

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Luís Fernando Pedrotti

**NOTES TOTAL E HÍBRIDA EM FRANGOS (*Gallus gallus domesticus*)
COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA AVES EXÓTICAS**

Santa Maria, RS
2020

Luís Fernando Pedrotti

**NOTES TOTAL E HÍBRIDA EM FRANGOS (*Gallus gallus domesticus*)
COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA AVES EXÓTICAS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia e Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do Grau de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientador: Prof. Dr. Marco Augusto Machado Silva

Santa Maria, RS
2020

Pedrotti, Luís Fernando
NOTES TOTAL E HÍBRIDA EM FRANGOS (*Gallus gallus domesticus*) COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA AVES EXÓTICAS /
Luís Fernando Pedrotti.- 2020.
63 p.; 30 cm

Orientador: Marco Augusto Machado Silva
Coorientador: Maurício Veloso Brun
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2020

1. Cirurgia minimamente invasiva 2. Endoscopia 3.
Medicina de aves 4. NOTES I. Machado Silva, Marco
Augusto II. Veloso Brun, Maurício III. Título.

Luís Fernando Pedrotti

**NOTES TOTAL E HÍBRIDA EM FRANGOS (*Gallus gallus domesticus*)
COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA AVES EXÓTICAS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia e Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do Grau de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Aprovado em 27 de fevereiro de 2020.

Marco Augusto Machado Silva, Dr. (UFG, UFSM)
(Presidente/Orientador)

Luís Felipe Dutra Corrêa, Dr. (UFSM)

Pedro Paulo Maia Teixeira, Dr. (UFPA) – Videoconferência

Santa Maria, RS
2020

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, pois, sem eles nada teria e nada seria, dedico também a todos os animais, principalmente aos que de alguma forma tive contato durante esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho se deu por meio de muitas mãos, não sendo possível deixar de agradecer então às pessoas que tornaram essa ideia realidade.

Agradeço ao meu orientador e eterno professor Marco Augusto Machado Silva por esta grande oportunidade de ingressar em uma instituição como a UFSM. Tivemos muitos bons momentos vividos juntos em Passo Fundo, tanto profissionalmente como pessoalmente, e pra mim, é um motivo de imenso orgulho e gratidão estar realizando esta etapa sobre a sua tutela. Muito obrigado! Sou muito grato por sua amizade e companherismo.

Agradeço a equipe do SOMIV pelo acolhimento e tratamento durante o período em que estive em Santa Maria. Foi um grande prazer desfrutar da presença de todos vocês. Agradeço ao professor Maurício Maurício Veloso Brun pela orientação local e coorientação e por toda ajuda prestada, paciência nos momentos de ansiedade e conversas entre a “ponte aérea” Santa Maria – Passo Fundo.

Agradeço a todos os professores e colegas do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, funcionários dos mais variados setores, alunos e estagiários da UFSM, por todos os momentos que passamos juntos. Tudo sempre foi de grande valia para a minha construção como ser humano e, em troca, espero ter dado um pouco a cada um de vocês.

Agradeço em especial ao meu irmão e anjo da guarda, Bernardo Nascimento Antunes, por toda ajuda: “muito obrigado beu”! Sem ele nada disso seria possível também, assim como, Daniel Dourado Guerra II, Omar Gutiérrez Velásquez e Jones (João Pedro Scussel Feranti) além das meninas Somivers: Vanessa Milech, Marcella Teixeira Linhares, Roberta do Nascimento Libaroni, Hellen Hartmann, Nadine Fishborn, Letícia Reginato Martins, Gabriela Pesamosca Coradini e Michelli Westphal Ataíde.

Agradeço aos meus pais Volmir Pedrotti e Beatriz Rotava Pedrotti, por toda ajuda em toda minha vida, sou eternamente grato por tudo que fizeram e fazem para mim, ao meu irmão José Mário Pedrotti, por toda ajuda, mesmo que distante. Agradeço à minha querida e amada esposa Thaís Oliveira Corrêa, pela ajuda e compreensão nestes dois anos, onde muitas vezes estive mais ausente que presente, entre muitas viagens e cansaço, por ter segurado “a barra” em casa quando não estava presente, junto com nossas amadinhas: Alice, Madalena e Valentina e os outros pets que tive e tenho junto de meus pais.

Agradeço a todos os animais que tive contato durante a realização deste projeto, e todos que de alguma forma tive contato durante minha vida profissional como médico veterinário.

Agradeço também às instituições que permitiram que mais esta etapa fosse concluída: à UFSM (Santa Maria), à IMED (Passo Fundo) e ao Primaves (Passo Fundo). Agradecemos em especial ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por possibilitar a realização dos experimentos do presente estudo e, conseqüentemente, dessa dissertação de mestrado.

RESUMO

NOTES TOTAL E HÍBRIDA EM FRANGOS (*Gallus gallus domesticus*) COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA AVES EXÓTICAS

AUTOR: Luís Fernando Pedrotti

ORIENTADOR: Marco Augusto Machado Silva

O objetivo do presente estudo foi analisar a factibilidade na técnica de NOTES Híbrida (NH) ou NOTES Total (NT) intracloacal, em frangos (*Gallus gallus domesticus*) para obtenção de amostras de biopsias, mediante: (1) realização de ambos tratamentos cirúrgicos em cadáveres de frango para biopsia hepática e renal e avaliar quanto a qualidade do acesso, complicações e achados durante a execução; (2) comparação da técnica de NH ou NT, em frangas de postura para biopsia hepática quanto a parâmetros de tempo operatório, complicações e dificuldades da técnica e qualidade na amostra do fígado. Na primeira etapa do estudo, quatro cadáveres de frango de corte (n=4), com peso médio de $2,6\pm 0,7$ kg. Foram realizadas ambas as abordagens cirúrgicas em todos os animais. As etapas cirúrgicas foram divididas em: (1) acesso cirúrgico, etapa da cloacoscopia até entrada do endoscópio de 1,9 mm com sua camisa de proteção com 3,3mm na cavidade celomática, etapa comum aos dois tratamentos; (2) coleta de biopsias por NH, mediante inserção de pinça de biopsia 1,7mm. através de um cateter 14G para obtenção de fragmentos hepáticos e renais; (3) coleta de biópsia por NT, mediante inserção da pinça de biópsia pelo mesmo acesso transcloacal, em paralelo com o endoscópio, e a obtenção de fragmentos hepáticos e renais; (4) síntese da incisão de acesso cloacal. Os tempos cirúrgicos das etapas intraoperatórias foram de $2,7\pm 1,4$ min. para o acesso cirúrgico, $9,2\pm 3,4$ min. para realização das biópsias pelo tratamento NH, $14,6\pm 5,7$ min. para o tratamento NT e $2,2 (\pm 0,5)$ min. para a cloacorrafia. Além das coletas, foi possível visibilizar órgãos intracelomáticos de interesse clínico. Na segunda etapa, foram utilizadas 12 frangas de postura ($224,2\pm 16,9$ g), distribuídas aleatoriamente em NH (n=6) e NT (n=6), para realização de biopsia hepática. Em todos os animais foi possível realizar a biopsia hepática, sendo que o tempo total para realização dos procedimentos cirúrgicos foi de $33,5\pm 13,7$ min. no NT e $32,3\pm 15,8$ min no NH ($p=0,8940$). Nove amostras apresentaram avaliação com mínimo afetado e foram consideradas de excelente qualidade para avaliação histológica. Concluiu-se que as técnicas de NT e NH são factíveis para coleta de biopsia em galináceos, como um modelo experimental para aves exóticas.

Palavras-chave: aves, endoscopia, animais silvestres, animais exóticos, abordagem intracloacal

ABSTRACT

TOTAL AND HYBRID NOTES IN COCKEREL (*Gallus gallus domesticus*) AS AN EXPERIMENTAL MODEL FOR EXOTIC AVIAN

AUTHOR: Luis Fernando Pedrotti
ADVISOR: Marco Augusto Machado Silva

The purpose of this study was to assess the feasibility of the intracloacal hybrid-NOTES (HN) or total-NOTES (TN) techniques in chickens (*Gallus gallus domesticus*) for biopsy sampling, in two experimental stages: (1) to assess the HN and TN techniques in chicken cadavers for liver and kidney biopsy, regarding the quality of access, complications and general findings; (2) to compare the HN or TN technique for liver biopsy in posture pullets regarding operative time, complications, technical difficulties and histological quality of liver samples. In the first stage of the study, four cadavers of broiler chicken, weighting 2.6 (\pm 0.7) kg. Both HN and TN surgical approaches for biopsy sampling were performed in all cadavers. Surgical steps were classified into: (1) surgical access, which involved cloacoscopy and endoscope entry into the celomatic cavity. This step was common to both treatments; (2) HN liver and renal biopsy sampling, by insertion of a 5-fr. biopsy forceps through a percutaneous 14G catheter sheath; (3) TN liver and renal biopsy sampling, by insertion of the biopsy forceps through the same cloacal access, in parallel to the endoscope; (4) cloacal synthesis. Both surgical approaches were successfully carried out in all cadavers (n = 4). Time for the surgical steps were 2.7 (\pm 1.4) min for surgical access, 9.2 (\pm 3.4) minutes for HN biopsy sampling, 14.6 (\pm 5.7). min for TN biopsy sampling and 2.2 (\pm 0.5) min for cloacal incision suture. Besides biopsy sampling, most organs of clinical relevance for avian species were successfully viewed. In the second stage of the study, 12 posture pullets (224.2 \pm 16.9g.) were randomly assigned into HN (n = 6) or TN (n = 6) group for liver biopsy. In all animals (n = 12) liver biopsies were successfully carried out. Total surgical time was 33.5 (\pm 13.7) minutes in the TN group and 32.3 (\pm 15.8) minutes in the HN group (p = 0.8940). Nine samples presented minimal artifacts and were classified as optimal for histological assessment. In conclusion, both NT and NH transcloacal approaches are feasible for intracoelomatic biopsy sampling in chicken, as an experimental model for exotic avian.

Keywords: birds, endoscopy, wildlife, exotic animals, intracloacal approach.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1

Fig. 1. Imagens da realização da técnica cirúrgica de NOTES Híbrida transcloacal em frango (*Gallus gallus domesticus*) ex-vivo. (A) Transiluminação endoscópica para inserção percutânea do cateter 14G. (B) Cateter inserido percutaneamente na região inguinal. (C) Inserção da pinça de biópsia de 5 fr. para colheita de biópsias.26

Fig. 2. Imagens da realização da técnica cirúrgica de NOTES Total transcloacal de frango (*Gallus gallus domesticus*). (A) Visão intracloacal da inserção videoassistida da pinça pela incisão de acesso cloacal. (B) Introdução da pinça de biópsia de 5 fr. em paralelo ao telescópio pela cloaca. (C) Realização de sutura interrompida simples a fim de fechar a ferida cirúrgica formada no interior da cloaca.27

Fig. 3. Imagens endoscópicas dos procedimentos de NOTES Híbrida e Total transcloacal de frango (*Gallus gallus domesticus*). Pulmão (A). Coração (B). Ventrículo (C). Fígado (seta branca), vesícula biliar (seta amarela) e indicando intestino delgado (à esquerda) (D). rim após a realização de biópsia (E). Pâncreas localizado entre as alças intestinais (F). Saco aéreo e intestina à esquerda (G), membrana da cavidade hepática peritoneal caudal (H). Tecido adiposo intracelomática (seta) (I).....30

ARTIGO 2

Fig. 1. Imagens endoscópicas dos procedimentos de NOTES Híbrida e Total transcloacal para biópsia hepática de frangas de postura (*Gallus gallus domesticus*). (A) Cloacoscopia antes da realização do acesso há cavidade celomática, com visualização do esfíncter cloacal (seta). (B) Visão intracelomática da ponta do cateter 14G (seta) inserido sob visão endoscópica no procedimento de NOTES Híbrida. (C) Realização da colheita de espécimes hepáticos (seta). (D) Sítio hepático pós-colheita, observando-se discreta hemorragia (seta).45

Fig. 2. Imagens externas intraoperatórias das técnica cirúrgica NOTES Híbrida e Total transcloacal para biópsia hepática de frangas de postura (*Gallus gallus domesticus*) de aproximadamente 21 dias. (A) Cateter 14G introduzido percutaneamente à cavidade celomática pelo aspecto ventral da quilha, sobre a linha média, sob assistência endoscópica, durante realização da NOTES Híbrida. Visualiza-se a haste da pinça de biópsia inserida pela bainha do catéter. (B) NOTES Total, visualizando-se a haste da pinça de biópsia (instrumento metálico de menor calibre) inserida em paralelo com o telescópio (haste metálica de maior calibre)...45

Fig. 3. Imagens histológicas classificadas como excelente de espécimes de fígado de frangos (*Gallus gallus domesticus*) colhidos por biópsia assistida por NOTES Total ou Híbrida. (A) Ave 3: fígado (espaço periportal), estroma e parênquima com a arquitetura preservada. H.E. Obj. 40x. (B) Ave 3: fígado, cápsula hepática com arquitetura preservada. H.E. Obj. 10x.....48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso corporal médio (kg) e tempos cirúrgicos (minutos) das etapas de acesso (1), realização das biópsias NOTES Híbrida (2), realização das biópsias NOTES Total (3) e síntese cloacal (4) das abordagens realizadas em cadáveres de frangos (*Gallus gallus domesticus*) como modelo experimental para este o acesso via NOTES transcloacal em aves.....28

Tabela 2. Visibilização de órgãos internos das aves durante a realização da celioscopia via NOTES Híbrida (NH) e total (NT) em cadáveres de frangos (*Gallus gallus domesticus*) como modelo experimental para este o acesso via NOTES transcloacal em aves, de acordo com o decúbito adotado.....29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------|--|
| CO ₂ | Gás carbônico |
| DP | Desvio padrão |
| Fr. | French |
| g | Gramas |
| H.E. | Hematoxilina e eosina |
| kg | Quilogramas |
| m ² | Metros quadrados |
| mg | Miligramas |
| min | Minutos |
| mm | Milímetros |
| NH | NOTES Híbrida |
| NOTES | <i>Natural Orifice transluminal endoscopic surgery</i> |
| NT | NOTES Total |
| OVH | Ovariohisterectomia |
| Prof. | Professor |
| RS | Rio Grande do Sul |
| UFG | Universidade Federal de Goiás |
| UFPA | Universidade Federal do Pará |
| UFSM | Universidade Federal de Santa Maria |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 2.1. Laparoscopia em aves..... | 16 |
| 2.2. Cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais (NOTES) | 18 |
| 2.3. NOTES em Medicina Veterinária | 19 |
| 3. ARTIGO 1..... | 21 |
| Introdução | 23 |
| Materiais & Métodos..... | 24 |
| Resultados | 27 |
| Discussão | 30 |
| Conclusão..... | 33 |
| Referências..... | 34 |
| 4. ARTIGO 2..... | 38 |
| INTRODUÇÃO | 41 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 42 |
| RESULTADOS | 46 |
| DISCUSSÃO..... | 48 |
| REFERÊNCIAS | 52 |
| 5. DISCUSSÃO | 56 |
| 6. CONCLUSÃO | 58 |
| REFERÊNCIAS | 60 |

1. INTRODUÇÃO

Estudos recentes sobre procedimentos cirúrgicos, visam diminuir o trauma cirúrgico e a convalescença no pós operatório. Intervenções cirúrgicas minimamente invasivas vem se consolidando como uma das principais abordagens minimamente invasivas na medicina veterinária (DUQUE e MORENO, 2015)

Esses procedimentos apresentam vantagens quando comparada aos acessos cirúrgicos convencionais, minimizando a dor em animais, menos risco de deiscência e hemorragia, redução da formação de aderências, menor dano tecidual e melhores resultados estéticos, além de contribuir para o avanço da ciência em seus diversos campos (SILVA et al., 2012).

Os acessos especiais minimamente invasivos por NOTES (cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais, do inglês, *natural orifice transluminal endoscopic surgery* foram inicialmente perquisados na primeira década do século XXI em modelos experimentais animais, com posterior aplicação prática em pacientes humanos. Consiste do acesso à cavidade abdominal pelo trato gastrointestinal ou geniturinário para a realização de procedimentos cirúrgicos dos mais simples, como biópsias e exploração diagnóstica, aos mais complexos. O resultado esperado é menor dor e estresse pós-operatórios além de questões estéticas (CORREIA, 2012).

Acredita-se que os acessos especiais por NOTES apresentem grande potencial de aplicação na medicina de animais silvestres e exóticos. A possibilidade de realização de investigações diagnósticas e cirúrgicas minimamente invasivas e com mínima ou mesmo ausência de ferida de acesso percutâneo é desejável nessas espécies. Ressalte-se que em muitos indivíduos de espécies exóticas, sobretudo em aves, o estresse gerado por abordagens cirúrgicas muitas vezes confere alto risco de morbidade e mortalidade. Ademais, o manejo pós-operatório incluindo medicações e curativos de feridas aparentes é inviável do ponto de vista clínico e comportamental.

Apesar dos benefícios conhecidos da NOTES, ao conhecimento dos autores, não foram encontrados relatos da realização das abordagens Híbrida ou total em aves. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar a factibilidade de um acesso via NOTES Híbrida (NH) e NOTES Total (NT) em frangos (*Gallus gallus domesticus*) para biópsia hepática, como modelo experimental para futura aplicação em espécies de aves exóticas.

Nesse sentido, a presente dissertação apresenta dois artigos, ambos fomatados de acordo com as indicações dos periódicos a serem submetidos. O artigo 1 refere-se ao desenvolvimento e comparação das técnicas de NH e NT em modelo *ex-vivo* de frango para biópsia hepática e

renal. A hipótese inicial é a de que as técnicas cirúrgicas de NOTES Híbrida e Total fossem factíveis no modelo experimental ex-vivo. No artigo 2, comparou-se as técnica de NH e NT para biopsia hepática em frangas de postura *in vivo* quanto a parâmetros de tempo operatório, complicações e dificuldades da técnica, e qualidade na amostra do fígado. A hipótese inicial é de que ambas as técnicas apresentem resultados intra e pós-operatórios semelhantes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Laparoscopia em aves

A cirurgia laparoscópica tem se tornado uma das principais abordagens minimamente invasivas em medicina veterinária, e apresenta vantagens quando comparada às cirurgias convencionais. Menor desconforto e dor pós-operatórios, menor risco de deiscência e hemorragia, redução na formação de aderências e menor trauma tecidual, e melhores resultados estéticos foram as mais relatadas (DUQUE e MORENO, 2015). Em animais silvestres a endoscopia mostrou ser uma ferramenta de grande valia para a maioria das espécies. É utilizada com maior ênfase na medicina de aves (HERNANDEZ-DIVERS, 2002).

Desde os anos 1970 vários modelos de endoscópios rígidos foram desenvolvidos para avaliações ginecológicas, ortopédicas e otorrinolaringológicas em pacientes humanos (TAYLOR, 1994; CROSTA, 2005; HERNANDEZ-DIVERS, 2010). Em aves, essa tecnologia permitiu que órgãos internos fossem visualizados por incisão de acesso única, com realização de biópsias intracavitárias rápidas e confiáveis, evitando-se cirurgias invasivas e demoradas (HERNANDEZ-DIVERS, 2010). Ressalte-se que o sistema de videoendoscopia rígida tem custo de implementação similar a um aparelho de ultrassonografia e de radiografia modernos, com a vantagem de possuir extensas aplicações em mamíferos (incluindo cães, gatos, coelhos, furões e roedores), répteis, anfíbios e peixes. Isso torna a endoscopia uma ferramenta prática, acessível e versátil, sobretudo na rotina clínica de animais exóticos (HERNANDEZ-DIVERS, 2004).

Para a realização da celioscopia em aves pode-se utilizar um telescópio de 2,7 mm e ângulo de 30°, acoplado a uma bainha de exame e proteção (SEOK, 2016). Quanto aos instrumentais, pinças de biopsia, de apreensão e tesoura de ação única de 3 a 5 fr. De diâmetro são os mais frequentemente utilizados (HERNANDEZ-DIVERS, 2005). Ópticas e sistema de bainha de calibre menor ou igual a 1,9 mm pode ser utilizados em aves de massa corporal inferior a 100 gramas (DESMARCHELIER, 2015). Endoscópios rígidos são mais comumente utilizados em aves. Os flexíveis também podem aplicação, sobretudo em aves de maior porte (TAYLOR, 1994; HERNANDEZ-DIVERS, 2010).

A constituição corporal compacta da maioria das aves e suas peculiaridades anatômicas e fisiológicas favorece a realização dos exames endoscópicos. A ausência de músculo diafragma e a presença de sacos aéreos, que confere pneumatização da cavidade celomática, eliminam a necessidade de criação de pneumoperitônio com CO₂. Essa insuflação cavitária é

necessária para a realização da maioria dos procedimentos laparoscópicos em mamíferos, entretanto é desnecessária em aves (TAYLOR, 1994; CROSTA, 2005; HERNANDEZ-DIVERS, 2004). Ademais, devido ao fato de as membranas parietais serem transparentes, é possível a visualização dos principais órgãos de interesse clínico, incluindo o fígado, pulmões, sacos aéreos, coração, rins, glândulas adrenais, baço, pâncreas, gônadas, oviduto, glândula da casca e trato intestinal (CROSTA, 2005; SAMANTA, 2017).

Quando Harrison, em 1978, descreveu a realização de endoscopia celomática para avaliação gonadal, o progresso contínuo resultou em uma gama variada de procedimentos que podem ser realizados por videocirurgia em aves. Mesmo com o advento de novas tecnologias para sexagem, ainda é uma ferramenta útil para a realização deste exame a campo em aves silvestres (CRIVELARO, 2016). Com auxílio de dois ou três portais, procedimentos como orquiectomia e salpingohisterctomia podem ser realizados (HERNANDEZ-DIVERS, 2007). A salpingohisterectomia é realizada mediante indicação terapêutica (PYE, 2001). Já em machos, realiza-se vasectomia para fins de controle de natalidade (HEIDERICH, 2015).

No sistema respiratório pode-se realizar exames de rinoscopia, coanoscopia, traqueoscopia e seringoscopia (CROSTA, 2005), no trato gastrointestinal pode-se realizar inspeção da cavidade oral, inspeção do esôfago, inglúvio e ventrículo e pró-ventrículo, incluindo remoção de corpos estranhos (HERNANDEZ-DIVERS, 2010; COTTON, 2017). Além desses exames, a cloacoscopia apresenta grande valor diagnóstico (HERNANDEZ-DIVERS, 2004).

A celioscopia é considerada uma das principais técnicas endoscópicas em aves. Permite realização de biopsias, colheita de material para análise citológica e aspiração de fluidos sob visualização endoscópica (CROSTA, 2005; HERNANDEZ-DIVERS, 2010; SEOK, 2016). Para realização de acessos à cavidade celomática, existem quatro abordagens básicas: esquerda, direito, ventral e interclavicular.

Nos acessos esquerdo e direito, a ave é posicionada em decúbito lateral direito ou esquerdo, com as asas estendidas dorsalmente. Nessas abordagens, os membros pélvicos são tracionados caudalmente. O ponto de inserção do endoscópio é no último espaço intercostal. Como abordagem alternativa pode-se manter o membro pélvico contralateral ao decúbito desejado elevado cranialmente, e utiliza-se como referência, um triângulo formado ventralmente pela massa muscular do fêmur, cranial ao sinsacro e imediatamente caudal a última costela (JONES, 1984; KOLLIAS, 1988). Estas técnicas são utilizadas para a visualização de estruturas como sistema geniturinário, baço, pâncreas, pulmões e sacos aéreos (HERNANDEZ-DIVERS, 2010).

Para os outros acessos, a ave é posicionada em decúbito dorsal. Na abordagem intraclavicular o ponto de inserção do endoscópio na cavidade celomática localiza-se entre a fúrcula e o inglúvio. Essa técnica possui como vantagem melhor acesso à região da siringe, coração e grandes vasos (HANLEY, 2005). Na abordagem ventral, a inserção do portal de acesso é realizada na linha média caudal à quilha (HERNANDEZ-DIVERS, 2010).

As principais complicações associadas aos procedimentos de celioscopia em aves são presença de ascite na cavidade celomática, que pode ter um desfecho letal caso houver a ruptura de sacos aéros durante a realização do exame, perfuração do pró-ventrículo e laceração em vaso sanguíneo ou órgão como baço e fígado (TAYLOR, 1994)

O exame endoscópico oferece método minimamente invasivo para a obtenção de biopsias hepáticas em aves. Ainda que o fígado possa apresentar aspecto normal à inspeção celioscópica, lesões de proporções histológicas marcantes frequentemente encontram-se presentes. Com o treinamento adequado, o médico veterinário pode rapidamente adquirir proficiência na execução da celioscopia e desses exames em aves (KOLLIAS, 1986; TAYLOR, 1991; HERNANDEZ-DIVERS, 2010b).

2.2. Cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais (NOTES)

A cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais (NOTES, do inglês *natural orifice transluminal endoscopic surgery*) constitui modalidade cirúrgica cuja característica principal é a ausência de incisões abdominais, com acesso transluminal (BARON, 2007). A NOTES pode ser classificada como total ou Híbrida. Na primeira, não se utiliza assistência laparoscópica ou inserção de portal de acesso percutâneo durante todo o procedimento cirúrgico. Na segunda, ao menos um acesso percutâneo auxiliar é utilizado (AU YANG, 2011).

Os primeiros procedimentos cirúrgicos experimentais utilizando a técnica NOTES foram a exploração da cavidade abdominal e biópsias hepáticas por via transgástrica em 17 suínos, por Kallon *et al.* (2004). Outros estudos subsequentes envolveram a ligadura das tubas uterinas em fêmeas suínas por via transgástrica (JAGANNATH *et al.*, 2005), colecistectomia e derivações biliares em suínos, também por via transgástrica (PARK *et al.*, 2005) e acesso abdominal transvesical em suínos (LIMA *et al.*, 2006). A técnica NOTES se mostrou eficiente nos experimentos com animais e, associado a utilização de instrumentais cirúrgicos específicos, possibilitaram a realização de novas pesquisas e desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas (PEARL, 2008).

O primeiro relato da cirurgia pelo acesso NOTES em humanos foi atribuído a dois

cirurgiões da Índia, em 2005, que utilizaram a técnica transgástrica para acessar a cavidade abdominal em um paciente com graves queimaduras em parede abdominal, que impediam um acesso seguro por meio convencional para a realização de uma apendicectomia (FILHO, 2009). Desde então, vários acessos são descritos para os mais variados procedimentos em humanos.

A NOTES transvaginal tornou-se a via de acesso mais popular em medicina, devido à simplicidade do acesso, fácil antissepsia e segurança (MORIS, 2011). A maioria dos casos relatados usando a via transvaginal foram para colecistectomia transvaginal e a apendicectomia. A NOTES transgástrica é a segunda via de acesso mais comum descrita na literatura (CORREIA, 2012). Sua aplicação foi relatada para peritoneoscopia, apendicectomias e colecistectomia (RAO, 2008; NAU, 2011), além de estadiamento de neoplasias pancreáticas (RIEDER, 2011).

O acesso transretal ou transcolônico ao peritônio via NOTES tem potencialmente várias vantagens (SHIN, 2009), que incluem a orientação espacial e visualização adequada da parte superior do abdômen. Além disso, a via transretal oferece local de acesso amplo o suficiente para introduzir instrumentos calibre e retirar espécimes de grandes proporções (RYOU, 2008). Por esse acesso foram descritos casos de nefrectomia (SWAIN, 2008) e ressecção de neoplasias colônicas (LACY, 2011). Entretanto, a possibilidade de contaminação peritoneal pelo conteúdo colônico, gera preocupações na sua utilização. Contudo, o sucesso da realização de procedimentos pelas vias transanal foi documentado em humanos (MEINING, 2013).

2.3. NOTES em Medicina Veterinária

No âmbito da medicina veterinária, em 2007 foi realizada a primeira técnica de ovariectomia (OVH) transvaginal por NOTES Híbrida em cadelas (FERANTI et al., 2008). No mesmo ano, houve o primeiro estudo referente à biópsia hepática por NOTES Total, pela via transvaginal em cadelas, mediante uso de endoscópio flexível (SOUZA, 2010). Esses estudos deram alicerce para o desenvolvimento da primeira técnica mundial de OVH transvaginal realizada totalmente por NOTES em cadelas no ano de 2008 (SILVA et al., 2012). Posteriormente, diversos estudos brasileiros e de outras nacionalidades relataram aprimoramentos às técnicas de OVH e ovariectomia por NOTES Total e Híbrida, contribuindo com sua difusão mundial (FREEMAN, 2009; BRUN, 2011; FREEMAN, 2011; BASSO, 2014; LINHARES, 2019). Em grandes animais, existem relatos de NOTES transvaginal para inspeção da cavidade abdominal, este método permitiu a exploração das vísceras abdominais em fêmeas equinas (CARVALHO, 2010).

Apesar da categoria NOTES representar um grande avanço na medicina veterinária, torna-se necessário maiores investimentos buscando aprimoramento técnico e de resultados, no que se refere à segurança e viabilidade dessa técnica, considerando seu potencial de aplicação.

3. ARTIGO 1

ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO
Periódico: Journal of Avians Medicine and Surgery
(ISSN 1082-6742)

NOTES Total e Híbrida: desenvolvimento e comparação das técnicas em modelo experimental *ex-vivo* de frangos (*Gallus gallus domesticus*)

27 cirúrgicos obtidos foram de 2,7 ($\pm 1,4$) min. para a cloacoscopia até o acesso a cavidade
28 celomática, 9,2 ($\pm 3,4$) min. para realização das biópsias pelo tratamento de NH, 14,6 ($\pm 5,7$)
29 min. para o tratamento de NT e a síntese da cloaca levou 2,2 ($\pm 0,5$) min. Além da coleta das
30 biópsias, devido ao acesso foi possível visibilizar órgãos no interior da cavidade celomática,
31 sendo possível identificar pulmão, coração, ventrículo, intestino delgado, intestino grosso,
32 pâncreas, fígado, vesícula biliar e rins. Sacos aéreos, cavidade hepática peritoneal caudal e
33 gordura intracelomática também foram visibilizados. Observou-se que as técnicas de NH e NT
34 são factíveis para avaliação celioscópica, e coleta de biópsias hepáticas e renais em cadáveres
35 de frangos de corte como modelo experimental de até 2,6 ($\pm 0,7$) kg. Sendo este o primeiro
36 relato deste procedimento descrito em aves visando interesse clínico para coleta de biópsias
37 hepáticas e renais.

38 Palavras-chave: biópsia, celioscopia, medicina de aves, NOTES, videocirurgia.

39

40

Introdução

41 A endoscopia da cavidade celomática constitui uma ferramenta diagnóstica e terapêutica
42 de grande importância em medicina de animais silvestres, sendo mais utilizada em espécies de
43 aves¹. As túnicas serosas intracelomáticas das aves são transparentes e permitem a visualização
44 dos principais órgãos de interesse clínico, incluindo o fígado, pulmões, sacos aéreos, coração,
45 rins, glândulas adrenais, baço, pâncreas, gônadas, oviduto, glândula da casca e trato intestinal^{2,3}.

46 As abordagens cirúrgicas abertas para biópsia hepática e renal já foram descritas na
47 medicina de aves, bem como a influência negativa do trauma como aumento da chance de
48 trauma iatrogênico, hemorragias e perfuração de sacos aéreos^{4,5,6}, claudicação associada ao
49 tamanho da incisão, inatividade, perda de peso⁷ e estresse cirúrgico sobre os animais^{8,9}. Além
50 de apresentarem uma alta taxa de mortalidade durante e após a anestesia, em comparação com
51 as taxas de mortalidade publicadas para cães e gatos¹⁰. O exame endoscópico possibilita

52 obtenção de biopsias e colheita de material para exame citológico de maneira menos invasiva¹¹.
53 As biopsias de fígado e rim constituem locais de investigação endoscópica comum em aves,
54 visto que enfermidades nestes órgãos são rotineiras e os resultados de análises laboratoriais
55 utilizados em cães e gatos são distintos das aves, devido a fatores fisiológicos diferentes¹²⁻¹⁴.

56 Os acessos cirúrgicos especiais por NOTES (*Natural Orifice Transluminal*
57 *Endoscopic Surgery*, ou cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais) foram
58 estudados em pacientes humanos e animais. Esses estudos demonstraram resultados estéticos e
59 pós-operatórios promissores¹⁵. Uma das justificativas para a adoção dessa abordagem refere-se
60 à redução do número e magnitude de incisões de acesso abdominais (NOTES Híbrida) ou
61 mesmo a ausência de acessos complementares (NOTES pura ou total), mediante acesso
62 único^{16,17}. Associado a isso, tem-se outros benefícios já conhecidos das abordagens por
63 videocirurgia, como diminuição do estresse e da dor, menor risco de deiscência, redução da
64 formação de aderências e menor dano tecidual^{18,19}.

65 Ressalte-se que não foram encontrados relatos sobre biopsias hepáticas e renais via
66 NOTES em aves, sendo este o primeiro relato em aves com objetivo investigativo clínico. Desta
67 forma, o objetivo deste estudo preliminar foi desenvolver as abordagens minimamente
68 invasivos por NOTES Híbrida (NH) e NOTES Total (NT) em cadáveres de frangos (*Gallus*
69 *gallus domesticus*) para realização de biópsias hepáticas e renais.

70

71

Materiais & Métodos

72 Foram utilizados quatro cadáveres de frangos de corte (*Gallus gallus domesticus*) que
73 vieram a óbito por estresse de manejo, com idade entre 21 e 43 dias. Após o óbito, os cadáveres
74 eram congelados e mantidos a -4°C até a realização do experimento. Para a investigação
75 cirúrgica foram submetidos a descongelamento 24 horas antes da realização dos procedimentos.
76 Como critérios de exclusão, não participaram do estudo cadáveres com lesões aparentes como:

77 traumas externos na pele, lesões cloacais que inviabilizassem o acesso endoscópico e estado
78 avançado de decomposição, constatado mediante inspeção prévia.

79 As etapas cirúrgicas foram divididas em: (1) acesso cirúrgico, etapa compreendida entre
80 a cloacoscopia, e entrada do endoscópio na cavidade celomática; (2) biópsia por NOTES
81 Híbrida; (3) biópsia por NOTES Total (NH); (4) síntese, com sutura da incisão de acesso
82 cloacal.

83 Para realização do procedimento os cadáveres foram posicionados em decúbito dorsal
84 e realizado esvaziamento prévio do conteúdo cloacal e lavagem da cloaca com 50ml/kg de
85 solução fisiológica 0,9%, para limpeza e retirada do excesso de fezes. Posteriormente, com o
86 endoscópio, era realizada cloacoscopia mediante dilatação da cloaca primeiramente com
87 solução salina, e posteriormente com ar ambiente utilizando extensor e seringa de 20 ml e
88 fechando os lábios cloacais com os dedos indicador e polegar. Posteriormente para realização
89 do acesso a cavidade celomática era realizado acesso rombo na parede cloacal em seu assoalho
90 ventral, na sua porção mais caudal. Após a realização do acesso era realizada uma celioscopia
91 exploratória a fim de avaliar possíveis traumas iatrogênicos causadas pelo ingresso do
92 endoscópio ao celoma, e identificação dos órgãos no interior do celoma.

93 Em seguida, para realização das biópsias via NH o decúbito dos animais era mudado
94 para lateral esquerdo, e realizada paracentese com cateter 14G, sob visualização endoscópica
95 (Fig. 1A), na região inguinal direita (Fig. 1B). Pelo cateter, era introduzida uma pinça de biópsia
96 semiflexível de 5fr. (1,7 mm) (Fig.1C) de calibre e 3 fragmentos hepáticos por animal eram
97 obtidos de maneira videoassistida em diferentes áreas da superfície do órgão, posteriormente,
98 o rim direito era identificado pela presença da veia ilíaca externa entre as divisões craniais e
99 mediais e as biópsias foram realizadas na divisão cranial do órgão, totalizando três colheitas
100 renais por animal. Após o término das colheitas, o endoscópio, a pinça e o cateter eram
101 removidos da cavidade celomática.

102



103

104

105

106

107

108

Fig. 1. Imagens da realização da técnica cirúrgica de NOTES Híbrida transloacal em frango (*Gallus gallus domesticus*) ex-vivo. (A) Transiluminação endoscópica para inserção percutânea do cateter 14G. (B) Cateter inserido percutaneamente na região inguinal. (C) Inserção da pinça de biópsia de 5 fr. para colheita de biópsias.

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

O decúbito era trocado para direito para início ao tratamento por NT para colheita de material do fígado e do rim esquerdo, o endoscópio era inserido no interior da cloaca para introdução assistida da pinça de biópsia pela mesma incisão de acesso ao celoma, realizada no procedimento anterior (Fig. 2A). As amostras de superfície de diferentes áreas do fígado e rim eram colhidas, da mesma forma e em mesmo número que no grupo NH, sendo realizada as coletas com a pinça em paralelo ao endoscópio (Fig. 2B). Ao final do procedimento, era realizada sutura para oclusão do acesso intracloacal, onde com auxílio do endoscópio era realizado a visualização do acesso cirúrgico no interior da cloaca, com auxílio de uma pinça auxiliar era pinçado uma das bordas da ferida cirúrgica de forma videoassistida, realizada seu tracionamento a fim de evertar o local do acesso para posterior realização com um ponto interrompido simples com fio de náilon 5-0 (Fig. 2C).



121
 122 **Fig. 2.** Imagens da realização da técnica cirúrgica de NOTES Total transcloacal de frango
 123 (*Gallus gallus domesticus*). (A) Visão intracloacal da inserção videoassistida da pinça pela
 124 incisão de acesso cloacal. (B) Introdução da pinça de biópsia de 5 fr. em paralelo ao telescópio
 125 pela cloaca. (C) Realização de sutura interrompida simples a fim de fechar a ferida cirúrgica
 126 formada no interior da cloaca.
 127

128 Após as abordagens cirúrgicas, os cadáveres foram avaliados mediante exame
 129 necroscópico em busca por lesões viscerais iatrogênicas e outras possíveis complicações.

130 Para análise das técnicas de NOTES Total e híbrida em cadáveres de frangos para
 131 biópsia hepática determinou-se o tempo cirúrgico das etapas do procedimento e os dados
 132 obtidos foram analisados de forma descritiva. Os tempos cirúrgicos de execução das biópsias
 133 por NOTES Híbrida e Total foram comparados mediante teste t para medidas pareadas, com
 134 valor bicaudal de p. Considerou-se nível de significância de 5%.

135

136

Resultados

137

138

139

140

141

142

143

144

A massa corporal média das aves foi de 2,6 ($\pm 0,7$) kg, sendo possível realizar ambas as abordagens cirúrgicas em todos os animais, tanto para a cloacoscopia, e realização das biópsias hepáticas e renais. Em todas as aves foi possível realizar as abordagens propostas. Sendo factível a execução dos tratamentos propostos no estudo. Sendo os tempos cirúrgicos obtidos de 2,7 ($\pm 1,4$) min para a cloacoscopia até o acesso a cavidade celomática, 9,2 ($\pm 3,4$) min para realização das biópsias pelo tratamento de NH, 14,6 ($\pm 5,7$) min para o tratamento de NT e a síntese da cloaca levou 2,2 ($\pm 0,5$) min (Tabela 1). O tempo de execução das biópsias por NOTES Híbrida foi significativamente menor que no grupo NOTES Total ($p=0,0401$).

145

146 **Tabela 1.** Peso corporal médio (kg) e tempos cirúrgicos (minutos) das etapas de acesso (1),
 147 realização das biópsias NOTES Híbrida (2), realização das biópsias NOTES Total (3) e síntese
 148 cloacal (4) das abordagens realizadas em cadáveres de frangos (*Gallus gallus domesticus*) como
 149 modelo experimental para este o acesso via NOTES transcloacal em aves.

| Ave | Peso (kg) | Momentos (min) | | | |
|-------------|------------|-------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|
| | | (1) Acesso ^a | (2) NH ^b | (3) NT ^c | (4) Síntese ^d |
| 1 | 2,9 | 2,0 | 5,5 | 10,0 | 1,7 |
| 2 | 1,9 | 3,4 | 10,9 | 13,4 | 2,1 |
| 3 | 2,1 | 1,1 | 7,3 | 12,1 | 2,9 |
| 4 | 3,4 | 4,3 | 13,1 | 22,9 | 2,1 |
| Média (±DP) | 2,6 (±0,7) | 2,7 (±1,4) | 9,2 (±3,4) | 14,6 (±5,7) | 2,2 (±0,5) |

150 ^aTempo compreendido entre a cloacoscopia e entrada na cavidade celomática; ^bTempo
 151 compreendido entre a alteração de decúbito do animal, inserção da pinça, compreendido entre
 152 a inserção da pinça na cavidade celomática através de um cateter 14G percutâneo na região
 153 inguinal e a obtenção de fragmentos hepáticos e renais pela técnica NOTES Híbrida; ^cTempo
 154 compreendido entre a troca de decúbito a inserção da pinça de biópsia pelo mesmo acesso do
 155 endoscópio e a obtenção de fragmentos hepáticos e renais pela técnica NOTES Total; ^dTempo
 156 compreendido entre o final da coleta das amostras e fechamento da incisão de acesso na cloaca
 157 com náilon 5-0.

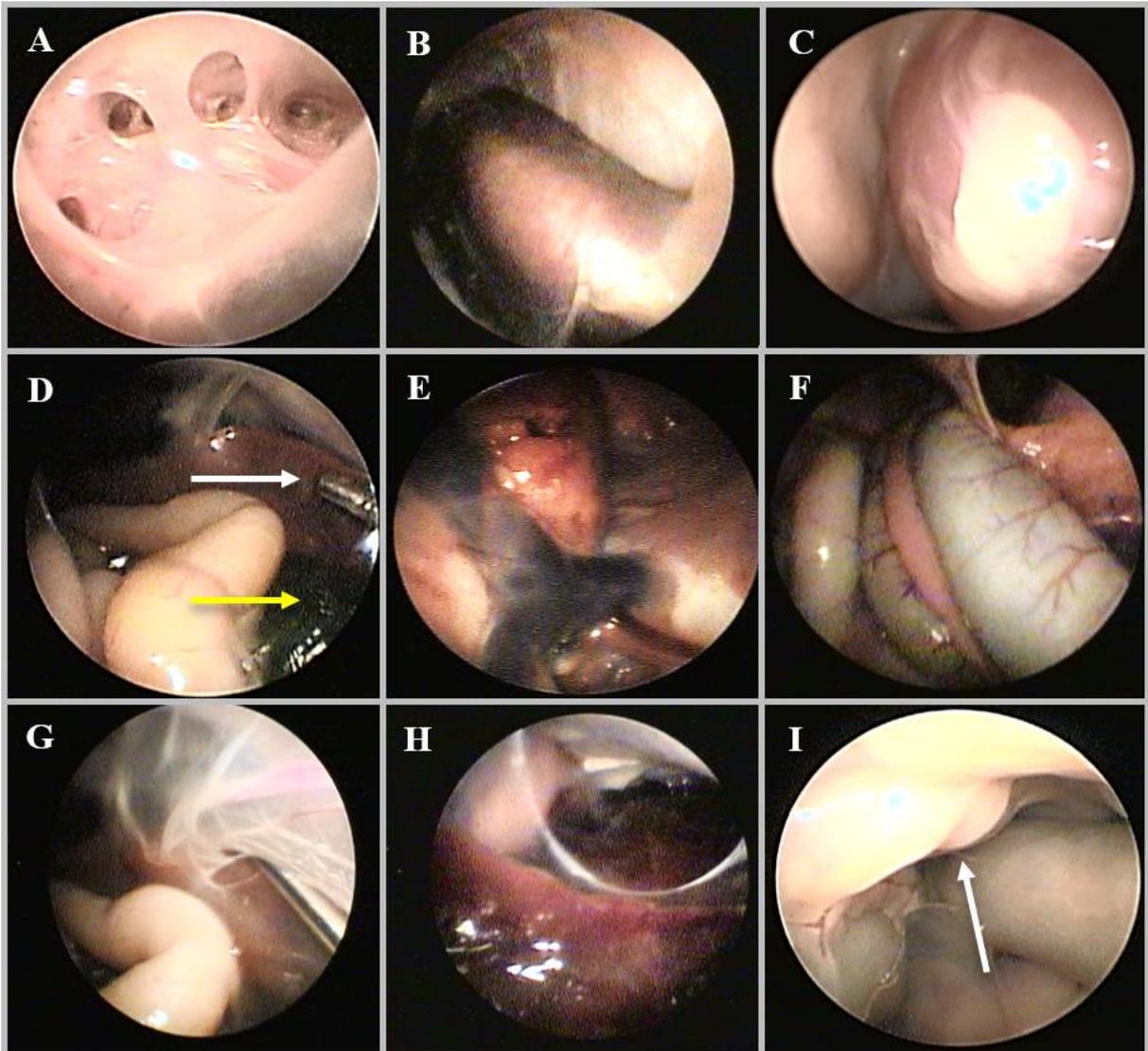
158 Além da colheita das biopsias, foi possível visualizar órgãos no interior da cavidade
 159 celomática (Tabela 2), sendo possível identificar pulmões (Fig. 3A), coração (Fig. 3B),
 160 ventrículo (Fig. 3C), intestino delgado, intestino grosso, fígado, vesícula biliar (Fig. 3D), rim
 161 (Fig. 3E) e pâncreas (Fig. 3F). Os sacos aéreos (Fig. 3G), cavidade hepática peritoneal caudal
 162 (Fig 3H) e gordura intracelomática (Fig.3I) também foram visualizados.

163

164 **Tabela 2.** Visibilização de órgãos internos das aves durante a realização da celioscopia via
 165 NOTES Híbrida (NH) e total (NT) em cadáveres de frangos (*Gallus gallus domesticus*) como
 166 modelo experimental para este o acesso via NOTES transcloacal em aves, de acordo com o
 167 decúbito adotado.

| Órgão/tecido | Decúbito | |
|------------------------------|------------------------------|-------------------------|
| | Lateral esquerdo | Lateral direito |
| Coração | Não | Sim |
| Pulmão | Não | Sim, aspecto caudal |
| Ventrículo | Não | Sim |
| Intestino delgado | Sim, duodeno e jejuno | Sim, maior parte jejuno |
| Pâncreas | Sim, circundado pelo duodeno | Não |
| Fígado | Sim | Sim |
| Cavidade peritoneal hepática | Sim, aspecto caudal | Sim, porção caudal |
| Vesícula biliar | Sim | Sim |
| Rim direito | Sim | Sim |
| Rim esquerdo | Não | Sim |
| Sacos aéreos | Sim | Sim |
| Gordura intracelomática | Sim | Sim |

168



169
170
171
172
173
174
175
176

Fig. 3. Imagens endoscópicas dos procedimentos de NOTES Híbrida e Total transcloacal de frango (*Gallus gallus domesticus*). Pulmão (A). Coração (B). Ventrículo (C). Fígado (seta branca), vesícula biliar (seta amarela) e indicando intestino delgado (à esquerda) (D). rim após a realização de biópsia (E). Pâncreas localizado entre as alças intestinais (F). Saco aéreo e intestina à esquerda (G), membrana da cavidade hepática peritoneal caudal (H). Tecido adiposo intracelomática (seta) (I).

177

Discussão

178

179

180

181

182

A utilização do acesso laparoscópico está bem documentada em medicina e medicina veterinária, com vantagens sobre as técnicas cirúrgicas abertas tradicionais como diagnóstico rápido e preciso de doenças, diminuição do estresse e da dor, melhora da capacidade pulmonar pós-operatória, rápida convalescência e menor necessidade de internação^{18,19}.

Em aves são descritos acessos celioscópicos, para biópsias hepáticas e renais^{14,20}.

183 Nesse contexto, as técnicas de NOTES transcloacal para biópsia hepática e renal em
184 aves apresentadas nesse estudo se apresentam como novas possibilidades de acesso para
185 realização deste exame.

186 Em veterinária, além dos suínos usados como modelo experimentais²¹, abordagem por
187 NOTES já foram descritas em cães para realização de colecistectomia através do acesso
188 transgástrico, transvaginal e transcolônico, em cadelas para realização de OVH e biópsia
189 hepática e em éguas para avaliação laparoscópica^{16,22-24}.

190 Nas aves, um fator que poderia ser desfavorável à utilização do acesso cloacal para
191 realização de NOTES seria a possibilidade de contaminação da cavidade celomática pelas fezes,
192 presentes na cloaca. Em humanos, o acesso transretal ao peritônio via NOTES também gerou
193 preocupações quanto a sua utilização devido a possibilidade de contaminação peritoneal pelo
194 conteúdo fecal²⁵. Entretanto, com o desenvolvimento dos acessos transanal, transretal e
195 transcolônico, os riscos para infecção foram minimizados e os procedimentos cirúrgicos foram
196 realizados com sucesso²⁶. Por acessos gastrointestinais retrógrados descreveu-se a realização
197 de procedimentos cirúrgicos de nefrectomia e remoção de neoplasias colônicas em
198 humanos^{27,28}. Dessa forma, acredita-se no potencial de aplicação dessas abordagens em aves na
199 rotina clínico-cirúrgica de medicina de animais exóticos.

200 A avaliação celioscópica, e de órgãos como fígado e rins apresenta vantagens em relação
201 a outros exames de imagem convencional, a avaliação ultrassonográfica do rim nas aves, pelo
202 método convencional é dificultado devido à posição anatômica do órgão ao longo da coluna
203 vertebral, nas depressões da pelve e no ar circundante nos sacos aéreos²⁹. A ultrassonografia
204 intracloacal pode ser valor diagnóstico, sobretudo se realizada em aves pesando acima de dois
205 quilogramas³⁰, sendo uma limitação técnica para aves de proporções menores.

206 Biópsias hepáticas podem ser obtidas guiadas por ultrassom, mediante aspiração com
207 agulha fina ou agulha guilhotinada para biópsia^{31,32}. Os acessos ultrassonográficos até então

208 desenvolvidos apresentam limitações como não permitir visualização acurada do fígado em
209 fêmeas em período de postura, devido a presença de ovos na cavidade celomática. Além disso,
210 fornece visualização limitada dos órgãos e estruturas vasculares, favorecendo iatrogenias e
211 falhas de diagnóstico por seleção inadequada de tecido para biopsia^{13,33}. Essas limitações são
212 mínimas ao exame endoscópico, que já foi relatado em aves com peso inferior a 100g^{13,20}.

213 No trabalho em questão, além de ser possível realizar a colheita das amostras tanto do
214 fígado quanto do rim, foi possível visualizar outros órgãos dentro da cavidade celomática. Em
215 outro estudo envolvendo iguanas, achados semelhantes foram descritos³⁴ ressaltando-se a
216 segurança da avaliação celioscópica. Entretanto, os autores não utilizaram o acesso por NOTES.

217 Alterações no interior da cloaca³⁵ podem ser fatores limitantes para abordagem via
218 NOTES transcloacal Híbrida e Total. Nesse sentido, a realização de cloacoscopia prévia é
219 crucial para o sucesso do procedimento de NOTES.

220 Zimmermann *et al.* 2019³⁶, realizaram acesso endoscópico pela via transcloacal para realização
221 de treinamento em laparoscopia para equipes médicas, não realizando nenhuma avaliação frente as
222 possibilidades de real aplicação clínico cirúrgica para as aves.

223 No nosso estudo o sítio de escolha para a realização do acesso celioscópico foi definido
224 após visualização das estruturas internas da cloaca, tendo como ponto de referência o coprodeu,
225 o acesso era realizado na região do assoalho da cloaca em sua porção mais caudal. Neste ponto
226 de acesso, após a execução dos procedimentos, não foram identificadas lesões iatrogênicas nas
227 vísceras e na cloaca em nenhum dos cadáveres.

228 A técnica NOTES Híbrida apresentou diferença estatística entre a realização das etapas
229 intraoperatórias, de fato esta técnica permitiu realizar um trabalho com os instrumentais
230 separados, possibilitando ampla movimentação da pinça no momento da coleta das biopsias,
231 enquanto a abordagem por NOTES Total, a cada colheita de espécime, o endoscópio tinha que
232 ser tracionado caudalmente para a cavidade cloacal para posterior reinserção da pinça de
233 biopsia, sendo necessário realizar o trabalho com os instrumentos em paralelo. Ainda assim foi

234 possível realizar as técnicas propostas no estudo.

235 O acesso percutâneo para inserção da pinça de biopsia no grupo NOTES Híbrida foi de
236 fácil execução e não resultou em ferida aparente que necessitasse de sutura ou tratamento
237 especial. A região inguinal foi eleita para punção, por ser o sítio de escolha para realização de
238 fluidoterapia subcutânea em aves, e por não apresentar sacos aéreos próximos, reduzindo o
239 risco de perfuração³⁷. Conceição *et al* 2017³⁸ cita que ao utilizar um miniportal semelhante ao
240 cateter 14G utilizado neste estudo, para realização de ovariectomia em gatas resultou em
241 complicações mínimas durante e após a realização do procedimento.

242 Uma limitação do presente estudo refere-se à não comparação prospectiva entre as
243 técnicas, bem como à não determinação das reais vantagens e limitações das técnicas, fazendo-
244 se necessário realização de etapa *in vivo* para investigação, antes de indicar seu uso na rotina
245 clínica. Entretanto, acredita-se no potencial de aplicação dessas abordagens em aves. Ressalte-
246 se que ambas abordagens por NOTES não resultaram em incisões aparentes, que
247 frequentemente conferem morbidade e estresse pós-operatórios em espécies exóticas.

248

249

Conclusão

250 As técnicas de NOTES Híbrida e Total são factíveis para avaliação celioscópica no
251 interior da cavidade celomática e coleta de biopsias hepáticas e renais em cadáveres de frangos
252 como modelo experimental para aves exóticas.

253

254

Agradecimentos

255 Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
256 Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
257 (CAPES), por possibilitarem a realização do experimento, e ao Laboratório de Avicultura da
258 Universidade Federal de Santa Maria, RS – BRASIL. (LAVIC-UFSM) pela doação dos

259 cadáveres utilizados nesse estudo.

260

261

Referências

- 262 1. Hernandez-Divers SJ. Endosurgical debridement and diode laser ablation of lung and air
263 sac granulomas in psittacine birds. *J Avian Med Surg.* 2002; 16 (2): 138-145.
- 264 2. Samanta I. Diagnostic techniques. In: Samanta I, Bandyopadhyay S, eds. *Pet bird diseases*
265 *and care.* Singapore/ Springer; 2017:263-277.
- 266 3. Lumeij JT. Hepatology. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR et al. *Avian Medicine:*
267 *principles and application.* Lake Worth, FL / Wingers Publishing; 1994:522-537.
- 268 4. Fiala KL. A laparotomy technique for nestling birds. *Bird-Banding.* 1979. 50: 366-367.
- 269 5. Divers SJ. Making the Difference in Exotic Animal Practice: The Value of Endoscopy.
270 *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* 2015. 18: 351–357.
- 271 6. Cotton RJ. Divers, S. J. Endoscopic Removal of Gastrointestinal Foreign Bodies in Two
272 African Grey Parrots (*Psittacus erithacus*) and a Hyacinth Macaw (*Anodorhynchus*
273 *hyacinthinus*) *J. Avian. Med. Surg.* 2017. 31: 335–343.
- 274 7. Risser AC. A technique for performing laparotomy on small birds. *Condor.* 1971. 73: 376-
275 379.
- 276 8. Bennet RA. Surgical considerations. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR et al. *Avian*
277 *Medicine: principles and application.* Lake Worth, FL / Wingers Publishing; 1994: 1082-
278 1095.
- 279 9. Degernes LA, Harms CA, Golet GH. Anesthesia and liver biopsy techniques for Pigeon
280 Guillemots (*Cepphus columba*) suspected of exposure to crude oil in marine environments.
281 *J Avian Med Surg.* 2002; 16 (4): 291-299.

- 282 10. Seamon AB, Hofmeister EH, Divers SJ. Outcome following inhalation anesthesia in birds
283 at a veterinary referral hospital: 352 cases (2004–2014). *J Am Vet Med Assoc.* 2017. 7:
284 814-817.
- 285 11. Suedmeyer WK; Bermudez A. New approach to renal biopsy in birds. *J Avian Med Surg.*
286 1996; 10 (3): 179-186.
- 287 12. Harr K. Clinical chemistry of companion avian species: a review. *Vet Clin Pathol.* 2002;
288 31 (3): 140-151.
- 289 13. Hernandez-Divers SJ. Avian diagnostic endoscopy. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.*
290 2010;13 (2): 187-202.
- 291 14. Seok SH, Jeong DH, Lee C, et al. Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and
292 kidney biopsies in cinereous vultures (*Aegypius monachus*). *VETMED.* 2016; 61 (12):
293 689-700.
- 294 15. Atallah S, Martin-Perez B, Keller D, et al. Natural orifice transluminal endoscopic surgery.
295 *Br J Surg.* 2015; 102 (2): 73-92.
- 296 16. Brun MV, Silva MAM, Mariano MB, et al. Ovariohysterectomy in a dog by a hybrid
297 NOTES technique a case report. *Can Vet J.* 2011; 52: 637-640.
- 298 17. Linhares MT, Feranti JPS, Coradini GP, et al. Canine ovariectomy by hybrid or total
299 natural orifice transluminal endoscopic surgery: technical feasibility study and pain
300 assessment. *Vet Surg.* 2019; 48 (1): 74-82.
- 301 18. Vandervelpen GC, Shimi SM, Cuschieri A. Diagnostic yield and management benefit of
302 laparoscopy: a prospective audit. *Gut.* 1994; 35 (11): 1617-1621.
- 303 19. Culp WTN, Mayhew PD, Brown DC. The effect of laparoscopic versus open ovariectomy
304 on postsurgical activity in small dogs. *Vet. Surg.* 2009; 35 (11): 811-817.
- 305 20. Kollias GV. Avian endoscopy. In: Jacobson ER, Kollias GV, eds. *Contemporary issues in*
306 *small animal medicine, exotic animals.* New York: Livingstone; 1988: 75-104.

- 307 21. Basso PC, Raiser AG, Müller DCM. et al. Atualidades em videocirurgia na medicina
308 veterinária: cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais (NOTES) e cirurgia
309 laparoendoscópica por único portal (LESS). *Medvep*. 2012; 10 (32): 82-89.
- 310 22. Souza LAC, Brun MV, Basso PC. Biópsia hepática endoscópica transvaginal em cadelas.
311 *Cienc Rural*. 2012; 42 (2): 319-325.
- 312 23. Carvalho PH, Luz MJ, Antunes F et al. NOTES transvaginal em égua: estudo preliminar.
313 *R Bras Ci Vet*. 2010;7 (2): 67-72.
- 314 24. Jeong SM, Kim SH, Shin SK. et al. Hybrid natural orifice transluminal endoscopic
315 cholecystectomy in dogs: transgastric, transcolonic and transvaginal approaches. *J Vet*
316 *Clin*. 2011; 28 (5): 497-505.
- 317 25. Khashab MA, Kalloo AN. Natural orifice transluminal endoscopic surgery. *Curr Opin*
318 *Gastroenterol*. 2010; 26 (5): 471-477.
- 319 26. Meining A, Spaun GO, Fernandez-Esparrach G. et al. NOTES in Europe: summary of the
320 working group reports of the 2012 EURO-NOTES meeting. *Endoscopy*. 2013; 45 (3): 214-
321 217.
- 322 27. Swain P. Nephrectomy and natural orifice transluminal endoscopy (NOTES):
323 transvaginal, transgastric, transrectal, and transvesical approaches. *J Endourol*. 2008; 22
324 (4): 811-818.
- 325 28. Lacy AM, Adelsdorfer C. Totally transrectal endoscopic total mesorectal excision (TME).
326 *Colorectal Dis*. 2011; 13 (7): 43-46.
- 327 29. Krautwald-Junghanns MEK, Moerke-Schindler T, Vorbrgen S. et al. Radiography and
328 ultrasonography in the backyard poultry and waterfowl patient. *J Avian Med Surg*. 2017;
329 31 (3): 1891-1897.
- 330 30. Krautwald-Junghanns ME, Riedel U, Neumann W. Diagnostic use of ultrasonography in
331 birds. *Proc Assoc Avian Vet*. 1991; 269-275.

- 332 31. Nordberg C, O'Brien RT, Paul-Murphy J. et al. Ultrasound examination and guided fine-
333 needle aspiration of the liver in Amazon parrots (*Amazona* species). *J Avian Med Surg.*
334 2000; 14 (3): 180-184.
- 335 32. Zebisch K, Krautwald-Junghanns ME, Willuhn J. Ultrasound-guided liver biopsy in birds.
336 *Vet Radiol Ultrasound.* 2004; 45 (3): 241-246.
- 337 33. Zebisch K, Krautwald-Junghanns ME, Willuhn J et al. Ultrasound guided liver biopsy of
338 birds. *Exotic.* 2001; 34:27-30.
- 339 34. Hernandez-Divers SJ, Stahl SJ, McBride M et al. Evaluation of an endoscopic liver biopsy
340 technique in green iguanas. *JAVMA.* 2007; 230: 1849-1853.
- 341 35. Taylor M. Endoscopic exam and biopsy techniques. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison
342 LR et al. *Avian Medicine – principles and application.* Lake Worth, Wingers Publishing;
343 1994: 327-339.
- 344 36. Zimmermann P, Wiseman AX, Sanchez O. et al. The avian model: a novel and cost-
345 effective animal tissue model for training in neonatal laparoscopic surgery. *J Ped Endosc*
346 *Surg.* 2019. 1: 99-105.
- 347 37. Quesenberry K. Supportive care and emergency therapy. In: Ritchie BW, Harrison GJ,
348 Harrison LR et al. *Avian Medicine – principles and application.* Lake Worth, FL / Wingers
349 Publishing; 1994: 382-416.
- 350 38. Conceição MEBAM, Mariano RSG, Crivelaro RM, et al. Description and Executability of
351 a Novel Pre-tied Mini Ligature (Miniloop) in Laparoscopic Ovariectomy in Cats. *Acta Sci*
352 *Vet.* 2017. 45: 1492.

4. ARTIGO 2

ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

Periódico: Journal of Veterinary Medical Science

(Print ISSN: 0916-7250. Online ISSN: 1347-7439.)

Novas Propostas de Acesso Minimamente Invasiva para Biópsia Hepática em Aves – NOTES

Total e Híbrida

1 Wildlife Science [Full paper]

2
3 CIRURGIA POR NOTES HÍBRIDA E TOTAL E AVES

4
5 **Novas Propostas de Acesso Minimamente Invasiva para Biópsia Hepática em Aves – NOTES**
6 **Total e Híbrida**

7
8 Luís Fernando Pedrotti^{1,2)}, Bernardo Nascimento Antunes¹⁾, Daniel Dourado Guerra Segundo¹⁾,
9 Maurício Veloso Brun DMV, PhD¹⁾, Suyene Oltramari De Souza DMV PhD³⁾, Marco Augusto
10 Machado Silva DMV, PhD^{1,2)*}

11
12 ¹Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.
13 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, 1000, Camobi, Santa Maria, RS,
14 CEP 97105-900, Brasil.

15 ²Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Universidade Federal de Goiás (UFG). Goiânia, GO,
16 Brasil. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria
17 (UFSM), Avenida Roraima, 1000, Camobi, Santa Maria, RS, CEP 97105-900, Brasil. *Autor para
18 correspondência: silvamam@gmail.com.

19 ³Escola de ciências Agrárias, Faculdade Meridional (IMED), Passo Fundo, RS, Brasil. Rua Senador
20 Pinheiro, 304, Passo Fundo, RS, CEP 99070-220, Brasil.

21

22

23 RESUMO: A videocirurgia tem ganhado importância exponencial na medicina de aves. As
24 abordagens por NOTES possibilitam realização de procedimentos cirúrgicos resultando em
25 feridas não aparentes em diversas espécies. Objetivo deste trabalho foi comparar as abordagens
26 de NOTES Híbrida (NH) e NOTES Total (NT), em frangas de postura para biopsia hepática.
27 Foram utilizadas 12 frangas de postura ($224,2 \pm 16,9g$), distribuídas aleatoriamente nos grupos
28 NH (n=6) e NT (n=6). Nos 12 animais foi possível realizar a biopsia hepática. O tempo total
29 para realização dos procedimentos no grupo NT foi de $33,5 (\pm 13,7)$ minutos e do NH, $32,3$
30 $(\pm 15,8)$ minutos ($p=0,8940$). Não houve diferença significativa entre os acessos NH e NT, das
31 doze amostras obtidas, nove foram classificadas como de excelente qualidade, duas de boa
32 qualidade, e apenas uma amostra apresentou qualidade ruim. Ressalta-se ainda que não foram
33 encontradas outros relatos para realização biópsias hepáticas em aves, sendo este um estudo de
34 caráter inovador na medicina de aves.

35 PALAVRAS-CHAVE: Aves, endoscopia, animais silvestres, animais exóticos, NOTES.

36

37 **INTRODUÇÃO**

38

39 A partir dos anos 1970, vários endoscópios rígidos foram introduzidos no mercado para
40 avaliações ginecológicas, ortopédicas e para a otorrinolaringologia, com o objetivo de
41 endoscopias em humanos [26,15]. Essa tecnologia permitiu que órgãos internos também de
42 espécies animais domésticas e exóticas, incluindo aves, fossem visualizados por acessos
43 cirúrgicos reduzidos. A tecnologia possibilita realização de biopsias seguras e representativas
44 [15].

45 Em medicina veterinária, a videocirurgia vem se consolidando como uma das principais
46 abordagens minimamente invasivas, apresenta vantagens quando comparada aos acessos
47 cirúrgicos convencionais, como menor desconforto e dor pós-operatórios, menos risco de
48 deiscência e hemorragia, redução da formação de aderências, menor dano tecidual e melhores
49 resultados estéticos [8]. A avaliação endoscópica constitui-se uma das técnicas menos
50 traumática de exames de imagem em aves, possibilitando obtenção de biópsias quando uma
51 estrutura anormal ou alteração morfológica tecidual é observada [23, 17]. Doenças hepáticas
52 são comuns nas aves. Embora o exame do fígado com o auxílio de ultrassom e bioquímica
53 sérica possa fornecer informações relevantes, esses métodos nem sempre são suficientemente
54 precisos para se diagnosticar a causa de alterações, sendo necessário coleta e análise de biopsias
55 [18]. Além disso, as aves são úteis como bioindicadores da poluição ambiental, e a abordagem
56 do fígado consiste em uma avaliação importantes nestes casos [18, 5].

57 Abordagens convencionais normalmente são invasivas, envolvendo laparotomias
58 extensas, aumento da chance de trauma iatrogênico, hemorragias e perfuração de sacos aéreos
59 devido ao tamanho proporcionalmente reduzido dos pacientes e acesso cirúrgico limitado pelas
60 técnicas padrão de celiotomia [12, 11, 6]. Ainda, há relatos da baixa atividade locomotora
61 associada a claudicação pelo tamanho da incisão, inatividade e perda de peso [22].

62 Para acesso endoscópicos a cavidade celomática estão descritos quatro acessos
63 principais, lateral esquerdo e direito, ventral e interclavicular [17]. Outro método alternativo de
64 acesso por videoendoscopia, são os acessos cirúrgicos por NOTES (*Natural Orifice*
65 *Transluminal Endoscopic Surgery*, ou cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais)
66 que já foram estudados em pacientes humanos e animais domésticos, e demonstraram
67 resultados estéticos e pós-operatórios promissores [2, 4.]. Uma das principais vantagens refere-
68 se à redução do número e magnitude de incisões de acesso abdominais (NOTES Híbrida) ou
69 mesmo a ausência de acessos complementares (NOTES pura ou total), mediante acesso único
70 por orifício orgânico natural [4, 19]. Entretanto, existe uma lacuna na literatura quanto ao relato
71 do uso das abordagens de NOTES em aves domésticas ou selvagens e de seus benefícios e
72 limitações.

73 Desta forma, o objetivo deste estudo é determinar a factibilidade do acesso via NOTES
74 Total e NOTES Híbrida em frangas de postura (*Gallus gallus domesticus*) como modelo
75 experimental para realização de biopsias hepáticas em aves.

76

77 **MATERIAL E MÉTODOS**

78

79 *Comissão de ética e animais do estudo*

80 Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade
81 Meridional IMED (aprovação número: 033/2019). Foram utilizadas 12 frangas de postura
82 (*Gallus gallus domesticus*) de aproximadamente 21 dias de idade, clinicamente híginas,
83 alocadas aleatoriamente por sorteio no grupo NOTES Híbrida (n=6) e no grupo NOTES Total
84 (n=6). Os animais permaneceram alojados em sala com 20 m², com janela e condicionador de
85 ar para ventilação renovação do ar permanecendo soltas enquanto aguardavam o procedimento
86 ser realizado, a sala foi forrada com toalhas de papel absorvente (sendo realizada a limpeza para

87 remoção das fezes e urina quando necessário), dispunham de água e ração específica para a
88 idade e espécie *ad libitum*.

89

90 *Anestesia*

91 O jejum alimentar foi de oito horas antes da anestesia, sendo fornecido apenas acesso à
92 água *ad libitum* nesse período. A premedicação constou de administração de cloridrato de
93 cetamina (10 mg/kg IM,), cloridrato de xilazina (1 mg/kg, IM) e cloridrato de tramadol (5
94 mg/kg, IM), além de antibioticoterapia profilática com associação de penicilinas 100 mg/kg,
95 administrados no músculo peitoral. Após três minutos, a anestesia foi induzida e mantida com
96 isoflurano em oxigênio a 100% (1 l/min) em máscara, ao efeito. A anestesia foi monitorada
97 pela avaliação da frequência cardíaca e respiratória. Em seguida, as aves foram posicionadas
98 em decúbito dorsal e eram removidas as penas ao redor da cloaca, para posterior preparo
99 asséptico. Realizou-se em todas as aves o esvaziamento de remanescentes fecais da cloaca e,
100 posteriormente, lavagem cloacal copiosa para a antissepsia com solução aquosa de clorexidine
101 a 0,2% (50 mL/kg). Na pele ao redor da cloaca a antissepsia foi realizada com clorexidina 1%
102 solução aquosa, e após era colocado um campo estéril.

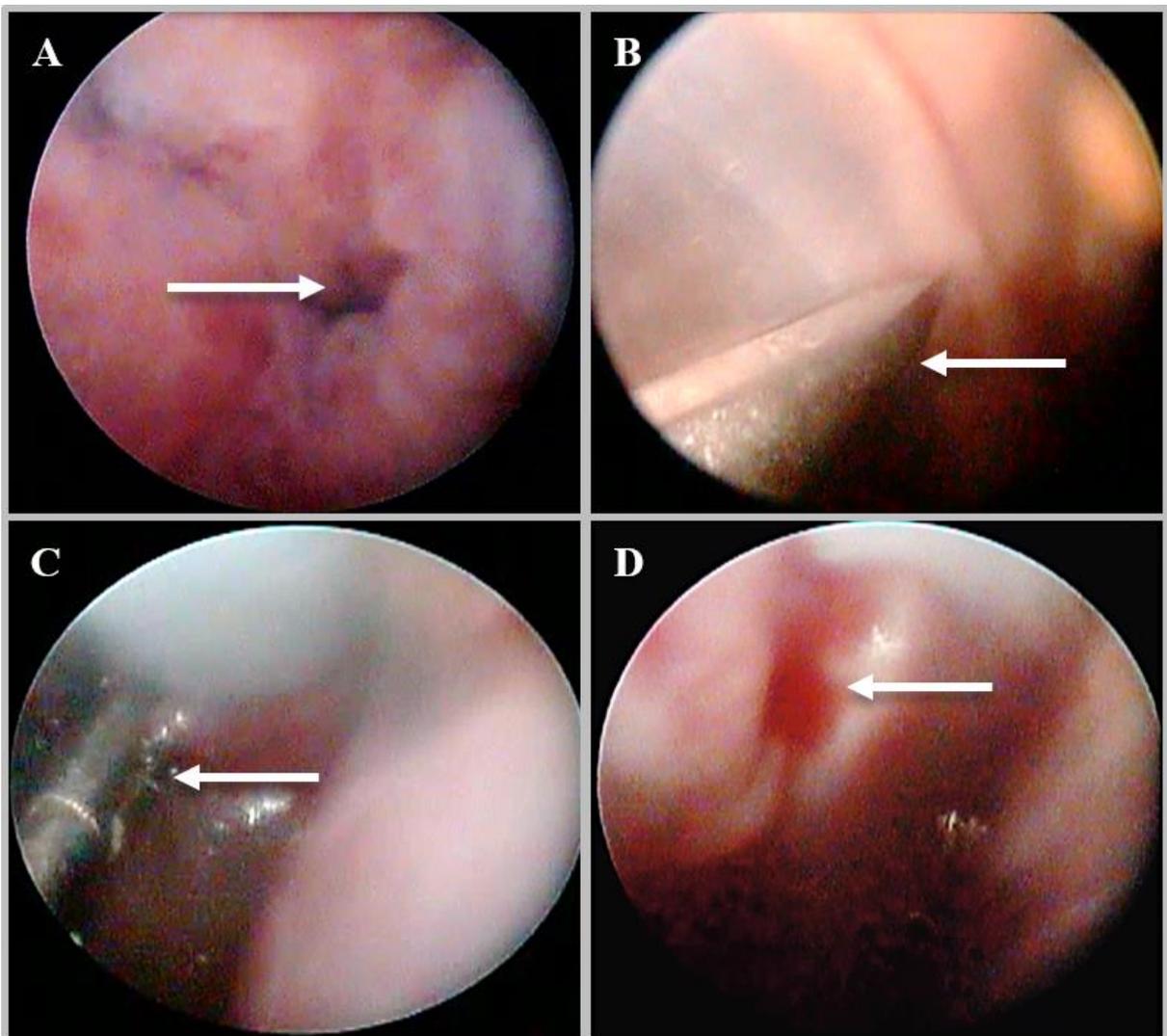
103

104 *Procedimentos cirúrgicos e manejo pós-operatório*

105 Para as abordagens endoscópicas, utilizou-se um telescópio rígido de 1,9mm de
106 diâmetro, 19 cm de comprimento e 30° de ângulo de visão (modelo Hopkins ® Karl Storz, H.
107 Strattner, Berlin, Germany), acoplado à camisa de proteção com 3,3mm. Utilizou-se sistema de
108 vídeo compacto portátil (modelo Tele Pack Vet X®, Karl Storz, H. Strattner, Berlin, Germany).

109 Em ambos os grupos, iniciou-se os procedimentos mediante realização de cloacoscopia,
110 com distensão da cloaca com solução salina normal estéril, para inspeção do lume e remoção
111 de eventuais remanescentes fecais. Em seguida, o líquido foi drenado e a cloacoscopia foi

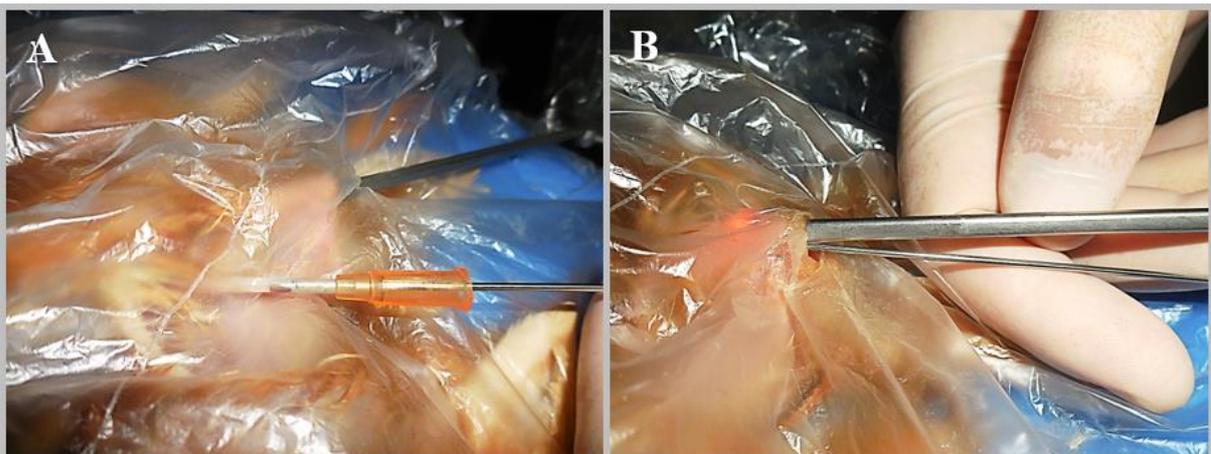
112 realizada com distensão por ar ambiente utilizando extensor e seringa de 20 ml e fechando os
113 lábios cloacais com os dedos indicador e polegar (Fig. 1A). O acesso cirúrgico transcloacal para
114 a cavidade abdominal foi realizado mediante perfuração roma da cloaca com a ponta do
115 endoscópio em sua parede ventral, no seu aspecto mais caudal. Uma vez constatado acesso à
116 cavidade celomática, o endoscópio era dirigido até a região topográfica do fígado para coleta
117 das biopsias, visibilizando a cavidade hepática ventral (Fig. 1B), de acordo com o grupo
118 sorteado. Para cada indivíduo, colheu-se dois fragmentos da superfície de áreas distintas do
119 fígado, totalizando 12 amostras.



120

121 **Fig. 1.** Imagens endoscópicas dos procedimentos de NOTES Híbrida e Total transcloacal para
 122 biópsia hepática de frangas de postura (*Gallus gallus domesticus*). (A) Cloacoscopia antes da
 123 realização do acesso há cavidade celomática, com visualização do esfíncter cloacal (seta). (B)
 124 Visão intracelomática da ponta do cateter 14G (seta) inserido sob visão endoscópica no
 125 procedimento de NOTES Híbrida. (C) Realização da colheita de espécimes hepáticos (seta).
 126 (D) Sítio hepático pós-colheita, observando-se discreta hemorragia (seta).
 127

128 Para realização da técnica NH, um cateter 14G foi introduzido percutaneamente à
 129 cavidade celomática pelo aspecto ventral da quilha, sobre a linha média, sob assistência
 130 endoscópica. Inseriu-se a pinça de biópsia semirrígida de 5fr. (1,7mm) pelo cateter para a
 131 colheita das amostras hepáticas (Fig. 2A). No grupo NT, após o acesso a cavidade celomática
 132 e visibilização do fígado, o endoscópio era puxado de volta para a cavidade cloacal para
 133 inserção da pinça de biópsia, sob visualização direta, pelo orifício de acesso transcloacal, em
 134 paralelo e juntamente com o telescópio (Fig. 2B). Ao final da colheita das amostras tanto no
 135 grupo NOTES Híbrida e NOTES Total, com o endoscópio era realizado a visibilização do
 136 acesso cirúrgico no interior da cloaca, com auxílio de uma pinça auxiliar era pinçado uma das
 137 bordas da ferida cirúrgica de forma vídeoassistida, realizada seu tracionamento a fim de everter
 138 o local do acesso e realização de um ponto interrompido simples com fio de náilon 5-0.



149 **Fig. 2.** Imagens externas intraoperatórias das técnica cirúrgica NOTES Híbrida e Total
 150 transcloacal para biópsia hepática de frangas de postura (*Gallus gallus domesticus*) de
 151 aproximadamente 21 dias. (A) Cateter 14G introduzido percutaneamente à cavidade celomática
 152 pelo aspecto ventral da quilha, sobre a linha média, sob assistência endoscópica, durante
 153 realização da NOTES Híbrida. Visualiza-se a haste da pinça de biópsia inserida pela bainha do
 154 catéter. (B) NOTES Total, visualizando-se a haste da pinça de biópsia (instrumento metálico
 155 de menor calibre) inserida em paralelo com o telescópio (haste metálica de maior calibre).
 156

157 Ao término dos procedimentos cirúrgicos, as aves eram mantidas em local aquecido e
158 calmo, permanecendo em observação até a plena recuperação anestésica, sendo liberadas após
159 permanecerem em estação e com correta deambulação e ingerirem água e alimento próprio para
160 a espécie, na sala de alojamento.

161

162 *Avaliação histológica das amostras de biópsia hepática*

163 As amostras obtidas foram fixadas em solução de formol a 10 % e processadas para
164 coloração de hematoxilina e eosina (H&E). Para cada fragmento de biópsia, o grau de artefato
165 de esmagamento resultante, incapacidade de reconhecer tipos de células ou avaliar parênquima
166 tecidual foram levados em consideração [13]. A qualidade diagnóstica das amostras de biópsia
167 foi classificada como ruim, boa ou excelente por patologista [23], utilizando sistema de
168 avaliação demonstrado da seguinte forma: amostras de excelente qualidade (alterações
169 amostrais $\leq 10\%$); amostras de boa qualidade (alterações amostrais leves $\leq 11-20\%$); amostras
170 regulares (alterações amostrais moderadas $\geq 21-50\%$); e amostras ruins (alterações amostrais
171 graves $\geq 51\%$ afetados).

172

173 *Análises estatísticas*

174 Todos as variáveis foram testadas quanto à normalidade mediante teste de D'Agostino-
175 Pearson (K2). Os parâmetros massa corporal e tempo cirúrgico total foram comparados entre
176 os grupos NH e NT mediante o teste t para amostras não-pareadas, com valor bicaudal de p . A
177 massa corporal das aves foi comparada entre os momentos basal e sete dias após o procedimento
178 cirúrgico, dentro dos grupos. Para todos os testes, considerou-se o nível de significância de 5%.

179

180 **RESULTADOS**

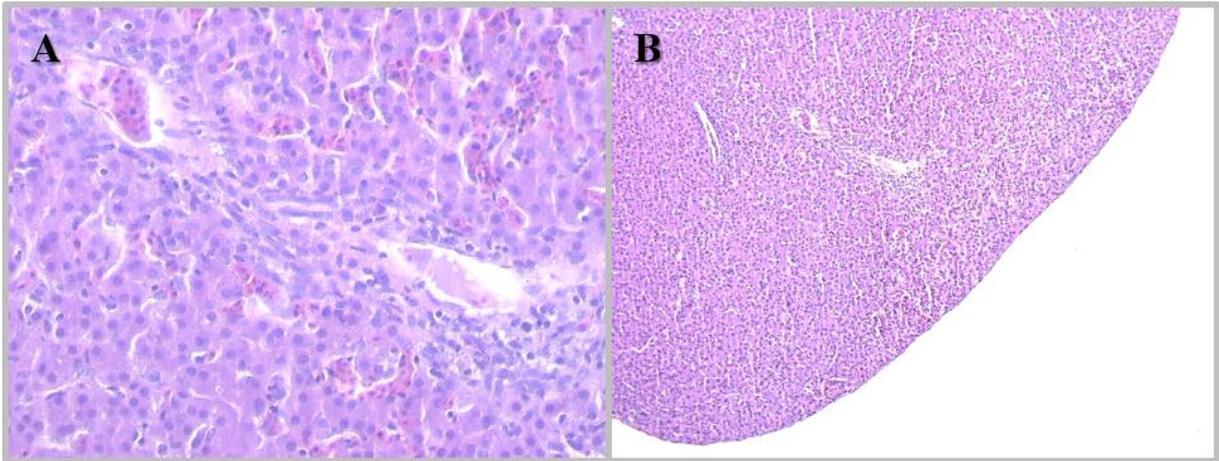
181

182 A massa corpórea foi estatisticamente semelhante entre os grupos ($p = 0,8330$).
183 Imediatamente antes dos procedimentos cirúrgicos, os animais do grupo NOTES Total pesaram
184 em média 224,2 ($\pm 16,9$) g e do NOTES Híbrida 226,7 ($\pm 22,7$) g. Após sete dias de pós-
185 operatório o grupo NOTES Total apresentou peso de 298,3 $\pm 30,6$ g, enquanto grupo NOTES
186 Híbrida, apresentou 328,8 $\pm 26,6$ g de massa corpórea. Em ambos os grupos houve ganho de
187 peso significativo, sendo $p = 0,0030$ para o grupo NOTES Total e $p < 0,0001$ para o grupo de
188 NOTES Híbrido. Não houve diferença significativa entre os grupos quanto ao ganho de peso
189 após sete dias de procedimento ($p = 0,0953$).

190 Em todos os animais foi possível realizar a biópsia hepática. O tempo total para
191 realização dos procedimentos cirúrgicos, desde a cloacoscopia até a síntese cloacal, no grupo
192 NOTES Total foi 33,5 ($\pm 13,7$) minutos, e no grupo NOTES Híbrida, 32,3 ($\pm 15,8$) minutos ($p =$
193 0,8940). Durante a realização dos procedimentos cirúrgicos, em uma das aves houve
194 extravasamento de conteúdo fecal para dentro do celoma, o qual foi removido, e em um dos
195 animais ocorreu pequena laceração do fígado durante a realização do exame, com leve
196 sangramento, sem repercussão clínica.

197 À análise histopatológica das amostras, não houve diferença significativa entre os
198 grupos NH e NT. Das amostras obtidas, nove (75%) foram classificadas como excelentes, com
199 ilhas contendo grande quantidade de hepatócitos com morfologia inalterada e estroma,
200 parênquima e cápsula preservados (Fig. 3). Duas amostras (16,7%) foram classificadas como
201 boas, com quantidade moderada de hepatócitos e observação excelente das demais estruturas.
202 Uma amostra (8,3%) apresentou qualidade ruim, com poucos hepatócitos de delimitações
203 citoplasmáticas pouco distintas e grande quantidade de hemácias e perda da arquitetura.

204



205
 206 **Fig. 3.** Imagens histológicas classificadas como excelente de espécimes de fígado de frangos
 207 (*Gallus gallus domesticus*) colhidos por biópsia assistida por NOTES Total ou Híbrida. (A)
 208 Ave 3: fígado (espaço periportal), estroma e parênquima com a arquitetura preservada. H.E.
 209 Obj. 40x. (B) Ave 3: fígado, cápsula hepática com arquitetura preservada. H.E. Obj. 10x.

210

211 **DISCUSSÃO**

212

213 Doenças hepáticas são frequentes em aves [18, 20]. As biópsias de fígado são
 214 importantes na rotina clínica da medicina de aves, visto que são uma alternativa aos métodos
 215 letais de colheita de amostras. Dessa forma, visam fornecer dados importantes sobre a
 216 enfermidade com objetivo de preservar os indivíduos submetidos à técnica, sendo desejável em
 217 populações de espécies ameaçadas de extinção [9, 10]. Além disso, aves são bioindicadores de
 218 poluição ambiental [5]. Diversos agentes tóxicos ambientais afetam o fígado, sendo
 219 fundamental sua avaliação [25]. Nesse contexto, os resultados do presente estudo indicam a
 220 possibilidade do uso de duas abordagens minimamente invasivas inovadoras e promissoras para
 221 obtenção de espécimes hepáticos em aves.

222 Abordagens para coleta de espécimes do fígado em aves com suspeitas de exposição ao
 223 petróleo bruto, através de cirurgia convencional por meio de um acesso ventral [9] e abordagens
 224 endoscópicas para acesso ao fígado já foram descritas, por acessos ventrais [17] e laterais
 225 esquerdo ou direito conferindo método minimamente invasivo e não letal [15, 7].

226 Acredita-se que as técnicas de acesso via NOTES trazem novas possibilidades em aves.

227 Essas abordagens apresentam resultados pós-operatórios importantes em pacientes humanos e
228 animais, como rápida recuperação e minimização da dor e desconforto pós-operatórios [2, 4].
229 Tais benefícios são atribuídos à redução do número e magnitude de incisões de acesso à
230 cavidade abdominal (NOTES Híbrida) ou mesmo a ausência de acessos percutâneos
231 complementares (NOTES pura ou total), mediante acesso único por orifício orgânico natural
232 [4, 19, 24]. Mesmo utilizando um cateter 14G percutaneamente como portal de instrumento,
233 não houve produção de ferida aparente que necessitasse sutura ou tratamento especial. Esse
234 aspecto é de caráter inovador, pois a NOTES Híbrida é conhecida por produzir uma ferida não
235 aparente pelo órgão luminal abordado e ao menos uma externa [4]. Dessa forma, do ponto de
236 vista de ferida cirúrgica, as duas abordagens do presente estudo produziram resultados
237 idênticos.

238 No presente estudo, não foi necessário instalar pneumoperitônio para obter espaço de
239 trabalho suficiente para colheita de espécimes hepáticos. As peculiaridades anatômicas das
240 aves, como ausência de diafragma e a presença de sacos aéreos translúcidos dentro da cavidade
241 celomática, permitem avaliação dos principais órgãos de interesse clínico, sem a necessidade
242 de insuflação da cavidade celomática [7]. Relata-se alterações cardiorrespiratórias adversas,
243 como redução da complacência e capacidade pulmonar, hipercapnia e acidose respiratória
244 secundária ao pneumoperitônio em cirurgias abdominais assistidas por videocirurgia [10, 27].

245 A cloacoscopia foi um procedimento de rápida e fácil realização, tanto mediante
246 distensão com líquido ou ar. Essa etapa foi crucial para o sucesso no acesso por NOTES nesse
247 estudo. Recomenda-se distensão por líquido para uma excelente visualização das estruturas
248 internas da cloaca [14]. A distensão excessiva da cloaca por fluido pode resultar em
249 regurgitação, sendo indicado intubação traqueal dos animais submetidos ao exame de
250 cloacoscopia [15]. Entretanto, esse tipo de complicação não foi verificado no presente estudo e
251 não foi necessário intubação traqueal. Foi possível manter todos os animais em plano cirúrgico

252 durante todo o procedimento com anestesia inalatória fornecida por máscara. Outro risco da
253 cloacoscopia com uso de solução salina aquecida é seria o preenchimento da cavidade
254 celomática e sacos aéreos em caso de perfuração cloacal, com desfecho letal [15]. No presente
255 estudo, essa complicação foi evitada mediante drenagem do fluido e distensão da cloaca com
256 ar antes de proceder a punção de acesso, conforme recomendado outros autores [15]. Durante
257 o experimento podemos realizar a cloacoscopia utilizando solução salina aquecida e ar, não
258 havendo diferença significativa entre o volume de solução e ar infundidas, bem como, não
259 foram notadas diferenças entre a qualidade de visualização entre os dois métodos.

260 Apesar de dois casos de complicações intraoperatórias descritas nesse estudo, não houve
261 necessidade de converter para acesso aberto para resolução em nenhum dos casos. Ademais, as
262 aves foram acompanhadas no período pós-operatório e não apresentaram repercussão clínica
263 inerente às complicações. As maiores complicações relatadas nos procedimentos realizados em
264 aves estão associadas ao protocolo anestésico inadequado utilizado e a estabilização clínica
265 antes da realização do procedimento cirúrgico, necessitando intervenção antes da realização do
266 procedimento. Taylor, 1994 [26] cita que, contusões hepáticas causadas pela ponta do
267 endoscópio raramente são a causa de sérios problemas clínicos.

268 Durante o período de avaliação de sete dias, todos os animais apresentavam-se
269 clinicamente hígidos e ganho de massa corpórea. Ressalte-se que a perfuração cloacal como
270 ocorre em biópsias de todas as camadas é contraindicada por outros autores, alegando-se risco
271 iminente de peritonite [15]. Em humanos, o acesso transretal via NOTES gerou preocupações
272 durante a fase experimental inicial devido à possibilidade de contaminação peritoneal por
273 conteúdo fecal [16]. Recomenda-se como medidas para prevenir infecções pós-operatórias para
274 os acessos via NOTES a preparação do paciente, uso antissépticos nos locais de acesso,
275 antibióticos parenterais profiláticos e desinfecção rigorosa do endoscópio [3].

276 Zimmermann *et al* 2019 [30] cita a realização do acesso a cavidade celomática para o

277 endoscópio através do assoalho ventral da cloaca, porém sem realizar avaliação quanto a
278 possíveis traumas, hemorragias e riscos de contaminação, visando apenas a instituição do
279 acesso para treinamento em equipes médicas. No nosso estudo, por sua vez, optou-se por
280 realizar o acesso celioscópico na região do assoalho ventral da cloaca em sua porção mais
281 caudal por evitar contato com o coprodeu, evitando-se contaminação por possível conteúdo
282 fecal. Além disso, esse sítio de acesso evita o suprimento sanguíneo cloacal, localizado nas
283 paredes laterais (artéria e veia pudendas), e ramificações do nervo pudendo localizadas na
284 parede dorsal da cloaca [1]. Após a execução dos procedimentos cirúrgicos, todos os animais
285 apresentaram defecação normal, dentro dos parâmetros fisiológicos para a espécie.

286 Após a realização do acesso celioscópico foi necessário direcionar o endoscópio até a
287 região de topografia do fígado, onde é visualizada a membrana da cavidade peritoneal hepática
288 ventral. Essa membrana foi rompida de forma romba para permitir a visualização do fígado. A
289 abertura da cavidade hepática ventral não implica em repercussão clínica ao animal [18].

290 Na técnica de NOTES Total, o retorno do telescópio para a cavidade cloacal para a
291 inserção assistida da pinça de biópsia em cada ocasião de colheita de material, associado à
292 dificuldade do trabalho em paralelo do telescópio e pinça [7], não impactaram o tempo cirúrgico
293 em comparação ao grupo de NOTES Híbrida.

294 A técnica de biópsias hepáticas descrita nesse estudo proporcionou colheita acurada e
295 análise adequada dos espécimes colhidos, conforme mencionado por outros autores [13].
296 Mesmo amostras colhidas com fórceps de 5 fr. sendo consideradas pequenas [13], a qualidade
297 histológica dos espécimes colhidos foi considerada boa ou excelente na maioria dos casos.
298 Dentre os métodos minimamente invasivos, a biópsia guiada por ultrassonografia foi descrita
299 em aves [21,29]. Porém, os acessos ultrassonográficos ao fígado até então desenvolvidos
300 apresentam limitações como visualização limitada do fígado e ampla presença de estruturas
301 vasculares nas imediações do órgão, com conseqüente risco de iatrogenias e falhas diagnósticas

302 por seleção inadequada de tecido [28, 15]. O tamanho da amostra de biópsia é determinado pelo
303 o tamanho da pinça endoscópica usada.

304 A ideia do acesso via NOTES transcloacal permite que após o procedimento cirúrgico
305 o animal não necessite de contenção, nem faça uso de colares de proteção no pós-operatório,
306 devido à ausência de feridas aparentes. Acredita-se que essas abordagens poderão propiciar a
307 soltura precoce de aves silvestres de vida livre após a recuperação anestésica, reduzindo assim
308 situações de estresse de manejo. Além disso, as técnicas de NOTES propostas possuem
309 potencial de reduzir do trauma e desconforto associados à cirurgia, diminuir a dor mediante
310 eliminação da necessidade de acessos auxiliares, melhorar a recuperação pós-operatória,
311 reduzir a necessidade de hospitalização e minimizar riscos de infecção hospitalar, conforme
312 estudos em outras espécies apontam [19, 24]. Essas hipóteses não foram testadas no presente
313 estudo, assegurando investigações futuras para consolidar as abordagens de NOTES como
314 possibilidades na rotina clínica-cirúrgica da medicina de aves.

315

316 **AGRADECIMENTOS**

317

318 Os autores agradecem, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
319 Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
320 (CAPES), por possibilitar a realização do experimento.

321

322 **REFERÊNCIAS**

323

- 324 1. Akita, K., Sakamoto, H., Tatsuo, S. 1992. Muscles of the Pelvic Outlet in the Fowl (*Gallus*
325 *gallus domesticus*) With Special Reference to Their Nerve Supply. *J. Morphol.* **214**: 179–
326 185

- 327 2. Atallah, S., Martin-Perez, B., Keller, D. 2015. Natural orifice transluminal endoscopic
328 surgery. *Br. J. Surg.* **102**: 73-92.
- 329 3. Berman, S., Melvin, S. 2008. Natural orifice transluminal endoscopic surgery. *Surg. Clin.*
330 *North. Am.* **88**:1131–1148.
- 331 4. Brun, M. V., Silva, M. A., Mariano, M. B., Motta, A. C., Colomé, L. M., Feranti, J. P.,
332 Pohl, V. L., Ataide, M. W., Guedes, R. L., Santos, F. R. 2011. Ovariohysterectomy in a
333 dog by a hybrid NOTES technique a case report. *Can. Vet.* **52**: 637–640.
- 334 5. Burger, J., Gochfeld, M. 2004. Marine birds as sentinels of environmental pollution. *Eco.*
335 *Health.* **1**: 263–274.
- 336 6. Cotton, III R. J., Divers, S. J. 2017. Endoscopic Removal of Gastrointestinal Foreign
337 Bodies in Two African Grey Parrots (*Psittacus erithacus*) and a Hyacinth Macaw
338 (*Anodorhynchus hyacinthinus*) *J. Avian. Med. Surg.* **31**: 335–343.
- 339 7. Crivelaro, R. M. 2016. Principles of videosurgery in birds. *Investigação.***15**:55-61.
- 340 8. Culp W. T. N., Mayhew P.D., Brown D.C. 2009. The effect of laparoscopic versus open
341 ovariectomy on postsurgical activity in small dogs. *Vet. Surg.* **38**: 811–817.
- 342 9. Degernes, L. A., Harms, C. A. 2002. Anesthesia and liver biopsy techniques for Pigeon
343 Guillemots (*Cephus columba*) suspected of exposure to crude oil in marine environments.
344 *J. Avian. Med. Surg.***16**: 291–99.
- 345 10. Demiroglu, S., Salihoglu, Z., Bozkurt, P., Hayirlioglu, M., Kise, Y. 2007. Effect of
346 pneumoperitoneum on the level of plasma potassium. *M. E. J. Anesth.* **19**: 61–70.
- 347 11. Divers, S. J. 2015. Making the Difference in Exotic Animal Practice: The Value of
348 Endoscopy. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* **18**: 351–357.
- 349 12. Fiala, K. L. 1979. A laparotomy technique for nestling birds. *Bird-Banding* **50**: 366-367.
- 350 13. Hernandez-Divers, S. J., Stahl, S. J., McBride, M. 2007. Evaluation of an endoscopic liver
351 biopsy technique in green iguanas. *J. Avian. Med. Surg.* **230**: 1849–1853.

- 352 14. Hernandez-Divers, S. J. 2010. Avian diagnostic endoscopy. *Vet. Clin. North. Am. Exot.*
353 *Anim. Pract.* **13**: 187–202.
- 354 15. Hernandez-Divers, S. J., Heather W. G. 2006. Evaluation of coelioscopic splenic biopsy
355 and cloacoscopic bursa of fabricius biopsy techniques in pigeons (*Columba livia*). *J. Avian.*
356 *Med. Surg.* **20**: 234–241.
- 357 16. Khashab, M. A., Kalloo, A. N. 2010. Naturalorifice transluminal endoscopic surgery.
358 *Curr. Opin. Gastroenterol.* **26**: 471–477.
- 359 17. Kollias, G. V. 1988. Avian endoscopy. pp. 75-104. In: Contemporary issues in small
360 animal medicine, exotic animals, (Jacobson, E. R., Kollias, G. V., eds.), Livingstone, New
361 York.
- 362 18. Krautwald-Junghanns, M. E., Pees M. 2010. Imaging techniques. pp. 75-88. In: Handbook
363 of Avian Medicine, 2th ed. (Tully-Junior, T. N., Dorrestein G. M., Jones, A. K., eds.),
364 Elsevier, Nova York.
- 365 19. Linhares, M. T., Feranti, J. P. S., Coradini, G. P., Martins, L. R., Martins, A. R., Sarturi,
366 V. Z., Gavioli, F. B., Machado-Silva, M. A., Ataíde, M. W., Teixeira, L. G., Brun, M.
367 V. 2019. Canine ovariectomy by hybrid or total natural orifice transluminal endoscopic
368 surgery: technical feasibility study and pain assessment. *Vet. Surg.* **48**: 74-82.
- 369 20. Lumeij, J. T. 1994. Hepatology. pp. 522-537. In: Avian Medicine: principles and
370 application. (Ritchie, B. W., Harrison, G. J., Harrison, L. R.), Lake Worth, Wingers
371 Publishing.
- 372 21. Nordberg, C., O'Brien, R. T., Paul-Murphy, J. 2000. Ultrasound examination and guided
373 fine-needle aspiration of the liver in Amazon parrots (*Amazona* species). *J. Avian. Med.*
374 *Surg.* **14**: 180-184.
- 375 22. Risser, A. C. 1971. A technique for performing laparotomy on small birds. *Condor* **73**:
376 376-379.

- 377 23. Seok, S. H., Jeong, D. H., Lee, C. 2016. Evaluation of diagnostic coelioscopy including
378 liver and kidney biopsies in cinereous vultures (*Aegypius monachus*). *VETMED*, **61**:
379 689-700.
- 380 24. Silva, M. A. M., Toniollo, G. H., Flores, F. N., Valadão, C. A. A., Medeiros, R. M., Cardilli,
381 D. J., Gering, A. P., Teixeira, P. P. M., Serafini, G. M. C., Coutinho-Júnior, A. S.,
382 Libardoni, R. N., Brun, M. V. 2015. Surgical time and complications of total transvaginal
383 (NOTES Total), single-port laparoscopic-assisted and conventional ovariectomy in
384 bitches. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **67**: 647-654.
- 385 25. Storelli, M. M., Barone, G., Storelli, A. Marcotrigiano, G. O. 2011. Levels and congener
386 profiles of PCBs and PCDD/Fs in blue shark (*Prionace glauca*) liver from the
387 southeastern Mediterranean Sea (Italy). *Chemosphere.* **82**: 37–42.
- 388 26. Taylor, M. 1994. Endoscopic exam and biopsy techniques. pp. 327-339. In: *Avian*
389 *Medicine: principles and application.* (Ritchie, B. W.; Harrison, G. L.; Harrison, L. R.,
390 eds.), Lake Worth, Wingers Publishing.
- 391 27. Yilmaz, S., Polat, C., Kahraman, A., Koken, T. 2004. The comparison of the oxidative
392 stress effects of different gases and intraabdominal pressures in an experimental rat
393 model. *J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. A.* **14**:165-168.
- 394 28. Zebisch, K., Krautwald-Junghanns, M. E., Willuhn, J. 2001. Ultrasound guided liver
395 biopsy of birds. *Exotic.* **34**: 27–30.
- 396 29. Zebisch, K., Krautwald-Junghanns, M. E., Willuhn, J. 2004. Ultrasound-guided liver
397 biopsy in birds. *Vet. Radiol. Ultrasound.* **45**: 241-246.
- 398 30. Zimmermann, P., Wiseman, A.X., Sanchez, O. et al. 2019. The avian model: a novel and
399 cost-effective animal tissue model for training in neonatal laparoscopic surgery. *J Ped*
400 *Endosc Surg.* **1**: 99-105.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo, realizado em duas etapas, apresentou como contribuição científica a elaboração de duas novas abordagens cirúrgicas, por NOTES Híbrida e Total, em modelo experimental *ex-vivo* em aves, com posterior comprovação da segurança cirúrgica *in vivo* para obtenção de biópsias hepáticas, como alternativas às técnicas descritas na literatura atual. A utilização de cadáveres humanos e animais para fins de ensino e pesquisa apresenta aspecto importante como método alternativo em cirurgia experimental, sobretudo por ir de encontro aos três Rs em experimentação: redução, reposição e refinamento (do inglês, *reduction, replacement and refinement*) (RUSSEL & BURCH, 1992).

No desenvolvimento de técnicas endoscópicas e em cirurgias de mínima invasão, a etapa de investigação em modelos *ex-vivo* são cruciais e vem cada vez mais explorada (GROMSKI, 2016). No presente estudo, a utilização de quatro cadáveres de frangos possibilitou a percepção de noções básicas de espaço de trabalho e de manobras cirúrgicas fundamentais ao desenvolvimento das técnicas de NOTES em aves, ao passo em que houve redução do número de unidades experimentais em relação a outros estudos (SILVA, 2012; SILVA, 2015). Adicionalmente, possibilitou o refinamento da técnica, que foi executada com maior precisão na etapa *in-vivo*, da segunda etapa do estudo. Ressalte-se que em outros estudos envolvendo o desenvolvimento de abordagens por NOTES em outras espécies animais se optou pelo teste preliminar em animais *in-vivo* (BRUN, 2011; SILVA, 2012; BASSO, 2014).

Nessa investigação, optou-se pela segurança ao utilizar frangos *ex-vivo*, de modo a eliminar possíveis dificuldades técnicas e complicações aos animais na etapa. Entretanto, houve dois casos de complicações durante a etapa *in-vivo* do estudo. Em um animal, houve mínima contaminação fecal da cavidade celomática durante a abordagem transcloacal. Em outro, houve leve laceração hepática durante a colheita das biópsias, contudo sem hemorragia substancial. Em ambos os casos, as complicações foram tratadas conservadoramente, sem a necessidade de conversão das técnicas endoscópicas para a abordagem convencional, o que seria classificado como complicação grave em cirurgias minimamente invasivas por vídeo (MCCLARAN & BOUTE, 2009). Basso et al. (2014) relataram um caso de grave complicação durante a realização de ovariectomia por NOTES Total transvaginal em uma cadela. Houve perfuração retal durante a inserção do telescópio rígido pela incisão de acesso vaginal. Naquela ocasião, houve necessidade de conversão para a abordagem aberta e osteotomia do púbis para ter acesso à perfuração para manejo da perfuração. Entretanto, os autores mencionaram que a paciente se recuperou sem complicações adicionais no período pós-operatório.

A qualidade de imagem e a ergonomia proporcionadas pelas técnicas de NOTES Híbrida e Total em aves foram avaliadas nesse estudo. As técnicas possibilitaram exame amplo da cavidade celomática e a realização de biópsias, ainda que com espaço de trabalho naturalmente reduzido devido às particularidades anatômicas das aves. Nesse estudo, utilizou-se metodologia de outros estudos sobre qualidade de imagem e ergonomia em procedimentos laparoscópicos em cães (TAPIA-ARAYA, 2015), entretanto devidamente adaptada para aves e para os procedimentos cirúrgicos investigados.

Na segunda etapa do estudo (*in-vivo*), avaliou-se a viabilidade dos espécimes hepáticos colhidos para fins de análise histopatológica. Os resultados dessa investigação demonstraram que a utilização de um fórceps de biópsia semirrígido de 5 fr., independente do acesso cirúrgico utilizado, pode ser útil e fornecer alternativa minimamente invasiva de colheita de espécimes hepáticos. Com essa técnica, pode-se possibilitar inclusive a obtenção de múltiplos fragmentos hepáticos, sobretudo devido à mínima hemorragia proporcionada pela pinça de biópsia de calibre reduzido. A importância do exame histopatológico do fígado de aves exóticas, com espécimes colhidos por endoscopia foi demonstrada em estudo envolvendo espécies de psitacídeos (HUNG, 2019). Por acesso convencional (celiotomia), recomenda-se a obtenção de poucos fragmentos hepáticos com uso de *punch* cutâneo circular, por guilhotina com fio de sutura, por uso de fontes de energias avançadas, como bisturi harmônico e a energia bipolar controlada por *feedback* de imedância tecidual, ou por uso de grampeadores toracoabdominais automáticos (KOLLIAS, 1984; KOLLIAS & HARRISON, 1986; LEWIS, 1990; BARNES, 2006). Apesar de possibilitarem a colheita de segmentos de grandes magnitudes, esses métodos podem resultar em falha na hemostasia e/ou são custo-proibitivos na rotina cirúrgica veterinária, como é o caso dos grampeadores automáticos e das fontes avançadas de energia.

Por abordagens minimamente invasivas assistidas por videoendoscopia, recomenda-se o uso de pinças de biópsia tipo *punch* para biópsia hepática, com calibre variando de 2,8 a 5,0 mm (ROTHUIZEN & TWEDT, 2009; MCDEVITT, 2016). Relata-se hemorragia leve e, frequentemente, autolimitante com essa técnica. Entretanto, essa abordagem é contraindicada em pacientes portadores de coagulopatias ou instáveis hemodinamicamente (MCDEVITT et al., 2016). Ressalte-se que o uso de pneumoperitônio com CO₂ para criação de espaço de trabalho para intervenções cirúrgicas laparoscópicas pode gerar redução do retorno venoso, aumento da resistência vascular periférica e, conseqüentemente, diminuição do débito cardíaco em pacientes instáveis clinicamente (DUQUE & MORENO, 2015). Ressalte-se que distúrbios de coagulação e alterações no equilíbrio hídrico, eletrolítico e de acidobase são frequentes em pacientes portadores de distúrbios hepáticos, podendo impossibilitar a colheita de material por

laparoscopia e a investigação histopatológica. Nesse sentido, o presente estudo apresentou aspectos importantes, pois utilizou-se pinça de calibre reduzida, que possui baixo custo, gera mínima hemorragia e pode retornar a colheita de espécimes bons e excelentes da ordem de 91,7% do total de colheitas. Ademais, não foi necessário criar espaço de trabalho mediante insuflação da cavidade celomática com CO₂, particularidade essa inerente às aves (HERNANDEZ-DIVERS, 2010). Dessa maneira, acredita-se que as abordagens por NOTES tenham proporcionado mínimo estresse cardiorrespiratório às aves. Entretanto, essas hipóteses não foram testadas no presente estudo, merecendo investigação futura.

6. CONCLUSÃO

O uso da celioscopia em aves, acessada pela via transcloacal, pode permitir obtenção de amostras de tecidos de espécies de aves de vida livre e ameaçadas de extinção de forma rápida e segura. As técnicas podem possibilitar captura e soltura após pronta recuperação anestésica de aves silvestres, sem necessidade de eutanásia ou abate para colheita. Adicionalmente, o uso do equipamento de videocirurgia portátil demonstrou-se adequado à realização do trabalho a campo.

As limitações do presente estudo referem-se à não realização de estudo microbiológico da flora cloacal após a realização do preparo asséptico e de fluido da cavidade celomática ao término dos procedimentos cirúrgicos, e da avaliação das respostas hematológica, inflamatória e de estresse oxidativo das aves operadas, para melhor comprovação da eficácia e segurança das técnicas propostas. Entretanto, acredita-se no mínimo impacto e repercussão ao organismo diante dos resultados clínicos apresentados nesse estudo.

As possibilidades de estudos futuros posteriores à realização do experimento apresentado nessa dissertação envolvem: (1) investigação de procedimentos cirúrgicos mais complexos acessados por ambas as técnicas de NOTES; (2) uso das técnicas de NOTES para biópsias e outras intervenções intracelomáticas em espécies de aves exóticas a campo.

REFERÊNCIAS

- AUYANG, E. D. et al., Natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES®): a technical review. **Surgical Endoscopy**, v. 25, n. 10, p. 3135-3148, 2011.
- BARON, T. H. Natural orifice transluminal endoscopic surgery. **British Journal of Surgery**, v.94, n. 1, p. 1-2, 2007.
- BASSO, P. C. et al. Ovariosalpingo-histerectomia em cadelas: comparação da dor e análises cardiorrespiratória, pressórica e hemogasométrica nas abordagens convencional, por NOTES Híbrida e NOTES Total. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 5, p. 1329-1338, 2014.
- BRUN, M. V. *et al.* Ovariohysterectomy in a dog by a hybrid NOTES technique a case report. **Canadian Veterinary Journal**, v. 52, p. 637-640, 2011.
- CARVALHO, P. H. et al. NOTES transvaginal em égua: estudo preliminar. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 17, p. 67-72, 2010.
- CORREIA, F. M. R. **Cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais, uma via de abordagem inovadora**. 2012. 38p. Dissertação (Mestrado em medicina) – Universidade do Porto, Porto, 2012.
- COTTON, R. J.; HERNANDEZ-DIVERS, S. J. Endoscopic removal of gastrointestinal foreign bodies in two african grey parrots (*Psittacus erithacus*) and a hyacinth macaw (*Anodorhynchus hyacinthinus*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 31, n. 4, 2017.
- CRIVELARO, M. R. et al. Princípios de videocirurgia em aves. **Investigação**, v. 15, n. 9, p. 55-61, 2016.
- CROSTA, L. Avian endoscopy. In: 30TH WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION WORLD CONGRESS PROCEEDINGS. 2005, Cidade do México, México. **Proceedings...** Cidade do México. 2005.
- CULP, W. T. N.; MAYHEW, P. D.; BROWN, D. C. The effect of laparoscopic versus open ovariectomy on postsurgical activity in small dogs. **Veterinary Surgery**, v. 38, n. 7, p. 811-817, 2009.
- DESMARCHELIER, M. R.; FERRELL, S. T. The value of endoscopy in a wildlife raptor service. **The Veterinary Clinics – Exotic Animals**, v. 18, n. 3, p. 463-477, 2015.
- DUQUE, C. T. N.; MORENO, J. C. D. Anestesia e analgesia para videolaparoscopia. In: BRUN, M. V. (Ed.). **Videocirurgia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2015. p. 7-20.
- FERANTI, J. P. S. et al. NOTES Híbrida na realização de ovariosalpingohisterectomia em cadelas. In: XVIII MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2008, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo, 2008.

FILHO, P. V. S.; SANTOS, M. P., ETTINGER, J. E. M. T. M. Cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais: realidade atual. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 36 n. 2 p. 167-172, 2009.

FREEMAN, L. et al. Evaluation of the learning curve for natural orifice transluminal endoscopic surgery: bilateral ovariectomy in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 40, n. 2. p. 140-150, 2011.

FREEMAN, L.; RAHMANI, E. Y. Oophorectomy by natural orifice transluminal endoscopic surgery: feasibility study in dogs. **Gastrointestinal endoscopy**, v. 69, n. 7, p. 1321-1332, 2009.

GROMSKI, M. A. et al. Pre-clinical training for new NOTES procedures: from ex-vivo models to virtual reality simulators. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 401-412, 2016.

HANLEY, C. S. et al. Interclavicular hemangiosarcoma in a double yellow-headed amazon parrot (*Amazona ochrocephala oratrix*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 19, n. 2, 2005.

HARRISON, G. J. Endoscopic examination of avian gonadal tissue. **Veterinary Medicine and Small Animal Clinician**, v. 73, p. 479-484, 1978.

HEIDERICH, E.; SCHILDGER, B.; LIERZ, M. Endoscopic vasectomy of male feral pigeons (*Columba livia*) as a possible method of population control. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 29, n. 1, 2015.

HERNANDEZ-DIVERS S. J.; HERNANDEZ-DIVERS, S. M. Avian diagnostic endoscopy. **Compendium, Continuing Education for Veterinarians**, v. 26, n. 11, p. 839–852, 2004.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J. Avian diagnostic endoscopy, **The Veterinary Clinics of North America – Exotic Animal Practice**, v. 13, n. 2, p. 187-202, 2010.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J. Endosurgical debridement and diode laser ablation of lung and air sac granulomas in psittacine birds. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 16, n. 2, p. 138-145, 2002.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J. et al. Endoscopic orchidectomy and salpingohysterectomy of pigeons (*Columba livia*): an avian model for minimally invasive endosurgery. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 21, n. 1, p. 22-37, 2007.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J. Minimally invasive endoscopic surgery of birds. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 19, n. 2, p. 107-120, 2005.

HUNG, C.S.; SLADAKOVIC, I.; DIVERS, S. J. Diagnostic value of plasma biochemistry, haematology, radiography and endoscopic visualisation for hepatic disease in psittacine birds. **Veterinary Record**, 2019 [Ahead of print]. Disponível em: <https://veterinaryrecord.bmj.com/content/vetrec/early/2019/11/20/vr.105214.full.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2020.

JAGANNATH, S. B. et al. Peroral transgastric endoscopic ligation of fallopian tubes with long-term survival in a porcine model. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 61, n. 3, p. 449-453, 2005.

- JONES, D. M. et al. Sex determination of monomorphic birds by fiberoptic endoscopy. **Veterinary Record**, v. 15, p. 596-598, 1984.
- KALLOO, A. N. et al. Flexible transgastric peritoneoscopy: a novel approach to diagnostic and therapeutic interventions in the peritoneal cavity. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 60, n. 1, p. 114-117, 2004.
- KOLLIAS, G. V. Avian endoscopy. In: JACOBSON, E. R.; KOLLIAS, G. V. (Eds.). **Contemporary issues in small animal medicine, exotic animals**. New York: Churchill Livingstone, 1988. p. 75-104.
- KOLLIAS, G. V.; HARRISON, G. B. Biopsy techniques. In: JACOBSON, E. R.; KOLLIAS, G. V. (Eds.). **Clinical avian medicine and surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p. 245-249.
- LACY, A. M.; ADELSDORFER, C. Totally transrectal endoscopic total mesorectal excision (TME). **Colorectal Disease**, v. 13, n. 7, p. 43-46, 2011.
- LEWIS, D. D. et al. Hepatic lobectomy in the dog: a comparison of stapling and ligation techniques. **Veterinary Surgery**, v. 19, n. 3, p. 221-225, 1990.
- LIMA, E. et al. Transvesical endoscopic peritoneoscopy: a novel 5 mm port for intra-abdominal scarless surgery. **Journal of Urology**, v. 176, n. 2, p. 802-805, 2006.
- MCCLARAN, J. K.; BOUTE, N. J. Complications and need for conversion to laparotomy in small animals. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 39, n. 5, p. 941-951.
- MCDEVITT, H. L. et al. Short-term clinical outcome of laparoscopic liver biopsy in dogs: 106 cases (2003-2013). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 248, n. 1, p. 83-90, 2016.
- MEINING, A. et al. NOTES in Europe: summary of the working group reports of the 2012 EURO-NOTES meeting. **Endoscopy**, v. 45, n. 3, p. 214-217, 2013.
- MORIS, D. N. *et al.* Surgery via natural orifices in human beings: yesterday, today, tomorrow. **The American Journal of Surgery**, v. 204, n. 1, p. 93-102, 2011.
- NAU, P. et al. Safe alternative transgastric peritoneal access in humans: NOTES. **Surgery**, v. 149, n. 1, p. 147-152, 2011.
- PARK, P.O. et al. Experimental studies of transgastric gallbladder surgery: cholecystectomy and cholecystogastric anastomosis. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 61, n. 4, p. 601-606, 2005.
- PEARL, J. P.; PONSKY, J. L. Natural orifice transluminal endoscopic surgery: a critical review. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 12, p. 1293-1300, 2008.
- PYE, G. W. et al. Endoscopic salpingohysterectomy of juvenile cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 15, n. 2, 2001.
- RAO, G. Vet al. NOTES: human experience. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America Journal**, v. 18, n. 2, p. 361-370, 2008.

RIEDER, E.; SWANSTROM, L. L. Advances in cancer surgery: natural orifice surgery (NOTES) for oncological diseases. **International Journal of Surgical Oncology**, v. 20, n. 3, p. 211-218, 2011.

ROTHUIZEN, J.; TWEDT, D. C. Liver biopsy techniques. **The Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice**, v. 39, n. 3, p. 469-480, 2009.

RUSSEL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. London: Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), 1992. Disponível em: <http://altweb.jhsph.edu/publications/humane_exp/het-toc.htm>. Acesso em: 20 dez. 2019.

RYOU, M.; THOMPSON, C. C. Techniques for transanal access to the peritoneal cavity. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America Journal**, v. 18, n. 2, p. 245-260, 2008.

SAMANTA I. Diagnostic techniques. In: SAMANTA, I.; BANDYOPADHYAY, S. (Eds.). **Pet bird diseases and care**. Singapura: Springer, 2017. p. 263-277.

SEOK, S. H. et al. Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and kidney biopsies in cinereous vultures (*Aegypius monachus*). **VETMED**, v. 61, n. 12, p. 689-700, 2016.

SHIN, E. J.; KALLOO, A. N. Transcolonic NOTES: current experience and potential implications for urologic applications. **Journal of Endourology**, v. 25, n. 5, p. 743-746, 2009.

SILVA, M. A. M. **Ovário-histerectomia transvaginal por NOTES Total e comparação do trans e pós-operatório com as técnicas vídeo-assistida com único portal e convencional em cadelas**. 2012. 113p. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

SILVA, M. A. M. et al. Surgical time and complications of total transvaginal (total-NOTES), single-port laparoscopic-assisted and conventional ovariohysterectomy in bitches. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 647-654, 2015.

SOUZA, L. A. C. **Biópsia hepática via NOTES transvaginal em cadelas**. 2010. 75p. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Franca, Franca, 2010.

SWAIN, P. Nephrectomy and natural orifice transluminal endoscopy (NOTES): transvaginal, transgastric, transrectal, and transvesical approaches. **Journal of Endourology**, v. 22, n. 4, p. 811-818, 2008.

TAPIA-ARAYA, A. E. et al. Laparoscopic ovariectomy in dogs: comparison between laparoendoscopic single-site and three-portal access. **Journal of Veterinary Science**, v. 16, p. 525-530, 2015.

TAYLOR, M. Endoscopic exam and biopsy techniques. In: RITCHIEB, W. et al. (Eds.). **Principles and application of avian medicine**. Florida: Wingers, 1994. p. 327-339.