *Vet.*  
391 *Ophthalmol.* 23: 460-471.

- 392 7. Croxatto, A., Prod'hom, G., and Greub, G. 2012. Applications of MALDI-  
393 TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS*  
394 *Microbiol. Rev.* 36: 380-407.
- 395 8. Danias, J., Kontiola, A. I., Filippopoulos, T., and Mittag, T. 2003. Method  
396 for the noninvasive measurement of intraocular pressure in mice. *Invest.*  
397 *Ophthalmol. Vis. Sci.* 44: 1138-1141.
- 398 9. Dupont, C., Carrier, M., and Higgins, R. 1994. Bacterial and fungal flora in  
399 healthy eyes of birds of prey. *Can. Vet. J.* 35: 699.
- 400 10. Eichenbaum, J. D., Lavach, J. D., Severin, G. A., and Paulsen, M. E.  
401 1989. Immunology of the ocular surface [1987]. *Compend. Contin. Educ.*  
402 *Practicing. Vet.* 9: 1101-1110
- 403 11. Fenselau, C., and Demirev, P. A. 2001. Characterization of intact  
404 microorganisms by MALDI mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* 20:  
405 157-171.
- 406 12. Ferreira, M. C. 2021. Testes oftalmológicos em tucano-toco (ramphastos  
407 toco): schirmer microbiota conjuntival e tonometria [dissertação].  
408 Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.
- 409 13. Fornazari, G., Ferreira, T. A. C., Santin, E., Panisson, J. C., Maiorka, A.,  
410 and Montiani-Ferreira, F. 2018. Schirmer's I, modified Schirmer's I, phenol  
411 red thread, and paper point tests: a comparative study for tear production  
412 measurement techniques in broiler chicks (*Gallus gallus*  
413 *domesticus*). *Poult. Sci.* 97: 3258-3263.
- 414 14. Johnson, R. A., and Wichern, D. W. 2014. Applied multivariate statistical  
415 analysis (Vol. 6). Pearson, London.
- 416 15. Kane, L. P., Keller, K. A., Salpeter, E. M., de Araujo, N. L. L. C., Dower,  
417 N., Welle, K. R., Martins, B. C., and Fleming, K. M. S. 2021. Ophthalmic  
418 diagnostic tests and ocular findings in healthy adult cockatiels (*Nymphicus*  
419 *hollandicus*). *J. Exot. Pet Med.* 39: 17-23.
- 420 16. Kerdchuchuen, K., Samathayanon, K., Phientong, P., Chattraphirat, S.,  
421 Jaturakan, O., and Tuntivanich, N. 2021. Comparison of intraocular  
422 pressure in healthy brachycephalic and nonbrachycephalic cats using the  
423 Icare® TONOVET Plus rebound tonometer. *Vet. Ophthalmol.* 24: 484-490.

- 424 17. Korbelt, R., and Leitenstorfer, P. 1998. The modified Schirmer tear test in  
425 birds--a method for checking lacrimal gland function. *Tierarztl. Prax. Ausg*  
426 *K Kleintiere Heimtiere* 26: 284-294.
- 427 18. Galetti, M., Guimarães Junior, P. R., and Marsden, S. J. 2002. Padrões de  
428 riqueza, risco de extinção e conservação dos psitacídeos neotropicais. pp.  
429 17-26. In: *Ecologia e conservação de psitacídeos no Brasil*. (Galetti, M.  
430 and Pizo, M. A.), Melopsittacus Publicações Científicas, Belo Horizonte.
- 431 19. Gelatt, K. N. (ed.). 2013. *Essentials of veterinary ophthalmology*. John  
432 Wiley & Sons, Hoboken.
- 433 20. Grespan, A., and Raso, T. D. F. 2014. Psittaciformes (araras, papagaios,  
434 periquitos, calopsitas e cacatuas). pp. 550-589 In: *Tratado de Animais*  
435 *Selvagens: medicina veterinária*, 2a ed. (Cubas, Z. S., Silva, J. C. R.,  
436 Catão-Dias, J. L.), Rocca, São Paulo.
- 437 21. Lange, R. R., Lima, L., and Montiani-Ferreira, F. 2012. Measurement of  
438 tear production in black-tufted marmosets (*Callithrix penicillata*) using  
439 three different methods: modified Schirmer's I, phenol red thread and  
440 standardized endodontic absorbent paper points. *Vet. Ophthalmol.* 15:  
441 376-382.
- 442 22. Lange, R. R. 2012. *Anatomia, morfologia e fisiologia ocular de algumas*  
443 *espécies de interesse na medicina de animais selvagens e de laboratório*  
444 *com ênfase em primatas neotropicais [tese]*. Universidade Federal do  
445 Paraná, Curitiba.
- 446 23. Lange, R. R., Lima, L., Przydzimirski, A. C., and Montiani-Ferreira, F.  
447 2014. Reference values for the production of the aqueous fraction of the  
448 tear film measured by the standardized endodontic absorbent paper point  
449 test in different exotic and laboratory animal species. *Vet. Ophthalmol.* 17:  
450 41-45.
- 451 24. Leiva, M., Naranjo, C., and Pena, M. T. 2006. Comparison of the rebound  
452 tonometer (ICare®) to the applanation tonometer (Tonopen XL®) in  
453 normotensive dogs. *Vet. Ophthalmol.* 9: 17-21.
- 454 25. Miller, P. E., Langenberg, J. A., and Hartmann, F. A. 1995. The normal  
455 conjunctival aerobic bacterial flora of three species of captive cranes. *J.*  
456 *Zoo Wildl Med.* 26: 545-549.

- 457 26. Monção-Silva, R. M., Ofri, R., Raposo, A. C. S., Libório, F. A., Estrela-  
458 Lima, A., and Oriá, A. P. 2016. Ophthalmic parameters of Blue-and-yellow  
459 Macaws (*Ara ararauna*) and Lear's Macaws (*Anodorhynchus leari*). *Avian*  
460 *Biol. Res.* 9: 240-249.
- 461 27. Moore, B. A., Maggs, D. J., Kim, S., Motta, M. J., Bandivadekar, R., Tell, L.  
462 A., and Murphy, C. J. 2019. Clinical findings and normative ocular data for  
463 free-living Anna's (*Calypte anna*) and Black-chinned (*Archilochus*  
464 *alexandri*) Hummingbirds. *Vet. Ophthalmol.* 22: 13-23.
- 465 28. Patel, R. 2015. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious  
466 diseases. *Clin. Chem.* 61: 100-111.
- 467 29. Pumarola-Suñé, J., Solá-Vicens, L., Sentís-Vilalta, J., Canalda-Sahli, C.,  
468 and Brau-Aguadé, E. 1998. Absorbency properties of different brands of  
469 standardized endodontic paper points. *J. Endod.* 24: 796-798.
- 470 30. Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S., and  
471 Fitzpatrick, E. 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. John  
472 Wiley & Sons, Chichester.
- 473 31. Ryzhov, V., and Fenselau, C. 2001. Characterization of the protein subset  
474 desorbed by MALDI from whole bacterial cells. *Anal. Chem.* 73: 746-750.
- 475 32. Sessa, M. 2020. Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo  
476 preto (*Callithrix penicillata*) [dissertação]. Faculdade de Medicina  
477 Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- 478 33. Silvanose, C. D., Bailey, T. A., Naldo, J. L., and Howlett, J. C. 2001.  
479 Bacterial flora of the conjunctiva and nasal cavity in normal and diseased  
480 captive bustards. *Avian Dis.* 45: 447-451.
- 481 34. Thomason, C. A., Mullen, N., Belden, L. K., May, M., and Hawley, D. M.  
482 2017. Resident microbiome disruption with antibiotics enhances virulence  
483 of a colonizing pathogen. *Sci Rep.* 7: 1-8.
- 484 35. Welle, K. R. 1995. Body condition scoring in companion birds. *Proc. Annu.*  
485 *Conf. Assoc. Avian Vet.* 487489.
- 486 36. Williams, D. L. 2012. *Ophthalmology of exotic pets*. John Wiley & Sons,  
487 Chichester.
- 488 37. Willis, A. M., and Wilkie, D. A. 1999. Avian ophthalmology part 1: anatomy,  
489 examination, and diagnostic techniques. *J. Avian Med. Surg.* 13: 160-166.

- 490 38. Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. Pearson, Upper Sadlle River.
- 491 39. Zenoble, R. D., Griffith, R. W., and Clubb, S. L. 1983. Survey of
- 492 bacteriologic flora of conjunctiva and cornea in healthy psittacine
- 493 birds. *Am. J. Vet. Res.*, 44: 1966-1967.

494

495 **APÊNDICE**

496 **Apêndice 1.** Representação de secções transversais do esterno e massa

497 muscular peitoral de aves, com escore da condição corporal variando entre muito

498 magro (1), magro (2), ótimo (3), sobrepeso (4) e obeso (5) [29].



499

500

501 **Apêndice 2.** Descrição dos micro-organismos isolados em conjuntiva de

502 calopsitas pela espectrometria de massas (MALDI-TOF MS).

Animal 01: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus piscifermentans</i> e <i>Weissella confusa</i>
OE: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i> e <i>Enterococcus hermanni</i>
Animal 02: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
OE: Isolamento de <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Animal 03: OD: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i>
OE: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i> e <i>Staphylococcus sciuri</i>
Animal 04: OD: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i>
OE: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i>
Animal 05: OD: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i>
OE: Isolamento de <i>Staphylococcus xylosum</i>
Animal 06: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus sciuri</i>
OE: Isolamento de <i>Acinetobacter</i> sp.
Animal 07: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus kloosii</i>
OE: Isolamento de <i>Staphylococcus sciuri</i>
Animal 08: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus xylosum</i> e <i>Pseudomonas</i> sp.
OE: Isolamento de <i>Staphylococcus sciuri</i> e <i>Pseudomonas oryzae</i>
Animal 09: OD: Isolamento de <i>Bacillus subtilis</i>
OE: Isolamento de <i>Acinetobacter radioresistens</i>
Animal 10: OD: Isolamento de <i>Pseudomonas fulva</i>
OE: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i>
Animal 11: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
OE: Isolamento de <i>Rothia nasimurium</i>
Animal 12: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus sciuri</i> e <i>Acinetobacter</i> sp.
OE: Isolamento de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> e <i>Lactococcus lactis</i>
Animal 13: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus schleiferi</i>

OE: Isolamento de <i>Kocuria kristinae</i>
Animal 14: OD: Isolamento de <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
OE: Isolamento de <i>Staphylococcus hominis</i>
Animal 15: OD: Negativo
OE: Negativo

503

504