



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO NA AMAZÔNIA**

MARCELLO RIBEIRO MONTE SANTO

**ESTUDO DA MICROBIOTA CONJUNTIVAL BACTERIANA DE
PRIMATAS NÃO HUMANOS (*Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*)
MANTIDOS EM CATIVEIRO**

**BELÉM
2012**

MARCELLO RIBEIRO MONTE SANTO

**ESTUDO DA MICROBIOTA CONJUNTIVAL BACTERIANA DE
PRIMATAS NÃO HUMANOS (*Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*)
MANTIDOS EM CATIVEIRO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito à obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção na Amazônia.

Orientadora: Dra. Nazaré Fonseca de Souza.

**BELÉM
2012**

Santo, Marcello Ribeiro Monte

Estudo da microbiota conjuntival bacteriana de primatas não humanos (*Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*) mantidos em cativeiro./Marcello Ribeiro Monte Santo. – Belém, 2012.

49f.; il.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2012.

1. Macaco. 2. *Cebus apella*. 3. *Aotus azarai infulatus*. 4. Microbiota conjuntival.
5. Bacteriologia Veterinária. I. Título.

CDD: 636.0895999

MARCELLO RIBEIRO MONTE SANTO

**ESTUDO DA MICROBIOTA CONJUNTIVAL BACTERIANA DE
PRIMATAS NÃO HUMANOS (*Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*)
MANTIDOS EM CATIVEIRO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito à obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção na Amazônia.

Aprovado em 05 abril de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Nazaré Fonseca de Souza - UFRA
Presidente

Prof^a. Dr^a. Hilma Lucia Tavares Dias - UFPA
1^o Membro Titular

Prof. Dr. Alexandre do Rosário Casseb - UFRA
2^o Membro Titular

Prof. Dr. Andre Marcelo Conceição Menezes - UFRA
3^o Membro Titular

Prof^a. Dr^a. Conceição de Maria Almeida Vieira - UFRA
Membro Suplente

Dedico esta dissertação as mulheres da minha vida, minha mãe (Guilhermina), esposa (Janaina) e as filhas (Marcella, Maisa e Marina). Por toda compreensão, apoio e incentivo em todos os momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao Grande Arquiteto do Universo pela oportunidade de nascer e fazer parte da minha amada família.

Agradeço especialmente a minha orientadora Prof^a Dr^a Nazaré Fonseca de Souza, pela ajuda, oportunidade, incentivo, ensinamento, tolerância, carinho e por ter sido além de uma orientadora uma grande amiga nesta conquista.

Ao Prof. Casseb, pela paciência e ajuda na reta final desse trabalho.

As minhas colegas de mestrado, Lia e Gilmara, por todo o apoio e ajuda durante as aulas, as viagens e o experimento.

Aos MVs do Centro Nacional de Primatas, Dr. José Muniz e Dr. Paulo Castro, pelo apoio e carinho durante a realização do experimento.

Ao técnico do IEC do setor de bacteriologia, Sr. Caetano, pessoa fundamental na execução e processamento das amostras coletadas.

Aos meus irmãos Fernanda e Alceu, pelo incentivo incondicional em todos os momentos da minha vida.

A minha prima Sandra que ajudou na correção ortográfica.

Aos meus colegas MVs da Clínica Veterinária Saúde Animal, por em vários momentos cobrirem os meus plantões.

Por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para meu êxito profissional, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

As doenças da superfície ocular, entre elas, as conjuntivites e as ceratites são enfermidades que podem se disseminar num grupo de primatas não humanos gerando desconforto e mutilações, podendo ainda, evoluir até a perda total da visão. Portanto, evidenciar a microbiota conjuntival bacteriana pode constituir uma estratégia preventiva e terapêutica, além de ajudar a compreender melhor os micro-organismos denominados de residentes e transitórios à microbiota. Essa pesquisa foi realizada no Centro Nacional de Primatas com vinte animais adultos, sendo dez da família Cebidae e dez da família Aotidae, nos dois olhos e de ambos os sexos. Objetivo foi detectar e identificar as bactérias da microbiota conjuntival por meio do isolamento microbiológico, correlacionando com as espécies e com o sexo, além de determinar a sensibilidade e a resistência bacteriana por meio da concentração inibitória mínima. Houve o crescimento bacteriano de 97,5% das amostras conjuntivais de primatas não humanos, isolando sessenta e nove cepas e, identificadas vinte e duas espécies de bactérias, predominando as Gram-positivas no *Cebus apella* e as Gram-negativas no *Aotus azarai infulatus*. Dentre as Gram-positivas o *Staphylococcus cohnii* spp. *urealyticus* e *Staphylococcus xylosum* foram os de maior ocorrência e nas Gram-negativas foi o *Enterobacter aerogenes*. A maior sensibilidade dos agentes microbianos foram para os grupos dos aminoglicosídeos, quinolonas e das sulfas. Dentre esses, a gentamicina e a ciprofloxacina, foram os que apresentaram melhores resultados com relação à concentração inibitória mínima.

Palavras-chave: Conjuntiva, Oftalmologia, Microbiota, Antimicrobianos, *Cebus apella*, *Aotus azarai infulatus*.

ABSTRACT

The non-humans primates (NHP) has become a important experimental models, used in largescale of different biomedics researches, by the proximity to the human being. However, new studies about his fisiology and conservation, are importants to preserve the species in custody or in wild life. The superficial ocula diseases, like conjunctivitis, are infirmity that could be disseminated in a (NHP) group bringing to them discomfort and mutilation and culd be evolving to blindness. Therefore, put in evidence the superficial microbiot might elaborate preventive and therapeutic stragies to the clinic and, beyond that, help to better understand the micro-organisms knows by microbiot. The project consistis of indentify the monkeys Cebus apella normal conjuntiv microbiot and night monkeys Aotus azarai infulatus. The study was desenvolved in Primates Nacional Center with 20 animals distributed in 2 grups with 10 adults animals, composed by 10 animals Cebidae and 10 animals Aotidae on both eyes in both sex. A 97,5% bacterian increase was observed at non-humans primates conjuntival tissues, isolating sixty nine cepas and, identified twenty one bacteria species, most of them was Gram-positivas in Cebus apella and Gran-negativas in Aotus azarai infulatus. Among Gram-positivas the Staphylococcus cohnii spp. urealyticus e Staphylococcus xylosus were the most occurrence and in gram-negativas were Enterobacter aerogenes. Was realized greater sensitivity by the microbial agents to the aminoglycosides, quilnolones and sulfas groups. Among them, the gentamicin and ciprofloxacin, was the ones whose presented better results related to CIM.

Keywords: Conjunctiva, Ophthalmology, Microbiot, Antimicrobial, Cebus apella, Aotus azarai infulatus.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Exame clínico com auxílio da lâmpada de fenda portátil da marca REICHERT®. 23
- Figura 2** - Contenção física e aplicação do sedativo por via intra-muscular, no membro posterior direito de um *Aotus azarai infulatus*. 24
- Figura 3** - Higienização prévia dos olhos com gaze estéril na espécie *Aotus azarai infulatus*. 25
- Figura 4** - Higienização prévia dos olhos com gaze estéril na espécie *Cebus apella*. 25
- Figura 5** - Colheita das amostras do saco conjuntival inferior da espécie *Aotus azarai infulatus*. 26
- Figura 6** - Colheita das amostras do saco conjuntival inferior da espécie *Cebus apella*. 26
- Figura 7** - Amostras após as coletas, acondicionadas em tubos de ensaios com solução salina estéril. 27
- Figura 8** - Fluxograma da análise microbiológica das amostras coletadas no Centro Nacional de Primatas, 2012. 28
- Figura 9** - Sistema automatizado VITEK® (bioMérieux), para identificação e análise microbiológica. 29
- Figura 10** - Correlação entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, referente ao estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*. 33
- Figura 11** - Ocorrência das bactérias Gram-negativas isoladas na conjuntiva do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*. 34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Ocorrência entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, referente o estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012. 31
- Tabela 2** - Bactérias identificadas na microbiota conjuntival indígena das espécies *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012. 32
- Tabela 3** - Teste entre *Staphylococcus cohnii* spp *urealyticu* e Gram-positiva, referente ao estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012. 33
- Tabela 4** - Teste entre *Staphylococcus xylosus* e Gram-positiva, referente ao estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012. 33
- Tabela 5** - Teste entre o número de ocorrências dos agentes isolados com o sexo do *Cebus apella*, 2012. 34
- Tabela 6** - Teste entre o número de ocorrências dos agentes isolados com o sexo do *Aotus azarai infulatus*, 2012. 34
- Tabela 7** - Quantidade e percentual de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas sensíveis aos antibióticos testados no Instituto Evandro Chagas, 2012. 35
- Tabela 8** - Perfil da concentração inibitória mínima (CIM) para a ciprofloxacina e gentamicina das 69 cepas isoladas dos olhos do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012. 36

LISTA DE ABREVIACOES

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AES - Antimicrobial Expert System

CCC - Caldo Cérebro Coração

CENP - Centro Nacional de Primatas

CIM - Concentração Inibitória Mínima

CEPAN - Comitê de tica em Pesquisa com Animal

IEC - Instituto Evandro Chagas

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

MV - Médico Veterinário

NaCl - Cloreto de sódio

PNH - Primatas Não Humanos

χ^2 - Teste do Qui-quadrado

TSA - Teste de Susceptibilidade Antimicrobiana

C - Graus Celsius

mm - Milímetro

ml - Mililitro

µg - Micrograma

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	ESPÉCIES ESTUDADAS	14
3.1.1	Cebus apela	14
3.1.2	<i>Aotus azarai infulatus</i>	14
3.2	ANATOMIA E FISIOLOGIA DA CONJUNTIVA	15
3.2.1	Conjuntiva	15
3.2.2	Microbiota conjuntival	16
3.2.3	Microbiota conjuntival Bacteriana	17
3.3	TESTE ANTIMICROBIANO	20
3.3.1	Suscetibilidade antimicrobiana	20
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	MATERIAIS	22
4.1.1	Aspectos legais, de bioética e biossegurança	22
4.1.2	Animais	22
4.2	ANÁLISE BACTERIOLÓGICA	23
4.2.1	Preparo para colheita das amostras	23
4.2.2	Colheitas de amostras conjuntivais	24
4.2.3	Processamento microbiológico das amostras	27
4.2.4	Identificação e teste de sensibilidade microbiana in vitro	28
4.2.5	Análise estatística	30
5	RESULTADOS	31
6	DISCUSSÃO	37
8	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43
	ANEXOS	49

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma ampla diversidade de recursos naturais, localizada em grande parte do território amazônico constituindo um mosaico de distintos ecossistemas, onde habitam mais de um terço das espécies de fauna e flora existente em nosso planeta, muitas dessas espécies correm risco de extinção. Dentre os grupos que compõem a fauna amazônica, os primatas não humanos (PNH) figuram entre os mais afetados pela perda da cobertura florestal, decorrente de pressões econômicas sobre o uso da terra (BRASIL..., 2007). E nas últimas décadas, estudos com PNH vêm recebendo atenção especial devido às semelhanças fisiológicas com a espécie humana (ABEE, 2003).

Os PNH constituem importantes modelos experimentais nos mais diversos ramos de pesquisas biomédicas, com excelentes estudos sobre malária (AYRES; DEUTSCH, 1982), imunologia (ALVES, 2009), vários tipos de câncer (BARAHONA et al., 1976) e a respeito da fisiologia e patologias visuais (ALLMAN; KAAS, 1974).

Segundo Montiani-Ferreira et al. (2008), os animais selvagens de vida livre ou de cativeiro são frequentemente acometidos por distúrbios oculares infecciosas, traumáticas ou decorrentes de outras anormalidades. Em virtude disso, estudos na área da oftalmologia veterinária são cada vez mais solicitados, e exigidos os conhecimentos de anatomia e fisiologia, constitui um desafio o uso prático na compreensão e inter-relação da microbiota residente normal, quer em animais selvagens ou domésticos.

A superfície ocular, por ser um ambiente rico em nutrientes propicia o crescimento de micro-organismos, patogênicos ou não. Para essa população microbiana encontrada na superfície ocular denominamos de microbiota ocular normal ou microbiota indígena (SLATTER, 2001), que age como um importante mecanismo de defesa na conjuntiva (WANG et al., 2008).

De acordo com Andrade et al. (2002), a seleção da microbiota conjuntival em cães, pode ser provocada por uso prolongado de antimicrobianos tópicos e pelas estruturas anatômicas das pálpebras e da órbita, que resultam em crescimento excessivo de bactérias ou fungos, podendo se tornar patogênica. As causas da grande variabilidade de micro-organismos isolados na microbiota indígena podem estar relacionadas ao ambiente, temperatura e umidade.

O homem, os animais domésticos e os animais selvagens podem sofrer alterações oculares envolvendo a microbiota residente. Os parâmetros da visão sofrem variações entre as espécies, sazonalidade, região geográfica, temperatura, habitat, manipulação, imunidade do

hospedeiro e método de coleta (PRADO et al., 2005; NOGUEIRA et al., 2007; WANG et al., 2008). A correta identificação dos agentes etiológicos possibilita um tratamento mais eficiente nas infecções oculares; direciona a antibioticoterapia empírica e também a antibioticoterapia profilática tópica nos casos que resultam em cirurgia, evitando assim, o uso abusivo ou errôneo de antibióticos (ANDREW, 2003).

A visão é de extrema importância para os seres vivos, pois possibilita uma boa convivência e sobrevivência das espécies. Conhecer os parâmetros de normalidade visual é fundamental para a reprodução de experimentos, contribuindo com inovadoras pesquisas científicas e tecnológicas. Portanto, estudar a microbiota conjuntival bacteriana, as resistências microbianas, aliadas à escassez de informações a respeito de micro-organismos residentes na conjuntiva do *Cebus apella* (LINNAEUS, 1758) e *Aotus azarai infulatus* (LINNAEUS, 1758) mantidos em cativeiro, justificaram a realização desta pesquisa. Além disso, os dados gerados podem favorecer pesquisas que auxiliem na preservação de espécies em vida livre e na manutenção em cativeiro.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Determinar a microbiota conjuntival bacteriana de macacos-pregos (*Cebus apella*) e macacos-da-noite (*Aotus azarai infulatus*) mantidos em cativeiros no Centro Nacional de Primatas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar e identificar as bactérias da microbiota conjuntival por meio do isolamento microbiológico;
- Comparar os achados microbiológicos entre as espécies (*C. apella* e *A. azarai infulatus*) entre si e correlacionando com sexo e
- Determinar a sensibilidade e a resistência bacteriana por meio da Concentração Inibitória Mínima.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ESPÉCIES ESTUDADAS

3.1.1 *Cebus apella*

Primates do gênero *Cebus* são PNH neotropicais, apresentam 8 espécies e 19 subespécies, membro da família Cebidae, denominado macaco-prego (*Cebus apella*). A espécie *C. apella* apresenta 6 subespécies: *C. a. apella*, *C. a. fatuellus*, *C. a. macrocephalus*, *C. a. margaritae*, *C. a. peruanus* e *C. a. tocantinus*. Habitante das Américas e com 60% da população residente no Brasil, encontrado desde a Venezuela até Rio Grande do Sul. Possuem hábitos diurnos, são animais inteligentes vivem em bandos de até cinquenta animais; pesam aproximadamente 3,5 kg e alimentam-se de frutos, nozes, sementes, flores, insetos e ovos (FRAGASZY; VISALBERGHI; FERDIGAN, 2004).

Os PNH do novo mundo são modelos experimentais para pesquisa da fisiologia visual; e os da família Cebidae desempenham importante papel na comparação com outras espécies, inclusive com o homem (PINON; SOUSA; GATTASS, 1990; RODRIGUES; PAULA; SOUZA, 2005). Os macacos-prego possuem um cérebro grande, equilibrado, semelhante ao ser humano; apresentam uma maturação mais tardia no período pós-natal e longa vida, mais de cinquenta anos em cativeiro (JANSON, 2006). Segundo Franco et al. (2000), o crânio dos Cebidae apresenta órbita frontal, propiciando uma boa visão binocular.

3.1.2 *Aotus azarai infulatus*

O gênero *Aotus* compreende PNH neotropicais da família Aotidae, que já fez parte da família “Cebidae”, com base na morfologia dentária (TEJEDOR, 1998). O nome do gênero é proveniente da mistura de palavras “A” igual sem e “Otis” igual orelha, ou seja, sem orelhas. Apresenta 13 espécies e subespécies: *Aotus lemurinus lemurinus*, *A. lemurinus griseimembra*, *A. lemurinus zonalis*, *A. lemurinus brumbacki*, *A. hershkovitzii*, *A. trivirgatus*, *A. vociferans*, *A. miconax*, *A. nancymae*, *A. nigriceps*, *A. azarai azarai*, *A. azarai boliviensis* e *A. azarai infulatus*. Os macacos-da-noite são os únicos primatas antropóides que apresentam hábitos noturnos. Podem ser encontrados no norte da Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Panamá, Paraguai, Peru e Venezuela, representando a mais ampla distribuição entre primatas da América do Sul (DIXSON, 1983; FORD, 1994).

O gênero *Aotus* é mais comumente encontrado em áreas de planícies, mas, na Colômbia, podem ser encontrados em altitudes superiores a 3200 metros (EISENBERG; REDFORD, 1989). Possuem um habitat generalista, ocupando florestas primárias e secundárias, bem como fragmentos florestais (AQUINO; ENCARNACION, 1994). Durante o dia, ficam escondidos em troncos ou na copa de árvores. O *Aotus* é, primariamente, frutífero, apesar de também se alimentar de folhas e insetos (ARDITI, 1992).

3.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA CONJUNTIVA

3.2.1 Conjuntiva

A conjuntiva é um tecido fino, transparente, móvel e ricamente vascularizado que recobre toda a esclera (conjuntiva bulbar), superfícies internas das pálpebras (conjuntiva palpebral) e toda a terceira pálpebra. A transição entre a conjuntiva palpebral e bulbar é chamada de saco conjuntival (SLATTER; WOLF, 1998). Desempenha um importante papel na dinâmica da lágrima, na proteção imunológica do olho, no movimento ocular e na cicatrização corneana; pode ser comparada a um gânglio linfático evertido e constitui um mecanismo de defesa bem desenvolvido facilitando uma rápida resposta à invasão microbiana. Além da atividade de trocas celulares, que se dá em cada cinco a sete dias, inibindo a invasão de micro-organismos ali residentes (SLATTER, 2001).

O epitélio conjuntival, que alberga inúmeras células secretoras de mucina, linfócitos intra-epiteliais e células dendríticas, consiste de cinco a sete camadas de células promovendo uma barreira eficaz contra a invasão bacteriana, onde poucos micro-organismos são capazes de infectar tecidos mais profundos do olho, a não ser que haja uma quebra dessa barreira (WILSON, 2005). A capacidade de invasão microbiana decorre da capacidade de produção de exotoxinas, proteases e endotoxinas que destroem células e tecidos oculares (UESUGUI et al., 2002). Dessa forma, a conjuntiva é um ambiente bastante inóspito e poucos micro-organismos têm a oportunidade de colonizá-la sem um mecanismo especial de adesão à superfície ocular, possui capacidade de suportar a ação da lisozima ou de sobreviver aos outros componentes microbianos (WANG et al., 2008).

3.2.2 Microbiota conjuntival

A microbiota conjuntival normal da superfície ocular desempenha um papel importante na manutenção da saúde, pois previne o desenvolvimento de agentes potencialmente patogênicos (WILSON, 2005). Segundo Wang et al. (2008), a microbiota conjuntival normal é constituída por uma grande variedade de micro-organismos que vivem em equilíbrio fisiológico com o sistema imunológico do seu hospedeiro.

Habitantes normais dessa microbiota são conhecidos como residentes ou definitivos que são micro-organismos não invasivos ou não patogênicos, permanecendo longos períodos, ou indefinidamente, na conjuntiva e na córnea, sendo isolados em elevado número de amostras (WANG et al., 2008). Ainda existem agentes que não conseguem estabelecer uma colonização efetiva na superfície ocular, quer seja pela seleção natural entre micro-organismos, ou pelo próprio sistema imunológico do hospedeiro; denominamos esses agentes de transitórios (HERITAGE; EVANS; KETTINGTON 2003). De acordo com Ryan (2004), esses agentes transitórios geralmente são adquiridos do meio ambiente do hospedeiro ou de órgãos e tecidos próximos à superfície ocular.

A maioria dos micro-organismos da microbiota conjuntival não é considerada patogênica, a não ser que haja uma quebra na integridade da conjuntiva e do epitélio corneano (TUNTIVANICH et al., 2002). As conjuntivites surgem quando ocorre a quebra da barreira de proteção da superfície ocular, ou quando a integridade do olho é comprometida através de distúrbios no sistema imunológico, de abrasões corneanas e conjuntivais, de pequenos traumas, de alterações da composição do filme lacrimal e de cirurgias na córnea (WANG et al., 2008). São problemas que necessitam de diagnóstico, terapia apropriada e precoce, conhecimento do agente causador da doença, bem como o estabelecimento de um tratamento coerente e eficaz que influencia na evolução e prognóstico (SMOLIN et al., 1987).

Outros fatores influenciam direta e indiretamente na composição da microbiota conjuntival normal, como a localização geográfica, clima e a nutrição (ANDRADE et al., 2002; PRADO et al., 2005), associados aos traumas cirúrgicos e a imunidade do hospedeiro (NOGUEIRA et al., 2007). Ainda fatores como a idade, raça do animal, temperatura ambiente, sazonalidade, habitat e método de coleta, podem influenciar no isolamento bacteriano (ANDRADE et al., 2002; ANDREW et al., 2003; KUDIRKIENÉ; ZILINSKAS; SIUGZDAITÉ, 2006).

Segundo Galera et al.(2002), o estado geral do hospedeiro, contato prévio com determinados micro-organismos, histórico médico, agressões tóxicas, traumáticas e iatrogêni -

nicas são determinantes importantes das doenças infecciosas.

É necessário conhecer os micro-organismos mais frequentes da microbiota conjuntival, levando em consideração que a principal fonte das bactérias que compõem a microbiota ocular basicamente são os mesmos micro-organismos presentes na pele e no trato respiratório, visto que o recém-nascido é exposto à microbiota do trato vaginal da mãe, à microbiota da pele e trato respiratório de quem o manipula e aos micro-organismos do ambiente (SANTOS, 2011). De uma forma geral, para um micro-organismo causar infecção na superfície ocular, é necessário que ocorra aderência, penetração, invasão, persistência e replicação da bactéria nos tecidos envolvidos (UESUGUI et al., 2002).

3.2.3 Microbiota conjuntival bacteriana

Estudos a respeito da microbiota conjuntival já foram realizados em diversas espécies de animais. Nos seres humanos, a microbiota da conjuntiva de olhos normais foi estabelecida no início do século XIX por Arnold Lawson (LAWSON, 1898). Lawson (1867 – 1947), médico oftalmologista inglês, escreveu em 1898 um artigo para *British Medical Journal* relatando que a maioria dos pacientes observados albergava bactérias em suas conjuntivas saudáveis.

As bactérias aeróbias Gram-positivas são as mais encontradas, sendo *Staphylococcus* sp. o mais comum, seguido das aeróbias Gram-negativas e raramente, as anaeróbias e fungos, de uma forma geral, as bactérias mais encontrados são estafilococos, estreptococos e corineformes (WILSON, 2005; PRADO et al., 2005; TODAR, 2006). O saco conjuntival é o local da superfície ocular que contém maior quantidade e variedade de micro-organismos isolados, considerados patogênicos, sendo o fórnix superior o local onde se obtém menor crescimento bacteriano (AYOUB; BADR; ELIAN, 1994; MOORE; NAISSE, 1998).

Entre os animais domésticos, diversas investigações foram realizadas com a intenção de conhecer as bactérias presentes na microbiota conjuntival. Segundo Andrade et al., em um estudo realizado com 40 cães saudáveis na cidade de Araçatuba (SP), isolou o agente *Staphylococcus haemolyticus* apenas no inverno, demonstrando que pode haver a diferença de sazonalidade entre os micro-organismos (ANDRADE, 2002).

Prado et al. (2005) pesquisou no Ceará – Brasil, a microbiota conjuntival de 60 cães saudáveis, 15 com úlcera de córnea unilateral e três com úlcera de córnea bilateral, de raças variadas, de ambos os sexos e idades diversas. Houve o crescimento bacteriano em 39% das

amostras; onde as bactérias Gram-positivas tiveram 86,5% e as Gram-negativas 13,5%; entre elas observaram *S. intermedius*, *S. aureus*, *Enterobacter cloacae*.

No Iran, pesquisadores estudaram a suscetibilidade antimicrobiana da flora conjuntival bacteriana de 60 cães, e o as bactérias Gram-positivas predominaram, entre elas, *Staphylococcus aureus* (30,16%), *Staphylococcus epidermidis* (6,35%), *Bacillus spp.* (26,98%) e *Streptococcus haemoliticum* (7,93%). Também foram isolados *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Lactobacillus spp.*, *Neisseria spp.*, *Alcaligenes faecalis*, *Pasteurella canis*, *Klebsiella spp.* e *Francisella tularensis* (SARCHAHI; HAGHKHAH; MOLAZEM, 2005).

Kudirkiene, Zilinskas e Siugzdaite (2006), na Lituânia, no período de 2004 a 2005, utilizaram 46 cães para estudar a microbiota conjuntival de 92 amostras. Dessas, 58 amostras de olhos de animais sadios (29 cães), 34 de amostras de olhos que apresentavam alterações clínicas oculares de um ou de ambos os olhos (17 cães), com predomínio das bactérias Gram-positivas. *Staphylococcus sp.* (20,5%), *Pseudomonas sp.* (11,4%), *E. coli* (5,3%), *Enterobacter sp.* (5,3%) e *Proteus mirabilis* (5,3%).

Wang et al. (2008) avaliou 240 cães sadios na China; 27 com úlceras de córneas unilateral e um com úlcera de córnea bilateral, no período de novembro de 2005 a outubro de 2006. Ocorreu o crescimento bacteriano em 45% das amostras, sendo 66,7% eram Gram-positivas e 33,3% eram Gram-negativas. As bactérias mais encontradas foram *Staphylococcus spp.* (40,29%), *Staphylococcus intermedius* (28,82%), *Neisseria sp.* (11,47%) e *Corynebacterium sp.* (9,41%).

Souza, Ângelo e Homem (2010) avaliaram a microbiota bacteriana conjuntival de felinos domésticos (*Felis s. catus*) sadios da cidade de Juiz de Fora – Minas Gerais, sendo coletadas amostras de ambos os olhos do saco conjuntival de 25 gatos machos, com 10 meses de idade e clinicamente saudáveis. As bactérias Gram-positivas foram as mais isoladas, sendo *Staphylococcus coagulase negativo* (77,77%) o mais predominante entre os micro-organismos isolados.

Na cidade de Garanhuns-PE utilizaram 30 ovinos da raça Santa Inês e mestiços, de ambos os sexos e diversas idades, criados em sistema de manejo semi-intensivo. Das 60 amostras analisadas, *Moraxella sp.* foi a bactéria mais comum (28,33%) dos olhos sadios, sendo encontrado *Staphylococcus sp.* (23,33%), *Streptococcus sp.* (5%), *Micrococcus sp.* (5%), *Corynebacterium sp.* (3,33%), *Bacillus sp.* (3,33%) e *Serratia sp.* (1,67%), (ALMEIDA et al.,2006).

Estudo realizado por Galera et al. (2002), a respeito da microbiota normal de oito macacos-prego (*Cebus apella*) e quatro macacos-Bugio (*Alouatta caraya*), obteve três

amostras, sem alterações clínicas com apenas bactérias Gram-negativas, dentre elas o *Morganella morganii* e *Klebsiella* sp, provenientes do reservatório de Manso no estado de Mato Grosso.

Pesquisa realizada em macacos-pregos (*Cebus apella*), incluindo fêmeas e machos, provenientes do centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), na Universidade Católica do Paraná, nove das dez amostras coletadas para microbiologia apresentaram crescimento bacteriano para *Streptococcus* sp., *Micrococcus* sp. *Corynebacterium* sp. (MONTIANI-FERREIRA et al., 2008).

Rios Neto (2010) pesquisou a microbiota conjuntival bacteriana em 61 primatas, sendo 39 da família Callitrichidae (*Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*) e 21 da família Cebidae (*Cebus apella*), sem alterações oculares, mantidos em cativeiro, no CETAS, no município de Salvador-Bahia, onde foi identificado o predomínio de bactérias Gram-positivas (91,67%), entre elas *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus epidermidis*.

Num estudo realizado por Santos (2011), com a microbiota conjuntival indígena de diversas espécies de animais selvagens, entre elas, quatro saguis-do-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), foram coletadas oito amostras e isoladas apenas sete bactérias Gram-positivas, das quais três eram *Staphylococcus* sp. coagulase positiva, três *Staphylococcus* sp. coagulase negativa e uma *Streptococcus* sp.

Nos estudos em Salvador – Bahia, foram avaliadas a microbiota bacteriana conjuntival normal de Jacaré-de-papo amarelo (*Caiman latirostris*) e de *Chelonoidis carbonária*, mantidos em cativeiros no Parque Zoobotânico Getúlio Vargas. Foram estudados 10 Jacaré-de-papo amarelo, machos e fêmeas, clinicamente sadios, havendo o crescimento bacteriano em 100% das amostras. Foram identificadas 61 cepas de bactérias, sendo 75,41% dos isolados Gram-positivos e 24,59% Gram-negativos (OLIVEIRA et al., 2011). Já os resultados obtidos mostraram crescimento bacteriano em 100% das amostras colhidas da conjuntiva normal de *Chelonoidis carbonária*, com total de 102 colônias isoladas, sendo os micro-organismos mais encontrados Diferóides (20,6%), *Bacillus* sp. (14,71%) e *Staphylococcus* sp. (14,71%), (FREITAS et al.,2011).

Além dessas espécies já citas, trabalhos demonstraram a microbiota indígena nos papagaios (ZENOBLE et al., 1983), cavalos (ANDREW et al., 2003), onça (GUEDES et al., 2003), camelos (FAHMY et al., 2003), furão doméstico (MONTIANI-FERREIRA; MATTOS; RUSS, 2006), carneiros (ALMEIDA NETO et al., 2006) e capivaras (MONTIANI-FERREIRA et al., 2008).

3.3 TESTE ANTIMICROBIANO

3.3.1 Suscetibilidade antimicrobiana

O teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) é uma medida da sensibilidade de uma bactéria a um antibiótico, permitindo assim a escolha do antibiótico mais eficaz a ser usado contra essa bactéria. Tal como os testes de identificação bioquímica, só são passíveis de serem realizados quando estamos perante uma cultura bacteriana isolada (DOWLING; GRAHN, 1998).

Uesugui et al. (2002) identificaram, laboratorialmente, os patógenos oculares mais frequentes e sua suscetibilidades, *in vitro*, aos agentes antibacterianos, em pessoas com ceratites, conjuntivites e endoftalmites, na Santa Casa de Misericórdia – São Paulo, sendo identificadas bactérias como *S. aureus* sensíveis à vancomicina, oxacilina e ciprofloxacina; *S. epidermidis* à vancomicina, oxacilina e ciprofloxacina; *P. auruginosa* à ceftazidime, tobramicina, gentamicina e ciprofloxacina; *K. pneumoniae* à ceftazidime, tobramicina, amicacina e cefoxitina e *S. pneumoniae* à tetraciclina, vancomicina, cloranfenicol, ofloxacina, penicilina e eritromicina.

Sarchahi, Haghkhal e Molazem (2005) estudaram a suscetibilidade antimicrobiana da flora conjuntival bacteriana de 60 cães no Iran; nessas a suscetibilidade bacteriana foi para *Staphylococcus spp.* à tilosina, cloranfenicol, oxitetraciclina e gentamicina; *Bacillus spp.* à sulfadiazina, tilosina, tetraciclina, gentamicina, neomicina, cloranfenicol e canamicina, *Streptococcus spp.* à cloranfenicol; *E. coli* à tilosina; *Pseudomonas spp.* à tilosina e sulfadiazina; *Lactobacillus spp.* à bacitracina e tilosina; *Neisseria spp.* à tilosina e oxitetraciclina, sulfadiazina, gentamicina, cloranfenicol e tetraciclina; *Klebsiella spp.* à tilosina, oxitetraciclina, gentamicina; *P. canis* e *F. tularensis*, foram sensíveis a todos os agentes antimicrobianos utilizados.

Rocha et al. (2011) estudaram a suscetibilidade antimicrobiana, *in vitro*, em ceratites bacterianas, de 2005 a 2009, em seres humanos, com resultados para *S. aureus* (30,57%), *S. epidermidis* (30,56%), *Streptococcus sp.* (9,43%) e *Pseudomonas sp.* (9,4). O exame laboratorial evidenciou altos índices de sensibilidade para a maioria dos antimicrobianos (acima de 85%), com exceção da cefalotina (53,13%).

Estudo realizado por Gayoso et al. (2007) demonstraram a suscetibilidade antimicrobiana *in vitro* dos *Staphylococcus coagulase negativa* na conjuntiva e na córnea, havendo um aumento na resistência à tobramicina (15,8 a 34,6%) e à gentamicina (10,5 a

25,5%), na conjuntiva, não houve mudança no perfil de resistência das amostras da córnea à tobramicina (28,6 a 25,9%) e à gentamicina (21,4 a 23,1%).

Para Andrade et al. (2002) a seleção da microbiota conjuntival pode ser provocada por uso prolongado de antimicrobianos tópicos, resultando em crescimento excessivo de bactérias ou fungos, podendo tornar-se patogênicas. A resistência pode ser natural ou adquirida, esta, pela transferência de plasmídeos ou por ocorrência de mutações, portanto, para cada bactéria há um conjunto de antibiótico que é eficaz e outro não eficaz. Ainda, de acordo com a faixa de bactérias sensíveis a determinado antibiótico, podemos classificá-lo de espectro largo e de espectro estreito (MOORE; NAISSE, 1999).

Outra forma de avaliar a suscetibilidade antimicrobiana é através da concentração inibitória mínima (CIM), que é a menor concentração que um antibiótico precisa atingir para inibir visivelmente o crescimento microbiano após uma noite de incubação. Por ser considerado um dado quantitativo, a CIM é considerada uma importante ferramenta de diagnóstico para a confirmação de cepas resistentes às drogas antimicrobianas e a um planejamento terapêutico (ANDREWS, 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Aspectos legais, de bioética e biossegurança

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animal do Instituto Evandro Chagas (CEPAN-IEC), Anexo I, e autorizado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). (ver anexo)

A manipulação dos animais foi realizada de acordo com os padrões de biossegurança em biotérios, prevenindo a propagação de doenças entre animais e no próprio homem (POLITI et al., 2008). Os técnicos e pesquisadores que executaram o projeto utilizaram os equipamentos de proteção individual necessário para manipulação animal, assim como os equipamentos de proteção coletiva.

4.1.2 ANIMAIS

O estudo foi realizado no Centro Nacional de Primatas (CENP) do Instituto Evandro Chagas (IEC), localizado no município de Ananindeua, Pará, Brasil (Latitude 1°38'26" sul e Longitude 48°38'22" oeste).

Foram utilizados 20 animais adultos, a partir de dois anos de vida: 10 (dez) machos e 10 (dez) fêmeas das espécies *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, pertencentes ao plantel do CENP. Os animais foram distribuídos em dois grupos de acordo com as espécies: Grupo A (5 fêmeas e 5 machos da espécie *Cebus apella*) e Grupo B (5 fêmeas e 5 machos da espécie *Aotus azarai infulatus*). Foram estudadas a conjuntiva direita e a esquerda de todos os animais totalizando 40 olhos.

A seleção dos animais foi realizada por meio de exame clínico e oftalmológico; hemograma completo e do exame coproparasitológico. O hemograma foi realizado no contador de células modelo BA 500 da marca CELM. O exame oftalmológico foi executado com auxílio da lâmpada de fenda portátil da marca REICHERT® (Figura 1).

Foram excluídos os animais com secreção purulenta nos olhos, lesões conjuntivais e corneanas, apenas os animais considerados hígidos participaram da pesquisa.

Os PNH selecionados foram alojados, em sistema indoor em recintos de alumínio e alvenaria (3,85 x 1,20 x 2,40 m); instalados em galpão telado, com iluminação natural e

artificial. Receberam alimentação balanceada, conforme protocolo nutricional da instituição, com frutas, legumes, tubérculos, leite, ovos, ração peletizada e água à vontade.

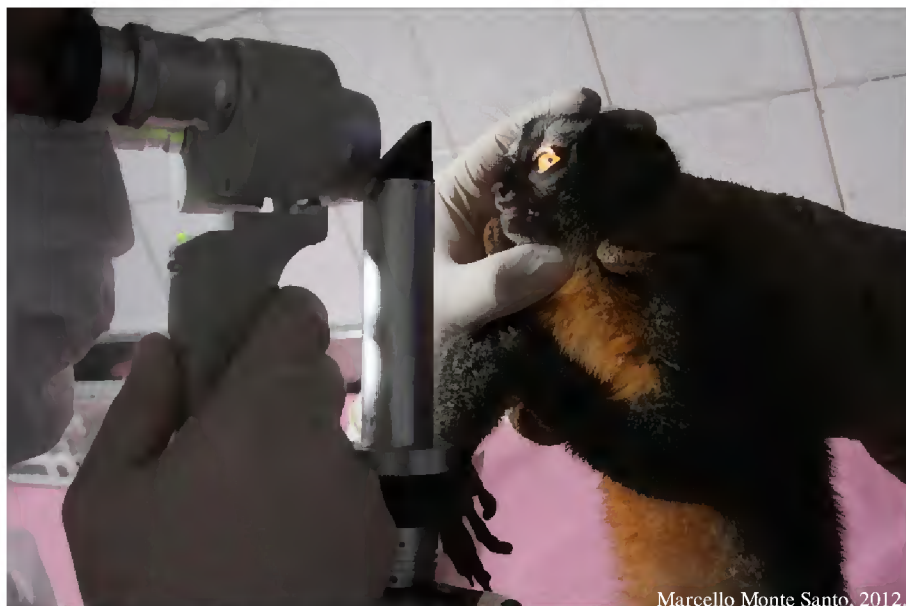


Figura 1 - Exame clínico com auxílio da lâmpada de fenda portátil da marca REICHERT®.

Fonte : Arquivo Pessoal.

4.2 ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

4.2.1 Preparo para colheita das amostras

Após jejum sólido de 12 horas e hídrico de seis horas, os animais foram contidos fisicamente, e posteriormente pela contenção química (sedação) por anestesia dissociativa utilizando de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepam (Zoletil) (Figura 2). Segundo Viana (2007), a dose recomendada para cada espécie, por via intra-muscular é de 4 mg/Kg (*Cebus apella*) e 2 mg/Kg (*Aotus azarai infulatus*), esses animais foram mantidos em ambiente limpo, calmo e com pouca luminosidade para evitar o estresse.



Figura 2- Contenção física e aplicação do sedativo por via intra-muscular, no membro posterior direito de um *Aotus azarai infulatus*.

Fonte : Arquivo Pessoal.

4.2.2 Colheita de amostras conjuntivais

Foi realizada a higienização prévia de ambos os olhos dos PNH, com gaze estéril, tendo o cuidado de realizar o movimento do canto nasal para o canto lateral, evitando contaminações secundárias (Figuras 3 e 4).

As amostras foram colhidas do olho esquerdo e do direito, por meio de swabs estéreis umedecidos em solução salina estéril, friccionando com movimentos rotatórios no saco conjuntival inferior, evitando-se contato com o tarso palpebral e, visto que a finalidade foi isolar bactérias pertencentes à microbiota conjuntival (Figuras 5 e 6).

Em seguida, os swabs foram conservados em tubos de ensaios com soluções salinas estéreis e imediatamente encaminhados à seção de bacteriologia do IEC para análise microbiológica (Figura 7).



Figura 3- Higienização prévia dos olhos com gaze estéril na espécie *Aotus azarae infulatus*.

Fonte : Arquivo Pessoal.



Figura 4- Higienização prévia dos olhos com gaze estéril na espécie *Cebus apella*.

Fonte : Arquivo Pessoal.



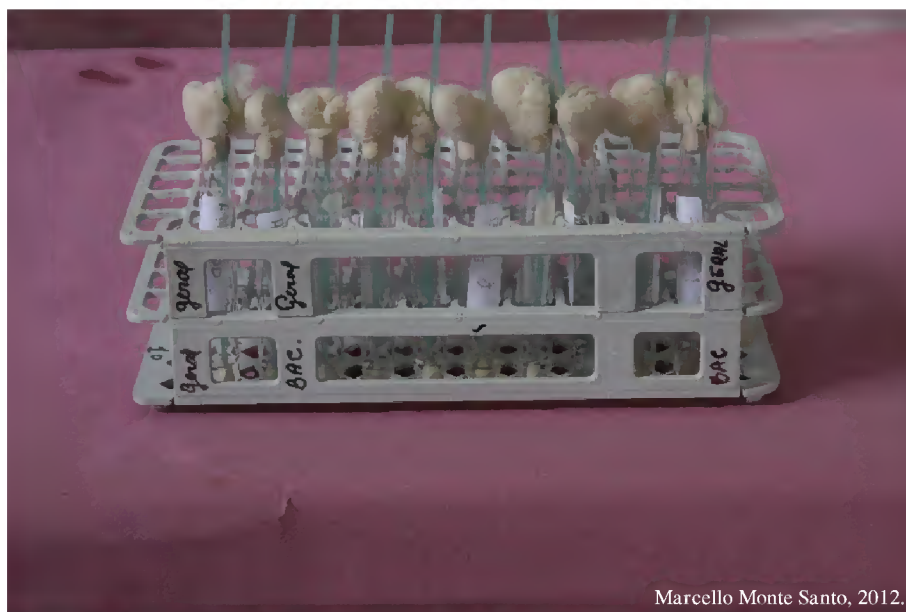
Figura 5- Colheita das amostras do saco conjuntival inferior da espécie *Aotus azarai infulatus*.

Fonte : Arquivo Pessoal.



Figura 6- Colheita das amostras do saco conjuntival inferior da espécie *Cebus apella*.

Fonte : Arquivo Pessoal.



Marcello Monte Santo, 2012.

Figura 7- Amostras após as coletas, acondicionadas em tubos de ensaios com solução salina estéril.

Fonte : Arquivo Pessoal.

4.2.3 Processamento microbiológica das amostras

No laboratório de bacteriologia do IEC os swabs foram colocados em Caldo Cérebro Coração (CCC), por 24 a 48 horas e a 35°C em aerobiose. Após esse período de incubação, as amostras foram semeadas em placas de Petri de 60 mm, ao lado de bico de Bunsen, na sequência do meio menos seletivo para o mais seletivo: Ágar sangue constituído de 5% de sangue de carneiro, e Ágar MacConkey, respectivamente. As placas foram semeadas de forma que todo o material da zaragatoa fosse transferido para a placa, mediante a técnica de esgotamento, com objetivo de isolar as diferentes colônias bacterianas. As placas contendo Ágar sangue e Ágar MacConkey foram incubadas à temperatura de 35°C, por 24 a 48 horas.

Foram realizadas as leituras diárias das placas, iniciando-se 24 horas após semeadura, até completar 48 horas, seguindo a padronização do Laboratório de Microbiologia do Instituto Evandro Chagas – IEC (Figura 8).

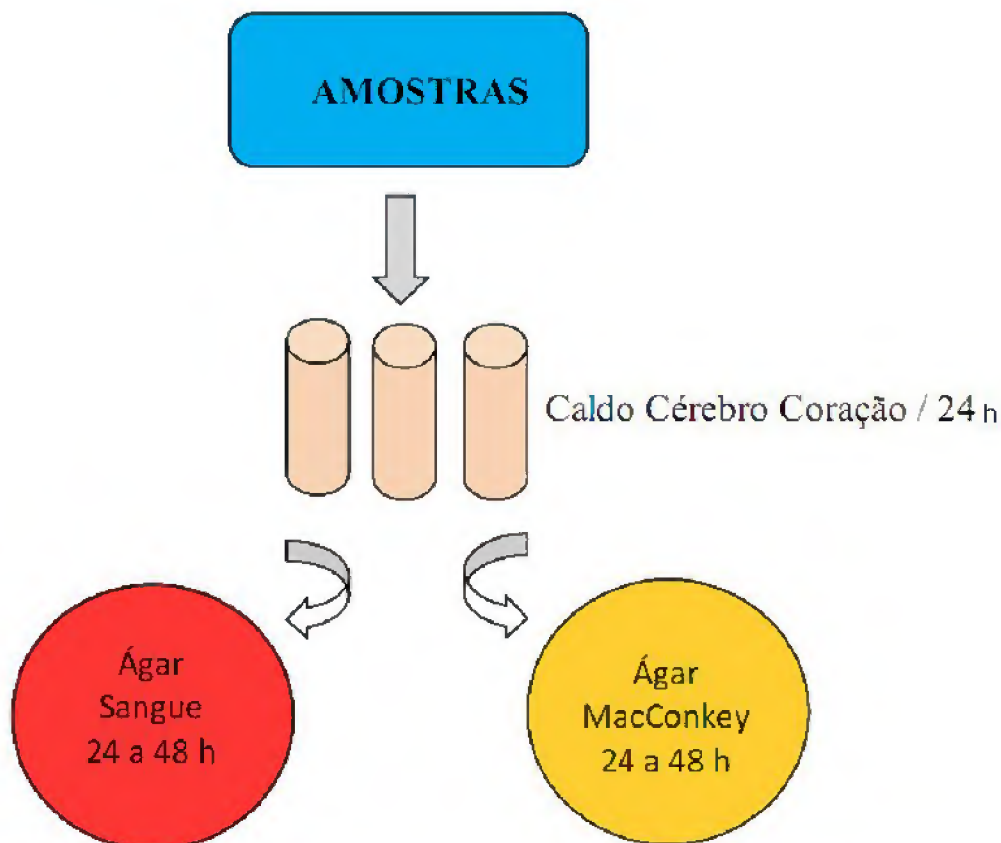


Figura 8 – Fluxograma da análise microbiológica das amostras coletadas no Centro Nacional de Primatas.

Após o crescimento bacteriano das colônias nos respectivos meios, foram realizadas as leituras das placas e preparo do inóculo padronizado, seguindo a escala de McFarland, para medir o grau de turvação.

4.2.4 Identificação e teste de sensibilidade microbiana in vitro

Os testes foram realizados utilizando o sistema automatizado VITEK® (bioMérieux), que é um sistema informatizado de identificação de bactérias e leveduras, também permite a realização de testes de sensibilidade pelo método de micro-diluição em caldo, baseado em calorimetria e turbidimetria para verificar a concordância dos dados (Figura 9). O sistema é composto de dois programas informatizados: um que comanda a leitura de cartões e incubadora VITEK® e outro bioLIAISON responsável pelo banco de dados que circunda o VITEK®, como segue:

1. Foram utilizados dois tubos de ensaio: no 1º e no 2º tubos, adicionou-se 1,8 ml de salina esterilizada em concentração de 0,45% de NaCl.

2. No 1º tubo, foi preparado o inóculo padronizado, compatível com escala de McFarland (calorimetria) para escolha dos cartões de identificação para cada tipo de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.
3. Adicionou-se 200 µL do inóculo padronizado, com solução salina, do 1º tubo ao 2º tubo, utilizando-se pipeta automática e ponteira estéril. Fazendo suspensão homogênea.
4. O primeiro tubo foi utilizado para o cartão de identificação (GPI) e o segundo para o teste de sensibilidade (ATS E AST).



Figura 9- Sistema automatizado VITEK® (bioMérieux) para identificação e análise microbiológica.

Fonte : Arquivo Pessoal.

Os antimicrobianos testados foram aqueles contidos nos cartões AST N105 e ATS P585 (VITEK®), sendo a sensibilidade antimicrobiana classificada como resistente, sensível e intermediária, seguindo os critérios estabelecidos pela ANVISA. Esses antibióticos foram a ampicilina, piperacilina, cefalotina, cefaxitina, cefatoxima, ceftazidima, cefepima, aztreonam, ertapenem, imipenem, meropenem, ampicilina, gentamicina, ciprofloxacina, tigeciclina, colistina, moxifloxacina, norfloxacina, ácido fusídico, rifampicina, vancomicina, eritromicina e oxacilina.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) também foi realizada com uso dos cartões de suscetibilidade AST N105 e ATS P585, com três concentrações distintas. O crescimento microbiano foi estimado em cada concentração via leitura de absorbância do sistema de identificação e avaliação do teste de suscetibilidade, contidos no AES (Antimicrobial Expert System), disponibilizado pelo VITEK[®], e sua interpretação conforme indicação do fabricante.

4.2.5 Análise estatística

Os dados foram tabulados em planilha eletrônica do programa Excel da Microsoft[®] e analisados, estatisticamente, pelo teste Qui-quadrado e teste Exato de Fisher, com grau de significância de $p < 0,05$.

Foi utilizado o teste Exato de Fisher para confrontar as bactérias individualmente com o tipo de Gram-positivo ou Gram-negativo e confrontar a ocorrência das bactérias isoladas com o sexo das espécies de PNH. O teste G correlacionou o perfil da CIM da ciprofloxacina e da gentamicina, com as 69 cepas isoladas da conjuntiva. O teste Qui-quadrado foi usado para comparar a ocorrência entre as Gram-positivas e as Gram-negativas e comparar a quantidade e percentual de bactérias sensíveis aos grupos de antimicrobianos testados por meio do software BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

5 RESULTADOS

Das 40 (quarenta) amostras coletadas das conjuntivas de 10 (dez) *Cebus apella* e 10 (dez) *Aotus azarai infulatus*, machos e fêmeas, houve crescimento bacteriano em 39 amostras (97,5%) e apenas uma amostra do olho direito de um macho da espécie *Aotus azarai infulatus* não houve crescimento bacteriano (2,5%), sendo isoladas 69 bactérias e identificadas 22 espécies de micro-organismos.

A maior ocorrência foi observada com *Staphylococcus cohnii* spp. *urealyticus* 21 (30,4%) e as cepas bacterianas que apresentaram a segunda maior ocorrência com 10 (14,5%) foram *Staphylococcus xylosum* e *Enterobacter aerogenes*.

O *Proteus mirabilis* foi isolado em 4 (5,8%) amostras e com apenas 2 (2,9%) isolamento foram observados *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus warneri*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Klebsiella oxytoca, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus thoralensis*, *Streptococcus porcinus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas hydrophila* e *Providencia rettgeri*, foi isolada somente uma cepa (1,4%) em cada amostra identificada, conforme demonstrado na (Tabela 2).

Foi observado o predomínio das bactérias Gram-positivas em relação às bactérias Gram-negativas nos PNH. O *Cebus apella* apresentou 33 Gram-positivas e 12 Gram-negativas e o *Aotus azarai infulatus* apresentou 11 Gram-positivas e 13 Gram-negativas, referidas na (Tabela 1).

Tabela 1 – Ocorrência entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, referente ao estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai Infulatus*, 2012.

Espécies	Gram		Total
	Positiva	Negativa	
<i>Cebus apella</i>	33	12	45
<i>Aotus azarai infulatus</i>	11	13	24
Total	44	25	69

$$\chi^2 = 4,002 ; p = 0,0454.$$

Tabela 2 - Bactérias identificadas na microbiota conjuntival indígena das espécies *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012.

Micro-organismos	Cebus apella		Aotus azarai infulatus		Total	%
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea		
Gram-positivo						
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	0	0	0	2	2.9
<i>Staphylococcus cohnii</i> spp <i>urealyticus</i>	7	6	8	0	21	30.4
<i>Staphylococcus arlettae</i>	0	1	0	0	1	1.4
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	0	0	0	1	1.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	0	0	2	2.9
<i>Staphylococcus xylosus</i>	3	5	2	0	0	4.5
<i>Staphylococcus equorum</i>	1	0	0	0	1	1.4
<i>Saphylococcus gallinarum</i>	0	1	0	0	1	1.4
<i>Staphylococcus simulans</i>	0	1	0	0	1	1.4
<i>Staphylococcus thoralensis</i>	0	1	0	0	1	1.4
<i>Staphylococcus warneri</i>	0	1	1	0	2	2.9
<i>Streptococcus porcinus</i>	1	0	0	0	1	1.4
Gram-negativo						
Enterobactérias						
<i>Escherichia coli</i>	2	0	0	0	2	2.9
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	1	0	0	1	1.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1	0	0	2	2.9
<i>Proteus mirabilis</i>	4	0	0	0	4	5.8
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	2	0	2	2.9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0	0	10	10	14.5
<i>Providencia rettgeri</i>	1	0	0	0	1	1.4
Bacilos Gram-negativos não fermentadores						
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	0	1	0	0	1	1.4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	1	0	1	1.4
Outros						
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	0	0	0	1	1.4
					69	100%

Foi constatado na espécie *Cebus apella* que as bactérias Gram-positivas foram predominantes em relação às bactérias Gram-negativas e, na espécie *Aotus azarai infulatus*, o predomínio foi das bactérias Gram-negativas, (Figura 10).

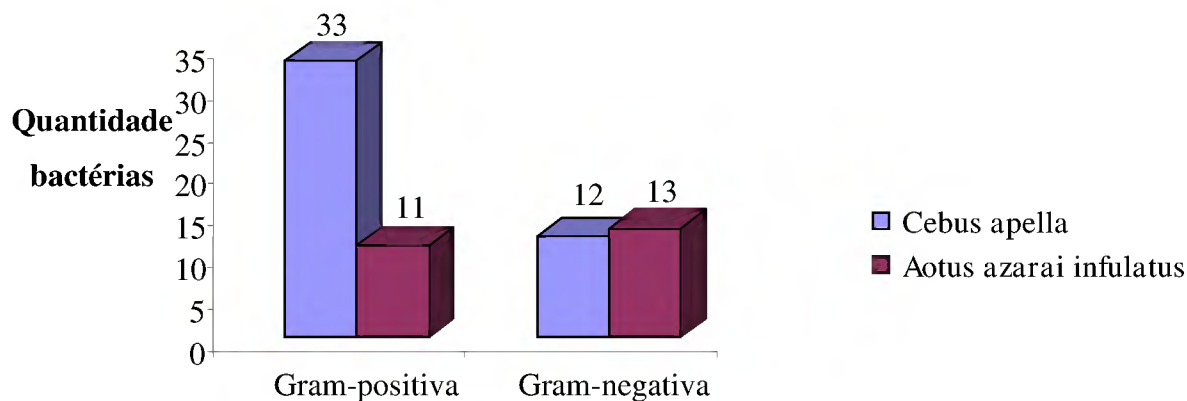


Figura 10 - Correlação entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, referente ao estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*.

O *Staphylococcus cohnii* spp. *urealyticus* e *Staphylococcus xylosus* foram as Gram-positivas mais isoladas nas duas espécies de PNH, (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Teste entre *Staphylococcus cohnii* spp *urealyticu* e Gram-positiva, referente ao estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012.

Gram-positiva	Sexo		Total
	Macho	Fêmea	
<i>Staphylococcus cohnii</i> spp <i>urealyticus</i>			
<i>Cebus apella</i>	7	6	13
<i>Aotus azarai infulatus</i>	8	0	8
Total	15	6	21

Teste Exato de Fisher $p=0,0316$.

Tabela 4 - Teste entre *Staphylococcus xylosus* e Gram-positiva, referente ao estudo da microbiota conjuntival bacteriana do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012.

Gram-positiva	Sexo		Total
	Macho	Fêmea	
<i>Staphylococcus xylosus</i>			
<i>Cebus apella</i>	3	5	8
<i>Aotus azarai infulatus</i>	2	0	2
Total	5	5	10

Teste Exato de Fisher $p=0,2222$.

Foram encontradas 25 bactérias Gram-negativas, das quais o gênero *Enterobacter* foi o mais isolado com 12 ocorrências, sendo encontrado apenas nas amostras conjuntivais de fêmeas do *Aotus azarai infulatus*, (Figura 11).

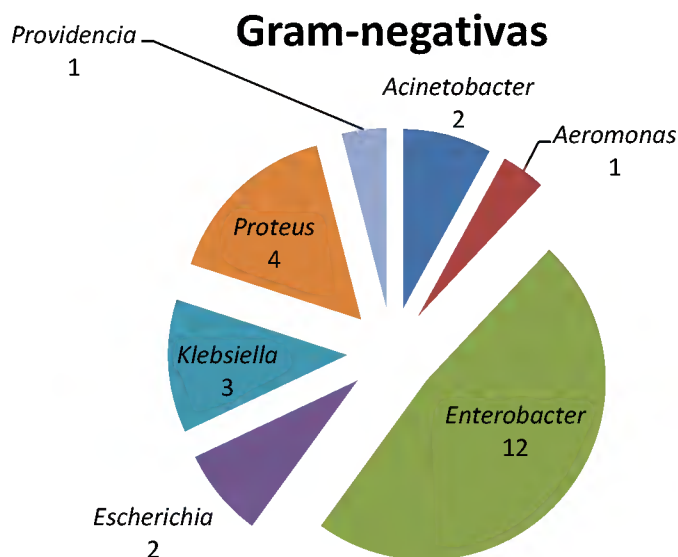


Figura 11 - Ocorrência das bactérias Gram-negativas isoladas na conjuntiva do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*.

A correlação entre as bactérias isoladas com o sexo das espécies estudadas demonstrou que houve diferença significativa apenas para o *Aotus azarai infulatus*, (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Teste entre o número de ocorrências dos agentes isolados com o sexo do *Cebus apella*, 2012.

Bactérias	Machos	Fêmeas	Total
Gram-positivas	16	17	33
Gram-negativas	9	3	12
Total	25	20	45

Teste Exato de Fisher $p = 0,1059$

Tabela 6 - Teste entre o número de ocorrências dos agentes isolados com o sexo do *Aotus azarai infulatus*, 2012.

Bactérias	Machos	Fêmeas	Total
Gram-positivas	11	0	11
Gram-negativas	3	10	13
Total	14	10	24

Teste Exato de Fisher $p = 0,0001$

Foi testada a susceptibilidade antimicrobiana in vitro das 69 cepas de 22 espécies de bactérias isoladas da microbiota conjuntival normal de macacos-prego e macacos-da-noite, sendo utilizados os antibióticos mais comuns na oftalmologia e de mais fácil acesso aos pacientes, conforme (Tabela 7). Foram excluídos os antibióticos como imipenem, ácido fusídico, aztreonam, meropenem, entre outros, por não serem usados na prática rotineira da oftalmologia.

Tabela 7 - Quantidade e percentual de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas sensíveis aos antibióticos testados no Instituto Evandro Chagas, 2012.

Antimicrobianos		Gram + n 44	%	Gram - n 25	%	Total n69	%
Aminoglicosídeos*	Gentamicina	35	79,54	25	100	60	86,95
	Amicacina	23	52,27	19	76	42	69,86
	Vancomicina	34	77,27	2	8	36	52,17
Quinolonas*	Ciprofloxacina	35	79,54	23	92	58	84,05
	Norfloxacina	34	77,27	1	4	35	50,72
	Moxifloxacina	35	79,54	2	8	37	53,62
Sulfas*	Sulfametoxazol + trimetropima	34	77,27	7	28	41	59,42
Penicilinas	Benzilpenicilina	7	15,90	1	4	8	6,90
	Oxacilina	29	65,90	5	20	34	49,27

* Altamente significativo $p < 0,002$; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente. n 44, 25 e 69: refere-se ao número de amostras.

O grupo dos aminoglicosídeos, das quinolonas e das sulfas, mostraram-se altamente significativos contra as cepas isoladas das conjuntivas normais do *Cebus apella* e do *Aotus azarai infulatus*, sendo a gentamicina e a ciprofloxacina os antimicrobianos mais sensíveis com 86,95% e 84,05%, respectivamente. Por esse motivo e por serem os principais antibióticos usados por via tópica na forma de colírios, foi estudada a concentração inibitória mínima (CIM) desses antibióticos frente aos agentes isolados (Tabela 8).

É importante observar que apesar de não haver diferença quanto à suscetibilidade dos dois antibióticos testados in vitro contra os agentes isolados das conjuntivas normais do *C. apella* e do *A. azarai infulatus*, a ciprofloxacina mostrou-se melhor, na maioria das vezes, no que se diz respeito à menor concentração possível para inibir o crescimento dos micro-organismos, principalmente as Gram-negativas quando comparadas à gentamicina, apesar de esse último antibiótico ter-se mostrado, nesta investigação, mais sensível.

Tabela 8 - Perfil da concentração inibitória mínima (CIM) para a ciprofloxacina e gentamicina das 69 cepas isoladas dos olhos do *Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*, 2012.

Bactérias	Ciprofloxacina			Gentamicina		
	≤0,25	≤ 0,5	≤ 1	≤0,25	≤ 0,5	≤ 1
Enterococcus faecalis	-	2	- S	-	-	2 S
Staphylococcus cohnii spp urealyticus	-	21	- S	-	18	2 S/R
Staphylococcus arlettae	-	1	- S	-	1	- S
Staphylococcus auricularis	-	1	- S	-	1	- S
Staphylococcus aureus	-	2	- S	-	2	- S
Staphylococcus xylosus	-	10	- S	-	10	- S
Staphylococcus equorum	-	1	- S	-	1	- S
Staphylococcus gallinarum	-	1	- S	-	1	- S
Staphylococcus simulans	-	1	- S	-	1	- S
Staphylococcus thoralensis	-	1	- S	-	1	- S
Staphylococcus warneri	-	2	- S	-	2	- S
Streptococcus porcinus	-	-	1 S	-	-	1 S
Gram-negativas						
Acinetobacter Iwoffii	-	-	- R	-	-	1 S
Acinetobacter baumannii	1	-	- S	-	-	1 S
Aeromonas hydrophila	1	-	- S	-	-	1 S
Enterobacter aerogenes	10	-	- S	-	-	10 S
Enterobacter cloacae	2	-	- S	-	-	2 S
Escherichia coli	2	-	- S	-	-	2 S
Klebsiella oxytoca	1	-	- S	-	-	1 S
Klebsiella pneumoniae	2	-	- S	-	-	2 S
Proteus mirabilis	3	1	- S	-	1	3 S
Providencia rettgeri	1	-	- S	-	-	1 S

S- suscetibilidade e R- resistente.

CIM expressa em µg/ml.

6 DISCUSSÃO

Foi observado o crescimento bacteriano em 100% das amostras analisadas da espécie *Cebus apella* e 95% do *Aotus azarai infulatus*. Rios Neto (2011), estudando primatas não humanos demonstrou o crescimento bacteriano semelhante, com 98% na família *Cebidae* e 87,18% na família *Callitrichidae*. Em outras espécies, observou-se o crescimento de 100% em elefantes (TUNTIVANICH, et al., 2002); 100% em gambás e guaxinins (PINARD et al., 2002); em cães 69% (KUDIRKIENÉ; ZILINSKAS; SIUGZDAITÉ, 2006); em gatos domésticos 54% (GERDING; KAKOMA, 1990); no homem, pode chegar até 60% (WILSON, 2005). Diferente do que foi observado por Almeida Neto et al. (2006) com ausência do crescimento bacteriano em 60% das amostras da conjuntiva de ovinos saudáveis. Essas diferenças demonstradas em diversas pesquisas podem ser atribuídas ao uso prévio de antibióticos, swabs não umedecidos, erro durante a coleta das amostras, diferenças das técnicas de cultivo, erros de cultivo, diferença entre espécies, diferenças geográficas e climáticas.

As bactérias Gram-positivas foram mais predominantes em relação às Gram-negativas, porém quando analisamos as espécies individualmente observamos que apenas o *C. apella* obteve o predomínio das Gram-positivas. Dentre elas, *Staphylococcus cohnii* spp. *urealyticus* e *Staphylococcus xylosum*, foram os do gênero *Staphylococcus* que mais ocorreram, em concordância com vários pesquisadores que citam o mesmo predomínio das Gram-positivas na microbiota conjuntival indígena de diversas espécies como: em cães (ANDRADE et al., 2002; PRADO et al., 2005), em gatos domésticos (SOUZA; ANGÊLO; HOMEM, 2010), na família *Cebidae* e *Callitrichidae* (RIOS NETO, 2010) e em diferentes espécies de animais mamíferos, aves, anfíbios e répteis, inclusive com *C. apella* (SANTOS, 2011).

Para Wilson (2005) o gênero *Staphylococcus* pode ser transmitido pelo contato direto ou por objetos contaminados, é pouco resistente aos desinfetantes, sabão e altas temperaturas, é habitante da microbiota da pele e do trato respiratório dos animais e do homem, inclusive podem estar presentes na microbiota da conjuntiva. Uma variedade de espécies do *Staphylococcus* foi identificada nesta investigação, demonstrando a grande diversidade de micro-organismos Gram-positivos e que essa bactéria faz parte da microbiota conjuntival normal de PNH. Segundo Gerding e Kakoma (1990) as bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. também foram isoladas na conjuntiva normal de gatos, corroborando com achados obtidos por Andrade et al. (2002) em cães sadios na cidade de Araçatuba-SP.

Houve o isolamento de uma amostra de *Enterococcus faecalis* sugerindo uma contaminação secundária. Segundo Paradella, Koga-Ito e Jorge (2007), compõem o grupo das bactérias Gram-positivas que residem no trato gastrintestinal, na vagina e na cavidade bucal, como comensais.

Diferentes resultados entre as espécies de PNH foram obtidos com *Aotus azarai infulatus*, predominando as bactérias Gram-negativas. Resultado semelhante foi descrito por Galera et al. (2002) quando isolou apenas bactérias Gram-negativas na microbiota conjuntival de macacos-prego e macacos-bugio. O interessante foi que, em ambos os trabalhos, o predomínio das Gram-negativas foram em fêmeas, isso se deve, provavelmente, ao comportamento e hábitos sociais, manipulação dos órgãos genitais, contato das mãos com o piso, fezes, urina e fatores pré-existentes. Podendo, neste caso, essas bactérias serem consideradas transitórias ou não da microbiota ocular.

De acordo com Andrade et al. (2002) e Prado et al. (2005) a microbiota conjuntival em várias espécies de animais, observam-se que alguns fatores podem influenciar a prevalência de algumas bactérias, como geografia, sazonalidade, espécies, meio ambiente, modo de coleta e estresse em cativeiro. Nesta investigação, não foi levada em consideração a sazonalidade e sim a possível correlação entre o sexo dos PNH com as bactérias encontradas. Todas as fêmeas de primatas não humanos que participaram desta investigação estavam em anestro, sendo observado que, no *C. apella*, as bactérias Gram-positivas foram de ocorrência maior nos machos, apesar de não ser estatisticamente significativo. Já no *A. azarai infulatus*, foi altamente significativa a prevalência de bactérias Gram-negativas nas fêmeas e como foi o primeiro relato nesta espécie, servirá como influência para futuras investigações.

Nas amostras Gram-negativas, isoladas do saco conjuntival das espécies, revelaram que não houve diferença significativa entre as espécies de PNH. Segundo Spinelli et al. (2010), Os micro-organismos Gram-negativos são frequentemente encontrados nos olhos saudáveis dos animais e podem variar entre as espécies, mas o aumento no número desses pode ser um indicativo de estado de doença ocular. Embora, na presente investigação nos olhos dos quais foram isoladas as bactérias Gram-negativas, não houvesse qualquer indício de doença clínica.

Dentre as bactérias Gram-negativas, as mais isoladas foram as da família Enterobacteriaceae. Para Quinn et al. (1994) membros dessa família são encontrados em diferentes ambientes como solo, plantas, água e no intestino do homem e animais. As enterobacteriaceae encontradas foram *E. coli*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E.*

cloacae, *E. aerogenes* e *P. rettgeri*. A espécie que mais se destacou neste estudo foi *Enterobacter aerogenes*, é um achado relativamente comum e já descrito em olhos de cães (KUDIRKIENE; ZILINSKAS; SIUGZDAITÉ, 2006), castores canadenses (CULLEN, 2003), saguis e macacos-pregos (RIOS NETO, 2010). Achados diferentes foram encontrados por Galera et al. (2002) com macacos-prego e macacos-bugio em isolar apenas *Klebsiella* sp. e *Morganella morganni* e por Santos (2011), com maior prevalência da *E. coli* entre as enterobacteriaceae.

Para Quinn et al. (1994) *Enterobacter* sp., por ser um habitante natural do intestino de mamíferos, é excretado pelas fezes, podendo sobreviver em partículas fecais, poeira e água por meses. O seu maior isolamento, nessa investigação, pode indicar uma possível contaminação fecal, sendo neste caso, apenas uma bactéria transitória da conjuntiva.

Klebsiella oxytoca e *Klebsiella pneumoniae* foram isoladas nos animais estudados, podendo também serem observadas em patos domésticos (CHALMERS; KEWLEY, 1985), em PNH (RIOS NETO, 2010) e em pinguins (SANTOS, 2011).

Nas amostras analisadas, foi identificado *Proteus mirabilis* no *C. apella*, sendo o mesmo observado por Rios Neto (2010) em estudo com *Callithrix jacchus*, *Callithrix penicillata* e *Cebus* sp. Santos et al. (2009) relataram que essa bactéria pode ser encontrada em animais saudáveis, sendo normalmente causadora de infecção urinária e também presente em diversos locais, principalmente, em pessoas imunossuprimidas. Outro agente isolado, que pode causar infecção urinária, é *P. rettgeri*, mais comumente encontrada também na urina, sugerindo ser uma bactéria transitória da microbiota conjuntival. Achado similar foi descrito por Oliveira et al. (2011) quando avaliaram a microbiota conjuntival do jacaré-de-papa-amarelo.

Outras bactérias Gram-negativas encontradas nos macacos-pregos e macacos-da-noite são denominadas de bacilos Gram-negativos não fermentadores, *Acinetobacter Iwoffii* e *Acinetobacter baumannii*, corroborando com achados em conjuntiva de equino (SANTOS, 2011). Segundo Quinn et al. (1999) são considerados micro-organismos ambientais e ocasionalmente podem ter contaminado os olhos durante o período em que as amostras foram colhidas. Corroborando com Gutierrez (1972) que também demonstraram que essas bactérias realmente não fazem parte da microbiota normal do olho de pessoas e são considerados micro-organismos transitórios oportunistas.

Também outro agente Gram-negativo isolado foi *Aeromonas hydrophila* em apenas um macho de *C. apella*. É uma bactéria encontrada em águas marinhas, águas doces, estuários, águas clorinadas e não-clorinadas. Pode sobreviver em ambiente de aerobiose ou

anaerobiose, é resistente ao cloro e à baixa temperatura. Diferente do observado por Kern (1998), embora pouco documentado, é mais comum em anfíbios e répteis. Cullen (2003) relatou resultado semelhante ao desta investigação quando isolou *Aeromonas hydrophila* no saco conjuntival de três mamíferos roedores (*Castor canadensis*). Provavelmente esse achado é devido à possível contaminação do reservatório d'água ou do galpão ou do animal ter tido contato com águas contaminadas fora das instalações.

A identificação do agente microbiano e sua sensibilidade aos antibióticos é a base perfeita para a seleção de um antibiótico ocular, sendo fundamental para a escolha do antimicrobiano ideal, diminuindo tempo de tratamento, os riscos de complicações e as sequelas numa infecção ocular.

Nesta investigação, vislumbrou-se avaliar os grupos de micro-organismos sensíveis aos antibióticos mais usados na oftalmologia, demonstrando que os aminoglicosídeos, as quinolonas e as sulfas foram altamente significativos contra os agentes Gram-positivos e Gram-negativos identificados nas conjuntivas normais das espécies estudadas, com exceção do grupo das penicilinas que demonstraram resistência nas maiorias das cepas isoladas, isso pode ser devido ao mecanismo de resistência (produção de β -lactamases) encontrado nas bactérias. Nossos dados estão de acordo com Santos (2011) com relação à resistência das penicilinas das bactérias isoladas das conjuntivas de diversos animais.

Dentre os antibióticos de uso tópico mais usado na oftalmologia, a gentamicina e ciprofloxacina foram os que apresentaram maior sensibilidade. Resultados similares foram apresentados por Rocha et al. (2011) num estudo dos principais patógenos e susceptibilidade *in vitro* antimicrobiana em ceratites bacterianas.

A ciprofloxacina mostrou-se um pouco mais sensível aos Gram-positivos nesta investigação, diferente do observado por Butler, Spencer e Chan (2005) em pacientes humanos idosos. Enquanto que a gentamicina apresentou maior sensibilidade frente aos agentes isolados Gram-negativos, com 100% de sensibilidade. Resultados divergentes foram descritos por Tan et al. (1995) num estudo em indivíduos com úlcera de córnea, em Singapura, com uma cepa Gram-negativa resistente à gentamicina, e por Varges et al. (2009) que demonstrou uma resistência de 47,5% das cepas isoladas em animais à gentamicina. Já Lin e Petersen-Jones (2007) observou em cães resultados semelhante aos grupos dos aminoglicosídeos desta pesquisa, com sensibilidade da amicacina (100%), tobramicina (80%) e gentamicina (75%).

Segundo Gayoso et al. (2007) observaram o aumento da resistência em olhos de seres humanos do *Staphylococcus coagulase negativa in vitro* a gentamicina. Nessa investigação foi observada a ocorrência de uma resistência do *S. cohnii* spp *urealyticus* a gentamicina.

Neste trabalho foi também testada a CIM de dois importantes antibióticos usados na forma de colírios na oftalmologia veterinária: gentamicina e ciprofloxacina. Segundo Peiffer e Stowe (1981) e Viana (2007), os antibióticos gentamicina e ciprofloxacina, sob a forma de colírio, têm uma concentração comercial de 3 mg/ml em solução. Se uma gota (aproximadamente 0,05 ml) é instilada no olho, a solução mantém ainda uma concentração de 0,15 mg do antibiótico. De acordo com Peiffer e Stowe (1981), apenas uma gota cabe no fórnice conjuntival e, desta, apenas 10 a 25 µL da droga é que permanece no fórnice conjuntival, ainda assim tem uma concentração de 75 µg da droga. Segundo Santos (2011) em um estudo realizado com a CIM da ciprofloxacina de cepas isoladas de *Pseudomonas aeruginosa*, verificou-se que a CIM variava entre 0,13 a 12 µg/ml, portanto ela era eficaz topicamente. Resultado semelhante foi observado, nesta investigação, com a CIM da ciprofloxacina, variando de 0,25 a 1 µg/ml e da gentamicina 0,5 a 1 µg/ml. Tendo em vista que a CIM para esses antibióticos, neste método automatizado, é sensível para (menor ou igual 1µg/ml), intermediário (2 µg/ml) e resistente (acima ou igual 4 µg/ml).

Para Hendrix, Stuffle e Cox (2007) existe uma variação da concentração média dos antibióticos nas lágrimas, no caso da ciprofloxacina (solução oftálmica 0,3%) na lagrima após 4 horas da instilação, a concentração chega a ser de 16 µg/ml até 36,25 em seres humanos e em cavalos. Tendo em vista que a CIM das cepas testadas nesta investigação não ultrapassou 1 µg/ml, a concentração destas drogas na lágrima até quatro horas ainda é alta, desse modo, instilar uma gota de colírio com esses princípios ativos são efetivos e seguros a cada quatro horas.

6 CONCLUSÃO

No estudo da microbiota conjuntival bacteriana de PNH demonstrou-se o maior crescimento bacteriano das Gram-positivas nas amostras analisadas, com predomínio das Gram-positivas no *Cebus apella* e das Gram-negativas no *Aotus azarai infulatus*.

Staphylococcus cohnii spp. *urealyticus* e *Staphylococcus xylosus* foram os que predominaram entre os Gram-positivos, e *Enterobacter aerogenes* foi o de maior ocorrência entre os Gram-negativos.

Apenas nas fêmeas de *A. azarai infulatus* houve maior crescimento das Gram-negativas, enquanto que no *C. apella* não houve correlação com o sexo.

Foi evidenciada maior sensibilidade dos agentes microbianos aos grupos dos aminoglicosídeos, quinolonas e das sulfas. Dentre esses, a gentamicina e a ciprofloxacina, foram os que apresentaram melhores resultados com relação à CIM.

REFERÊNCIAS

- ABEE, C. R. Alternative new world primate models for Non-AIDS. **Research ILAR J.**, v. 44, p.231-235, 2003.
- ALLMAN, J. M.; KAAS, J. H. A crescent-shaped cortical visual area surrounding the middle temporal area (MT) in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). **Brain Research**, Amsterdam, v. 81, p. 199-213, 1974.
- ALMEIDA NETO, J. B.; SÁ, F. B.; SILVA, K. P. C.; BUZINHANI, M. Flora conjuntival bacteriana de ovinos sadios da raça Sta Inês e seus mestiços criados na microrregião de Garanhuns, PE. **Ciência Vet. Trop.**, v. 9, n.1, p. 17-22, jan./abr.2006.
- ALVES, F. A. **Desenvolvimento e validação de ferramentas moleculares para análise da resposta imune de primatas aotus e saimiri**. 2009. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2009
- ANDRADE, A. L.; STRINGHINI, G.; BONELLO, F. L.; MARINHO, M.; PERRI, S. H. V. Microbiota conjuntival de cães sadios da cidade de Araçatuba. **Arquivo Brasileiro Oftalmológico**, v. 66, p.323-326, 2002.
- ANDREW, S. E.; NGUYEN, A.; JONES, G. L.; BROOKS, D. E. Seasonal effects on the aerobic bacterial and fungal conjunctival flora of normal thoroughbred brood mares in Florida. **Veterinary Ophthalmology**, v.6, n.1, p. 45-50, 2003.
- ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, p. 5-16, 2001. (Supplement, 1).
- AQUINO, R.; ENCARNACION, F. Owl monkey populations in Latin America: field work and conservation. In: BAER, J. F.; WELLER, R. E.; KAKAOMA, I. **Aotus: the owl monkey**. San Diego: Academic Press, 1994. p. 59-95.
- ARDITI, S. I. Variaciones estacionales en la actividad y dietade *Aotus azarae* y *Alouatta caraya* en Formosa, Argentina. **Bol. Primatol. Latinoam**, v.3, p.11–30, 1992.
- AYOUB, M.; BADR, A.; ELIAN, S. A study on the effect of antibodies on the normal flora of the eye. **Medical Journal Of Cairo University**, v. 62, n.1, p.121-128, 1994.
- AYRES, J. M.; DEUTSCH, L. A. Os macacos da região amazônica. **Revista Geográfica Universal**, p. 71- 82. 1982.
- AYRES, M.; AYRES JR., M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém, Sociedade Civil de Mamirauá, 2007. 364p.
- BARAHONA, H. H.; MELENDEZ, L. V.; HUNT, R. D. ; DANIEL, M. D. The owl monkey (*Aotus trivirgatus*) as an animal model for viral diseases and oncology studies. **Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 26, n. 6, p. 1104-1112, 1976.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Área prioritárias para conservação, uso sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira: atualização – Portaria MMA nº 9, de 23 de janeiro de 2007**. Brasília: Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2007. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 12 dez. 2011.

BUTLER, T.K.; SPENCER, N.A.; CHAN, C.C. Infective keratitis in older patients: a 4 year review, 1998-2002. **British Journal of Ophthalmology**, v. 89, n.5, p. 591- 6, 2005.

CHALMERS, W. S. K.; KEWLEY, D. R. Bacterial Flora of Clinically Normal Conjunctivae in the Domestic Duckling. **Avian Pathology**, Inglaterra, v. 14, n. 1, p. 69-74, 1985.

CULLEN, C. L. American College of Veterinary Ophthalmologists. **Veterinary ophthalmology**, Canada, v. 6, n. 4, p. 279-284, 2003.

DIXSON, A. F. The owl monkey (*Aotus trivirgatus*). In: HEARN, J. **Reproduction in New World Primates**. Lancaster: MPT, 1983. p. 71-113.

DOWLING, P. M.; GRAHN, B. H. Can Antimicrobial therapy of ocular infections. **Veterinary Journal**, v.122, n. 39, 121-124, fev. 1998.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the neotropics**. Chicago: University of Chicago Press, 1989, p. 1-2.

FAHMY, L .S.; HEGAZY, A. A.; ABDELHAMID, M. A. A.; HATEM, M. E.; SHAMAA, A. A. Studies on eyes affections among camels in Egypt: clinical and bacteriological studies. **Journal at King Faisal University**, v. 4, n.2, p.159-156, 2003.

FREITAS, J. L.; PINHEIRO, A. C. O. ; ALMEIDA, D. S.; LEITE, J. L. C.; OLIVEIRA, A. V. D.; GOMES, M. C.; PINNA, H.; ORIÁ, A. P. Avaliação da microbiota conjuntival bacteriana de *Chelonoidis carbonaria* (spix, 1824) mantidos para conservação ex-situ no parque zoológico getúlio vargas, salvador, Bahia, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Anais...** Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/856.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2012.

FORD, S. M. Taxonomy and distribution of the owl monkey. In: BAER, J. F.; WELLER, R. E.; KAKAOMA, I. **Aotus: the owl monkey**. San Diego: Academic Press, 1994. p. 1-53.

FRANCO, E. C.; FINLAY, B. L.; SILVEIRA, L. C.; YAMADA, E. S.; CROWLEY, J. C. Conservation of absolute foveal area in New World monkeys. A constraint on eye size and conformation. **Brain Behavior and Evolution**, n.56, p.276-286, 2000.

FRAGASZY, D. M.; VISALBERGHI, E.; FEDIGAN, L. M. **The complete capuchin: the biology of the genus Cebus**. Massachusetts: Cambridge University Press, 2004.

GAYOSO, M. F. A.; OLIVEIRA, A. D. D.; AZEVEDO, P. A.; YU, M. C. Z.; LIMA, A. L. H.; FRANCISO, W. Suscetibilidade antimicrobiana in vitro dos *Staphylococcus coagulase negativa* o culares. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, São Paulo, v. 70, n.6, p.1-6, nov./dez. 2007.

GALERA, P. D.; ÁVILA, M. O.; RIBEIRO, C. R.; SANTOS, F. V. dos. Estudo da microbiota da conjuntiva ocular de macaco-prego (*CEBUS APPELLA* – LINNAEUS, 1758) e

macacos bugio (ALOUATTA CARAYA – HUMBOLDT, 1812), provenientes do reservatório de manso, MT, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 69, n.2, p.33-36, abr./jun. 2002.

GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999, p.41-43.

GERDING, P. A., KAKOMA, I. Microbiology of the canine and feline eye. **Veterinary Clinics of North America: small animal practice**, 1990. v.20, p.615-625.

GUEDES, Pedro M.; HÖFLING-LIMA, Ana Luisa.; MATTOS JUNIOR, Rubens B.; BARROS, Paulo Sergio de M. Microbiota conjuntival em panthera onça. In: CONGRESSO DA ABRAVAS, 7.; ENCONTRO DA ABRAVAS, 12.,2003, São Pedro,SP. **Anais...** São Pedro, SP: ABRAVAS, 2003. p.8.

GUTIERREZ, E. H. Bacterial infection of the eye. In: D. Locatcher-khorazo ; B. C. Seegal (Ed.). **Microbiology of the eye**. St.Louis: Mosby, 1972.

HENDRIX, D.V. H; STUFFLE, J. L.; COX, S. K. Pharmacokinetics of topically applied ciprofloxacin in equine tears. **Vet Ophthlalmol**, v.10, n.6, p.344-347, 2007.

HERITAGE, J.; EVANS, E. G. V.; KETTINGTON, R. A. The human commensal flora. In: **Microbiology in Action**. Londres: Cambridge University Press, 2003. cap. 6, p.121-130.

JANSON, C. H. Everything you ever wanted to know about capuchin. **American Journal of Primatology**, v.68, p.419-424, 2006.

KERN, T. J. Exotic animal ophthalmology. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. cap.35, p. 1273-1305.

KUDIRKIENĖ, E.; ZILINSKAS, H.; SIUGZDAITĖ, J. Microbial flora of the dog eyes. Lituania. **Veterinarija ir Zootechnika**, v. 34, n. 56, 2006.

LAWSON, A. The bacteriology of the normal conjunctival sac and its practical bearing on the utility of antiseptics in ophthalmic surgery. Sixty-Sixth Annual Meeting of Te British Medical Association. **Proceedings Br Med J**, Edimburgo, Escócia, v.2, p.486-487, july. 1898.

LINNAEUS, C. Systema Naturae per Regna tria naturae, classes, ordines, genera, species cum bracteribus, differentiis, synonymis, locis. Regnum Animale. Estocolmo, Holmiae, 10th ed., p.823. 1758

LIN, C. T.; PETERSEN-JONES, S. M. Antibiotic susceptibility of bacterial isolates from corneal ulcers of dogs in Taiwan. **J Small Anim Pract** , v.48, n.5, p.271-4, may.2007.

MONTIANI-FERREIRA, F.; SHAW, G.; MATTOS, B. C.; RUSS, H. H.; VILANI, R. G. Reference values for selected ophthalmic diagnostic tests of the capuchin monkey (*Cebus apella*). **Veterinary ophthalmology**, Philadelphia: Lippincott. v.11, n.3, p.197-201, may/jun. 2008.

_____; TRUPPEL, J.; TRAMONTIM, M. H.; VILANI, R.G; LANGE, R.R. The capybara eyes: clinical tests, anatomic and biometric features. **Veterinary Ophthalmology**, v.11, n.6, p. 386-394, 2008.

_____; MATTOS, B.C.; RUSS, H. H.A. Reference values for selected ophthalmic diagnostic tests of the ferret (*Mustela putorius furo*). **Veterinary Ophthalmology**, , v.9, n.4, p. 209-213. 2006.

MOORE, C. P.; NAISSE, M. P. Clinical Microbiology. In: GELLAT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p. 270.

_____; _____. Clinical microbiology. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. cap.7, p.259-290.

NOGUEIRA, D. C.; UEDA, S. M. Y.; MURÇA, M. A. S.; HIDA, W. T.; SERRUYA, S. F. L.; HIDA, R. Y. Comparação entre dois meios de coleta e transporte para estudo da microbiota conjuntival de indivíduos normais. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, São Paulo, v. 70, n. 6, p. 929 - 934, 2007.

OLIVEIRA, F. S.; BAMBIRRA, A. L.; PINHEIRO, A. C. O; LEITE, J. K. C.; OLIVEIRA, A. V. D.; GOMES, M. C.; PINNA, M. H.; ORIÁ, A. P. Microbiota bacteriana conjuntival normal de jacaré-de-papo amarelo (*caiman latirostris*) mantidos em cativeiro. CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis, SC. **Anais...** Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/856.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2012.

PARADELLA, T. C.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. Enterococcus faecalis: considerações clínicas e microbiológicas. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 36, n. 2, p. 163-68, 2007.

PEIFFER, R. L.; STOWE, C. M. Veterinary ophthalmic pharmacology. In: Gelatt, K.N. (Ed.) **Veterinary Ophthalmology**. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981. p.160-205.

PINARD, C. L.; BRIGHTMAN, A. H.; YEARY, T. J.; EVERSON, T. D.; COX, L. K.; CHENGAPPA, M. M.; DAVIDSON, H. J. Normal Conjunctival flora in the North American opossum (*Didelphis virginiana*) and raccoon (*Procyon lotor*). **Journal of Wildlife Diseases**, USA, v. 38, n. 4, p. 851 - 855, 2002.

PINON, M. C. G.; SOUSA, A. P. B.; GATTASS, R. Topography of cortical efferents of V1 in *Cebus apella* monkey. Society Neuroscience Abstract. 20th. **Annual Meeting**, v.16, p.708. 1990.

POLITI, F. A. S.; MAJEROWICZ, J.; CARDOSO, T. A. O.; PIETRO, R. C. L. R; SALGADO, H. R. N. Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 1, p. 17-28, 2008.

PRADO, M. R.; ROCHA, M. F. G.; BRITO, E. H. S.; GIRÃO, M. D; MONTERIO, A, J.; TEIXEIRA, M. F. S; SIDRIM, J. J. Survey of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Fortaleza, Ceara, Brazil. **Vet Ophthalmol**, v.8, n.1, p. 33-37, jan./feb. 2005.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; MARTER, G. R. Staphylococcus species. In: _____.(Ed.) **Clinical Veterinary Microbiology**, London: Wolfe,1994. p.118-125.

RIOS NETO, G. M. **Avaliação da microbiota conjuntival bacteriana em Callithrix jacchus, Callithrix penicillata e Cebus apella sp. mantidos em cativeiro**. 2010. 50f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

RYAN, K. Normal Microbial Flora. In: RYAN, K.; RAY, G. **Sherris Medical Microbiology – “An Introduction to Infectious Diseases”**. The Macgraw-Hill Companies, 2004. cap. 9, p.141-147.

ROCHA, G. A. N.; SILVA, R. F.; LOPES, M. F.; PEREIRA, N. C.; SOUZA, L. B. Principais patógenos e susceptibilidade in vitro antimicrobiana em ceratites bacterianas: Revisão de cinco anos, 2005 a 2009. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.74, n. 1, p.1- 8, 2011.

RODRIGUES, M. V.; PAULA, J. S.; SOUZA, E. S. M. V. Identification of c-kit expressing cells in the ciliary muscle of Cebus paella. **Journal of Research in Experimental and Clinical Ophthalmology**, v. 37, p. 128. 2005.

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

SANTOS, L. L. **Características da microbiota da superfície ocular bacteriana em animais domésticos e silvestres**. 2011. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SARCHAHI, A. A.; HAGHKHAH, M.; MOLAZEM, M. **Antimicrobial susceptibility of canine normal conjunctival flora in Shiraz, Iran**. 2005. Disponível em: < <http://priority.com/vet/canineflora.htm> >. Acesso em: 8 jan. 2012.

SLATTER, D. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001, p. 640.

SLATTER, D.; WOLF, E.D. Órbita. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998.v 2, cap. 86, p.1486 – 1505.

SOUZA, J. O. T.; ANGÊLO, F. F.; HOMEM, L. A. S. Microbiota bacteriana conjuntival de felinos domésticos (FELIS S. CATUS, LINNAEUS, 1758) sadios da cidade de Juiz de Fora-MG. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n. 15, jul.2010.

SPINELLI, T. P.; OLIVEIRA-FILHO, E. F.; SILVA, D.; MOTA, R.; SÁ, F. B. Normal aerobic bacterial conjunctival flora in the crab-eating raccoon (Procyon cancrivorus) and coati (Nasua nasua) housed in captivity in Pernambuco and Paraíba (Northeast, Brazil). **Vet Ophthalmol**, n.13, p. 134-136, 2010. (Supplement, 1).

SMOLIN, G.; FOSTER, C. S.; AZAR, D.T.; DOHLMAN, C. H.; THOFT, R. A. **The cornea**. 2.ed. Massachusetts: Mosby; 1987. p.204-14.

UESUGUI, E.; CYPEL-GOMES, M. C.; ATIQUE, D.; GOULART D. G. Identificação laboratorial dos patógenos oculares mais frequentes e sua suscetibilidade in vitro aos agentes antimicrobianos. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, n. 65, p. 339 - 342, 2002.

TAN, D.T.; LEE, C.P.; LIM, A.S. Corneal ulcers in two institutions in Singapore: analysis of causative factors, organisms and antibiotic resistance. **Ann Acad Med Singapore**, v.24, n.6, p.823-9, 1995.

TEJEDOR, M. La posición de Aotus y Callicebus en la filogenia de los primates platirrinos. **Bol. Primatol. Latinoam**, n.7, p.13-29, 1998.

TODAR, K. **The Normal Bacterial Flora of Humans**, 2006. Disponível em: <<http://www.textbookofbacteriology.net/normalflora.html>>. Acesso em: 22 out. 2010.

TUNTIVANICH, P.; SOONTORNVIPART, K.; TUNTIVANICH, V.; WONGAUMNUAYKUL, S.; BRIKSAWAN, P. Conjunctival microflora in clinically normal Asian elephants in Thailand. **Veterinary Research Communications**, Tailândia, v. 26, n. 4, p. 251 - 254, 2002.

VARGES, R.; PENNA, B.; MARTINS, G.; MARTINS, R.; LILENBAUM, W.. Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus isolated from naturally occurring canine external ocular diseases. **Veterinary Ophthalmology**, v.12, n.4, p.216-220, 2009.

VIANA, F.A.B. **Guia terapêutico veterinário**. 2. ed. Lagoa Santa, MG, 2007, p.315-316.

WANG, L.; PAN, Q.; ZHANG, Q. X.; CUI, J.; QI, C.. Investigation of bacteria microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Beijing, China. **Veterinary Ophthalmology**, v.11, n.3, p.145-149, 2008.

WILSON, M. Eye and Its Indigenous Microbiota. In: **Microbial Inhabitants of Humans – Their Ecology and Role in Health and Disease**. Cambridge University Press, 2005. Cap. 3, p.107-126.

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

ANEXOS



Parecer de Aprovação Nº 0024/2011/CEPAN/IEC/SVS/MS
Protocolo CEPAN - nº 003/2011

Ananindeua/PA, 13 de outubro de 2011.

Projeto: "Estudo da microbiota e da superfície ocular de primatas não humanos
(*Cebus apella* e *Aotus azarai infulatus*) mantidos em cativeiro".


Pesquisador Responsável: Marcello Ribeiro Monte Santo

Conforme decisão do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais-
CEPAN do Instituto Evandro Chagas, cientificamos que o projeto acima **foi aprovado**.

Recomendamos ao coordenador responsável que mantenha atualizados
todos os documentos pertinentes ao projeto.

Os relatórios parciais deverão ser encaminhados a este Comitê,
anualmente, a partir do início do projeto.

Atenciosamente,


NELSON ANTONIO BAILÃO RIBEIRO
Coordenador do CEPAN/IEC



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 28798-1	Data da Emissão: 17/11/2011 13:36
Dados do titular	
Nome: Marcello Ribeiro Monte Santo	CPF: 300.145.492-04
Título do Projeto: ESTUDO DA MICROBIÓTA E DA SUPERFÍCIE OCULAR DE PRIMATAS NÃO HUMANOS (<i>Cebus apella</i> e <i>Aotus azarai infulatus</i>)	
Nome da Instituição: Instituto Evandro Chagas	CNPJ: 00.394.544/0025-52

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Levantamento de material	08/2011	08/2011
2	Levantamento Bibliográfico	08/2011	10/2011
3	Treinamento técnico e laboratorial	08/2011	10/2011
4	Aquisição de material de consumo	08/2011	10/2011
5	Colheita de amostras biológicas	11/2011	11/2011
6	Processamento do material	11/2011	12/2011
7	Análise dos dados	12/2011	12/2011
8	Qualificação	01/2012	01/2012
9	Defesa	02/2012	02/2012
10	Submissão do artigo e trabalhos científicos	02/2012	02/2012

De acordo com o art. 33 da IN 154/2007, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	José Augusto Pereira Carneiro Muniz	Médico Veterinário	033.358.872-04	0572850 SEGUP-PA	Brasileira
2	Nazaré Fânseca de Souza	Orientadora	081.493.722-53	3479851 ssp-PA	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
---	-----------	----	--------------------	------

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 18582638

