

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*)

MARIANA DE SESSA

Botucatu – SP
Junho /2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*)

MARIANA DE SESSA

Orientadora: Prof^a. Assoc. Cláudia
Valéria Seullner Brandão

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal.

Botucatu - SP
2020

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

Sessa, Mariana de.

Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*) / Mariana de Sessa. - Botucatu, 2020

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

Orientador: Cláudia Valéria Seullner Brandão
Capes: 50501003

1. Primatas não humanos. 2. *Callithrix*. 3. Pressão intra-ocular. 4. Tratamento oftalmológico. 5. Córnea. 6. Aparelho lacrimal.

Palavras-chave: Espessura corneal; Microbiota conjuntival; Pressão intraocular; Produção lacrimal; Sensibilidade corneal.

MARIANA DE SESSA

Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*)

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Assoc. Cláudia Valéria Seullner Brandão

Presidente e Orientadora

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária FMVZ - UNESP
Botucatu /SP

Prof. Dr. Carlos Eduardo Fonseca Alves

Docente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal
Departamento de Clínica Veterinária FMVZ – UNESP
Botucatu /SP

Dr^a. Cintia Sesso Perches

Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal
Oftalmologista Veterinária Autônoma
Piracicaba /SP

Data da Defesa: 16 de abril de 2020 às 8:30.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** e a todas as energias superiores do Universo, por guiar e indicar os caminhos do bem.

Agradeço aos meus pais **Carlos Alberto de Sessa, Edilaine Ap. Porreca de Sessa**, à minha irmã e companheira de vida **Fernanda de Sessa** e minha avó **Irene Ap. da Silva**, por todo o apoio, conselhos, incentivos, amor incondicional! Obrigada por serem meu porto seguro, minha base, por existirem em minha vida! Amo imensamente vocês!

Ao meu namorado **Lucas Silveira** pelo companheirismo, apoio, cuidado, carinho e compreensão. Agradeço pelas aulas de yoga, por cuidar da Mel e por todo amor compartilhado!

A minha professora orientadora **Cláudia Valéria Seullner Brandão**, pela oportunidade em conhecer a oftalmologia veterinária, desde a graduação por meio de iniciações científicas e treinamentos de vivência e agora, por me orientar no mestrado. Obrigada pela paciência, confiança e conhecimento transmitido.

Agradeço a **Inajara Nakamura Hirota, Micaela Gordon Gandolfi e Ursula Guberman**, atual e ex- pós graduandas, que durante a minha graduação me ensinaram com entusiasmo e despertaram em mim a paixão pela oftalmologia veterinária. A todos os membros da “família oftalmo”, **Annalu Pinton Ferreira, Leticia de Andrade Ramos, Lenise Garbelotti, Luis Felipe Reiter e Mayara Chagas Ferreira** por toda amizade, apoio, ajuda e bons momentos compartilhados!

Agradeço a **João Victor Ribeiro, Annalu Pinton Ferreira e a Inajara Nakamura Hirota** por sempre estarem dispostos a me ajudar, principalmente nas revisões e formatações dos meus trabalhos.

Ao professor **Carlos Roberto Teixeira** e a ex-residente **Mariana Fischer**, pela ajuda com os animais.

Ao professor **Márcio Garcia Ribeiro** e ao técnico de laboratório **Fernando**, 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. Agradeço a toda a minha família, que mesmo longe se faz presente.

Aos meus animais, os que passaram pela minha vida e aos que permanecem, por serem únicos e especiais, além de terem papel fundamental na escolha da minha profissão. Todo o meu amor a cada um deles.

Agradeço as minhas amigas de infância, **Natasha Brugnaro**, **Amanda Isaac** e **Cristiane Vidiri**, por sempre estarem ao meu lado, me apoiarem, serem parte da minha família e me incluírem em suas famílias.

À família de Botucatu, **Ananda Finco**, **Tamiris Batistela Salvador**, **Bianca Sassaki** e **Isabela Kamiguchi** por todos os bons momentos vividos, pela ajuda em todos esses anos, pelo crescimento e maturidade que desenvolvemos juntas.

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.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores descritivos, média e desvio padrão, obtidos nos diferentes testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (<i>Callithrix penicillata</i>) (n=13), segundo olho e sexo.....	32
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

TLS	Teste lacrimal de Schirmer
TL SI	Teste lacrimal de Schirmer I
TL Sm	Teste lacrimal de Schirmer modificado
TLFV	Teste lacrimal de fenol vermelho
TLPPEP	Teste lacrimal de ponta de papel endodôntica padronizada
PPEP	Ponta de papel endodôntica padronizada
PIO	Pressão intraocular
g	Gramas
bpm	Batimentos por minuto
mpm	Movimentos por minuto
mg/kg	Miligrama por quilo
µm	Micrômetro
cm	Centímetro
mm	Milímetros
mm/min	Milímetros por minuto

SUMÁRIO

Capítulo 1	10
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Saguís	13
2.2 Avaliação da produção lacrimal	14
2.3 Sensibilidade corneal	16
2.4 Espessura corneal	17
2.5 Pressão intraocular	18
2.6 Microbiota conjuntival	19
Capítulo 2	24
Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (<i>Callithrix penicillata</i>)	24
APÊNDICE	51

SESSA, M. **Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*)**. Botucatu, 2020, p.56. Dissertação (Mestrado) –Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista

RESUMO

O estudo objetivou descrever valores de referência para importantes testes diagnósticos oftalmológicos, como sensibilidade corneal, produção lacrimal, pressão intraocular, espessura corneal e microbiota conjuntival em saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*) saudáveis e sem alterações oculares. Foram utilizados 13 saguis de tufo preto, totalizando 26 olhos, provenientes do CEMPAS da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil. Os saguis foram submetidos a contenção química com anestesia dissociativa à base de cetamina e midazolam, para realização dos exames. Os resultados obtidos para sensibilidade corneal com estesiômetro Cochet-Bonnet foi de $5,8 \pm 0,6$ cm; produção lacrimal com ponta de papel absorvente endodôntica estéril de 13 ± 3 mm/min; pressão intraocular com tonômetro de rebote Tonovet Plus Icare® de $22,2 \pm 2,9$ mmHg; espessura corneal $340,7 \pm 25,5$ µm; e predomínio de bactérias Gram-positivas nas amostras de microbiota conjuntival. Não houve diferença significativa considerando lateralidade e sexo dos animais ($P>0,05$). Os resultados obtidos nos testes diagnósticos oftalmológicos poderão auxiliar médicos veterinários oftalmologistas a diagnosticar e tratar doenças oculares em saguis de tufo preto, além de contribuir para pesquisas na área de visão.

Palavras chave: produção lacrimal, pressão intraocular, sensibilidade corneal, espessura corneal, microbiota conjuntival, primatas

SESSA, M. **Ophthalmic diagnostic tests in black-tufted marmoset (*Callithrix penicillata*)**. Botucatu, 2020, p.56. Dissertação (Mestrado) –Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The study aimed to describe reference values for important ophthalmic diagnostic tests, such as corneal sensitivity, tear production, intraocular pressure, corneal thickness and conjunctival microbiota in black tufted marmosets (*Callithrix penicillata*). Thirteen black tuft marmosets were used, totaling 26 eyes, followed by CEMPAS by the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil. The procedures were used for chemical containment with dissociative anesthesia based on ketamine and midazolam, to perform the exams. The results obtained for corneal sensitivity with a Cochet-Bonnet esthesiometer were 5.8 ± 0.6 cm; tear production with sterile endodontic absorbent paper tip of 13 ± 3 mm / min; intraocular pressure with Tonovet Plus Icare® rebound tonometer of 22.2 ± 2.9 mmHg; corneal thickness 340.7 ± 25.5 μ m; and predominance of Gram-positive bacteria in conjunctival microbiota. There was no significant difference considering the laterality and sex of the animals ($P > 0.05$). The results obtained in ophthalmological diagnostic tests can help veterinary ophthalmologists to diagnose and treat eye diseases in the black tufted marmosets, in addition to contributing to research in the field of vision.

Keywords: tear production, intraocular pressure, corneal sensitivity, corneal thickness, conjunctival microbiota, primates.

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Os saguis de tufo preto (*Callithrix penicilata*) são primatas do Novo Mundo, também conhecidos como platirrinos ou neotropicais. São constituintes da família *Callitrichidae* e gênero *Callithrix* (1), caracterizam-se por viverem quase exclusivamente sobre as árvores, raramente descendo ao chão (2,3). Os saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*) e os saguis de tufo branco (*Callithrix jacchus*) foram introduzidos em diversas matas do Brasil, principalmente no Sudeste, e podem ser encontrados em quase todo o país (3,4). Os calitriquídeos apresentam ornamentos de cabeça como tufos, cristas e juba, que aparecem em várias espécies; têm garras nos membros anteriores e posteriores, que os auxiliam a escalar os troncos de árvores, assim como para o forrageamento de insetos e pequenos vertebrados. Constituem grupo conhecido por gerar as menores espécies de primatas, com peso variando de 100 g a 650 g (2).

Os primatas são animais bem adaptados ao ambiente arborícola e dentre suas diversas evoluções a visão tornou-se o sentido mais desenvolvido (3). O sistema visual dos primatas é um dos fatores que os diferem dos outros mamíferos. Possuem olhos frontais, campo de visão binocular amplo, acuidade visual relativamente alta e proliferação de áreas funcionais no neo-córtex, dedicadas ao processamento de informações visuais (5). A alta acuidade visual dos primatas é resultante de diversas adaptações, tais como a óptica, a alta densidade de fotorreceptores e células ganglionares da retina na região central da visão(6).

Os saguis são descritos como potenciais modelos experimentais em estudos biomédicos, devido ao seu pequeno tamanho, que se traduz em menores custos de aquisição, alimentação e manutenção em cativeiro. Comparados aos primatas do Velho Mundo, eles necessitam de espaço físico reduzido, devido ao tamanho das gaiolas, e apresentam características biológicas interessantes como período de gestação relativamente curto, rápida maturidade sexual e maior número de descendentes (7–9). Tais características atraem a atenção de pesquisadores para seu uso em campos como neurociência, toxicologia, pesquisa com célula tronco, imunidade, doenças autoimunes e biologia reprodutiva (9).

O conhecimento oftalmológico de animais selvagens pode levar a identificação de modelos experimentais de doenças oftalmológicas em humanos (10). O pequeno tamanho do globo ocular e abertura palpebral de algumas espécies dificultam o uso de técnicas convencionais de avaliação, como a produção lacrimal e microbiota conjuntival, necessitando o uso de técnicas alternativas, estas ainda pouco descritas (11).

A expansão do mercado lícito de fauna exótica, a popularização dos animais selvagens como animais de estimação e a melhoria dos cuidados médicos aos animais ameaçados de extinção, em zoológicos e na natureza, tornou indispensável à formação de médicos veterinários especialistas capazes de diagnosticar e tratar afecções oculares dos animais exóticos e selvagens (12).

A escassez de literatura científica em animais selvagens e suas características anatômicas são responsáveis pela dificuldade dos avanços de procedimentos clínicos e cirúrgicos, pois não há informações suficientes para estabelecer valores de referência nessas espécies (10).

É fundamental o conhecimento de valores de referência quanto à normalidade dos testes oftalmológicos nesta espécie, para o estabelecimento de um tratamento oftalmológico adequado. A carência em pesquisas na padronização dos parâmetros oftalmológicos dos exames mais utilizados prejudica a qualidade do atendimento e dos procedimentos clínicos e cirúrgicos prestados a esses animais. Em razão disso, muitas vezes são extrapolados parâmetros oftálmicos de outras espécies (10), limitando a avaliação de características específicas da espécie.

O objetivo deste estudo foi descrever valores de referência de variáveis importantes no exame oftalmológico dos saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*), relacionadas à mensuração da produção lacrimal, espessura corneal, pressão intraocular, sensibilidade da superfície da córnea e microbiota conjuntival. A hipótese deste trabalho é avaliar se os valores de importantes testes oftalmológicos do sagui de tufo preto serão similares a outras espécies de primatas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Saguís

Os saguis de tufo preto (*Callithrix penicilata*) são primatas do Novo Mundo, também conhecidos como platirrinos ou neotropicais, infraordem que apresenta diversos padrões de coloração e extensa distribuição geográfica. A diferença entre os platirrinos e os catarrinos, primatas do Velho Mundo, é que os primeiros têm as narinas voltadas para os lados e focinho mais curto, vivem quase que exclusivamente sobre as árvores, raramente descendo ao chão, enquanto os catarrinos tem as narinas voltadas para baixo, focinho longo e apresentam íntima relação com o solo. Ao longo dos anos, mudanças significativas ocorreram na sistemática dos platirrinos e diversos autores estudaram aspectos relacionados a filogenia e à taxonomia, por meio da morfologia e genética, com objetivo de caracteriza-los mais precisamente (2).

Antigamente, os primatas neotropicais eram classificados em duas grandes famílias, denominadas *Callitrichidae* e *Cebidae*, e um gênero monoespecífico *Callimico*, com características intermediárias entre as duas famílias. Após diversos trabalhos utilizando métodos filogenéticos e moleculares, alguns ajustes importantes foram realizados na sistemática deste grupo (2). Segundo Ryland et al. (2000)(1), os platirrinos apresentam cinco famílias, a *Callitrichidae*, *Cebidae*, *Aotidae*, *Pitheciidae* e *Atelidae*, e 18 gêneros, *Cebuella*, *Mico*, *Callithrix*, *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Saimiri*, *Cebus*, *Aotus*, *Callicebus*, *Pithecia*, *Chiropotes*, *Cacajao*, *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix*, *Oreomax* e *Brachyteles*, com 110 espécies e 205 subespécies.

Os saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*) e os saguis de tufo branco (*Callithrix jacchus*) inicialmente ocorriam no nordeste do Brasil, ao norte do Rio São Francisco e ao leste do Rio Parnaíba. Foram introduzidos em diversas matas do Brasil, principalmente no Sudeste, e hoje podem ser encontrados em quase todo o país (3,4). Os calitriquídeos apresentam ornamentos de cabeça como tufos, cristas, júbas e bigodes que aparecem em várias espécies. São um grupo conhecido constituído pelas menores espécies de primatas, com peso variando de 100 g a 650 g. Apresentam cauda longa e não preênsil, dentes diferenciados e especializados que perfuram troncos de árvores em busca de seiva, látex ou goma (2). Os saguis apresentam comprimento de cabeça e corpo de 190 a

248mm, comprimento de cauda de 270 a 350 mm, peso médio adulto de 261 a 323 g, temperatura corporal de 35,4 a 39,7 °C, frequência cardíaca de 240 a 350 bpm, frequência respiratória de 20 a 50mpm e estimativa de vida de aproximadamente 12 anos (2).

A dieta dos calitriquídeos é variada e rica em proteínas; os espécimes têm garras nos membros anteriores e posteriores, que os auxiliam a escalar os troncos de árvores, assim como o forrageamento de insetos e pequenos vertebrados(1). Seus incisivos inferiores são estreitos, com uma grossa camada de esmalte e resistentes ao desgaste na parte dianteira, favorecendo a busca de gomas e seivas como complemento à ingestão de frutos, insetos e outras presas (2).

Apresentam período de gestação relativamente curto (em média 144 dias), atingem a maturidade sexual aos 12 a 18 meses e as fêmeas tem capacidade de terem de 40 a 80 descendentes ao longo da vida, proporcionando rápida expansão das colônias, características que os colocam em vantagem em relação aos primatas do Velho Mundo, como o macaco rhesus (*Macaca mulatta*) e macaco cynomolgus (*Macaca fascicularis*), comumente utilizados nos estudos, que apresentam maturação sexual lenta (três anos) e têm menos descendentes ao longo da vida (10 descendentes em média) (8,9).

Os olhos dos saguis apresentam diâmetro médio de 11mm, considerado grande quando comparado ao seu peso corpóreo e tamanho cerebral. Sua mácula central é morfologicamente semelhante à dos primatas do Velho Mundo, nessa os cones apresentam-se dispostos em alta densidade, e bastonetes e vasos sanguíneos são ausentes, promovendo potencial acuidade visual (13).

Ressalta-se ainda como característica anatômica que os olhos dos primatas são protegidos por ossatura e que o campo visual frontal possibilita aos mesmos avaliar a noção de distância nos deslocamentos pelas árvores (2).

2.2 Avaliação da produção lacrimal

A avaliação da produção lacrimal é essencial para um exame oftalmológico completo e manejo adequado das doenças oculares (14). Os principais métodos quantitativos descritos para avaliação da porção aquosa do filme lacrimal 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 (TLPPEP) (11,15). A escolha de cada método depende do tamanho do olho e do animal a ser avaliado (16). O TLS foi descrito pela primeira vez por Otto Schirmer em 1903 (17). O teste de Schirmer I (TLSI) é o mais utilizado na medicina veterinária e consiste na colocação de uma tira especial Whatman número 41, com 5 mm de largura e 35 mm de comprimento no fórnix conjuntival ventral por 60 segundos, sem o uso de colírio anestésico (14,18). A aferição é feita por milímetros de umidade por minuto e reflete a secreção basal de lágrima e reflexa ao trigêmeo conjuntival-lacrimal (14,17). O TLSI pode ser inviável em casos de animais que apresentam olhos pequenos, com comprimento da fenda palpebral menor que 5mm, ou então, com produção lacrimal menor que a medida da tira. Para evitar dificuldades na avaliação, diferentes métodos foram propostos (11). Dentre os métodos de avaliação da produção lacrimal, pode-se utilizar o TLSm, que pode ser obtido pelo corte das tiras de Schirmer ao meio ou em diferentes larguras, porém variações do método podem impedir a comparação dos resultados, além de ser questionável a acurácia do teste devido à perda de padronização, considerando o corte manual das tiras e possível variação entre as mesmas (11,15).

O TLFV foi introduzido como uma alternativa ao TLSI, descrito pela primeira vez por Hamano em 1982. É um teste comercialmente disponível que consiste em um fio de algodão de aproximadamente 75mm, banhado em fenol vermelho, ou fenolsulfonaftaleína, um indicador sensível de pH (18,19). A inserção do fio no canto lateral do fórnix conjuntival inferior pode ser realizada com uma pinça comum e deve permanecer durante 15 segundos. O contato com a lágrima faz com que a coloração do fio mude do amarelo para vermelho-alaranjado, devido a alcalinidade da lágrima. Após esse tempo, a leitura da parte umedecida é realizada usando uma escala em milímetros localizada na caixa do teste (18,20). A espessura reduzida do TLFV é sua principal vantagem, pois o torna menos invasivo, diminuindo as chances de descarga reflexa por conta do menor contato com o olho/córnea. Desta forma, esse teste fornece valores de produção lacrimal mais fidedignos (21).

As pontas de papel endodônticas padronizadas (PPEP) são feitas de cânhamo de manila (*Musa textillis*), também conhecida como planta de abacá (15). Por apresentarem alta capacidade de absorção, são utilizadas em tratamentos odontológicos, principalmente em procedimentos endodônticos, para

secar canais radiculares, aplicar medicamentos intracanal, obter amostras de culturas microbiológicas do canal e como indicador de cor e qualidade do exsudato do canal (22,23).

Pumarola-Rune et al. (1998)(24) investigaram doze marcas de PPEP e compararam os padrões de controle de absorção. As marcas que apresentaram melhor desempenho, melhor controle de padronização e menor desvio padrão foram Zipperer, Maillefer e Roeko.

As PPEP podem ser utilizadas como método alternativo na aferição da produção lacrimal em animais de pequeno porte que apresentam tamanho de fenda palpebral reduzido. São estéreis e padronizadas com diâmetro distal de 0,3mm, o que permite o uso em espécies muito pequenas de interesse para a oftalmologia veterinária (11,15).

A ponta de papel deve ser inserida no fórnix conjuntival da pálpebra inferior e após 60 segundos é realizada a leitura da porção umedecida, que se torna flexível e dobra em contato com uma superfície rígida, como uma régua, possibilitando a leitura em milímetros. O uso da TLPPEP é prático, pois não é preciso ajuda de uma segunda pessoa para abrir a pálpebra dos animais, por ser relativamente mais rígida que os outros métodos, apenas uma pessoa é capaz de conter o animal e realizar a aferição (15).

2.3 Sensibilidade corneal

A córnea é innervada por ramos do nervo trigêmeo que originam uma variedade de nervos sensoriais que atravessam o limbo até a porção estromal, partindo para o subepitélio e finalizando no epitélio através de terminações nervosas (25). A função da inervação corneal é medida pela sensibilidade da superfície da córnea (26). Lesões na inervação da córnea em decorrência de trauma, doença ou cirurgia podem levar a diminuição da sensibilidade corneal, da cicatrização de lesões e da proliferação epitelial, além de aumentar a esfoliação da superfície ocular e a recorrência de erosões epiteliais (27).

O estesiômetro Cochet-Bonnet é o instrumento mais utilizado e é considerado um exame padrão ouro para avaliar a sensibilidade tátil da superfície ocular (28). Este consiste de um filamento de náilon de 0,08 ou 0,12 mm de diâmetro e comprimento que varia de 0,5 a 0,6cm, e promove diferentes intensidades de estímulo. A mensuração é realizada considerando o comprimento

do filamento e convertida em pressão. Quando o filamento toca a córnea, a faixa de comprimento do filamento corresponde a uma pressão de 0,4 a 15,9 g/mm², dessa forma, a pressão aplicada é inversamente proporcional ao comprimento do filamento. O limiar de toque é definido quando o filamento toca a córnea e resulta em um reflexo de piscar (28,29). É importante determinar os valores de referência normais de sensibilidade corneal para investigar alterações que podem comumente ocorrer em doenças oftalmológicas e sistêmicas (27).

2.4 Espessura corneal

A mensuração precisa da espessura corneal é de extrema importância na oftalmologia, pois determina as condições de integridade ocular (30,31). Trata-se de variável que interfere sobre a hidratação e o metabolismo da córnea. Alterações na integridade da barreira endotelial ou na bomba endotelial podem levar ao edema da córnea, aumentando sua espessura (32). Determinar a espessura corneal é importante para diagnosticar doenças, planejar cirurgias, monitorar a resposta ao tratamento e monitorar a progressão de doenças oculares (30,31).

Defeitos na espessura da córnea, maiores ou iguais a 3mm, são considerados emergências oftálmicas que comprometem a visão e manutenção do globo ocular (33). Técnicas cirúrgicas como enxertos conjuntivais, membranas amnióticas e renais, enxerto corneal lamelar e enxertos de espessura total corneal são propostas para reparar danos que afetam a espessura da córnea, como úlceras profundas e perfurações corneais (30,33).

A aferição da espessura corneal pode ser realizada utilizando-se equipamentos como paquímetro ultrassônico, microscópio confocal, biomicroscopia ultrasônica, tomógrafo de coerência óptica e o dispositivo de imagem Pentacam (Oculus) (30,31,34). O paquímetro ultrassônico é o método mais conveniente para mensurar a espessura da córnea na oftalmologia veterinária. É um equipamento acessível, objetivo, econômico, com medições precisas, de alta repetitividade e considerado diagnóstico padrão para mensuração da espessura corneal (31,35). A probe deve ser aplicada perpendicularmente no centro da superfície ocular, onde são realizadas mensurações consecutivas da espessura corneal, sendo que, ao final do processo o equipamento calcula automaticamente a média de todas as aferições (36).

2.5 Pressão intraocular

A mensuração da pressão intraocular (PIO), ou tonometria, é a base para o diagnóstico de doenças como glaucoma e uveíte (37,38). O método mais preciso para determinar a PIO é pela tonometria direta via manômetro, porém é invasivo e impraticável no atendimento clínico. O método mais utilizado na clínica oftalmológica é a tonometria indireta, por mensuração da tensão corneal, uma via simples, rápida e não invasiva, com mínimo desconforto para o paciente (39). Os equipamentos mais utilizados para aferição da PIO na oftalmologia veterinária são os tonômetros de aplanção Tono-Pen Vet™ (Reichert, Depew, New York, USA) e Tono-Pen AVIA Vet™ (Reichert, Depew, New York, USA), e os tonômetros de rebote, ICare® TonoVet (Icare Finland Oy, Helsinki, Finland) e o recentemente lançado, ICare® TonoVet Plus (Icare Finland Oy, Helsinki, Finland)(40).

O Tono-Pen Vet™ possui uma área de superfície de aproximadamente 3mm de diâmetro e após o uso de colírio anestésico, requer toques suaves na superfície central da córnea, dessa forma, o operador-dependente é um componente de variabilidade significativo nas medições (41). Os tonômetros ICare® TonoVet e TonoVet Plus, são tonômetros de rebote que baseiam-se no princípio de fazer um objeto em movimento colidir com a córnea e monitorar os parâmetros de movimento do objeto (41). Uma probe eletromagneticamente impulsionada toca a superfície da córnea de forma rápida e após isso retorna ao aparelho. O instrumento verifica as características de rebote, ou seja, a desaceleração da probe, e olhos com PIO baixa apresentam menor desaceleração da probe que olhos com PIO alta, dessa forma, quanto maior a PIO, menor a duração do impacto (39,41).

Os erros de usuários dos tonômetros de rebote são praticamente nulos, pois o operador apenas aperta o botão para mensuração e não promove contato com o globo ocular, adicionalmente não é necessário o uso de colírio anestésico, devido a um impacto sutil e rápido no olho, de aproximadamente 0,3m/s (41). O ICare® TonoVet possui programas de softwares para cães, gatos e cavalos, enquanto o ICare® TonoVet Plus possui programas para cães, gatos, cavalos e coelhos e obtêm recursos que permitem a aferição apenas quando o equipamento está em posição e distância adequada do animal (40,41).

Gloe et al (2019)(40) realizaram estudo comparando as aferições da PIO com o ICare® TonoVet Plus, Icare® TonoVet, o Tono-Pen Vet TM e o Tono-Pen AVIA Vet TM com o manômetro em coelhos e obtiveram como resultado valores de PIO do ICare® TonoVet Plus significativamente mais próximas a PIO manometria, seguidos do Icare® TonoVet, Tono-Pen AVIA Vet TM e Tono-Pen Vet TM, descrevendo valores subestimados principalmente com o Tono-Pen AVIA Vet TM e Tono-Pen Vet TM. Cada espécie animal tem suas particularidades e diferenças, dessa forma, utilizar os valores de referência de uma espécie para outra diminui a qualidade do diagnóstico, além de muitas vezes ser impossível, o que torna imprescindível a determinação desses valores para cada espécie (37).

2.6 Microbiota conjuntival

O olho é exposto constantemente a diversas bactérias de alto potencial patogênico e pode ser vítima desses microrganismos após lesão ou doença sistêmica. O sistema imune do animal e a integridade das barreiras anatomofisiológicas determinam o ambiente microbiano. O conhecimento da microbiota conjuntival e dos métodos para isolar esses microrganismos auxiliam no diagnóstico e tratamento das doenças oculares (42).

A microbiota conjuntival normal de qualquer espécie é composta por uma série de bactérias heterogêneas, não invasivas, que povoam as superfícies mucosas. Acredita-se que a maioria dessas bactérias minimizem a oportunidade de organismos patogênicos se instalarem e causarem danos ao olho (43). Alterações ambientais, doenças e características do animal podem alterar a microbiota ocular (44).

A coleta de amostras para cultivo microbiológico usualmente é realizada utilizando-se swabs estéreis, sem a aplicação de colírio anestésico prévio, pois estes podem inibir o crescimento de microrganismos. 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 realizada a cultura em placa ágar (45). As PPEP são recomendadas como método de diagnóstico microbiológico de amostras subgengivais, por não ser um método invasivo e serem transportadas de maneira fácil (46).

REFERÊNCIAS¹

1. Rylands AB, Scheneider H, Langguth A, Mittermeier RA, Groves CP, Rodriguez-Luna E. An assessment of the diversity of New World primates. *Neotrop Primates*. 2000;8:61–93.
2. Verona CE, Pissinatti E. Primates- Primatas do Novo Mundo (Sagui, Macaco-prego, Macaco-aranha, Bugio e Muriqui). In: *Tratado de Animais Selvagens*. 2º ed São Paulo, SP, Brazil: Roca; 2014.
3. Auricchio P, Granstasu R. Primatas do Brasil. 1º ed. São Paulo, SP, Brazil: Terra Brasilis; 1995. 352 p.
4. Primack R., Rodrigues E. Ameaças a diversidade biológica. In: *Biologia da Conservação*. 1º ed Londrina, PR, Brazil; 2001. p. 69–133.
5. Ross CF, Kirk EC. Evolution of eye size and shape in primates. *J Hum Evol*. 2007;52(3):294–313.
6. Mitchell JF, Leopold DA. The marmoset monkey as a model for visual neuroscience. *Neurosci Res*. 2015;93:20–46.
7. Gisela Eppele. Maintenance, breeding, and development of marmoset monkeys (Callithricidae) in captivity. *Folia Primat*. 1970;12(479):56–76.
8. Mansfield K. Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med*. 2003;53(4):383–92.
9. Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, Hanazawa K, Oiwa R, Kamioka M, et al. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* [Internet]. 2009;459(7246):523–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature08090>
10. Lange RR. Anatomia, morfologia e fisiologia ocular de algumas espécies de interesse na medicina de animais selvagens e de laboratório com ênfase em primatas neotropicais. 2012.
11. Lange RR, Lima L, Przydzimirski AC, Montiani-Ferreira F. 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. *Vet Ophthalmol*. 2013;17(1):41–5.
12. Ferreira FM. Oftalmologia. In: CUBAS ZS, SILVA JC, DIAS JL., organizadores. *Tratado de Animais Selvagens*. 2º ed São Paulo, SP, Brazil; 2014. p. 1947–69.
13. Solomon SG, Rosa MGP. A simpler primate brain: The visual system of the marmoset monkey. *Front Neural Circuits*. 2014;8(AUG):1–24.
14. Visser HE, Tofflemire KL, Love-Myers KR, Allbaugh RA, Ellinwood NM, Dees DD, et al. Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in

¹ Normas bibliográficas no padrão Vancouver.

- the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. *Vet Ophthalmol.* 2017;20(6):522–5.
15. Lange RR, 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. *Vet Ophthalmol.* 2012;15(6):376–82.
 16. Lima L, Lange RR, Turner-Giannico A, Montiani-Ferreira F. Evaluation of standardized endodontic paper point tear test in New Zealand white rabbits and comparison between corneal sensitivity followed tear tests. *Vet Ophthalmol.* 2014;18(s1):119–24.
 17. Serruya LG, Nogueira DC, Hida RY. Schirmer test performed with open and closed eyes: variations in normal individuals. *Arq Bras Oftalmol.* 2009;72(1):65–7.
 18. Hida RY, Nishiwaki-Dantas MC, Hida MM, Tsubota K. Estudo quantitativo da lágrima pelo teste de fenol vermelho na população brasileira. *Arq Bras Oftalmol.* 2005;68(4):433–7.
 19. Sakamoto R, Bennett ES, Henry VA, Paragina S, Narumi T, Izumi Y, et al. The phenol red thread tear test: A cross-cultural study. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34(13):3510–4.
 20. Barabino S, Chen W, Dana MR. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: Uses and limitations. *Exp Eye Res.* 2004;79(5):613–21.
 21. Doughty MJ, Whyte J, Li W. The phenol red thread test for lacrimal volume - Does it matter if the eyes are open or closed? *Ophthalmic Physiol Opt.* 2007;27(5):482–9.
 22. Pereira C da C, Gomes MS, Della Bona A, Vanni JR, Kopper PMP, de Figueiredo JAP. Evaluation of two methods of measuring the absorbing capacity of paper points. *Dent Mater.* 2008;24(3):399–402.
 23. Edwards RO, Bandyopadhyay S. Physical and mechanical properties of endodontic absorbent paper points. *J Endod.* 1981;7(3):123–7.
 24. Pumarola-Suñé J, Solá-Vicens L, Sentís-Vilalta J, Canalda-Sahli C, Brau-Aguadé E. Absorbency properties of different brands of standardized endodontic paper points. *J Endod.* 1998;24(12):796–8.
 25. Barrett P, Scagliotti R, Merideth R, Jackson P, Alarcon F. Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. *Prog Vet Comp Ophthalmol.* 1991;1(4):245–54.
 26. Chao C, Stapleton F, Badarudin E, Golebiowski B. Ocular surface sensitivity repeatability with Cochet-Bonnet esthesiometer. *Optom Vis Sci.* 2015;92(2):183–9.
 27. Rankin AJ, Hosking KG, Roush JK. Corneal sensitivity in healthy, immature, and adult alpacas. *Vet Ophthalmol.* 2012;15(1):31–5.
 28. Stapleton F, Marfurt C, Golebiowski B, Rosenblatt M, Bereiter D, Begley C, et al. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: Report of the subcommittee on neurobiology. *Investig Ophthalmol Vis Sci.*

- 2013;54(11).
29. Tofflemire KL, Whitley EM, Dewell RD, Gould SA, Allbaugh RA, Ben-Shlomo G, et al. Corneal sensitivity in healthy bovine calves. *Vet Ophthalmol*. 2014;17(4):305–8.
 30. Jeong S, Kang S, Park S, Park E, Lim J, Nam T, et al. Comparison of corneal thickness measurements using ultrasound pachymetry, ultrasound biomicroscopy, and digital caliper in frozen canine corneas. *Vet Ophthalmol*. 2018;21(4):339–46.
 31. Alario AF, Pirie CG. Central corneal thickness measurements in normal dogs: A comparison between ultrasound pachymetry and optical coherence tomography. *Vet Ophthalmol*. 2014;17(3):207–11.
 32. Coyo N, Peña MT, Costa D, Ríos J, Lacerda R, Leiva M. Effects of age and breed on corneal thickness, density, and morphology of corneal endothelial cells in enucleated sheep eyes. *Vet Ophthalmol*. 2016;19(5):367–72.
 33. Lacerda RP, Peña Gimenez MT, Laguna F, Costa D, Ríos J, Leiva M. Corneal grafting for the treatment of full-thickness corneal defects in dogs: a review of 50 cases. *Vet Ophthalmol*. 2017;20(3):222–31.
 34. Barkana Y, Gerber Y, Elbaz U, Schwartz S, Ken-Dror G, Avni I, et al. Central corneal thickness measurement with the Pentacam Scheimpflug system, optical low-coherence reflectometry pachymeter, and ultrasound pachymetry. *J Cataract Refract Surg*. 2005;31(9):1729–35.
 35. Villar T, Pascoli AL, Klein A, Chacaltana FC, Capistrano E, Shipley CF, et al. Tear production, intraocular pressure, and central corneal thickness in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Vet Ophthalmol*. 2019;(June):1–6.
 36. Fujioka M, Nakamura M, Tatsumi Y, Kusuhara A, Maeda H, Negi A. Comparison of Pentacam Scheimpflug camera with ultrasound pachymetry and noncontact specular microscopy in measuring central corneal thickness. *Curr Eye Res*. 2007;32(2):89–94.
 37. Ofri R, Horowitz IH, Kass PH. Tonometry in three herbivorous wildlife species. *Vet Ophthalmol*. 1998;1(1):21–4.
 38. Oriá AP, Pinna MH, Almeida DS, da Silva RMM, Pinheiro ACO, Santana FO, et al. Conjunctival flora, Schirmer's tear test, intraocular pressure, and conjunctival cytology in neotropical primates from Salvador, Brazil. *J Med Primatol*. 2013;42(6):287–92.
 39. Featherstone HJ, Heinrich CL. Ophthalmic Examination and Diagnostics. In: GELATT KN, GILGER BC, KERN TJ, organizadores. *Veterinary Ophthalmology*. Iowa: John Wiley & Sons; 2013. p. 533–613.
 40. Gloe S, Rothering A, Kiland JA, McLellan GJ. Validation of the Icare® TONOVET plus rebound tonometer in normal rabbit eyes. *Exp Eye Res* [Internet]. 2019;185(June):107698. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107698>
 41. Leiva M, Naranjo C, Peña MT. Comparison of the rebound tonometer

- (ICare®) to the applanation tonometer (Tonopen XL®) in normotensive dogs. *Vet Ophthalmol*. 2006;9(1):17–21.
42. Gerding PA, Kakoma I. Microbiology of the canine and feline eye. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* [Internet]. 1990;20(3):615–25. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0195-5616\(90\)50053-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0195-5616(90)50053-4)
 43. Chandler JW, Gillette TE. Immunologic Defense Mechanisms of the Ocular Surface. *Ophthalmology* [Internet]. 1983;90(6):585–91. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0161-6420\(83\)34510-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0161-6420(83)34510-3)
 44. Lu LJ, Liu J. Human microbiota and ophthalmic disease. *Yale J Biol Med*. 2016;89(3):325–30.
 45. Church DL. Ocular Cultures. In: Leber AL, organizador. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 4^o ed Washington, DC: ASM Press; 2016.
 46. Hartroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: Evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol*. 1999;14(5):326–30.

Capítulo 2

Testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*)

Trabalho a ser enviado para a revista “Veterinary Ophthalmology”

**DETERMINAÇÃO DE VALORES DE REFERÊNCIA DOS PRINCIPAIS
TESTES DIAGNÓSTICOS OFTALMOLÓGICOS EM SAGUI DE TUFO
PRETO (*Callithrix penicillata*)**

Resumo

Objetivo: Realizar testes diagnósticos oftalmológicos e obter valores de referência em saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*) saudáveis.

Animal estudado: Foram avaliados 13 saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*), totalizando 26 olhos.

Métodos: Testes diagnósticos oftalmológicos foram realizados, incluindo sensibilidade corneal com o estesiômetro Cochet-Bonnet, avaliação da produção lacrimal e da microbiota conjuntival normal utilizando pontas de papel absorventes endodônticas padronizadas, tonometria de rebote e espessura corneal central, sob anestesia dissociativa.

Resultados: Sensibilidade corneal $5,8 \pm 0,6\text{cm}$; produção lacrimal $13 \pm 3\text{mm/min}$; pressão intraocular $22,2 \pm 2,9\text{mmHg}$; espessura corneal $340,7 \pm 25,5\mu\text{m}$; *Staphylococcus spp.* e *Corynebacterium spp.* foram as principais bactérias isoladas da conjuntiva, sugerindo-as como constituintes da flora conjuntival do sagui de tufo preto.

Conclusão: Os resultados obtidos neste trabalho auxiliarão médicos veterinários oftalmologistas a diagnosticar doenças oculares em saguis de tufo preto e dessa forma, indicar o tratamento adequado para esta espécie.

Palavras chave: *Callithrix penicillata*, pontas de papel endodônticas padronizadas, pressão intraocular, espessura corneal, sensibilidade corneal, flora conjuntival.

INTRODUÇÃO

Os saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*) são primatas do Novo Mundo (Infraordem: *Platyrrhini*, Subordem: *Anthropoidea*) pertencentes à família *Callitrichidae*, originalmente localizados no nordeste do Brasil, ao norte do Rio São Francisco e ao leste do Rio Parnaíba. Foram introduzidos em diversas matas do Brasil, principalmente no Sudeste e podem ser encontrados em quase todo o país. (2–4). Sua alimentação depende da sua eximia capacidade em escalar troncos de árvores e obter seiva, látex ou goma, bem como realizar forrageamento de insetos e pequenos vertebrados (2).

O sistema visual dos primatas é um dos fatores que os diferem dos outros mamíferos. Possuem olhos frontais, campo de visão binocular amplo, alta acuidade visual e proliferação de áreas funcionais no neo-córtex dedicadas ao processamento de informações visuais (5). A alta acuidade visual dos primatas é resultante de diversas adaptações, como , sua óptica, a alta densidade de fotorreceptores e células ganglionares da retina na região central da visão (6).

Os saguis são autorizados pelo Ibama como animais de estimação e foram descobertos como potenciais modelos experimentais em estudos biomédicos (7–9). Dessa forma, o conhecimento oftalmológico de animais selvagens pode levar a identificação de modelos experimentais de doenças oftálmicas em humanos além de contribuir sobremaneira para conservação ambiental da espécie e no atendimento na clínica médica e cirúrgica dos pets não convencionais (10). O pequeno tamanho do

bulbo ocular e abertura palpebral de algumas espécies, relativo ao pequeno tamanho da cabeça, dificultam o uso de técnicas convencionais de avaliação de parâmetros como a produção lacrimal, necessitando o uso de técnicas alternativas em que não há ou há poucos valores de referência descritos (11). Estudos sobre características oftálmológicas e testes de diagnóstico em primatas normais são escassos, e estabelecer valores de referência para animais exóticos, selvagens e de laboratório é uma importante área de pesquisa para a visão descritiva (47).

Traumas, doenças e cirurgias da superfície ocular podem lesar a inervação da córnea, alterar a sensibilidade corneal e predispor a formação de ceratites ulcerativas constantes. Determinar os valores de referência normais da sensibilidade corneal é importante para investigar alterações oftálmológicas e sistêmicas (27). Não foram encontrados estudos em primatas incluindo saguis de tufo preto. A avaliação da produção lacrimal é essencial para um exame oftálmológico completo e manejo adequado das doenças oculares comuns (14). A aferição da produção lacrimal em animais de pequeno porte, com abertura de fenda palpebral diminuta apresenta-se ainda como um desafio no exame oftálmológico. As pontas de papel endodônticas padronizadas (PPEP) podem ser utilizadas como método alternativo, caracterizam-se por serem estéreis e padronizadas (11,15). Sob conhecimento dos autores, há apenas um trabalho que descreve os valores de produção lacrimal utilizando o teste lacrimal de ponta de papel endodôntica padronizada (TLPPEP) em saguis de tufo preto(15).

O conhecimento da microbiota conjuntival e dos métodos para isolar esses microrganismos auxiliam no diagnóstico e tratamento das doenças oculares (42). Sob conhecimento dos autores, há apenas um trabalho descrevendo a microbiota conjuntiva de saguis de tufo preto utilizando a técnica convencional com swabs. A

mensuração da pressão intraocular (PIO), ou tonômetria, é a base para o diagnóstico de importantes doenças como glaucoma e uveíte (37,38). Ao conhecimento dos autores, não há estudos descrevendo a PIO em saguis de tufo preto utilizando o tonômetro de rebote, até o momento. Mensurar a espessura corneal é importante para determinar a integridade da córnea. Obter valores de referência da espessura corneal é importante para planejar cirurgias, diagnosticar doenças e monitorar a resposta ao tratamento instituído (30,31). Até o presente momento, ao conhecimento dos autores, não há valores descritos em saguis de tufo preto.

A carência em pesquisas na padronização dos valores de parâmetros oftalmológicos mais utilizados prejudica a qualidade do atendimento e dos procedimentos clínicos e cirúrgicos prestados a esses animais (10). Isto posto, o objetivo deste estudo foi determinar valores de referência das variáveis oftalmológicas importantes no exame oftalmológico dos saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*), relacionados à mensuração da produção lacrimal, espessura corneal, pressão intraocular, sensibilidade da superfície da córnea e microbiota conjuntival.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA (0052/2018) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) de Botucatu e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO 62090. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com a Declaração para Uso de Animais em Pesquisa Oftalmológica e Visão da ARVO. Um total de 13 saguis de tufo preto adultos foram avaliados, sendo cinco fêmeas e oito machos. Os animais eram residentes do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Silvestres (CEMPAS) da UNESP,

localizado em Botucatu, São Paulo, Brasil (22° 53' 14,92383" sul; 48° 29' 32,55131" oeste).

Todos os saguis foram submetidos a exames físico, bem como oftalmológico, em uma sala climatizada à 25°C, utilizando a biomicroscopia com lâmpada de fenda (Kowa SL-15, Kowa Optimed Inc., Califórnia), a fim de descartar aqueles que apresentavam sinais de doenças oculares ou sistêmicas. O comportamento agressivo e inquieto da espécie impossibilitou a realização do estudo apenas com contenção física, dessa forma, os animais ficaram em jejum alimentar durante sete horas e hídrico por 2 horas, e foram submetidos à anestesia dissociativa à base de cetamina (10mg/kg) e midazolam (1mg/kg). O tempo médio de anestesia foi de 15 a 20 minutos. A sequência dos procedimentos realizados foi (i) avaliação da sensibilidade corneal (Estesiômetro de Cochet-Bonnet, Luneau Ophtalmologie®, França); (ii) teste lacrimal de ponta de papel absorvente endodôntico estéril (Roeko Color size 30; Langenau, Germany); (iii) coleta da microbiota conjuntival; (iv) tonometria de rebote (Tonovet Plus, Icare®); (v) paquimetria corneal (Handy Pachymeter SP-100, Tomey Corporation®, Japan).

Sensibilidade corneal

A avaliação da sensibilidade corneal foi realizada com auxílio do estesiômetro de Cochet-Bonnet, (Luneau Ophtalmologie®, França), composto por um filamento de nylon de 0,12mm de diâmetro e 60mm de comprimento; este ao tocar a córnea estimula as fibras nervosas, tendo como reflexo o movimento de piscar. O filamento foi pressionado contra a região central da córnea, perpendicularmente, até que o mesmo se curvasse. O procedimento foi repetido com reduções gradativas de cinco milímetros de comprimento. Para a determinação da sensibilidade corneal foi considerado o maior comprimento, capaz de desencadear o reflexo de piscar.

Teste lacrimal de ponta de papel absorvente endodôntico estéril

A ponta de papel absorvente endodôntica estéril (Roeko Color size 30; Langenau, Germany) foi utilizada para mensuração da produção lacrimal. As pálpebras foram abertas manualmente e, então, a ponta de papel endodôntica foi inserida no fórnix conjuntival inferior com o auxílio de uma pinça. Após 60 segundos de avaliação, a ponta de papel foi removida e realizada a leitura imediata em milímetros da porção umedecida com auxílio de uma régua milimetrada padronizada.

Cultivo da microbiota conjuntival

O cultivo da microbiota conjuntival foi realizado pela inserção e raspagem superficial suave de uma ponta de papel absorvente endodôntica estéril (Roeko Color size 45; Langenau, Germany) no fórnix conjuntival inferior, evitando contato com as pálpebras, após absorção e coleta do material, ato contínuo a ponta de papel foi inserida no meio de transporte Stuart, refrigerada e encaminhada imediatamente para cultivo. Para o processamento das amostras foram realizadas semeaduras em meio Ágar MacConkey e Ágar Sangue enriquecidos em caldo de *Brain-Heart Infusion*, incubadas em condições de aerobiose a 37°C e observadas por um período de 24, 48, 72 e 96 horas. As amostras que apresentaram isolamento positivo foram submetidas a provas taxonômicas para identificação das microbiotas isoladas.

Pressão intraocular

A avaliação da PIO foi realizada utilizando-se o tonômetro de rebote (Tonovet Plus, Icare®). O aparelho foi ajustado para a função de leitura em coelhos, menor animal disponível no software do equipamento. Cuidados especiais foram adotados para prevenir alterações iatrogênicas de PIO, como contenção física adequada sem

pressão na região cervical. O aparelho foi posicionado em direção à região axial da córnea e realizadas três mensurações em cada olho, então, foi calculada a média aritmética para determinação do valor final.

Espessura corneal

Para a mensuração da espessura central da córnea, foi instilado o anestésico tópico (Anestalcon® - Cloridrato de Proximetacaína 0,5%, ALCON LABORATÓRIOS DO BRASIL LTDA) em ambos os olhos do animal, a probe do paquímetro (Handy Pachymeter SP-100, Tomey Corporation®, Japan) foi suavemente posicionada no centro da córnea até a obtenção de oito medidas (μm). Os valores foram automaticamente registrados, e, então foi, calculada a média aritmética pelo aparelho.

Análise estatística

O estudo comparativo envolvendo sexo e olho foi realizado pela técnica de análise de variância multivariada para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferroni (54). Para as variáveis qualitativas categorizadas (sexo e microbiota conjuntival segundo os olhos), utilizou-se o teste quiquadrado para uma amostra e o teste de Goodman para a homogeneidade entre populações binomiais, foi adotado o nível de 5% de significância. (55).

RESULTADOS

Na comparação dos testes oftalmológicos realizados considerando a lateralidade dos olhos, e gênero dos saguis (apêndice) não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$). A distribuição dos indivíduos por sexo foi de 38,5% fêmeas ($n=5$) e 61,5% machos ($n=8$). Na tabela 1 foram apresentados os resultados gerais dos diferentes testes oftalmológicos realizados.

Tabela 1. Valores descritivos, média e desvio padrão, obtidos nos diferentes testes diagnósticos oftalmológicos em sagui de tufo preto (*Callithrix penicillata*) ($n=13$), segundo olho e sexo.

Variável	Sexo	Oho			
		Direito (D)	Esquerdo (E)	Valor p	D + E
Produção Lacrimal (mm/min)	M	12 ± 4	11 ± 3	$p > 0,05$	12 ± 3
	F	14 ± 2	13 ± 4	$p > 0,05$	14 ± 3
	Valor p	$p > 0,05$	$p > 0,05$		$p > 0,05$
	M + F	13 ± 3	12 ± 3	$p > 0,05$	13 ± 3
Estesiometria (cm)	M	6 ± 0,2	5,6 ± 1	$p > 0,05$	5,8 ± 0,8
	F	5,9 ± 0,2	5,9 ± 0,2	$p > 0,05$	5,9 ± 0,2
	Valor p	$p > 0,05$	$p > 0,05$		$p > 0,05$
	M + F	5,9 ± 0,1	5,7 ± 0,8	$p > 0,05$	5,8 ± 0,6
Pressão Intraocular (mmHg)	M	21 ± 2,1	22 ± 3,8	$p > 0,05$	21,5 ± 3
	F	23 ± 3,1	24,2 ± 2,4	$p > 0,05$	23,6 ± 2,7
	Valor p	$p > 0,05$	$p > 0,05$		$p > 0,05$
	M + F	21,8 ± 2,4	22,6 ± 3,3	$p > 0,05$	22,2 ± 2,9
Paquimetria (μm)	M	338,5 ± 19,1	343,8 ± 37,2	$p > 0,05$	341,1 ± 28,7
	F	338,8 ± 21,2	341,4 ± 23	$p > 0,05$	340,1 ± 20,9
	Valor p	$p > 0,05$	$p > 0,05$		$p > 0,05$
	M + F	338,6 ± 19	342,8 ± 31,4	$p > 0,05$	340,7 ± 25,5

Negrito: comparação entre sexos (M x F)

Preto: comparação entre olhos (D x E)

As bactérias foram identificadas em 15 das 26 amostras microbiológicas dos olhos dos saguis de tufo preto, totalizando 57,7% de positividade (apêndice). Foram isoladas *Staphylococcus spp.* (60%), *Corynebacterium spp.* (20%), *Streptococcus α -hemolítico* (6,7%), *Bacillus spp.* (6,7%) e *Staphylococcus β -hemolítico* (6,7%) (apêndice). Não foram isoladas bactéria Gram- negativas em nenhum dos olhos dos animais.

DISCUSSÃO

Este estudo possibilitou a descrição de valores de referências em importantes testes oftalmológicos dos saguis de tufo preto, bem como a apresentação de uma maneira simples inovadora considerando a realização da cultura da flora conjuntival em espécies com pequeno tamanho relativo da superfície ocular. A descrição da PIO utilizando tonômetro de rebote e espessura corneal central também apresentaram esta característica inovadora. O comportamento característico dos saguis de tufo preto avaliados impossibilitou a realização dos exames apenas com contenção física, sendo mandatória contenção química para maior segurança dos animais, avaliadores e realização adequada dos exames. Ressalta-se que esse poderá ser um procedimento rotineiro no exame oftalmológico da espécie tornando os valores próximos aos obtidos tanto na clínica de animais selvagens, quanto em condições experimentais, corroborando a literatura (56,57). Dessa forma, todos os parâmetros foram obtidos após contenção química. Os dados obtidos neste estudo podem ser utilizados como ponto de referência inicial em outras espécies de saguis, que não possuem parâmetros relatados na literatura, embora deva-se sempre estudar a especificidade de cada espécie. Quanto aos testes realizados, ao conhecimento dos autores, não há valores de referência descritos para sensibilidade corneal em saguis de tufo preto, bem como

primatas não humanos. Há estudos que descrevem a sensibilidade corneal com do estesiômetro Cochet-Bonnet em humanos com valor médio de 6cm (58), próximo ao valor encontrado neste estudo e similar ao valor encontrado para tartarugas de cabeça vermelha (5.84 ± 0.48 cm) (48), indicando alta sensibilidade corneal nessas espécies. Estudos avaliando a sensibilidade corneal de cães ($1,55 \pm 0,54$ cm) (25), porquinhos da índia ($2 \text{ cm} \pm 0.6$ cm) (59), cavalos ($2,1 \pm 0,6$ cm) (60), chinchilas (1.24 ± 0.46 cm) (49) e aves de rapina (4.9 ± 1.7 cm) (62), referem valores de sensibilidade corneal menores à espécie estudada, esta portanto é uma característica importante dos saguis de tufo preto. Sugere-se que os hábitos alimentares e habitat da espécie corroboram a esse achado, destacando a importância da visão e sua alta sensibilidade para a preservação do mesmo.

Estudos avaliando o uso do TLPPEP em animais que apresentam olhos de tamanho reduzido são cada vez mais frequentes (11,15,16,63,64). Observou-se tratar de método de fácil aplicação, em decorrência da característica firme do material, facilitando a inserção no fórnix conjuntival inferior e permitindo a realização bilateral simultânea e por um único avaliador. Adicionalmente, nas condições realizadas, notou-se mínimo desconforto ocular, realização do teste com intervalo de alguns segundos, o que diminui o tempo de contenção e consequentemente o estresse ao animal, mesmo sob anestesia, corroborando os trabalhos em coelhos, saguis e animais de laboratório (11,15,16).

Lima et al. (2014) (16) compararam a sensibilidade corneal antes, imediatamente após (T=0), um minuto após (T=1), três repetições a cada cinco minutos e após 10 minutos (T= 6, 11, 16 e 26) da realização do TLPPEP e do teste lacrimal de Schirmer I (TL SI) em coelhos e demonstraram que não houve diferença

significativa nos valores de sensibilidade corneal no TLPPEP, diferente do obtido após a realização do TLSI. Enquanto o TLPPEP não alterou a sensibilidade corneal após sua realização, o TLSI aumentou a sensibilidade em até 16 minutos após sua realização. Tais resultados demonstram que o TLPPEP pode ser utilizado em animais de olhos e abertura palpebral reduzidos, por ser uma opção de fácil uso, baixo custo e alta precisão, com mínima irritação ocular e alteração na sensibilidade corneal, similar ao observado neste estudo em saguis.

Lange et al. (2012) (15) compararam três métodos de avaliação lacrimal em saguis de tufo preto: teste lacrimal de Schirmer modificado (TLSm), teste lacrimal fenol vermelho (TLFV) e TLPPEP; e relataram dificuldade de realização com o TLSm e TLFV, devido a perda de padronização e dificuldade de realização ocasionada pela flexibilidade do fio do teste, respectivamente. O TLPPEP apresentou-se como alternativa prática, conforme já descrito anteriormente sua rigidez facilita a inserção no fórnix conjuntival, sem tocar em outras estruturas e apenas uma pessoa é suficiente para realizar o teste e sua leitura. Os valores descritos de 9.32 ± 3.09 mm/min(15) no TLPPEP para a espécie, sem o uso de anestesia, foram inferiores aos resultados obtidos no presente estudo. Talvez o uso de contenção química, possa ter interferido nos valores, embora o resultado esperado fosse redução e não aumento, de acordo com trabalhos desenvolvidos em cão que instituíram anestesia geral e verificaram a produção lacrimal (65,66). Especificamente com anestesia dissociativa, incluindo cetamina e midazolam utilizados, do conhecimento dos autores, não foram encontrados trabalhos. Outro fator a ser considerado, é o estresse, descrito também como redutor da produção lacrimal, especialmente em animais selvagens não domesticados submetidos à contenção física (67).

A diferença na umidade relativa do ar durante o desenvolvimento do experimento também deve ser considerada, pois em condições inferiores a evaporação da lágrima pode-se apresentar superior. *Abusharha e Pierce* (2013)(68) compararam a taxa de evaporação e produção lacrimal de humanos em ambientes com a mesma temperatura e umidades relativas do ar distintas e obtiveram resultados negativos no ambiente mais seco, podendo ser um fator a ser considerado quanto a diferença observada entre os trabalhos em saguis de tufo preto.

Outros estudos escreveram valores de produção lacrimal por meio do TLPPEP em mamíferos: ratazana (6.18 ± 2.06 mm), camundongos (4.39 ± 1.45 mm) (11), coelhos (13.8 ± 1.5 mm/min) (16); aves: canários da terra (5.10 ± 0.26 mm), curiós (4.11 ± 0.34 mm) (11), e reptéis: tartaruga de orelha vermelha (8.79 ± 0.38 mm) jacaré de papo amarelo (17.1 ± 2.5 mm/min) (69), sapos dourados do Panamá (2 ± 1 mm/min) (70), sendo que, os coelhos foram os que apresentaram valores médios mais próximos aos saguis.

Acredita-se que a heterogeneidade e não invasidade das bactérias constituintes da microbiota conjuntival normal, em sua maioria minimizam a oportunidade de organismos patogênicos se instalarem e causarem lesões ao olho (43), daí a importância do conhecimento desta. Alterações ambientais, doenças e características específicas da espécie podem alterar a microbiota ocular (44). Na odontologia, as pontas de papel endodônticas são recomendadas como método de diagnóstico microbiológico de amostras subgengivais, por não se tratar de método invasivo e serem transportadas de maneira fácil (46). A pequena abertura palpebral dos saguis levou os autores a buscar alternativas para a coleta da microbiota conjuntival, uma vez que os swabs padrões são grandes e impossibilitam a inserção no fornix

conjuntival e swabs menores não tem disponibilidade comercial e tem alto custo. A ponta de papel endodôntica, por ser estéril e também ser utilizada como meio de coleta de amostras subgengivais, se mostrou uma boa opção para os saguis, possibilitando uma facilidade de utilização prática e a disseminação da cultura na clínica de animais selvagens. *Hartroth et al. (1999)* (46) avaliaram em seu estudo parâmetros como tamanho e tempo de sondagem das pontas de papel para otimizar a amostragem microbiológica. Definiram o tamanho 45 como ideal e demonstraram que o tempo de sondagem não interfere na taxa de recuperação bacteriana, esse padrão comparativo foi o instituído neste estudo. Não foi encontrado, do conhecimento dos autores, estudos que utilizaram as pontas de papel absorventes endodônticas como meio de coleta de amostras microbianas conjuntivais, sendo este estudo pioneiro nesta técnica, que se mostra eficiente e de fácil uso, tornando-a alternativa relevante e importante 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.

Oriá et al. (2013)(38) identificaram a microbiota conjuntival de saguis de tufo preto (n=8), saguis de tufo branco (n=31), macacos prego (n=22) e macacos prego de peito amarelo (n=9) por meio da coleta no fórnix conjuntival inferior com swabs estéreis convencionais e descreveram resultados similares aos encontrados neste estudo. Na grande maioria das amostras identificou-se bactérias Gram-positivas, com alta prevalência de *Staphylococcus*, o que sugere esta como a principal bactéria presente na microbiota conjuntival dos saguis.

Estudos em outras espécies como macaco prego amarelo, macaco prego das Guianas, chinchilas, furões, cão da pradaria de rabo preto, jacaré de papo amarelo,

cervo sambar e gatos também isolaram em sua maioria bactérias Gram-positivas (47,49,50,69,71–74). As bactérias Gram-negativas, em sua maioria, foram isoladas nas amostras dos macacos prego e atribui-se este fato ao comportamento e hábitos sociais desta espécie, como manipulação das genitais, maior contato com o chão e água contaminada por fezes e urina, sugerindo influência do ambiente na microbiota conjuntival normal das espécies (38).

Os erros relacionados aos usuários dos tonômetros de rebote são praticamente nulos, pois trata-se de aparelho não examinador dependente, dispensa necessidade de instilação de colírio anestésico e o contato com a córnea, promovendo apenas impacto sutil e rápido no olho, de aproximadamente 0,3m/s (41). *GLOE et al. (2019)*(40) compararam as aferições da PIO com o ICare® TonoVet Plus, Icare® TonoVet, o Tono-Pen Vet TM e o Tono-Pen Avia Vet TM com o manômetro em coelhos e obtiveram valores de PIO do ICare® TonoVet Plus significativamente mais próximas a PIO manométria, seguidos do Icare® TonoVet, Tono-Pen AVIA Vet TM e Tono-Pen Vet TM, encontrando valores subestimados principalmente com o Tono-Pen AVIA Vet TM e Tono-Pen Vet TM. Tais resultados demonstram que a utilização do ICare® TonoVet Plus nos proporciona resultados mais precisos que os demais equipamentos. Adicionalmente, *McLellan et al. (2013)* (75) descreveram em gatos, saudáveis e glaucomatosos, resultados da PIO mais precisos e próximos aos valores manométricos no TonoVet quando comparado ao Tono-PenXL, com valores subestimados neste último. Em saguis, do conhecimento dos autores, não foram identificados estudos da PIO utilizando ICare® TonoVet Plus.

Nickla et al. (2002) (76) avaliaram o ritmo diurno da PIO em saguis, porém as mensurações foram realizadas com tonômetro de aplanção calibrado para humanos.

Os animais foram submetidos a anestesia com halotano e isoflurano e as mensurações foram realizadas as 6 a.m. e 6 p.m., os resultados foram em média 18mmHg durante a noite e 14,4mmHg durante o dia, demonstrando que a PIO é significativamente maior durante a noite. Os resultados de PIO deste trabalho foram menores que os do presente estudo, corroborando aos descrito em outras espécies quanto a subestimação de valores da tonometria de aplanação em comparação com a de rebote (38,66). Considerando a PIO em primatas, utilizando tonômetro de aplanação, verificaram-se estudos em macaco- rhesus (*Macaca mulatta*), com resultado de $14,9 \pm 2,5$ mmHg (77), macaco prego de peito amarelo (*Cebus xanthosternos*) com $19,62 \pm 4,57$ mmHg (38) e macaco prego das Guianas (*Cebus apella*) com $18,4 \pm 3,8$ mmHg (47), todos com valores menores aos encontrados no presente estudo em saguis de tufo preto, sugere-se novamente a influencia dos diferentes equipamentos utilizados, espécies, protocolos anestésicos e estresse. Ressalta-se que em cães, o uso de cetamina e midazolam não interfere na PIO (78,79), sugerindo pouca interferência deste nos valores.

A espessura corneal é um parâmetro que pode inferir a hidratação e o metabolismo da córnea (32). Defeitos na espessura da córnea, maiores ou iguais a 3mm, são considerados emergências oftálmicas que comprometem a visão e manutenção do bulbo do olho (33). O paquímetro ultrassônico é o método mais conveniente para mensurar a espessura da córnea na oftalmologia veterinária. Trata-se de equipamento acessível, objetivo, que promove medições precisas, de alta repetitividade e considerado diagnóstico padrão para mensuração da espessura corneal (31,35).

Não foram encontrados estudos que determinassem a espessura corneal de saguis de tufo preto. O valor médio de espessura corneal central obtido no presente

estudo, $340,7 \pm 25,5 \mu\text{m}$, foi inferior ao encontrado em macaco prego das Guianas (*Cebus apella*) $460 \pm 30 \mu\text{m}$ (47), único trabalho encontrado em primatas não humanos, utilizando a mesma técnica. Em humanos, a espessura corneal é de $581 \pm 34 \mu\text{m}$ (80), superior ao valor obtido em saguis de tufo preto. Tais diferenças podem estar relacionadas novamente ao tamanho do bulbo ocular, uma vez que espécies de olhos pequenos, como tartaruga de orelha vermelha ($154.5 \pm 0.14 \mu\text{m}$), chinchilas ($340 \pm 30 \mu\text{m}$), carpas ($325.9 \mu\text{m}$) e furões ($337 \pm 20 \mu\text{m}$), apresentam valores menores de espessura corneal comparadas as espécies com olhos maiores como capivaras ($460 \pm 30 \mu\text{m}$) e veado de cauda branca ($528.42 \pm 27.65 \mu\text{m}$) (35,48–52).

Os resultados obtidos incluindo importantes testes diagnósticos oftalmológicos auxiliarão médicos veterinários oftalmologistas a diagnosticar doenças oculares em saguis de tufo preto e dessa forma, contribuir para o tratamento adequado das afecções para esta espécie, bem como para pesquisas na área de visão descritiva e comparativa, novas terapias farmacológicas e cirúrgicas.

REFERÊNCIAS

1. Rylands AB, Scheneider H, Langguth A, Mittermeier RA, Groves CP, Rodriguez-Luna E. An assessment of the diversity of New World primates. *Neotrop Primates*. 2000;8:61–93.
2. Verona CE, Pissinatti E. Primates- Primatas do Novo Mundo (Sagui, Macaco-prego, Macaco-aranha, Bugio e Muriqui). In: *Tratado de Animais Selvagens*. 2º ed São Paulo, SP, Brazil: Roca; 2014.
3. Auricchio P, Granstasu R. Primatas do Brasil. 1º ed. São Paulo, SP, Brazil: Terra Brasilis; 1995. 352 p.
4. Primack R., Rodrigues E. Ameaças a diversidade biológica. In: *Biologia da Conservação*. 1º ed Londrina, PR, Brazil; 2001. p. 69–133.
5. Ross CF, Kirk EC. Evolution of eye size and shape in primates. *J Hum Evol*. 2007;52(3):294–313.
6. Mitchell JF, Leopold DA. The marmoset monkey as a model for visual neuroscience. *Neurosci Res*. 2015;93:20–46.
7. Gisela Epplé. Maintenance, breeding, and development of marmoset monkeys (Callithricidae) in captivity. *Folia Primat*. 1970;12(479):56–76.
8. Mansfield K. Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med*. 2003;53(4):383–92.
9. Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, Hanazawa K, Oiwa R, Kamioka M, et al. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* [Internet]. 2009;459(7246):523–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature08090>
10. Lange RR. Anatomia, morfologia e fisiologia ocular de algumas espécies de interesse

na medicina de animais selvagens e de laboratório com ênfase em primatas neotropicais. 2012.

11. Lange RR, Lima L, Przydzimirski AC, Montiani-Ferreira F. 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. *Vet Ophthalmol.* 2013;17(1):41–5.
12. Ferreira FM. Oftalmologia. In: CUBAS ZS, SILVA JC, DIAS JL., organizadores. *Tratado de Animais Selvagens*. 2º ed São Paulo, SP, Brazil; 2014. p. 1947–69.
13. Solomon SG, Rosa MGP. A simpler primate brain: The visual system of the marmoset monkey. *Front Neural Circuits.* 2014;8(AUG):1–24.
14. Visser HE, Tofflemire KL, Love-Myers KR, Allbaugh RA, Ellinwood NM, Dees DD, et al. Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. *Vet Ophthalmol.* 2017;20(6):522–5.
15. Lange RR, 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. *Vet Ophthalmol.* 2012;15(6):376–82.
16. Lima L, Lange RR, Turner-Giannico A, Montiani-Ferreira F. Evaluation of standardized endodontic paper point tear test in New Zealand white rabbits and comparison between corneal sensitivity followed tear tests. *Vet Ophthalmol.* 2014;18(s1):119–24.
17. Serruya LG, Nogueira DC, Hida RY. Schirmer test performed with open and closed eyes: variations in normal individuals. *Arq Bras Oftalmol.* 2009;72(1):65–7.
18. Hida RY, Nishiwaki-Dantas MC, Hida MM, Tsubota K. Estudo quantitativo da

- l??grima pelo teste de fenol vermelho na popula??o brasileira. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68(4):433–7.
19. Sakamoto R, Bennett ES, Henry VA, Paragina S, Narumi T, Izumi Y, et al. The phenol red thread tear test: A cross-cultural study. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1993;34(13):3510–4.
 20. Barabino S, Chen W, Dana MR. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: Uses and limitations. *Exp Eye Res*. 2004;79(5):613–21.
 21. Doughty MJ, Whyte J, Li W. The phenol red thread test for lacrimal volume - Does it matter if the eyes are open or closed? *Ophthalmic Physiol Opt*. 2007;27(5):482–9.
 22. Pereira C da C, Gomes MS, Della Bona A, Vanni JR, Kopper PMP, de Figueiredo JAP. Evaluation of two methods of measuring the absorbing capacity of paper points. *Dent Mater*. 2008;24(3):399–402.
 23. Edwards RO, Bandyopadhyay S. Physical and mechanical properties of endodontic absorbent paper points. *J Endod*. 1981;7(3):123–7.
 24. Pumarola-Suñé J, Solá-Vicens L, Sentís-Vilalta J, Canalda-Sahli C, Brau-Aguadé E. Absorbency properties of different brands of standardized endodontic paper points. *J Endod*. 1998;24(12):796–8.
 25. Barrett P, Scagliotti R, Merideth R, Jackson P, Alarcon F. Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. *Prog Vet Comp Ophthalmol*. 1991;1(4):245–54.
 26. Chao C, Stapleton F, Badarudin E, Golebiowski B. Ocular surface sensitivity repeatability with Cochet-Bonnet esthesiometer. *Optom Vis Sci*. 2015;92(2):183–9.
 27. Rankin AJ, Hosking KG, Roush JK. Corneal sensitivity in healthy, immature, and adult alpacas. *Vet Ophthalmol*. 2012;15(1):31–5.

28. Stapleton F, Marfurt C, Golebiowski B, Rosenblatt M, Bereiter D, Begley C, et al. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: Report of the subcommittee on neurobiology. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(11).
29. Tofflemire KL, Whitley EM, Dewell RD, Gould SA, Allbaugh RA, Ben-Shlomo G, et al. Corneal sensitivity in healthy bovine calves. *Vet Ophthalmol*. 2014;17(4):305–8.
30. Jeong S, Kang S, Park S, Park E, Lim J, Nam T, et al. Comparison of corneal thickness measurements using ultrasound pachymetry, ultrasound biomicroscopy, and digital caliper in frozen canine corneas. *Vet Ophthalmol*. 2018;21(4):339–46.
31. Alario AF, Pirie CG. Central corneal thickness measurements in normal dogs: A comparison between ultrasound pachymetry and optical coherence tomography. *Vet Ophthalmol*. 2014;17(3):207–11.
32. Coyo N, Peña MT, Costa D, Ríos J, Lacerda R, Leiva M. Effects of age and breed on corneal thickness, density, and morphology of corneal endothelial cells in enucleated sheep eyes. *Vet Ophthalmol*. 2016;19(5):367–72.
33. Lacerda RP, Peña Gimenez MT, Laguna F, Costa D, Ríos J, Leiva M. Corneal grafting for the treatment of full-thickness corneal defects in dogs: a review of 50 cases. *Vet Ophthalmol*. 2017;20(3):222–31.
34. Barkana Y, Gerber Y, Elbaz U, Schwartz S, Ken-Dror G, Avni I, et al. Central corneal thickness measurement with the Pentacam Scheimpflug system, optical low-coherence reflectometry pachymeter, and ultrasound pachymetry. *J Cataract Refract Surg*. 2005;31(9):1729–35.
35. Villar T, Pascoli AL, Klein A, Chacaltana FC, Capistrano E, Shipley CF, et al. Tear production, intraocular pressure, and central corneal thickness in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Vet Ophthalmol*. 2019;(June):1–6.

36. Fujioka M, Nakamura M, Tatsumi Y, Kusahara A, Maeda H, Negi A. Comparison of Pentacam Scheimpflug camera with ultrasound pachymetry and noncontact specular microscopy in measuring central corneal thickness. *Curr Eye Res.* 2007;32(2):89–94.
37. Ofri R, Horowitz IH, Kass PH. Tonometry in three herbivorous wildlife species. *Vet Ophthalmol.* 1998;1(1):21–4.
38. Oriá AP, Pinna MH, Almeida DS, da Silva RMM, Pinheiro ACO, Santana FO, et al. Conjunctival flora, Schirmer's tear test, intraocular pressure, and conjunctival cytology in neotropical primates from Salvador, Brazil. *J Med Primatol.* 2013;42(6):287–92.
39. Featherstone HJ, Heinrich CL. Ophthalmic Examination and Diagnostics. In: GELATT KN, GILGER BC, KERN TJ, organizadores. *Veterinary Ophthalmology.* Iowa: John Wiley & Sons; 2013. p. 533–613.
40. Gloe S, Rothering A, Kiland JA, McLellan GJ. Validation of the Icare® TONOVET plus rebound tonometer in normal rabbit eyes. *Exp Eye Res* [Internet]. 2019;185(June):107698. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107698>
41. Leiva M, Naranjo C, Peña MT. Comparison of the rebound tonometer (ICare®) to the applanation tonometer (Tonopen XL®) in normotensive dogs. *Vet Ophthalmol.* 2006;9(1):17–21.
42. Gerding PA, Kakoma I. Microbiology of the canine and feline eye. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* [Internet]. 1990;20(3):615–25. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0195-5616\(90\)50053-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0195-5616(90)50053-4)
43. Chandler JW, Gillette TE. Immunologic Defense Mechanisms of the Ocular Surface. *Ophthalmology* [Internet]. 1983;90(6):585–91. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0161-6420\(83\)34510-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0161-6420(83)34510-3)
44. Lu LJ, Liu J. Human microbiota and ophthalmic disease. *Yale J Biol Med.*

- 2016;89(3):325–30.
45. Church DL. Ocular Cultures. In: Leber AL, organizador. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 4º ed Washington, DC: ASM Press; 2016.
 46. Hartroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: Evaluation of basic parameters. Oral Microbiol Immunol. 1999;14(5):326–30.
 47. Montiani-Ferreira F, Shaw G, Mattos BC, Russ HHA, Vilani RGDOC. Reference values for selected ophthalmic diagnostic tests of the capuchin monkey (*Cebus apella*). Vet Ophthalmol. 2008;11(3):197–201.
 48. Somma AT, Lima L, Lange RR, Turner-Giannico A, Montiani-Ferreira F. The eye of the red-eared slider turtle: Morphologic observations and reference values for selected ophthalmic diagnostic tests. Vet Ophthalmol. 2015;18(s1):61–70.
 49. Lima L, Montiani-Ferreira F, Tramontin M, Leigue dos Santos L, Machado M, Ribas Lange R, et al. The chinchilla eye: Morphologic observations, echobiometric findings and reference values for selected ophthalmic diagnostic tests. Vet Ophthalmol. 2010;13(SUPPL. 1):14–25.
 50. Montiani-Ferreira F, Mattos BC, Russ HHA. Reference values for selected ophthalmic diagnostic tests of the ferret (*Mustela putorius furo*). Vet Ophthalmol. 2006;9(4):209–13.
 51. Montiani-Ferreira F, Truppel J, Tramontin MH, D’Octaviano Vilani RG, Lange RR. The capybara eye: Clinicial tests, anatomic and biometric features. Vet Ophthalmol. 2008;11(6):386–94.
 52. Lynch GL, Hoffman A, Blocker T. Central corneal thickness in koi fish: Effects of age, sex, body length, and corneal diameter. Vet Ophthalmol. 2007;10(4):211–5.
 53. Gonzalez-Alonso-Alegre EM, Martinez-Nevado E, Caro-Vadillo A, Rodriguez-Alvaro

- A. Central corneal thickness and intraocular pressure in captive black-footed penguins (*Spheniscus demersus*). *Vet Ophthalmol*. 2015;18(s1):94–7.
54. JOHNSON RA, WICHERN DW. *Applied multivariate statistical analysis*. 6ed. New Jersey: Practice- Hall; 2007. 773 p.
 55. GOODMAN LA. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinominal populations. *Ann Math Stat*. 1964;35(2):716–25.
 56. Diniz L. *Primatas em cativeiro: manejo e problemas veterinários, enfoque nas espécies neotropicais*. 1º ed. São Paulo: Icone; 1997.
 57. Fowler ME. *Restrain and Handling of Wild and Domestic Animals*. 2º ed. Ames: Iowa State University Press; 1995.
 58. Murphy PJ, Lawrenson JG, Patel S, Marshall J. Reliability of the non-contact corneal aesthesiometer and its comparison with the Cochet-Bonnet aesthesiometer. *Ophthalmic Physiol Opt*. 1998;18(6):532–9.
 59. Trost K, Skalicky M, Nell B. Schirmer tear test, phenol red thread tear test, eye blink frequency and corneal sensitivity in the guinea pig. *Vet Ophthalmol*. 2007;10(3):143–6.
 60. Kaps S, Richter M, Spiess BM. Corneal esthesiometry in the healthy horse. *Vet Ophthalmol*. 2003;6(2):151–5.
 61. Welihozkiy A, Bedenice D, Price LL, Pizzirani S, Pirie CG. Measurement of corneal sensitivity in 20 ophthalmologically normal alpacas. *Vet Ophthalmol*. 2011;14(5):333–6.
 62. Lacerda RP, Obón E, Peña MT, Costa D, Ríos J, Leiva M. A comparative study of corneal sensitivity in birds of prey. *Vet Ophthalmol*. 2014;17(3):190–4.
 63. Rajaei SM, Rafiee SM, Ghaffari MS, Masouleh MN, Jamshidian M. Measurement of

- tear production in English Angora and Dutch rabbits. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2016;55(2):221–3.
64. Fornazari G, Ferreira TAC, Santin E, Panisson JC, Maiorka A, Montiani-Ferreira F. Schirmer's I, modified Schirmer's I, phenol red thread, and paper point tests: a comparative study for tear production measurement techniques in broiler chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Poult Sci.* 2018;97(9):3258–63.
 65. Volk HA, West E, Linn-Pearl RN, Fricker G V., Panti A, Gould DJ. Effect of methadone and acepromazine premedication on tear production in dogs. *Vet Rec Open.* 2018;5(1):1–7.
 66. Douet JY, Regnier A, Dongay A, Jugant S, Jourdan G, Concordet D. Effect of sedation with butorphanol on variables pertaining to the ophthalmic examination in dogs. *Vet Ophthalmol.* 2018;21(5):452–8.
 67. Sano K, Kawashima M, Imada T, Suzuki T, Nakamura S, Mimura M, et al. Enriched environment alleviates stress-induced dry-eye through the BDNF axis. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):1–11. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-39467-w>
 68. Abusharha AA, Pearce EI, Fagehi R. Effect of Ambient Temperature on the Human Tear Film. *Eye Contact Lens.* 2016;42(5):308–12.
 69. Oriá AP, Oliveira AVD, Pinna MH, Martins Filho EF, Estrela-Lima A, Peixoto TC, et al. Ophthalmic diagnostic tests, orbital anatomy, and adnexal histology of the broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). *Vet Ophthalmol.* 2015;18(s1):30–9.
 70. Pelych LN, Shellabarger W, Vassallo M, Noland E, Sledge D, Aquino SE. Ophthalmic findings in a captive population of Panamanian golden frogs: *Atelopus zeteki*. *Vet Ophthalmol.* 2019;22(4):430–9.

71. Bezerra KPG, de Lucena RB, Stipp DT, Costa FS, Reis VV, Borges PF, et al. Determination of baseline values for routine ophthalmic tests in bearded capuchin (*Sapajus libidinosus*). *J Med Primatol*. 2019;48(1):3–9.
72. Meekins JM, Eshar D, Rankin AJ. Tear production, intraocular pressure, and conjunctival bacterial flora in a group of captive black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Vet Ophthalmol*. 2015;18(s1):132–6.
73. Oriá AP, Gomes Junior DC, Oliveira AVD, Curvelo VP, Estrela-Lima A, Pinna MH, et al. Selected ophthalmic diagnostic tests, bony orbit anatomy, and ocular histology in sambar deer (*Rusa unicolor*). *Vet Ophthalmol*. 2015;18(s1):125–31.
74. Büttner JN, Schneider M, Csokai J, Müller E, Eule JC. Microbiota of the conjunctival sac of 120 healthy cats. *Vet Ophthalmol*. 2019;22(3):328–36.
75. Mclellan GJ, Kemmerling JP, Kiland JA. Validation of the TonoVet® rebound tonometer in normal and glaucomatous cats. *Vet Ophthalmol*. 2013;16(2):111–8.
76. Nickla DL, Wildsoet CF, Troilo D. Diurnal rhythms in intraocular pressure, axial length, and choroidal thickness in a primate model of eye growth, the common marmoset. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(8):2519–28.
77. Ollivier FJ, Brooks DE, Kallberg ME, Sapp HL, Komáromy AM, Stevens GR, et al. Time-specific intraocular pressure curves in Rhesus macaques (*Macaca mulatta*) with laser-induced ocular hypertension. *Vet Ophthalmol*. 2004;7(1):23–7.
78. Ghaffari MS, Rezaei MA, Mirani AH, Khorami N. The effects of ketamine-midazolam anesthesia on intraocular pressure in clinically normal dogs. *Vet Ophthalmol*. 2010;13(2):91–3.
79. Tamura EY, Barros PS de M, Fantoni DT, Cortopassi SRG. Efeitos da associação da acepromazina, midazolam e quetamina sobre a pressão intra-ocular em cães. *Rev Bras*

- Ciência Veterinária. 1997;4(1):19–23.
80. Bechmann M, Thiel MJ, Neubauer AS, Ullrich S, Ludwig K, Kenyon KR, et al. Central corneal thickness measurement with a retinal optical coherence tomography device versus standard ultrasonic pachymetry. *Cornea*. 2001;20(1):50–4.

APÊNDICE

Tabela 1. Distribuição do sexo dos saguis de tufo preto (*Callithrix penicillata*)

Sexo	Frequência	Frequência Relativa (%)
F	5	38,5
M	8	61,5
Total	13	100

(P>0,05)

Tabela 2. Distribuição dos resultados da microbiota conjuntival segundo lateralidade do olho

Olho	Resultado		Total
	Positivo	Negativo	
Direito	6 (46,2)	7 (53,8)	13 (100)
Esquerdo	9 (69,2)	4 (30,8)	13 (100)

(P>0,05)

Tabela 3. Distribuição de *Corynebacterium spp.* segundo lateralidade do olho

Olho	<i>Corynebacterium spp</i>		Total
	Presente	Ausente	
Direito	2 (15,4)	11 (84,6)	13 (100)
Esquerdo	1 (7,7)	12 (92,3)	13 (100)

(P>0,05)

Tabela 4. Distribuição de *Staphylococcus spp.* segundo lateralidade do olho

Olho	<i>Staphylococcus spp.</i>		Total
	Presente	Ausente	
Direito	3 (23,1)	10 (76,9)	13 (100)
Esquerdo	6 (46,2)	7 (53,8)	13 (100)

(P>0,05)

Tabela 5. Distribuição de frequências absolutas (percentuais) dos agentes segundo olho e sexo

Sexo	Agente	Olho		
		Direito (D)	Esquerdo (E)	D + E
M	Negativo	3 (37,5)	2 (25)	5 (31,2)
	<i>Corynebacterium spp.</i>	2 (25)	1 (12,5)	3 (18,7)
	<i>Staphylococcus spp.</i>	2 (25)	3 (37,5)	5 (31,2)
	<i>Streptococcus α- hemolítico</i>	1 (12,5)	0 (0)	1 (6,3)
	<i>Bacillus spp.</i>	0 (0)	1 (12,5)	1 (6,3)
	<i>Staphylococcus β- hemolítico</i>	0 (0)	1 (12,5)	1 (6,3)
F	Negativo	4 (80)	2 (40)	6 (60)
	<i>Corynebacterium spp.</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	<i>Staphylococcus spp.</i>	1 (20)	3 (60)	4 (40)
	<i>Streptococcus α- hemolítico</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	<i>Bacillus spp.</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	<i>Staphylococcus β- hemolítico</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
M + F	Negativo	7 (53,8)	4 (30,8)	11 (42,3)
	<i>Corynebacterium spp.</i>	2 (15,4)	1 (7,7)	3 (11,5)
	<i>Staphylococcus spp.</i>	3 (23,1)	6 (46,2)	9 (34,6)
	<i>Streptococcus α- hemolítico</i>	1 (7,7)	0 (0)	1 (3,8)
	<i>Bacillus spp.</i>	0 (0)	1 (7,7)	1 (3,8)
	<i>Staphylococcus β- hemolítico</i>	0 (0)	1 (7,7)	1 (3,8)

Normas

da

revista:

<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/14635224/homepage/ForAuthors.html>