

UNIVERSIDADE DE UBERABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E PRODUÇÃO ANIMAL NOS
TRÓPICOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**VALORES DA PRODUÇÃO LACRIMAL, DA PRESSÃO
INTRAOCULAR E DA MICROBIOTA DA SUPERFÍCIE OCULAR DE
BOVINOS DA RAÇA GIR LEITEIRO EM BIOMA DE CERRADO**

Mestrando: M. V. Julio de Albuquerque Moura Neto
Orientador: Prof. Dr. Renato Linhares Sampaio

Uberaba
2017

JULIO DE ALBUQUERQUE MOURA NETO

**VALORES DA PRODUÇÃO LACRIMAL, DA PRESSÃO
INTRAOCULAR E DA MICROBIOTA DA SUPERFÍCIE OCULAR DE
BOVINOS DA RAÇA GIR LEITEIRO EM BIOMA DE CERRADO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre junto ao Programa de pós graduação em sanidade e produção animal nos trópicos da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Sanidade e produção animal nos trópicos

Linha de pesquisa: Fisiopatologia clínica e cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Renato Linhares Sampaio

Uberaba

2017

JULIO DE ALBUQUERQUE MOURA NETO

**VALORES DA PRODUÇÃO LACRIMAL, DA PRESSÃO
INTRAOCULAR E DA MICROBIOTA DA SUPERFÍCIE OCULAR DE
BOVINOS DA RAÇA GIR LEITEIRO EM BIOMA DE CERRADO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre junto ao Programa de pós graduação em sanidade e produção animal nos trópicos da Universidade de Uberaba.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Renato Linhares Sampaio - Orientador
Universidade de Uberaba

Prof. Dr. André Penido
EPAMIG

Prof. Dr. Maurício Scoton Igarasi
Universidade de Uberaba

Profa. Dra. Alessandra Aparecida Medeiros (suplente)
Universidade Federal de Uberlândia

AGRADECIMENTOS

Agradeço às pessoas que estiveram presentes na condução do experimento, aos funcionários da fazenda da EPAMIG, e pesquisadores pelo apoio contínuo.

Ao professor orientador Renato Linhares, por sua alma iluminada e paciência.

A minha esposa, família de animais, e aos bovinos que tanto me ensinam a viver em equilíbrio com meu meio ambiente.

A Deus, por toda essa grande alegria que é o dom da vida.

Aos professores da pós-graduação, que me estimularam a docência e me ajudaram a desenvolver maturidade pedagógica.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi estabelecer valores de referência para testes diagnósticos oftalmológicos e a microbiologia ocular em bovinos adultos em lactação da raça gir leiteiro (*Bos taurus indicus*) em bioma de cerrado. Um total de 48 animais foi utilizado para mensurar a produção lacrimal através do teste lacrimal de Schirmer (STT1), 33 para determinar a pressão intraocular utilizando a tonometria por aplanção e 31 para amostras e cultivo microbiológico da superfície ocular e teste de sensibilidade a antimicrobianos nas amostras positivas. Os resultados para produção de lágrima e pressão intraocular foram comparados entre diferentes grupos etários. A média e o desvio padrão do STT1 e pressão intraocular foram $21,47 \pm 4,61$ mm/min, $23,81 \pm 3,61$ mmHg, respectivamente. Os resultados de crescimento bacteriano das amostras oculares demonstraram o gênero *Staphylococcus sp.* predominante em 73% do total, com a presença também dos gêneros *Enterobacter sp.* e *Enterococcus sp.* As amostras positivas resistentes para mais de um antimicrobiano somaram 22,2%, e a Tilmicosina e Estreptomicina apresentaram resistência bacteriana em mais de 25% das amostras. Os antibióticos com total eficácia terapêutica foram Amoxicilina/Ác., Clavulanico, Cefotiofur e Flofenicol. Os achados desse estudo podem ser utilizados para pesquisa ou fins terapêuticos.

PALAVRAS CHAVE: Gir, Teste de Schirmer, tonometria de aplanção, microbiologia da superfície ocular.

ABSTRACT

The aim of this study was to establish reference values for selected ophthalmic diagnostic tests in Gir leiteiro lactating breeders (Bos taurus indicus) on cerrado byoma. A total of 48 animals were used to evaluate tear production using Schirmer tear test (STT1), 33 animals to determine intraocular pressure using applanation tonometry and 31 animals for bacterial samples of the ocular surface, and antibiotics susceptibility tests were. Different age groups were compared in STT1 and intraocular pressure. Mean and standard deviation for STT1 and intraocular pressure were $21,47 \pm 4,61$ mm/min, $23,81 \pm 3,61$ mmHg, respectively. In positive bacterial culture *Staphylococcus* sp. was predominant (73%), *Enterobacter* sp and *Enterococcus* sp. were also isolated. Positive cultures were 22,2% resistant to 2 or more antibiotic, tilmicosin and streptomycin had bacterial resistance on more than 25% of samples. Amoxicilyn/Clavulanic acid, Ceftiofur and Florfenicol were 100% efficient. The reported data can be used for therapeutic or experimental purposes.

INDEX TERMS: *Bos taurus indicus*, bovine ophthalmology, Schirmer tear test, applanation tonometry, ocular surface microbiota.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1.** Bovino Gir Leiteiro em tronco de contenção individual durante o teste lacrimal de Schirmer (STT1).....25
- FIGURA 2.** Abertura manual das pálpebras e correto posicionamento do tonômetro no centro da córnea, após aplicação de colírio anestésico.27
- GRÁFICO 1.** Média e desvio padrão das mensurações da produção de lágrima nos olhos esquerdo e direito.....30
- GRÁFICO 2.** Médias do teste de Schirmer geral, por olho (direito e esquerdo) em diferentes grupos etários.....31
- GRÁFICO 3.** Valores da mediana, quartis inferior (P25%) e superior (P75%), por olhos, encontrados para a pressão intraocular através de tonometria por aplanção33
- GRÁFICO 4.** Médias da PIO geral, por olho (direito e esquerdo) em diferentes grupos etários34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Dados climatológicos durante o período de julho a dezembro de 2016	23
TABELA 2. Dados climatológicos nos dias da mensuração da produção de lágrima	25
TABELA 3. Dados climatológicos nos dias da mensuração da PIO	26
TABELA 4. Valores médios totais e por olhos encontrados para a produção de lágrima através do teste de Schirmer	39
TABELA 5. Valores médios totais e por olhos encontrados para a pressão intraocular através de tonometria por aplanção	32
TABELA 6. Crescimento bacteriano obtido através de swabs realizados no saco conjuntival inferior	36
TABELA 7. Teste de sensibilidade a antibióticos (Kirby-Bauer) e porcentagem de bactérias resistentes por princípio ativo, em crescimento bacteriano obtido através de swabs da conjuntiva	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EPAMIG = Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

MG = Estado de Minas Gerais

min = minutos

mm = milímetros

mmHg = milímetro de mercúrio

PIO = Pressão intraocular

STT = Teste de lacrimal de *Schirmer* (Schirmer tear test)

UV = Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 FISILOGIA DO SISTEMA LACRIMAL	12
2.2 MENSURAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LÁGRIMA	13
2.3 FISILOGIA DO HUMOR AQUOSO E PRESSÃO INTRAOCULAR	14
2.4 MENSURAÇÃO DA PRESSÃO INTRAOCULAR (TONOMETRIA).....	16
2.5 MICROBIOTA CONJUNTIVAL NORMAL.....	19
3 OBJETIVOS	21
4 JUSTIFICATIVA	22
5 MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1 MODELO EXPERIMENTAL	23
5.2 TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER.....	24
5.3 TONOMETRIA	25
5.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	27
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6.1 TESTE DE PRODUÇÃO LACRIMAL (TESTE DE SCHIMMER)	29
6.2 AFERIÇÃO DA PRESSÃO INTRAOCULAR	31
6.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	35
7 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

A compreensão da dinâmica da visão, assim como suas características e fisiologia, permite um importante entendimento da relação do animal com seu meio ambiente e determina vantagens adaptativas para cada espécie. O bovino é uma espécie altamente dependente da visão para sua sobrevivência, tanto na apreensão do alimento quanto na manutenção de seu comportamento de rebanho, assim como nas suas funções reprodutivas.

Os sistemas produtivos nos trópicos oferecem desafios ambientais aos olhos dos bovinos, devido à presença de moscas, colmos de pastagem, alta radiação UV, partículas de alimento, vapores aerossóis e a frequência de traumatismos. O ambiente do sistema de produção também é relevante nesse contexto: a necessidade de tecnificação, a intensificação e o aumento da produtividade acarretam maior desafio sanitário para o animal, já que a densidade aumentada e os fômites compartilhados exigem limpeza e higienização constante do local de produção.

Uma ferramenta biológica existente é a população de micro-organismos autóctones na superfície ocular do bovino, formada pela colonização bacteriana, que vai sendo adquirida e desenvolvida desde o nascimento do animal.

Diversas mensurações para esse entendimento podem ser obtidas através da semiologia do sistema ocular. Testes complementares também são utilizados para avaliação, dentre os quais a pressão intraocular (PIO), pois diferentes condições ambientais, sanitárias e de manejo podem predispor a doenças que acarretam alterações na pressão intraocular, tornando a tonometria ferramenta diagnóstica essencial para doenças na clínica de bovinos.

Outro teste realizado durante o exame clínico do sistema ocular é a aferição da produção de lágrima, que traz dados sobre a quantidade de lágrima produzida por unidade de tempo. A lágrima interfere tanto na manutenção da lubrificação e da integridade da córnea quanto em sistemas de defesa imunológica e paraimunológica da superfície ocular.

O estudo da microbiota ocular, da produção lacrimal e da pressão intraocular em bovinos da raça Gir Leiteiro tem como objetivo integrar informações aos dados científicos oculares em bovinos. A importância se dá pela necessidade de um maior aporte de informações sobre o tema para a base de estudos sobre a raça.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A caracterização de padrões normais para o exame clínico ocular de bovinos tem como objetivo gerar informação de base de apoio à rotina clínica. A produção de lágrima, a pressão intraocular e a microbiota normal da conjuntiva ocular contêm informações relevantes ao exame oftalmológico. O teste de Schirmer, a tonometria e raspados para a cultura microbiológica são os materiais fundamentais para a avaliação semiológica básica (GELATT, 2000; GRAHN, 2000).

A importância do exame oftalmológico vem da necessidade de diagnósticos precoces para doenças oculares, fundamental à correta abordagem terapêutica, incluindo desde dados do histórico até a utilização de exames complementares (CRISPIN, 2005).

2.1 FISILOGIA DO SISTEMA LACRIMAL

A lágrima é um componente estrutural relevante na fisiologia e na dinâmica da córnea. Ela se forma a partir do filme lacrimal e tem como principais funções: manter uma superfície ocular uniforme (função refrativa), remover materiais estranhos da córnea e da conjuntiva, lubrificando-as (limpeza e lubrificação), permitir a passagem de oxigênio e de nutrientes (nutrição) e participar do sistema de defesa imunológico (função antimicrobiana) (KLEINNER, 2006; HERRERA, 2008).

Existem diversas substâncias com propriedades antibacterianas e de defesa imunológica presentes na lágrima, tais como lisozimas, fosfolipases, lactoferrinas e β lisinas, além de imunoglobulinas e de células inflamatórias (DAY, 1996).

O filme lacrimal confere equilíbrio de hidratação e de tonicidade da córnea, mantendo-a hidratada, produzindo hipertonicidade durante sua evaporação e extraindo água por osmose. A camada lacrimal representa uma mistura complexa de mucinas, para o aumento na viscosidade, de proteínas antimicrobianas, fatores de crescimento e eletrólitos para uma osmolaridade adequada (HOLLAND et al., 2015).

A película lacrimal pré-corneal apresenta três camadas, das quais uma é oleosa, produzida pelas glândulas sebáceas das pálpebras; outra, a camada aquosa média, produzida pela glândula lacrimal (a principal e pela glândula da terceira

pálpebra); e, por fim, uma camada interna, composta por muco, produzida pelas células caliciformes da conjuntiva. A produção de lágrima aumenta pela estimulação do ramo oftálmico do nervo trigêmeo (SWENSON, 1996).

A glândula lacrimal está localizada supratemporalmente à órbita, dentro da fossa da glândula lacrimal. As glândulas acessórias estão dispersas ao longo das bordas tarsais superiores e do fórnice da pálpebra superior, bem como da camada lipídica, que é produzida pelas glândulas sebáceas (Zeis) e pelas glândulas meibomianas (tarsais) (HOLLAND et al., 2015).

As vias de drenagem lacrimal são pontos localizados medialmente nas pálpebras superior e inferior, nas papilas lacrimais. Os pontos lacrimais se comunicam a canalículos, que se fundem e formam o canalículo comum antes de penetrar no saco lacrimal. Este se estreita para formar o ducto nasolacrimal, emergindo no corneto nasal inferior (HOLLAND et al., 2015).

2.2 MENSURAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LÁGRIMA

O teste de Schirmer 1 (STT1) é uma ferramenta diagnóstica que permite mensurar a produção de lágrima total (basal e reflexa) por unidade de tempo (minuto). Tal exame possibilita avaliar a condição do paciente de produzir lágrima, adicionando importante informação para diagnósticos de doenças que diminuem a produção lacrimal, como a ceratoconjuntivite seca (WHITTAKER e WILLIAMS, 2015).

O procedimento deve ser realizado antes de manipulação muito intensa do olho do animal, e as tiras precisam ser retiradas da embalagem imediatamente no momento do exame, a fim de evitar interferências da oleosidade da mão do operador com o perfil de absorção da tira. Para esse teste utiliza-se uma tira de papel absorvente (Whatman 40) de 5 mm de largura por 35 mm de comprimento, com uma dobra a 5 mm da extremidade, que é acomodada no terço medial da borda palpebral inferior por um minuto (GELLAT, 2000; HIDA et al., 2005).

O teste pode ter variações em função de alterações na capacidade absorviva da tira, bem como da absorbância do material e do correto alojamento da tira no saco conjuntival inferior (ROTHSCHILD et al., 2004).

Também é descrito um teste de Schirmer 2, ou Schirmer modificado (STT2), em que o olho do animal é anestesiado através de colírios anestésicos tópicos, evitando a secreção de lágrima reflexa ao estímulo irritativo da tira de papel na

conjuntiva. A anestesia tópica dessensibiliza a córnea e o ramo aferente da via reflexa, prevenindo a secreção de lágrima reflexa (BRANDÃO et al., 2004; GELATT, 2000; GRAHN, 2000).

Segundo Brandão et al. (2004), o STT2 não é usualmente utilizado por não haver diferenciação nos valores médios normais obtidos, sendo o STT1 o método de eleição na oftalmologia veterinária.

Ainda há o teste do fenol vermelho, que utiliza um cordão especial de algodão com 75 mm de comprimento, banhado em fenol vermelho, um indicador de pH. Sua borda superior é dobrada a 3 mm para facilitar a sua fixação no bordo palpebral inferior. Quando em contato com a lágrima, o cordão passa de amarelo para vermelho alaranjado, devido à natureza alcalina da lágrima, e a quantidade de lágrima que umedeceu o cordão é lida em mm após 15 segundos (HAMANO et al., 1982).

Stern et al. (1998) ressaltam que a superfície ocular, incluindo as glândulas lacrimais principal e acessórias, as glândulas meibomianas e as conexões neurais que as interconectam constituem uma unidade funcional que atua em conjunto. Disfunções em quaisquer dessas estruturas se refletem, assim, na inadequação do volume ou da composição lacrimal necessária à reparação dos danos constantes sofridos pelo sistema ocular.

2.3 FISIOLOGIA DO HUMOR AQUOSO E PRESSÃO INTRAOCULAR

O sistema ocular dos animais é formado pelo bulbo ocular e anexos. Tais anexos são responsáveis por prover proteção à unidade funcional da visão e ao bulbo. O olho é órgão fotossensível complexo e especializado na análise da forma e da cor de objetos, como também na intensidade da luz (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

O mecanismo da visão é complexo e dependente da entrada de luz e das imagens focadas na retina, que, através do nervo óptico, transmitem a informação ao cérebro (MILLER, 2008).

O bulbo é composto por três camadas. Há uma camada externa e fibrosa, formada pela córnea e esclera, as quais conferem o formato arredondado ao bulbo ocular. A córnea é transparente e permite a entrada de luz e da imagem em um formato anatômico pelo qual a luz seja direcionada através de alguns meios de refração ao seu centro (SAMUELSON, 2013).

O humor aquoso é produzido pelo corpo ciliar por secreção ativa, ultra filtração e difusão simples. O corpo ciliar se localiza atrás da íris e é formado por duas partes, a *pars plicata* (anterior) e *pars plana* (posterior). Ele é composto por, aproximadamente, 100 processos e por músculos ciliares dotados de abundante vascularização. Tais estruturas, juntamente ao epitélio, produzem o humor aquoso, um ultrafiltrado sanguíneo, cuja função é levar nutrientes à córnea e ao cristalino, além de manter a morfologia e homeostase do bulbo (CARASTRO, 2004; PIPPI e GONCALVES, 2009).

A passagem do humor aquoso através do epitélio do corpo ciliar ocorre pela pressão hidrostática contra o gradiente de pressão osmótica. A taxa de formação de humor aquoso é influenciada pelas células produtoras e pela inervação simpática e parassimpática para a manutenção da PIO (GUM e MACKAY, 2013).

Do mesmo modo, o humor aquoso mantém o posicionamento da lente do cristalino, e faz parte do seio cílio-escleral, estando diretamente relacionado na dinâmica de produção, na drenagem (convencional e úveo-escleral) e, conseqüentemente, na pressão intraocular (PIPPI e GONCALVES, 2009; SAMUELSON, 2013).

As células epiteliais do corpo ciliar detêm junções intracelulares responsáveis por controlar a passagem de água, de íons e de macromoléculas para o humor aquoso. Os músculos da *pars plana* se dividem em duas camadas, formando o seio cílio-escleral, responsável por parte da drenagem do humor aquoso, junto ao ângulo de drenagem da córnea (AZUARA-BRANCO, COSTA e WILSON, 2002).

Alguma quantidade do humor aquoso também é drenada posteriormente pelo humor vítreo e, de forma anterior, pelo estroma da íris, pela córnea e pelo espaço supra ciliar supra coroidal na esclera adjacente.

O fluxo do humor aquoso mantém o formato anatômico do bulbo ocular, fornece substratos para a córnea, para a lente e para a malha trabecular. Os metabólitos, como o ácido láctico, são removidos e facilitam respostas imunes humorais e celulares, quando em condições de infecção ou inflamação (AZUARA-BRANCO, COSTA e WILSON, 2002).

Depois de produzido, o humor aquoso preenche a câmara posterior, passa pela pupila para a câmara anterior e para a superfície anterior do cristalino (MILLER, 2008). Sob condições normais, ele é transparente (RENEWICK, 2002) e exerce importante papel no aporte de nutrientes e na drenagem de metabólitos da córnea, da

úvea e do cristalino, assim como na manutenção da pressão necessária ao formato do olho e na refração. No ângulo iridocorneano, o humor aquoso é drenado, retomando a circulação geral (via de drenagem convencional) (STADES et al., 2007).

As estruturas mais importantes do sistema de drenagem são o ligamento pectinato e a fenda ciliar, que contém o tecido esponjoso da malha trabecular, adjacente ao plexo venoso intraescleral. Na via convencional, o humor aquoso desloca-se, através da malha trabecular, para o plexo venoso angular e, por fim, para a circulação venosa sistêmica por meio do plexo venoso escleral. A via alternativa de drenagem, úveo escleral, constitui 3% a 15% da drenagem do humor aquoso na maioria das espécies (RENEWICK, 2002; STADES et al. 2007; GUM e MACKAY, 2013; MILLER, 2008). O aumento na pressão venosa episcleral dificulta esse processo de drenagem, podendo aumentar a PIO (KNIESTEDT et al., 2008).

2.4 MENSURAÇÃO DA PRESSÃO INTRAOCULAR (TONOMETRIA)

Tonometria é uma aferição da pressão intraocular, indispensável em todos os exames oculares. Segundo Kniestedt, et al. (2008), a pressão intraocular é o equilíbrio dinâmico entre a produção e a drenagem do humor aquoso, que são equivalentes em condições normais. Os valores da PIO são expressos em milímetros de mercúrio (mm de Hg) e variam de acordo com a espécie. As técnicas de aplanção, rebote e indentação utilizadas no exame da PIO mensuram a pressão indiretamente, fazendo a estimativa da pressão intraocular real (WEICHSLER, 2008).

A medição da PIO é parte integrante do exame oftalmológico e pode ser realizada sem anestesia local (rebote) ou com anestesia local (aplanção). (FEATHERSTONE e HEINRICH, 2013).

O método mais preciso é a medição direta através de manômetro, porém é pouco utilizada na rotina por ser procedimento muito invasivo. A tonometria indireta, via medição da tensão da córnea, é procedimento rápido, não invasivo e com o mínimo de desconforto ao paciente (FEATHERSTONE e HEINRICH, 2013). A tonometria indireta, pode ser realizada através das mãos, com a compressão digital do bulbo ocular, ou através de instrumentos. Ela pode ser realizada através de indentação (tonômetro de schiotz), de aplanção (Tono pen XL®) ou de rebote (Tonovet®).

Estudos mostram boa correlação entre os tonômetros portáteis e o tonômetro de aplanção de Goldman (preferido em humanos), com tendência a superestimar os

valores de PIO (AMARAL et al., 2006; ILIEV et al, 2006). Apesar disso, quando comparado à manometria, os aparelhos portáteis apresentam boa correlação, estando aptos para a utilização com segurança em equinos e bovinos (ANDRADE et al. 2011).

O princípio da tonometria de rebote estima a PIO mensurando a desaceleração de uma ponteira impulsionada por energia magnética após contato com a região central da córnea, retornando em rápida velocidade a sua posição original. Para a obtenção do resultado, é necessário realizar por seis vezes o contato do aparelho com a córnea do paciente, descartando-se automaticamente o maior e o menor resultados. Não é necessário o uso de colírio anestésico pelo contato ser rápido, preciso e minimamente invasivo (DANIAS et al., 2003; KNOLLINGER et al., 2005; KONTIOLA, 1997; KONTIOLA et al. 2001).

Em animais, a tonometria é realizada com os principais tonômetros portáteis, sendo a melhor opção para avaliação da PIO por ser técnica não invasiva (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2007). Existe a tendência a mensurações superestimadas, quando os resultados da tonometria são comparados à manometria (técnica invasiva e mais precisa) (AMARAL et al., 2006; ILIEV et al, 2006; MARTINEZ DE LA CASA et al., 2006).

Segundo Kniestedt et al. (2008), os tonômetros portáteis têm propriedade de aplanção ou de indentação e se baseiam no princípio da aplanção de uma esfera, pelo qual a pressão interna dessa esfera aplicada à córnea vai aumentando até que as áreas de contato entre a ponteira e a córnea formem uma superfície plana.

O Tono-pen XL® estima a pressão intraocular através do achatamento da área superficial central da córnea, e a força utilizada para o achatamento é convertida pelo tonômetro na pressão interna do olho, expressa em mm de Hg, com uma leitura gerada através de diversas compressões, até uma leitura automática com menos de 5% de erro (GELATT, 2000; GRAHN, 2000). É realizada uma estimativa da força necessária para aplanar uma área específica da superfície da córnea, mediante o princípio de Imbert-Fick law, representante da fórmula: pressão = força por área (MILLER et al., 1991; KNIESTEDT et al., 2008).

O operador do aparelho deve aplicar movimentos exatos, no centro da córnea, e de forma neutra (LEIVA, 2006).

O tonômetro de indentação de Schiotz emprega um princípio que mensura a deformação corneana frente a um peso conhecido, resultando na pressão tonométrica (BETINJANE, 2009).

Existem fatores internos e externos ao animal que podem influenciar nos valores da PIO, tais como a hemodinâmica (sempre que haja alguma alteração que interfira na pressão arterial), o tônus muscular extraocular, que pode aumentar os valores quando há contração, assim como o posicionamento de pálpebras e a retração do músculo bulbo ocular (VAN DER WOERDT et al., 1995; SAPIENZA et al., 1991).

As propriedades físicas da córnea também influenciam os valores da PIO, como sua curvatura, espessura e elasticidade corneana (CHIU et al., 2008), rigidez da esclera e a viscosidade da lágrima (PARK et al., 2011; KNOLLINGER et al., 2005).

Alguns fatores externos ao bulbo ocular têm a possibilidade de também influenciar a PIO, tais como o tipo de tonômetro, a experiência do operador (MOORE et al., 1993) e o comportamento do animal durante o exame (GELLAT et al., 1998).

Os dedos do operador podem exercer pressão sobre as pálpebras, influenciando os movimentos oculares e levando a aumento da PIO (KNIESTEDT et al., 2008; WILKIE et al., 2004), bem como ao esforço do paciente para fechar as pálpebras durante o exame (PARAG et al., 2001).

O ciclo circadiano é determinado pela exposição à luminosidade e à escuridão, percebido por receptores fotorretinianos. Vários processos celulares, bioquímicos e fisiológicos sofrem mudanças cíclicas ao longo do dia, assim como a pressão intraocular. Existem estudos que verificaram alterações nos valores obtidos da PIO, descrevendo maiores leituras no período da tarde que no período da manhã (BERTOLUCCI et al., 2009; DOYLE et al., 2002; WADA, 2006).

Estudos realizados em humanos relatam aumento de 50% nos valores da PIO obtidos em posições de cabeças em gravidade invertida, elevação atribuída ao aumento da pressão venosa episcleral, às forças compressivas das estruturas internas do bulbo ocular e à congestão do trato uveal (BROADWATER et al., 2008; LINDER et al., 1988).

Segundo Gum et al. (1998), a tonometria em grandes animais sem tranquilização, apenas sob anestesia tópica, pode ser influenciada por temperamento sanguíneo, blefarospasmos e retração do bulbo na órbita. Os valores médios obtidos da pressão intraocular em bovinos adultos foi de 26,9 mmHg com desvio padrão de 6,7 mmHg. Já em bezerros, o resultado obtido foi de 20,0 mmHg com desvio padrão de 5,5 mmHg. Gelatt (2000) cita valores de 23,4 com desvio padrão de 5,9 mmHg. Para ovelhas, 16,36 mmHg (PIGGATO et al., 2011).

Os valores do resultado desse exame trazem relevantes informações complementares ao exame clínico, determinando a terapêutica e a condução clínica mais adequada a diversas patologias oculares nas quais existe a alteração da pressão, como o glaucoma e os traumatismos oculares.

2.5 MICROBIOTA CONJUNTIVAL NORMAL

A população de microrganismos que regularmente encontramos em sítios anatômicos específicos são chamados de microbiota normal, ou flora bacteriana autóctone, e o olho e seus anexos também apresentam esse padrão de colonização bacteriana normal (PRESCOTT et al., 2002).

A microbiota da conjuntiva ocular foi inicialmente descrita em humanos por Arnold Lawson no ano de 1898, em artigo para o *British Medical Journal*, no qual listou as bactérias que eram encontradas na conjuntiva ocular da maioria dos pacientes saudáveis observados. Tais microrganismos restringiam o aparecimento de microrganismos patogênicos (LAWSON, 1898; UESUGUI et al., 2002).

Por se tratar de microambiente rico em nutrientes, a microbiota bacteriana autóctone está envolvida na saúde ocular, prevenindo a colonização por bactérias potencialmente patogênicas e mantendo a integridade da superfície ocular (ARMSTRONG, 2000).

Tal microbiota pode ser classificada como residente, transitória ou patogênica em função de sua dinâmica de relacionamento com o hospedeiro. A microbiota residente coloniza a superfície ocular desde o nascimento e interage, de forma não invasiva, com a conjuntiva, a esclera e a córnea, ao passo que o conjunto dos organismos transitórios tem permanência temporária, mas não coloniza de forma efetiva e acaba sendo debelado pelo sistema de defesa imunológico ou pela competição com a microbiota residente. Por sua vez, os micro-organismos patogênicos, que agridem e interferem na integridade da conjuntiva e do epitélio corneano, provocam inflamação e iniciam um processo infeccioso, quando, a partir dessa agressão e da ruptura do epitélio corneano, alguns micro-organismos residentes e transitórios passam a ser, também, potencialmente patogênicos. Essa mesma microbiota autóctone pode se tornar patogênica a partir de um traumatismo ou pela queda na imunidade do animal, mantendo-se estável em animais clinicamente saudáveis (ANDRADE et al., 2002; RYAN, 2004; HERITAGE et al., 2003; TODAR, 2006).

Para que a infecção ocular se instale, é necessário que haja aderência, penetração, invasão, persistência e multiplicação do agente, o qual normalmente conta com ferramentas, como fímbrias, produção de exotoxinas, proteases e endotoxinas que destroem células e tecidos oculares (VIEIRA et al., 1999).

A identificação da microbiota é essencial para o entendimento na dinâmica da doença infecciosa da superfície ocular. Conhecer a microbiota normal auxilia na avaliação do potencial patogênico de um eventual agente e, em caso de lesão ocular, na adoção de medidas preventivas e terapêuticas com maior precisão. Colher amostras para cultura e possibilitar a comparação de bactérias residentes com micro-organismos patogênicos é ferramenta valiosa em diagnósticos oculares (GRAHN, 2000).

Como a superfície ocular está constantemente exposta ao meio ambiente, ela conta com diversos mecanismos específicos (agregados linfoides da conjuntiva, células de Langerhans do limbo, imunoglobulinas) e não específicos de defesa, em estruturas próprias (córnea e conjuntiva) ou anexas (pálpebras e filme lacrimal) (BISTNER, 1994).

O sistema imunológico ocular conta com a competente resposta imune celular baseada em linfócitos T auxiliares, citotóxicos e supressores, que é capaz de reconhecer, combater e estabelecer uma memória para agentes bacterianos para os quais a superfície ocular foi previamente exposta. O complemento é outra ferramenta da resposta celular, composto por um conjunto de nove proteínas séricas, que, quando combinado a determinados fatores, é capaz de causar lise celular. Sua ativação pode ocorrer a partir da interação dos antígenos com anticorpos (IgG e IgM), denominada via clássica, ou pela via alternativa, que é ativada por bactérias, endotoxinas, enzimas de tecidos lesionados, ou pela IgA secretória (CORDEIRO e KROLOW, 1999; BISTNER, 1994; YOSHIDA et al. 1987).

A conjuntiva ocular conta com eficiente sistema de defesa específico e não específico, com rápidas respostas à invasão bacteriana. Existe também intenso ritmo de troca celular, descamando as camadas superficiais do epitélio corneano e produzindo novas células na membrana basal a cada sete dias, inibindo e atuando mecanicamente contra a invasão de micro-organismos patogênicos (SLATTER, 2001).

3. OBJETIVOS

O objetivo geral foi pesquisar os aspectos referentes à fisiologia e microbiologia da superfície ocular de bovinos da raça Gir Leiteiro, determinar os padrões de produção lacrimal, pressão intraocular e prevalência de micro-organismos isolados da conjuntiva de animais clinicamente saudáveis em bioma de cerrado.

Objetivos específicos:

1. Mensurar a produção de lágrima através do teste de Schirmer;
2. Mensurar a pressão intraocular através de tonometria por aplanção;
3. Identificar a flora bacteriana de amostras coletadas do saco conjuntival palpebral inferior e realizar testes de sensibilidade a antimicrobianos.
4. Comparar os resultados obtidos nas mensurações de produção de lágrima e pressão intraocular entre diferentes grupos etários.

4. JUSTIFICATIVA

O estudo do olho e de suas estruturas é importante para a compreensão dos mecanismos fisiológicos e patológicos inerentes ao órgão, como também para o entendimento do comportamento e da ecologia bacteriana de diversas espécies animais. A visão é um sentido diretamente envolvido em desempenho e produtividade animal, de modo que seus distúrbios acarretam fortes impactos econômicos.

A pesquisa da dissertação tem caráter de Ciência Aplicada: a partir do resultado obtido, espera-se gerar um material científico que possa ser usado de base para estudos futuros, e também sirva de informação para extensão, sendo referência ao veterinário de campo.

A oftalmologia veterinária de animais de produção tem a especificidade de crescente demanda por informações e profissionais capacitados, principalmente em sistemas de produção de leite intensivo e animais de alta performance. A visão exerce relevante papel na manutenção da estrutura de rebanho, na apreensão de alimento e na propriocepção, com expressivas perdas em função de mau funcionamento desse sentido.

Os resultados conformarão o início de uma base de padrões para exames semiológicos oculares complementares na clínica médica de bovinos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MODELO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido no Campo experimental Getúlio Vargas da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), uma propriedade rural situada em Uberaba MG, em parceria entre a Universidade de Uberaba (UNIUBE) e a EPAMIG. O período de execução se estendeu de julho a dezembro de 2016.

A fim de garantir a interferência mínima nos resultados em função de modificações de ambiente, de clima, de manejo e demais variáveis do sistema de criação, o experimento foi conduzido sob as mesmas condições ambientais e de manejo.

TABELA 1. Dados climatológicos da Fazenda da EPAMIG Campo Experimental Getúlio Vargas, em Uberaba, durante o período de julho a dezembro de 2016

	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Temperatura média (°C)	21,9	23,8	26,3	25,9	24,4	25,5
Umidade média (%)	53	48	45	62	75	74
Precipitação pluviométrica (mm)	0	33,2	18,7	178,8	409	247,2

A propriedade produz leite cru refrigerado, comercializando 250 litros por dia, a partir de um plantel de matrizes da raça Gir Leiteiro PO e de alguns animais Girolando, colocados em regime de pasto e de suplementação, com média de 30 animais em ordenha.

Um grupo de matrizes da raça Gir Leiteiro PO em lactação foi selecionado aleatoriamente nesse plantel para a condução do experimento, a fim de coletar dados para a caracterização da produção de lágrima, PIO e microbiota da superfície ocular.

Os animais apresentavam idades entre 3 e 10 anos, e pertencentes a um mesmo grupo de manejo na fazenda. O regime alimentar era à base de pasto, em pastagens de capim Mombaça (*Panicum maximum cv. Mombaça*) sob pastejo rotacionado, cocho de água e sal mineral *ad libidum*, mais suplementação de volumoso (silagem de milho) em cocho coletivo de arraçãoamento, com as matrizes separadas em lotes de acordo com a produção leiteira, independente da ordem de parto.

Ingressaram no experimento animais com olhos clinicamente saudáveis, triados a partir de exame clínico geral e oftálmico, selecionando-se aqueles que não apresentassem doenças concomitantes, ou que estivessem sob a utilização de antibióticos ou outros fármacos.

O experimento demandou a necessidade da padronização do método de contenção física da cabeça, chifres e pescoço através de cordas, a fim de garantir a boa imobilização do animal para as aferições e coletas, mas de maneira a não haver interferência nem no bem estar do animal, nem na qualidade dos resultados.

A contenção foi realizada através do uso de cordas, no tronco de contenção individual, fazendo-se um cabresto complementado por fixação dos cornos, mantendo-se a cabeça em posição de propriocepção normal, de modo a garantir a não compressão de nenhuma estrutura periocular ou de gravidade invertida.

Os dados eram coletados em formulário padrão desenvolvido para o experimento, com:

- 1) Dados climáticos: temperatura ambiental, umidade relativa, pluviometria dos dias e do mês da coleta (julho a dezembro de 2016).
- 2) Informações individuais dos animais (registro, idade, ordem de parto, data de parto atual, e observações).
- 3) Mensurações da produção de lágrima (em mm por minuto) e PIO (em mmHg).
- 4) Identificação dos *swabs* de coleta em olho direito e esquerdo de cada animal e sua correlação com os dados de registro zootécnico.

5.2 TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER

Para a mensuração da produção de lágrima foram utilizadas 98 unidades amostrais (olhos) de 49 animais, realizando-se o teste em ambos os olhos. Os dados foram colhidos nas seguintes datas e com os respectivos dados climáticos:

TABELA 2. Dados climatológicos da Fazenda da EPAMIG Campo Experimental Getúlio Vargas, em Uberaba MG, nos dias da mensuração da produção de lágrima

DATA	N	TEMPERATURA	UMIDADE RELATIVA	PRECIPITAÇÃO
27/06/16	13	19,5°C	64%	0 mm
28/07/16	17	25,0°C	43%	0 mm
22/08/16	19	16,1°C	64%	6,9 mm

O teste lacrimal de Schirmer (STT1) foi realizado com o animal contido no brete, impedindo-se a movimentação de cabeça e de chifres através de cordas. A tira de papel absorvente¹ foi alojada no terço médio da pálpebra inferior, com o olho aberto, durante um minuto. Todas as tiras de teste eram da mesma marca e partida, com o teste realizado sempre pelo mesmo operador e no mesmo horário do dia.

Posteriormente, era feita a leitura da extensão da fita que ficou úmida, aferindo-se a produção de lágrima (STT1) em milímetros por minuto (mm/ min).



Figura 1. Bovino Gir Leiteiro em tronco de contenção individual durante o teste lacrimal de Schirmer (STT1), outubro de 2016, Fazenda da EPAMIG.

5.3 TONOMETRIA

Para aferição da pressão intraocular foram utilizadas 66 unidades amostrais (olhos) de 33 animais, com a medição realizada em ambos os olhos. Os dados foram colhidos nas seguintes datas, com os respectivos dados climáticos:

¹ Marca OPHTHALMOS®, LOTE 061519, VAL 06/2019, Brasil.

Tabela 3. Dados climatológicos da Fazenda da EPAMIG Campo Experimental Getúlio Vargas, em Uberaba MG, nos dias da mensuração da PIO

DATA	n	TEMPERATURA	UMIDADE RELATIVA	PRECIPITAÇÃO
22/09/16	11	26,5°C	34%	0,0 mm
06/10/16	11	22,1°C	66%	2,7 mm
17/11/16	11	22,9°C	86%	3,5 mm

A aferição da pressão intraocular foi realizada no mesmo padrão de contenção, em brete individual e com o auxílio de cordas para estabilizar a posição da cabeça, garantindo-se assim a menor interferência possível de fatores externos, com o posicionamento paralelo da cabeça em relação ao solo e superior ao coração do animal, evitando a congestão e a má drenagem dos vasos episclerais.

Previamente ao exame de pressão intraocular instilou-se uma solução anestésica tópica em ambos os olhos para maior conforto do animal e segurança do operador durante a aferição.²

O tonômetro tono – pen XL®³ foi aplicado suavemente no centro da córnea por três vezes, gerando a leitura numa escala de mmHg com média dos três toques. Foram realizadas três aferições sequenciais da PIO de cada olho.

A média aritmética dos três resultados da leitura de cada olho foi considerada o resultado da PIO.

² Marca TERACAÍNA TÓPICA 1%(allergan), Brasil.

³ Tono-pen XL, marca Reichert Technologies, New York, USA.



Figura 2. Abertura manual das pálpebras e correto posicionamento do tonômetro no centro da córnea, após aplicação de colírio anestésico em vaca Gir Leiteiro, Fazenda da EPAMIG, Uberaba, MG.

5.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Para a etapa de análise e de caracterização da microbiota normal do olho, foi realizada a colheita em 02 dias (16/08/16 e 22/08/16) de 62 amostras oculares (unidades amostrais), das quais 31 animais com coleta em ambos os olhos.

O animal teve sua contenção realizada no mesmo padrão dos procedimentos anteriores e as pálpebras eram limpas com algodão seco estéril. A fissura palpebral foi aberta manualmente com luvas de procedimento. Um *swab* estéril foi aplicado no saco conjuntival inferior, em suaves movimentos rotatórios, entrando em contato com extensa área da superfície da conjuntiva ocular, evitando-se o contato com a pele ou qualquer outro anexo.

O *swab* foi acondicionado imediatamente após a coleta em tubo de vidro com tampa rosqueada, com 1 ml de solução salina a 0,9% estéril, e identificado com os dados do animal, e de qual olho (direito/esquerdo) fora coletado.

Os frascos foram mantidos refrigerados em isopor com gelo até o momento do início das coletas. O transporte foi realizado em isopor até o laboratório da UNIUBE em prazo máximo de duas horas após o primeiro animal coletado (QUINN et al., 1994; OPLUSTIL et al., 2004).

No laboratório, as amostras foram imediatamente semeadas em meio ágar sangue de carneiro a 5%, e incubadas por 24-72h a 37°C em estufa com atmosfera controlada em 5% de CO₂, propiciando um ambiente favorável ao crescimento bacteriano in vitro do material recuperado da superfície ocular.

As colônias predominantes que cresciam após esse período eram consideradas amostras positivas, isoladas e semeadas em ágar sangue de carneiro 5% e ágar Mac Conkey para posterior classificação. A classificação era efetuada através de esfregaço e da coloração de GRAM e, posteriormente, por meio de testes bioquímicos padrão, utilizados para a classificação das bactérias.

Nas colônias bacterianas isoladas, era realizado o teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) pelo método de Kirby Bauer de difusão em discos, de acordo com Anvisa (2004).

Os testes de *Schirmer* e tonometria foram realizados em dias diferentes, bem como a coleta de amostras oculares para cultivo bacteriano, a fim de que não houvesse interferência na coleta de dados das variáveis mensuradas, uma vez que cada uma exige manipulação específica, para a menor intervenção possível nos resultados microbiológicos.

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em experimentação animal no processo 001/17 da UNIUBE.

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As mensurações de STT e PIO foram expressas em média, desvio padrão e o intervalo de confiança a 95%.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade, sendo utilizado o teste-t pareado para os dados paramétricos. Os dados da PIO falharam no teste de normalidade, sendo então realizado o teste de Mann-Whitney.

Foi realizada a comparação entre as diferentes idades de animais organizadas em grupos, sendo 02 grupos para a PIO e 03 grupos para o STT; a comparação das médias obtidas foi realizada pelo teste de Turkey com nível de significância de 5%.

As informações obtidas de caracterização microbiológica e sensibilidade a antibióticos foram discutidos pela estatística descritiva.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 TESTE DE PRODUÇÃO LACRIMAL (TESTE DE SCHIRMER)

Os resultados encontrados no experimento determinaram a média com o desvio padrão para a produção lacrimal basal e reflexa (STT1) em bovinos fêmeas adultos da raça Gir leiteiro. A Tabela 4 apresenta os dados encontrados separados pelo valor total das médias do olho direito e esquerdo, e os valores de cada olho separadamente.

Segundo Ofri et al. (1998), os profissionais devem ter a referência dos padrões normais de valores para produção de lágrima da espécie examinada para a investigação de desordens oculares.

O teste de Schirmer encontrou o valor médio para os 96 olhos de 21,47 mm (20,55 – 22,39 mm) de produção lacrimal por minuto, com desvio padrão de 4,61 mm em intervalo de confiança de 95%.

Tabela 4. Valores médios totais e por olhos encontrados para a produção de lágrima através do teste de Schirmer e pressão intraocular, através de tonometria por aplanção em vacas Gir leiteiro em lactação, de agosto a outubro de 2016, Fazenda da EPAMIG

VARIÁVEL	N	VALOR MÉDIO (mm min)	DESVIO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA A 95%
Teste de Schirmer	96	21,47	4,61	20,55 – 22,39
Schirmer olho direito	48	22,41 ^a	4,69	21,06 – 23,06
Schirmer olho esquerdo	48	20,53 ^b	4,39	19,27 – 21,79

O Gráfico 1 apresenta a média e desvio padrão de produção de lágrima por olho (direito e esquerdo). Os dados para a produção lacrimal foram determinados em intervalo de confiança de 95%, e houve diferença entre os olhos ($p = 0,009$).

Tal diferença encontrada pode ter relação com o fato da coleta ter sido padronizada iniciando no olho direito, estando o olho esquerdo aberto e em alerta por mais tempo, com redução dos movimentos palpebrais, assim permitindo a evaporação da lágrima.

Os valores obtidos variaram de 11 a 35 mm por minuto. No olho direito, 73% dos dados se encontram entre 16 - 26 mm/min (35/48), enquanto que, no olho esquerdo, 85% dos dados se encontravam no mesmo intervalo (41/48).

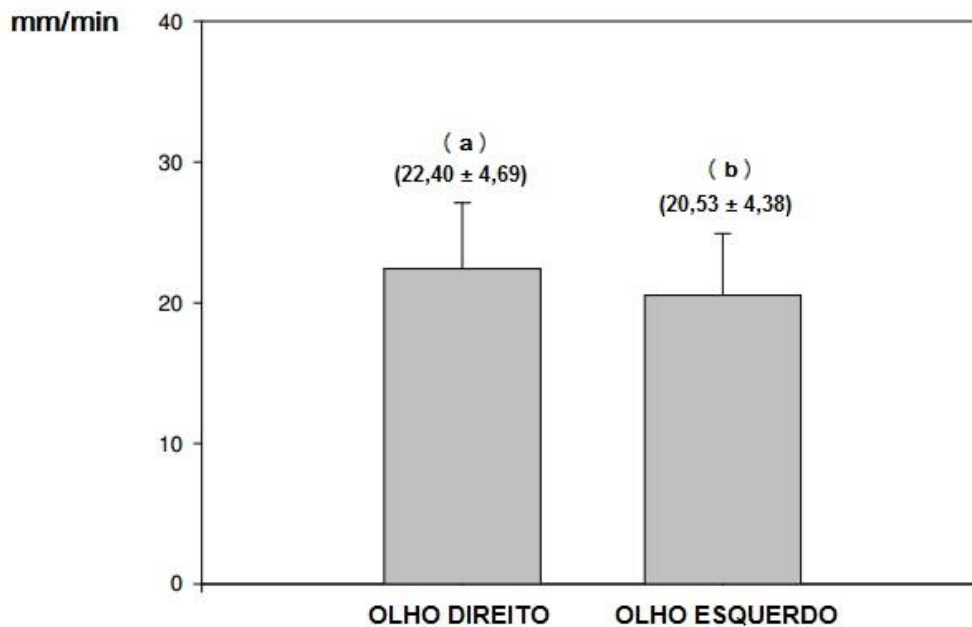


GRÁFICO 1. Média e desvio padrão das mensurações da produção de lágrima nos olhos esquerdo e direito de bovinos Gir Leiteiro na Fazenda da EPAMIG, 2016

Obs.: Letras iguais significam que não houve diferença estatística ($p > 0,5$)

Os resultados encontrados para o teste lacrimal de Schirmer estão abaixo dos descritos por Grahn (2000), que encontrou produções superiores aferidas em 30 segundos em bovinos da raça Holandês, na América do norte e em sistemas de criação de regime estabelecido. Tofflemire et al. (2015) relataram, em 33 bezerros holandeses, valores de 20,4 mm/min com desvio padrão de 5,0 mm nos Estados Unidos.

Beckwith-Cohen (2014) encontrou valores entre 12-35 mm/30 seg em 29 bovinos, com média de 25,52 mm/30 seg. e desvio padrão de 6,10 em animais cruzamento Jersey x Holandês em Winsconsin, USA.

O valor médio encontrado para vacas gir leiteiro no presente experimento foi de 21,47 mm/min e desvio padrão de 4,61, apresentado na Tabela 4.

Tal fato pode ter correlação com a raça utilizada, *Bos taururs indicus*, e suas características da fisiologia do sistema ocular, bem como fatores inerentes ao formato da fissura palpebral, alojamento do bulbo na órbita e relação com o tipo de ambiente e sistema de produção (confinado x pasto).

Kvapil et al. (2017) encontraram, para ruminantes selvagens (*Dama dama*), em condições de cativeiro, uma média de 17,8 mm/min com desvio padrão de 3,16, em 10 animais, 02 machos e 08 fêmeas entre 3 meses e 60 meses num zoológico na Eslovênia.

Oriá et al. (2014) encontraram, em 20 coelhos machos da raça Nova Zelândia com 1-2 anos e entre 2,5 e 3,3 kg, uma produção lacrimal média de 7,27 mm/min e desvio padrão de 2,51 em experimento conduzido na Bahia. Em 20 ovelhas Sanjab de 2-3 kg machos de 2-3 anos, Ghaffari et al. (2011) conduziram um experimento no Irã e encontraram um valor médio de 18,52 mm/min, com desvio padrão de 2,55.

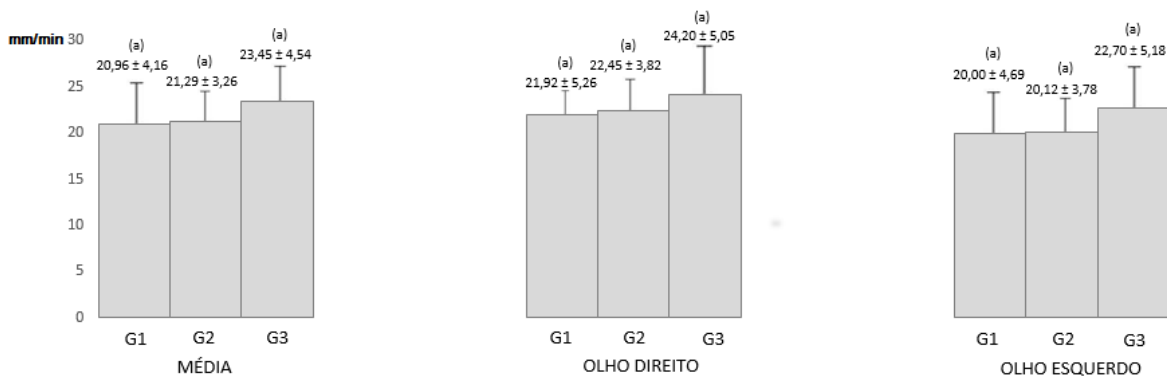


GRÁFICO 2. Médias do teste de Schirmer geral, por olho (direito e esquerdo) em diferentes grupos etários (G1 9-10 anos; G2 7-8 anos; G3 5-6 anos) de vacas Gir em lactação, Campus Experimental Getúlio Vargas, EPAMIG, Uberaba MG. Obs: Letras iguais significam que não houve diferença estatística ($p > 0,05$)

O Gráfico 2 apresenta os resultados encontrados para a média geral e por olho para a produção de lágrima, divididos em grupos etários. Não houve diferença estatística entre as diferentes faixas etárias na distribuição dos dados nos grupos analisados ou entre a média dos olhos comparada ao olho direito ou esquerdo.

6.2 AFERIÇÃO DA PRESSÃO INTRAOCULAR

A aferição da pressão intraocular demonstrou valor médio de 23,81 mmHg (22,92 – 24,70 mmHg), em 66 olhos, nos 33 animais do experimento, com desvio

padrão de 3,61 mmHg, em intervalo de confiança de 95%. Os valores variaram de 18,6 mmHg a 31,6 mmHg, nos 66 olhos.

Tabela 5. Valores médios totais e por olhos encontrados para a pressão intraocular através de tonometria por aplanção em vacas Gir leiteiro em lactação, de agosto a outubro de 2016, Fazenda da EPAMIG

VARIÁVEL	N	VALOR MÉDIO (mm Hg)	DESVIO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA A 95%
PIO	66	23,81	3,61	22,92 - 24,70
PIO olho direito	33	23,80	3,52	22,55 - 25,05
PIO olho esquerdo	33	23,83	3,75	22,50 - 25,16

Gum (1998) verificou que os valores médios obtidos da pressão intraocular em bovinos adultos foi de 26,9 mmHg com desvio padrão de 6,7 mmHg, variando entre 16-42 mmHg para vacas holandesas e jersey, realizando-se a tonometria por aplanção, com o equipamento Tono pen XL em 27 animais nos Estados unidos em sistemas de produção confinados.

Gelatt (2000) encontrou valores de 23,4 mmHg com desvio padrão de 5,9 mmHg, com o mesmo equipamento e metodologia, em bovinos da raça Holandesa, em sistemas de produção confinados, nos Estados Unidos.

Kvapil et al. (2017) encontraram, para ruminantes selvagens (*Dama dama*), em condições de cativeiro, uma média de 14,1 mmHg, com desvio padrão de 2,48, em 10 animais, dos quais 02 machos e 08 fêmeas, entre 3 meses e 60 meses num zoológico na Eslovênia. Porém, neste experimento, os animais foram contidos em decúbito lateral, sem sedação.

Para ovelhas, o valor médio de 16,36 mmHg foi encontrado por Piggato et al. (2011), para 25 animais da raça Texel (machos e fêmeas de 3 anos) e Brandão et al. (2004) encontraram o valor médio de 9,77 mmHg para 10 animais meio sangue da raça Ile de France (machos de 11 meses), utilizando técnica e equipamento similar. Ghaffari et al. (2011) utilizaram 20 ovelhas machos de 2-3 anos com 2-3 quilos da raça Sanjabi no Irã e encontraram um valor para PIO médio de 9,37 mmHg com desvio padrão de 2,45.

Oriá et al. (2014) encontraram, em 20 coelhos machos da raça Nova Zelândia com 1-2 anos e entre 2,5 e 3,3 kg, uma PIO média de 12,89 mmHg e desvio padrão de 2,89 em experimento conduzido na Bahia.

A Tabela 5 apresenta a PIO média aferida neste presente experimento, em 66 olhos, de 23,81 mmHg com desvio padrão de 3,61 mmHg em vacas gir leiteiro.

Os valores encontrados no presente experimento estão próximos aos achados na literatura em bovinos.

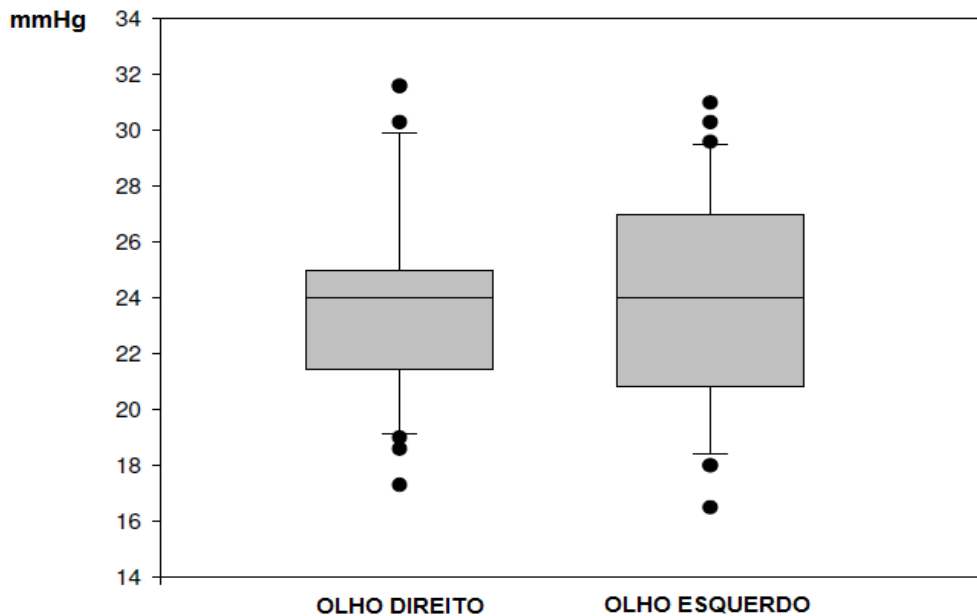


GRÁFICO 3. Valores da mediana, quartis inferior (P25%) e superior (P75%), representados em *box-plots whiskers*, por olhos, encontrados para a pressão intraocular através de tonometria por aplanção em vacas Gir leiteiro em lactação, de agosto a outubro de 2016, Fazenda da EPAMIG

O Gráfico 3 permite a análise do comportamento da dispersão dos dados das aferições de pressão intraocular nas matrizes gir leiteiro avaliadas. A mediana (tendência central) de ambos os olhos foi a mesma (24 mmHg), e a altura das caixas representam a variabilidade dos dados. No olho direito, 50% dos valores se encontram entre 21,52 e 25,00 mmHg. No olho esquerdo, tais dados se distribuem entre 20,90 e 27,00 mmHg. Os *whiskers* indicam a segunda faixa de concentração de dados, enquanto os pontos negros mostram valores discrepantes.

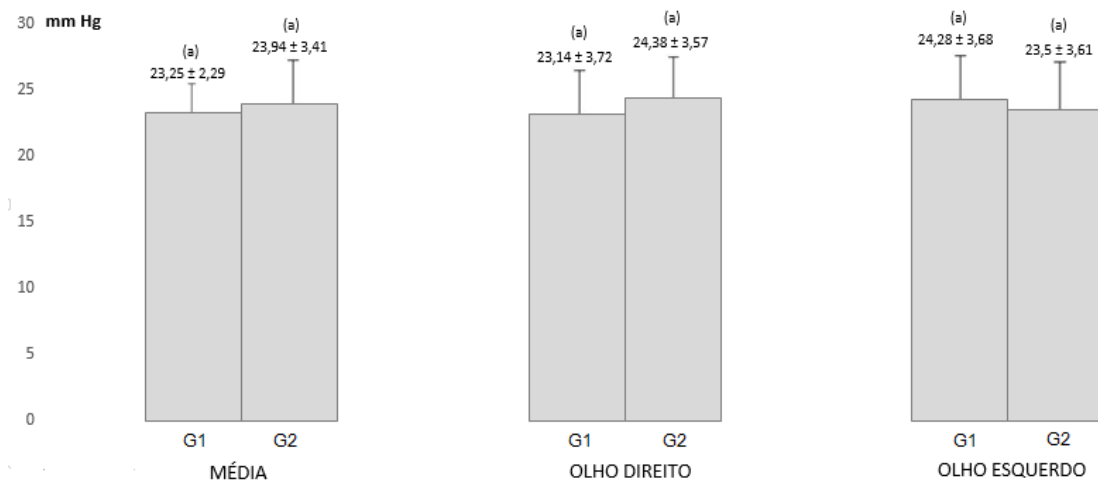


GRÁFICO 4 Médias da PIO geral, por olho (direito e esquerdo) em diferentes grupos etários de vacas Gir em lactação, Campus Experimental Getúlio Vargas, EPAMIG, Uberaba MG
Obs.: Letras iguais significam que não houve diferença estatística ($p > 0,5$).

Não foi observada diferença estatística no resultado da aferição da PIO entre os diferentes grupos etários analisados, conforme observado no Gráfico 4, nem entre a média dos olhos quando comparada à média do olho esquerdo ou direito.

Existem fatores internos e externos ao animal que podem influenciar nos valores da PIO, tais como hemodinâmica, tônus muscular extraocular, posicionamento de pálpebras e retração do músculo bulbo ocular (VAN DER WOERDT et al., 1995; SAPIENZA et al., 1991).

Alguns fatores externos ao bulbo ocular podem também influenciar na PIO, tais como o tipo de tonômetro, a experiência do operador (MOORE et al., 1993) e comportamento do animal durante o exame (GELLAT et al., 1998).

Os dedos do operador podem exercer pressão sobre as pálpebras, influenciando movimentos oculares e levando a aumento da PIO (KNIESTEDT et al., 2008; WILKIE et al., 2004), bem como o esforço do paciente em fechar as pálpebras durante o exame também pode induzir tal condição de aumento (PARAG et al., 2001).

Segundo Gum et al. (1998), a tonometria em grandes animais sem tranquilização, apenas sob anestesia tópica, pode ser influenciada por temperamento agitado, blefarospasmo e retração do bulbo na órbita. Kvapil et al. (2017) citam que a forma de contenção pode afetar os valores obtidos e pode explicar a diferença entre olho direito e esquerdo.

As matrizes Gir Leiteiro foram escolhidas de acordo com seu temperamento durante a contenção, que era refeita sempre que havia alguma sugestão de fator externo capaz de influenciar o resultado do exame, como a posição da cabeça em relação ao nível do coração, ou o posicionamento das cordas e eixo da cabeça, assim como a atitude durante a aferição da pressão intraocular.

6.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Os resultados positivos de crescimento bacteriano atingiram um total de 73% das amostras coletadas, tendo sido isolados 4 gêneros de bactérias, com maior prevalência de *Staphylococcus* sp., que foi isolado em 39% das amostras analisadas. Somando esse resultado com as amostras positivas para *Staphylococcus aureus*, o gênero foi responsável por 73% das amostras positivas.

A Tabela 6 apresenta a taxa de crescimento bacteriano de cada gênero, em valores totais e dados percentuais dos animais utilizados para o experimento. Do total das vacas, 12,9% não apresentaram crescimento bacteriano em nenhum dos dois olhos, enquanto 29,03% apresentaram resultado positivo em apenas um olho, enquanto 58,06% das vacas tiveram crescimento bacteriano em ambos os olhos.

Oriá et al. (2013) relatam a frequência de crescimento bacteriano da superfície ocular similar, em experimento com 30 cães (machos e fêmeas) em olhos clinicamente saudáveis.

O crescimento bacteriano foi predominantemente de bactérias GRAM +, em 93,1% das amostras com crescimento bacteriano positivo, representado pelos gêneros *Staphylococcus* sp e *Enterobacter* sp.

O grupo de crescimento de bactérias GRAM negativas está representado pelo único gênero *Enterococcus* sp, em 6,8% das amostras positivas. Não foi encontrada a bactéria do gênero *Moraxella*.

Araghi-Sooreh e Baniardalan (2013) descreveram também prevalência de bactérias do gênero GRAM + (55,83%) em 50 bovinos da raça Holstein em Urmia, no Irã, e com crescimento de 100% das amostras cultivadas. Porém, grande parte das bactérias GRAM + foram identificadas como *Lactobacillus plantarum*, não encontradas no presente estudo. O experimento acima citado foi realizado em região de clima desértico e em sistema de exploração confinado.

Kvapil et al. (2017) encontraram 49% de amostras positivas em ruminantes selvagens em zoológico na Eslovênia, em 58 animais, machos e fêmeas de idades variadas, com 49% das amostras representadas por bactérias GRAM positivas.

Kojouri et al. (2007) reportaram *Bacillus cereus* como microbiota predominante em 17 novilhas Holstein de 1-2 anos no Paquistão, em animais confinados; enquanto Wilcox (1970) relatou, em experimento na Austrália com 227 animais adultos e 181 bezerros, cocos GRAM+ como mais frequentes, observando também a sazonalidade do crescimento bacteriano.

Moraxella bovis, foi descrita como patógeno responsável pela ceratoconjuntivite infecciosa dos bovinos (ALEXANDER, 2010), não foi identificada nesse estudo. Esse agente foi relatado em olhos clinicamente saudáveis por Wilcox (1970), Barber et al. (1986) e Powe et al. (1992). Por sua vez, autores como Kojouri et al. (2007) e Araghi-Sooreh e Baniardalan (2013) não identificaram tal bactéria, demonstrando não ser agente usual em olhos de bovinos clinicamente saudáveis.

Tabela 6. Crescimento bacteriano obtido através de swabs realizados no saco conjuntival inferior em vacas Gir leiteiro em lactação, de agosto a outubro de 2016, Fazenda da EPAMIG

BACTÉRIA	N	% TOTAL
<i>Staphylococcus</i> sp.	24	39%
<i>Enterobacter</i> sp.	9	14%
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	15%
<i>Enterococcus</i> sp.	3	5%
Não determinado	17	27%
TOTAL	62	100%

Os resultados de culturas positivas para swabs oculares em olhos saudáveis são variados. Wang et al. (2008) citam resultados positivos na ordem de 42,7%, enquanto Levey et al. (2007) descreveram resultados de 47,1% de amostras positivas, e Uesugui et al. (2002), de 41,1%, todos conduzidos em pacientes humanos.

Oriá et al. (2013) relataram 60% de resultados positivos em 30 cães clinicamente saudáveis na Bahia, Brasil, com a predominância de bactérias GRAM + (85,37%) do gênero *Staphylococcus* sp. com resultados muito próximos ao encontrado neste experimento.

Oriá et al. (2014) relataram 91,6% de positividade nas amostras, sendo destas 93,9 % bactérias GRAM +, em experimento conduzido na Bahia, Brasil, com 20 coelhos machos da raça Nova Zelândia com 1-2 anos e entre 2,5 e 3,3 kg.

Os diferentes sistemas de manejo, criação e época do ano também devem ser considerados no levantamento, visto que a dinâmica de interação com o ambiente é substancialmente diferente (RAMSEY, 1998; PISANI et al., 1997), em sistemas confinados quando comparados a sistemas a pasto, com micro-organismos específicos de cada sistema de criação.

A Tabela 7 mostra o resultado do teste de sensibilidade a antimicrobianos nas amostras oculares positivas.

O teste teve 22,2% das amostras resistentes a 2 princípios antimicrobianos ou mais (10/45). A estreptomomicina e Tilmicosina tiveram mais de 25% das bactérias resistentes a esses princípios. As bactérias foram 100% sensíveis in vitro a: Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Ceftiofur e Florfenicol. Outros fármacos que mostraram boa sensibilidade foram gentamicina, penincilina, eritromicina, tetraciclina, enrofloxacina e neomicina, todas com mais de 95% de sensibilidade.

Tabela 7. Teste de sensibilidade a antibióticos (Kirby-Bauer) e porcentagem de bactérias resistentes por princípio ativo, em crescimento bacteriano obtido através de swabs da conjuntiva ocular de vacas Gir leiteiro em lactação da fazenda da EPAMIG, em agosto de 2016

Teste de sensibilidade a antibióticos – TSA

Princípios ativos	Resistente	Sensível	Total	% resistência
AMPICILINA	3	42	45	7,1
GENTAMICINA	1	44	45	4,9
PENINCILINA	2	43	45	4,4
ERITROMICINA	2	43	45	4,4
TETRACICLINA	2	43	45	4,4
SULFAMETOXPRAZOL/TRIMETROPIM	3	42	45	6,6
AMOXICILINA/ÁC. CLAVULANICO	0	45	45	0
ENROFLOXACINA	1	44	45	4,9
TILMICOSINA	12	33	45	26,6
NEOMICINA	1	44	45	4,9
CEFTIOFUR	0	45	45	0
FLOFENICOL	0	45	45	0
ESTREPTOMICINA	15	30	45	33,3

Existe discordância sobre a microbiota ocular ser residente ou meramente transitória, já que amostras de muitos indivíduos saudáveis não albergam um tipo de micro-organismo cultivável e diversos daqueles encontrados em coletas oculares são usualmente típicos dos encontrados em pele (WILSON, 2005).

Porém, alguns fatores devem ser levados em consideração, já que culturas oculares negativas podem ser decorrentes de: baixa recuperação de bactérias na

coleta, cultivo e transporte em meios inadequados, como substratos em temperatura ou diluição inadequada, vencidos, ou ainda colírios anestésicos com preservativos, quando instilados anteriormente à coleta. O sítio de coleta também pode influenciar, pois a comissura medial do olho é o local mais contaminado, seguido pelo saco conjuntival inferior e depois o saco conjuntival superior (AYOUB, 1994; UESUGUI et al., 2002).

A maioria dos estudos em microbiologia ocular é conduzida em metodologias laboratoriais baseadas em identificação por coloração de GRAM, isolamento e testes bioquímicos. Com o advento da Biologia Molecular, ferramenta mais precisa para o estudo da microbiota ocular, outros micro-organismos não cultiváveis pelos métodos tradicionais possam ser identificados.

7. CONCLUSÃO

Não existe influência da idade na produção de lágrima das faixas etárias analisadas, comparando a aferição média dos dois olhos, com a média do olho esquerdo e a média do olho direito.

Nos dados gerados neste experimento para *Bos taurus indicus*, comparado com os dados de literatura de *Bos taurus taurus* utilizando a mesma metodologia, não há diferença de PIO entre as subespécies.

Não existe influência da idade na pressão intraocular nas faixas etárias analisadas, comparando a aferição média dos dois olhos, com a média do olho esquerdo e a média do olho direito.

O gênero predominante de bactérias na superfície ocular de bovinos da raça Gir leiteiro com olhos clinicamente saudáveis nas condições do experimento foi *Staphylococcus sp.*

O teste de sensibilidade a antibióticos identificou antimicrobianos com expressiva taxa de resistência bacteriana (Tilmicosina e Estreptomina) e outros com eficácia máxima (Ác. Clavulânico com amoxicilina, ceftiofur e flocenicol).

Os resultados definem uma base inicial de informações do sistema ocular de bovinos zebuínos da raça Gir Leiteiro em bioma de cerrado. Contudo, novos trabalhos devem ser desenvolvidos para aumentar o volume de dados, caracterizar outras categorias de animais e outras propriedades da região, assim como em diferentes localidades, aumentando a consistência e o alcance dos dados iniciais, tal como analisar em diferentes épocas do ano para definir a influência da sazonalidade no estudo.

Os valores encontrados neste estudo podem auxiliar veterinários que trabalham com bovinos em campo ou experimentalmente.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, W. O. G.; TEIXEIRA, R. M. B.; ALENCAR, L. M.; CRONEMBERGER, S.; CALIXTO, N. Espessura central e periférica da córnea: influência na medida da pressão intraocular pelo Tonopen. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.69, n.1, p.41-6, 2006.
- ANDRADE, A. L. de; STRINGHINI, G.; BONELLO, F. L.; MARINHO, M.; PERRI, S. H. V. Microbiota conjuntival de cães saudáveis da cidade de Araçatuba (SP). **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.65, p.323-6, 2002.
- ANDRADE, S. F.; KUPPER, D. S.; RODRIGUES DE PINHO, L. F.; FRANCO, E. C.; PRATAVIERA, M. V. F. F.; DUARTE, R. R.; JUNQUEIRA, J. R. C. Evaluation of the Perkins handheld applanation tonometer in horses and cattle. **Journal of Veterinary Science**, v.12, n.2, p.171-6, 2011.
- ARMSTRONG, R. A. The microbiology of the eye. **Ophthalmic and Physiological Optics**, v.20, n.6, p.429-41, 2000.
- AZUARA-BLANCO, A.; COSTA, V. P.; WILSON, R. P. Background to anatomy and pathophysiology, classification and examination. In: _____. **Handbook of Glaucoma**. London: Martin Dunitz, 2002. cap. I, p. 3-67.
- BERTOLUCCI, C.; GIUDICE, E.; FAZIO, F.; PICCIONE, G. Circadian intraocular pressure rhythms in athletic horses under different lighting regime. **Chronobiology International**, v.26, n.2, p.348-58, 2009.
- BETINJANE, A. J. Tonometria, tonografia e teste de sobrecarga. In: YAMANE, R. **Semiologia ocular**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2009. cap.12, p. 183-91
- BISTNER, S. *Allergic-and immunologic-mediated diseases of the eye and adnexae*. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.24, n.4, p.711-34, 1994.
- BRANDÃO, C. V. S.; CHIURCIU, J. L. Y.; RANZANI, J. J. T.; RODRIGUES, G. N.; CREMONINI, D. N.; LIMA, L. S. A.; PEIXOTO, T. P. I.; MARINHO, L. F. L. P. I.; TEIXEIRA, C. R. *Padronização de valores de quantidade de lágrima e pressão intraocular em ovinos*. **Brazilian Journal Veterinary animal Science**, v.41 (supl), 2004.
- BROADWATER, J. J.; SCHORLING, J. J.; HERRING, I. P.; ELVINGER, F. Effect of body position on intraocular pressure in dogs without glaucoma. **American Journal of Veterinary Research**, v.69, n.4, p.527-30, 2008.
- CARASTRO, S. M. Equine ocular anatomy and ophthalmic examination. **Veterinaria Clinics of Equine Practice**, v.20, p.285-99, 2004.

CHUI, W. S.; LAM, A.; CHEN, D.; CHIU, R. The influence of corneal properties rebound tonometry. **Ophthalmology**, v.115, n.1, p.80-4, 2008.

CORDEIRO, J. M. C.; KROLOW, R. C. Mecanismos de defesa da superfície ocular. **A Hora Veterinária**, n.112, p.7-62, 1999.

CRISPIN, S. General and Canine Ophthalmology: Cornea. In: _____. **Notes on Veterinary Ophthalmology**. Oxford: Blackwell Science Ltda., 2005. p. 109-10

DALMORO, G.; NETO, A. A. Estudo da pressão intraocular em pacientes normais na cidade de Florianópolis. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v.63, n.3, p.177-88, 2004.

DANIAS, J.; KONTIOLA, A. I.; FILIPPOPOULOS, T.; MITTAG, T. Method for the Noninvasive measurement of intraocular pressure in mice. **Ophthalmology & Visual Science**, v.44, n.3, p.1.138-41, 2003.

DAVIS, Frederick Allison. The anatomy and histology of the eye and orbit of the rabbit. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 27, p. 400-2, 1929.

DAY, M.J. Low IgA concentration in the years of German shepherd dogs. **Am. Vet. J.** v.74, n.6, p.433-6, 1996.

DOYLE, S. E.; GRACE, M. S.; McIVOR, W.; MENAKER, M. Circadian rhythms of dopamine in mouse retina: the role of melatonina. **Visual Neurosciences**, v.19, n.05, p.593-601, 2002.

EICHENBAUM, J. D.; LAVACH, J. D.; SEVERIN, G. A. et al. Immunology of the ocular surface. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v.9, n.11, p.4-1.101, 1987.

FEATHERSTONE H.; HEINRICH C. Ophthalmic examination and diagnostics: The eye examination and diagnostic procedures. In: GELLAT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN T. J. **Veterinary Ophthalmology**, 5.ed. Iowa, EUA: Wiley-Blackwell, 2013. p. 533-614

GELATT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T.J. **Veterinary ophthalmology**. 5.ed. Iowa, EUA: John Wiley & Sons, 2012.

GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. v.2

GLAZE, M. B. Ocular Allergy. **Semin. Vet. Med. Surger.**, v.6, n.4, p.296-302, 1991.

GRAHN, B. Exame clínico do sistema visual. In: RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G.; HOUSTON, D. M.; MAYHEW, I. G. J. **Veterinary clinical examination and diagnosis**. Missouri: WB Saunders Ltda., 2000. p. 423-47

GUM, G; MACKAY, E. Physiology of the eye. In: GELLAT, K. N.; GILGER, B.C.; KERN, T. J. **Veterinary Ophthalmology**, 5.ed. Iowa, EUA: Wiley-Blackwell, 2013. p. 171-208

GUM, G. G.; GELLAT, K. N.; MILLER, D. N.; MACKAY, E. O. Intraocular pressure in normal dairy cattle. **Veterinary ophthalmology**, v.1, p.159-61, 1998.

HAMANO, H.; HORI, M.; MITSUNAGA, S.; MAESHIMA, J. Tear test (preliminary report). **Journal of Japan Contact Lens Soc.**, v.24, p.103-7, 1982.

HERRERA, D. Afecções da córnea. In: _____. **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. São Paulo: MedVet, 2008. p.111-40

HIDA, Richard Yudi et al. Estudo quantitativo da lágrima pelo teste de fenol vermelho na população brasileira. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.68, n.4, p. 433-7, 2005.

HOLLAND, Edward J.; MANNIS, Mark J.; LEE, W. Barry. **Doenças da Superfície Ocular: Córnea, Conjuntiva e Filme Lacrimal**. Elsevier Brasil, 2015.

ILIEV, MV.; GOLDBLUM, D.; KATSOUKIS, K.; AMSTUTZ, C.; FRUEH, B. Comparison of Rebound Tonometry with Goldman Applanation Tonometry and correlation with central corneal thickness. **The British Journal of Ophthalmology**, v.90, p.833-5, 2006.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. Sistemas fotorreceptor e audiorreceptor: Sistema fotorreceptor. In: _____. **Histologia básica**, 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. pp.452-66

KLEINER, João Alfredo. **Tratamento cirúrgico da epífora crônica em animais de companhia**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, 2003.

KNIESTEDT, C.; PUNJABI, O.; LIN, S.; STAMPER, R.L. Tonometry through the ages. **Survey of Ophthalmology**, v.53, n.6, 2008.

KNOLLINGER, A. M.; LA CROIX, N. C.; BARRET, P. M.; MILLER, P. E. Evaluation of the Tonovet rebound for measuring intraocular pressure in dogs and horses. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.46, n.2, p.244-8, 2005.

KOMÁROMY, A.M.; GARG, C.D.; YING, G.S.; LIU, C. Effect of head position on intraocular pressure in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, n.7, p.1.232-5, 2006.

KONTIOLA, A. A new electromechanical method for measuring intraocular pressure. **Documenta Ophthalmologica**, v.93, n.3, p.265-76, 1997.

KONTIOLA, A. I.; GOLDBLUM, D.; MITTAG, T.; DANIAS, J. The induction/Impact tonometer: a new instrument to measure intraocular pressure in the rat. **Experimental Eye Research**, v.73, n.6, p.781-5, 2001.

LEIVIA, M.; NARANJO, C.; PEÑA, M.T. Comparison of the rebound tonometer (ICARE®) to the applanation tonometer (TONOPEN XL®) in normotensive dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v.9, n.1, p.17-21, 2006.

LEVEY, S. B.; KATZ, H. R.; ABRAMS, D. A.; HIRSCHBEIN, M. J.; MARSH, M. J. The role of cultures in the management of ulcerative keratitis. **Cornea**, v.16, n.4, p. 383-6, jul. 1997.

LINDER, B.J.; TRICK, G.L.; WOLF, M.L. Altering body position affects intraocular pressure and visual function. **Investigative Ophthalmology & Vision Science**, v.29, n.10, p.1.492-7, 1988.

LOPES, Ellen Almeida. **Guia para elaboração dos procedimentos operacionais padronizados: exigidos pela RDC n. 275 da ANVISA**. Varela, 2004.

LÓPEZ-CABALLERO, C.; CONTRERAS, I.; MUÑOZ-NEGRETE, F.J.; REBOLLEDA, G.; CABREJAS, L.; MARCELO, P. Tonometría de rebite em lá práctica clínica: Compración com tonometría de apalanación. **Archives de la Sociedad Española de Oftalmología**, v. 82, p.273-8, 2007.

MAGGS, D. J.; MILLER, P.; OFRI, R. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. Elsevier Health Sciences, 2012.

MARTINEZ-DE-LA-CASA, J.M.; GARCIA-FEIJOO, J.; CASTILLO, A.; GARCIA-SANCHEZ, J. Reproducibility and Clinical Evaluation of Rebound Tonometry. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.46, n.12, p.4.578-80, 2005.

MILLER P. Structure and function of the eye. In: MAGGS, D. J.; MILLER, P. E. e OFRI, R. **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**, 4.ed. Missouri: Saunders, Elsevier, 2008. p. 1-19

MILLER P. Structure and function of the eye. In: MAGGS, D. J.; MILLER, P. E.; OFRI, R. **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**, 4.ed. Missouri: Saunders, Elsevier, 2008. p.230-57

MILLER, P.E.; PICKETT, J.P.; MAJORS L.J. Evaluation of two applanation tonometer in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.11, p.1.917-21, 1991.

MOORE, C.G.; MILNE, S.T.; MORRISON, J.C.; Noninvasive measurement of rat intraocular pressure with the Tono-pen. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v.34, n.2, p.363-9, 1993.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N.R.; SINTO, S. I. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. Sarvier Editora: São Paulo, 2004. 340p.

PARAG, G.; GÜRSES-ÖZDEN, R.; LIEBMANN, J.; RITCHIE, R. Attempted eyelid closure affect intraocular pressure measurement. **American Journal Ophthalmology** , v.131, n.4, p.417-20, 2001.

- PARK, Y.W.; JEONG, M.B.; KIM, T.H.; AHN, J.S.; AHN, J.T. Effect of central corneal thickness on intraocular pressure with thenrebound tonometer and the applanation tonometer in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v.14, n.3, p.169-73, 2011.
- PIGATTO, J. A. T.; PEREIRA, F. Q.; ALBUQUERQUE, L.; CORRÊA, L. F. D.; BERCHT, B. S.; HÜNNING, P. S.; SILVA, A. A. R.; FREITAS, L. V. R. P. D. Intraocular pressure measurement in sheep using an applanation tonometer. **Revista Ceres**, v.58, n.6, 685-9, 2011.
- PIPI, N.LP; GONCALVES, G.F. Anatomofisiologia ocular I LAUS J.L. **Oftamologia clínica e cirúrgica em cães e gatos**. São Paulo, Rocca, 2009. cap 1, p. 1-10
- PRESCOTT, L M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 5.ed. The Macgraw-Hill Companies, 2002. p.2.
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. K. **Clinical veterinary microbiology**. London: Wolfe, 1994. 684p.
- RENWICK. P. Glaucoma. In: PETERSEN-JONES, S.; CRISPIN, S. **BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology**, 2.ed. Waterwells: British Small Animal Veterinary Association, 2002. p. 185-204
- SAMUELSON, D. A. Ophthalmic anatomy. In: GELLAT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**, 3.ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 1999. p. 31-150
- SAMUELSON, D. Ophthalmic Anatomy. In: GELLAT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. **Veterinary Ophthalmology**. 5.ed. Iowa, EUA: Wiley-Blackwell, 2013. p. 39-171
- SANTOS, L.L. **Características da microbiota da superfície ocular bacteriana em animais domésticos e silvestres**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2011. 71p.
- SAPIENZA, J.S.; PORCHER, D.; COLINS, B.R.; GUM, G.; BROOK, D. Tonometry in clinically normal ferrets (*Mustela Putorius Furo*). **Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology**. v.1, n.4, p.291-4, 1991.
- SIMON, M. Afecções do trato uveal. In: HERRERA, D. **Oftalmologia Clínica em Animais de Companhia**, cap.10. São Paulo: MedVet, 2008. p.173-4
- STADES, F.; WYMAN, M.; BOEVÉ, M.; NEUMANN, W.; SPIESS, B. Cornea and sclera. In: _____. **Ophthalmology for the Veterinary Practitioner**, 2.ed. Hannover: Schlutersche, 2007. p. 129-55
- STADES, F.; WYMAN, M.; BOEVÉ, M.; NEUMANN, W.; SPIESS, B. Cornea and sclera. In: _____. **Ophthalmology for the Veterinary Practitioner**, 2.ed. Hannover: Schlutersche, 2007. p. 157-71
- STERN, Michael E. et al. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. **Cornea**, v. 17, n. 6, p. 584-9, 1998.

SWENSON, M. J. **DUKES** - Fisiologia dos animais domésticos. 11.ed. 856p. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996.

UESUGUI, Eliane et al. Laboratory identification of the most frequent ocular pathogens and their in vitro sensitivity to antibiotics. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 65, n. 3, p. 339-42, 2002.

VAN DER WOERDT, A.; GILBERT, B.C.; WILKIE, D.A.; STRAUCH, S.M. The effect of auriculopapebral nerve block and intravenous administration of xylazine on intraocular pressure and corneal thickness in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, n.17, p.155-8, 1995.

WADA, S. Changes of intraocular pressure in uveitis horses. **Journal of Equine Science**, v.17, n.3, p.67-73, 2006.

WANG A. G.; WU C. C.; LIU J. H. Bacterial corneal ulcer: a multivariate study. **Ophthalmologica**, n. 212, p. 32-126, 1998.

WEICHSLER, N. Exame do olho e anexos. In: HERRERA, D. **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. São Paulo: MedVet, 2008. cap.2, p.31-48

WHITTAKER, A. L.; WILLIAMS, D. L. Evaluation of lacrimation characteristics in clinically normal New Zealand White rabbits by using the Schirmer Tear Test I. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 54, n. 6, p. 783-7, 2015.

WILKIE, D.A.; GILGER, B.C.; Equine Glaucoma. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.20, n.2, p.381-91, 2004.

YOSHIDA, A.; IMAYAMA, S.; SHIGERU, S. et al. Increased number of IgE positive Langerhans cells in the conjunctiva of patients with atopic dermatitis. **Brit. J. Ophthalmol.** v. 81, p. 402-6, 1997.