

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CHRISTIANO MARLO PAGGI CLAUS

**PERITONIOSCOPIA COM BIÓPSIA HEPÁTICA E PERITONEAL POR
LAPAROSCOPIA OU POR *NOTES* (CIRURGIA ENDOSCÓPICA TRANSLUMINAL
POR ORIFÍCIOS NATURAIS) EM SUÍNOS. PERFIL MICROBIOLÓGICO,
COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS OPERATÓRIOS E EVOLUÇÃO PÓS-
OPERATÓRIA**

CURITIBA

2010

CHRISTIANO MARLO PAGGI CLAUS

**PERITONIOSCOPIA COM BIÓPSIA HEPÁTICA E PERITONEAL POR
LAPAROSCOPIA OU POR *NOTES* (CIRURGIA ENDOSCÓPICA TRANSLUMINAL
POR ORIFÍCIOS NATURAIS) EM SUÍNOS. PERFIL MICROBIOLÓGICO,
COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS OPERATÓRIOS E EVOLUÇÃO PÓS-
OPERATÓRIA**

Dissertação apresentada ao Programa da Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos I. Campos

CURITIBA

2010

Claus, Christiano Marlo Paggi

Peritonscopia com biópsia hepática e peritoneal por laparoscopia ou por *NOTES* (cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais) em suínos. Perfil microbiológico, comparação de parâmetros operatórios e evolução pós-operatória / Christiano Marlo Paggi Claus – Curitiba, 2010.

90 f.: il. (algumas color.); 29 cm.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos I. Campos
Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

1. *NOTES*. 2. Infecção. 3. Cirurgia endoscópica. 4. Complicações.
5. Evolução pós-operatória.

I. Título.

Dedico esta dissertação ao meu pai, Neldo Claus, pelo carinho e dedicação em minha formação; e a minha mãe, Dalva Paggi (*In memoriam*), pelo exemplo de vida, solidariedade e amor. Mãe, nenhum mérito e nenhuma glória irão cobrir este vazio, esta saudade...

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho só se tornou possível devido à colaboração de inúmeras pessoas. Nomear a todos seria impossível. No entanto, gostaria de registrar aquelas pessoas e/ou instituições que estiveram mais diretamente vinculadas à realização desta dissertação e às quais agradeço:

Ao amigo e professor DR. ANTÔNIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS, orientador desta dissertação e coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, por acreditar, incentivar e orientar este projeto. Também pela oportunidade de compartilhar de seus inestimáveis conhecimentos como profissional e principalmente como pessoa.

À CAPES, que, mediante o suporte financeiro, permitiu a realização deste trabalho.

Ao colega e amigo EDUARDO AIMORÉ BONIN, com o qual divido o sucesso deste trabalho, por toda sua dedicação, um especial obrigado.

À médica veterinária e professora da Universidade Positivo, MARIA FERNANDA TORRES, pela enorme colaboração, em realizar a anestesia e avaliação pós-operatória dos animais.

Aos funcionários do Biotério da Universidade Positivo, SIRLEI PEREIRA e VANDERLEI MULLER, por auxiliarem na preparação dos animais e no cuidado pós-operatório dos mesmos.

Às acadêmicas de biomedicina das Faculdades Pequeno Príncipe, LYSSANDRA CRAVUCOV e JORDANI RODRIGUES, por colaborarem na coleta dos dados e culturas e processamento dos mesmos.

À PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DA UNIVERSIDADE POSITIVO

Aos colegas e amigos ANTONIO MORIS CURY FILHO e MARCELO DE PAULA LOUREIRO, por me convidarem a fazer parte do projeto de ensino do INSTITUTO JACQUES PERISSAT e compartilharem deste sonho.

Aos professores JÚLIO CEZAR UILI COELHO e PAULO CÉSAR ANGRIGUETTO, pelo relacionamento como mestre, pelos exemplos e oportunidades e pela grande contribuição para a minha formação ética e profissional.

Aos professores JEAN MICHEL FABRE, DAVID NOCCA e BERNARD SAINT-AUBERT, por colaborarem com meu crescimento acadêmico e profissional.

À todos os profissionais, residentes e colegas do HOSPITAL NOSSA SENHORA DAS GRAÇAS pela compreensão e apoio.

À todos os meus amigos, por ajudarem a escrever minha história.

Aos meus tios ALBERTO e TEREZINHA e primos CESAR, MURIEL, GABRIEL e RICARDO, minha segunda família, por todo suporte e afeto.

À minha futura esposa, MARIANA ANDREOLA, pelo apoio em todos os momentos, por acreditar em nosso amor e compartilhar do sonho de sermos felizes.

Aos meus irmãos, DOUGLAS MAURÍCIO PAGGI CLAUS e JONATHAS DANIEL PAGGI CLAUS, pela nossa amizade, pelo amor que nos une, vocês são meu orgulho.

“Nós somos aquilo que fazemos repetidamente.
Excelência, então, não é um ato, mas um hábito.”

Aristóteles

RESUMO

Introdução: O *NOTES* (cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais) apresenta vantagens estéticas e diminui o risco de complicações de ferida operatória, quando comparado às técnicas cirúrgicas convencionais. Além disso, pode estar associado à menor insulto fisiológico e imunológico que a cirurgia laparoscópica ou laparotomia. Entretanto, potenciais complicações infecciosas, assim como o risco de fístula pelo fechamento inadequado ou não cicatrização do local do acesso são importantes barreiras do *NOTES*. **Objetivo:** Avaliar o impacto do *NOTES*, comparado a cirurgia laparoscópica convencional, através da análise de parâmetros infecciosos e fisiológicos além de complicações operatórias e evolução pós-operatória. **Método:** Foram utilizados 12 suínos, fêmeas, adultas, divididas em dois grupos de seis animais: grupo laparoscopia e grupo *NOTES*. Os animais do GLap foram submetidos a biópsia hepática e peritoneal laparoscópica, enquanto os animais do GNotes foram submetidos aos mesmos procedimentos por via endoscópica transvaginal. Para que não houvesse interferência do tempo anestésico e cirúrgico foi adotada a técnica de “par anestésico”. Durante a operação, os animais foram monitorados, e a cada 10 minutos foram anotadas a frequência respiratória, frequência cardíaca, saturação de O₂ e concentração expiratória de CO₂. Foram colhidas hemoculturas antes do procedimento, após 24 horas e no sétimo dia de pós-operatório. Também foram colhidas culturas do local do acesso, antes e após a antissepsia, e culturas intra-abdominais no 7ºPO após a morte dos animais. Os animais foram avaliados diariamente e a variação do peso, no início e fim do experimento, foi analisada. No 7º PO, os animais foram submetidos à laparotomia para avaliação de complicações intra-abdominais e formação de aderências. Para análise estatística foram usados os testes do sinal, Mann-Whitney, t de Student e Fisher, o nível de significância adotado foi $p < 0,05$. **Resultados:** A maioria dos animais apresentou perda ponderal após o procedimento, entretanto em nenhum caso superior a 5%. Não houve diferença na variação percentual do peso entre os grupos ($p = 0,7535$). Também não foram observadas diferenças ao se comparar as médias da ETCO₂ ($p = 0,4762$), e médias da FC ($p = 0,6035$). Entretanto, o GLap apresentou médias de FR superiores ao GNotes ($p = 0,0043$) assim como as médias da saturação de O₂ ($p = 0,0080$) foram superiores. Porém, nenhum animal apresentou satO₂ inferior a 87% e esta diferença não foi considerada clinicamente significativa. Apenas um animal do GNotes apresentou complicação operatória. Nenhum animal apresentou aderências intra-abdominais pós-operatórias. Um animal do GLap e outro do GNotes apresentaram cultura intra-abdominal positiva para *Corynebacterium ssp* e *Escherichia coli*, respectivamente. Entretanto, os animais não apresentavam nenhuma alteração intra-abdominal. Não houve correlação entre a flora bacteriana do local do acesso com as culturas peritoneais. Dois animais do GLap e um do GNotes apresentaram hemoculturas positivas após o procedimento, entretanto nenhum deles apresentou sinais clínicos de infecção, e foram consideradas contaminação. **Conclusões:** Conclui-se que o *NOTES* está associado a parâmetros fisiológicos operatórios semelhantes aos encontrados na cirurgia laparoscópica. A instrumentação da cavidade abdominal, via transvaginal, não está associada à maior incidência de contaminação peritoneal. A realização de peritonioscopia transvaginal não está associada a aumento das complicações infecciosas comparado à laparoscopia.

Palavras-chave: *NOTES*. Infecção. Cirurgia endoscópica. Complicações. Evolução pós-operatória.

ABSTRACT

Introduction: *NOTES* (natural orifice transluminal endoscopic surgery) has aesthetic advantages and reduces the risk of wound complications when compared to conventional surgical techniques. Furthermore, may be associated with less physiological and immunological impact compared to laparotomy or laparoscopic procedures. However, potential infectious complications and the risk of fistula by improper closing or healing of the access site are potential barriers to *NOTES*.

Objective: The aim of this study is to evaluate the impact of *NOTES* compared to laparoscopic surgery in terms of infectious and physiological parameters, in addition to operative complications and postoperative outcome.

Method: Twelve adult female pigs were divided into two groups of 6 animals each: laparoscopy (GLap) and *NOTES* (GNotes) groups. Animals in the laparoscopy group underwent laparoscopic liver and peritoneal biopsies, while animals in the *NOTES* group underwent the same procedures endoscopically via transvaginal access. In order to avoid interference of the time in the results procedures were performed with the same anesthetic and surgical times. During the operation, the animals were monitored, and every 10 minutes the respiratory rate, heart rate, O₂ saturation and end tidal CO₂ were recorded. In all animals, blood cultures were taken before the procedures, after 24 hours and seven days postoperatively. Cultures of the access site before and after antiseptics, and intraabdominal cultures in the 7th PO day were also collected. Animals were evaluated daily and the change in body weight, at the beginning and end of the experiment, was analyzed. On the seventh PO day the animals underwent laparotomy for the evaluation of abdominal complications and adhesion formation. For statistical analysis, Sign`s, Mann-Whitney`s, t Student`s and Fisher`s tests were applied with the level of significance set at $p < 0,05$, for all tests.

Results: Most animals presented weight loss after the procedure, but in no case was more than 5%. There was no difference in the percentage change in body weight between the two groups ($p = 0.7535$). There were also no differences when comparing the mean ET CO₂ ($p = 0.4762$) and mean HR ($p = 0.6035$). However, GLap presented mean RR higher than GNotes ($p = 0.0043$) as well as the mean O₂ saturation ($p = 0.0080$). However, no animal showed O₂ saturation less than 87% and this difference was not considered clinically significant. Only one animal had an operative complication, in the GNotes. No animal presented intra-abdominal adhesions after surgery. One animal on GLap and another one on GNotes had intra-abdominal positive culture for *Corynebacterium spp* and *Escherichia coli*, respectively. However, animals showed no intra-abdominal abnormalities. There was no correlation between the bacterial flora of the access site and that of the peritoneal cultures. Two animals in GLap and one in GNotes had positive blood cultures after the procedure, but none showed clinical signs of infection, and were considered sample contaminations.

Conclusions: It is concluded that the *NOTES* is linked to changes in the physiological parameters similar to those found in laparoscopic procedures. Instrumentation of the abdominal cavity, via transvaginal, is not associated with higher incidences of peritoneal contaminations. Transvaginal peritoneoscopy is not associated with increased infectious complications compared to laparoscopy.

Key words: *NOTES*. Infection. Endoscopic surgery. Complications. Postoperative

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 -	EVOLUÇÃO DA CIRURGIA VIDEOLAPAROSCÓPICA.....	21
QUADRO 2 -	PROCEDIMENTOS JÁ REALIZADOS POR <i>NOTES</i> COM SUCESSO EM MODELOS ANIMAIS.....	24
QUADRO 3 -	PRÉ-REQUISITOS PARA REALIZAÇÃO DE PESQUISAS EM <i>NOTES</i> (SEGUNDO O WHITE PAPER).....	25
QUADRO 4 -	POTENCIAIS OBSTÁCULOS AO DESENVOLVIMENTO CLÍNICO DO <i>NOTES</i>	26
QUADRO 5 -	CRONOLOGIA DAS REALIZAÇÕES SIGNIFICATIVAS EM <i>NOTES</i>	26
GRÁFICO 1 -	ETCO ₂ , POR GRUPO, AO LONGO DO TEMPO	46
GRÁFICO 2 -	satO ₂ , POR GRUPO, AO LONGO DAS AVALIAÇÕES.	47
GRÁFICO 3 -	GRÁFICO DA FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA AO LONGO DAS AVALIAÇÕES.	48
GRÁFICO 4 -	GRÁFICO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA AO LONGO DAS AVALIAÇÕES.	49
FIGURA 1 -	(A)TERMOSTATO QUE REGULA TEMPERATURA E CICLO NOITE/DIA E (B) ANIMAIS ACOMPANHADOS NO PÓS- OPERATÓRIO	74
FIGURA 2 -	EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NA ANESTESIA, PROCEDIMENTOS POR LAPAROSCOPIA E <i>NOTES</i>	74
FIGURA 3 -	DESINFECÇÃO DE ALTO GRAU DO INSTRUMENTAL (A) INSTRUMENTAL <i>NOTES</i> E (B) INSTRUMENTAL LAPAROSCOPIA	75
FIGURA 4 -	MODELO DE PREPARAÇÃO DOS ANIMAIS	75
FIGURA 5 -	TÉCNICA DE COLETA DA CULTURA VAGINAL.....	76
FIGURA 6 -	TÉCNICA DO PROCEDIMENTO LAPAROSCÓPICO.....	76
FIGURA 7 -	(A)TÉCNICA DE PUNÇÃO “AS CEGAS” DO ACESSO VAGINAL E (B) PEÇA PÓS-CIRÚRGICA DEMONSTRANDO LOCAL DA PUNÇÃO VAGINAL	77

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPARAÇÃO ENTRE O TEMPO (EM MIN) DE ANESTESIA E CIRÚRGIA.....	45
TABELA 2 - COMPARAÇÃO DO PESO INICIAL E VARIAÇÃO PÓS-PROCEDIMENTO (7ºPO) EM KG.....	45
TABELA 3 - COMPARAÇÃO DA PRESSÃO DE GÁS CARBÔNICO (ETCO ₂) ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM mmHg.	46
TABELA 4 - COMPARAÇÃO DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO (satO ₂) ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM %.....	47
TABELA 5 - COMPARAÇÃO DA FR ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM IPM.....	48
TABELA 6 - COMPARAÇÃO DA FC ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM BPM	49
TABELA 7 - COMPARAÇÃO DAS HEMOCULTURAS NOS DIFERENTES MOMENTOS	50
TABELA 8 - COMPARAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES INTRA E PÓS-OPERATÓRIAS ENTRE OS GRUPOS.....	51

LISTA DE SIGLAS

CMI - cirurgia minimamente invasiva

CL - cirurgia laparoscópica ou videolaparoscópica

NOTES - Natural Orifice Translumenal Endoscopic Surgery

GIST - Tumor do estroma gastrointestinal

NOSCAR - *Natural Orifice Surgical Consortium for Assessment and Research*

ASGE - Sociedade Americana de Endoscopia Gastrointestinal

SAGES - Sociedade Americana de Cirurgias Gastrointestinais e Endoscópicas

Ipardes - Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CCAC - *Canadian Council of Animal Care*

EUA - Estados Unidos da América

Inmetro - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

LISTA DE ABREVIATURAS

TV - transvaginal (s)
TG - transgástrica (s)
PET - peritoneoscopia endoscópica transgástrica
HA - histerectomia abdominal
HV - histerectomia vaginal
HL - histerectomia laparoscópica
EV - endovenoso
vs - *versus*
PO - (dia) pós-operatório
et al. - *et alli* (e outros)
GLap - grupo laparoscopia
GNotes - grupos *NOTES*
N - número de animais
h - hora (s)
TNF- α - fator de necrose tumoral alfa
IL-1 - interleucina 1
IL-6 - interleucina 6
CO₂ - gás carbônico
O₂ - oxigênio
FR - frequência respiratória
FC - frequência cardíaca
HT0 - hemocultura pré-procedimento
HT2 - hemocultura 24 horas pós procedimento
HT3 - hemocultura no 7^o pós-operatório
CT0 - cultura pré-antisepsia
CT1 - cultura pós-antisepsia
CT3 - cultura intra-abdominal
bpm - batimentos cardíacos por minuto
ipm - incursões respiratórias por minuto
BHI - *brain heart infusion*
ETCO₂ - concentração expiratória de gás carbônico

satO₂ - saturação de oxigênio

dp - desvio padrão

t - tempo

min - valor mínimo

max - valor máximo

PCR - proteína C reativa

UTI - Unidade de Tratamento Intensivo

p - página (s)

HR - *heart rate*

RR - *respiratory rate*

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

mg - miligrama (s)

Kg - kilograma (s)

G - gauche

ml - mililitro

mm - milímetro

min - minuto (s)

mmHg - milímetro (s) de mercúrio

® - marca registrada

ml/Kg - mililitro(s) por kilograma(s)

mg/ml - miligrama(s) por mililitro(s)

p - nível de significância estatística

± - mais ou menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 OBJETIVO.....	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 CIRURGIA LAPAROSCÓPICA	20
2.2 PAPEL DA ENDOSCOPIA	22
2.3 CIRURGIA ENDOSCÓPICA TRANSLUMINAL POR ORIFÍCIOS NATURAIS – <i>NOTES</i>	23
2.3.1 Histórico.....	23
2.3.2 Resultados obtidos com <i>NOTES</i> em estudos clínicos.....	26
2.3.3 Técnica Híbrida.....	28
2.3.4 Infecção associada ao <i>NOTES</i>	30
2.3.5 Percepção dos Pacientes em Relação a Cirurgia por Orifícios Naturais	32
2.3.6 Percepção dos Cirurgiões em Relação ao <i>NOTES</i>	33
2.3.7 Estudos Experimentais com <i>NOTES</i> em Animais	34
3 MATERIAL E MÉTODO	38
3.1 MATERIAL	38
3.1.1 Animais.....	38
3.1.2 Material Utilizado	38
3.2 MÉTODO.....	39
3.2.1 Grupos de Estudo.....	39
3.2.2 Procedimento Cirúrgico	40
3.2.3 Evolução Pós-Operatória.....	41
3.2.4 Morte dos Animais	42
3.3 DADOS AVALIADOS	42
3.3.1 Complicações Operatórias	42
3.3.2 Parâmetros Intra-Operatórios	42
3.3.3 Evolução Pós-Operatória.....	42
3.3.4 Culturas	43
3.3.5 Hemoculturas.....	43
3.3.6 Qualidade das biópsias	44
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
4 RESULTADOS	45

4.1 TEMPO ANESTÉSICO E TEMPO CIRÚRGICO	45
4.2 PESO	45
4.3 CONCENTRAÇÃO EXPIRATÓRIA DE GÁS CARBÔNICO (ETCO ₂)	46
4.4 SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO (satO ₂)	47
4.5 FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA (FR)	48
4.6 FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC)	49
4.7 HEMOCULTURA.....	50
4.8 CULTURA INTRA-ABDOMINAL	50
4.9 COMPLICAÇÕES	51
4.10 ADERÊNCIAS.....	51
4.11 RESULTADOS DA ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	51
5 DISCUSSÃO	53
5.1 ESCOLHA DO MODELO EXPERIMENTAL.....	53
5.2 PROTOCOLO ANESTÉSICO	53
5.3 BIÓPSIA HEPÁTICA	54
5.3.1 Biópsia Hepática Por <i>NOTES</i>	55
5.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS	55
5.4.1 Aderências.....	56
5.4.2 Avaliação Intra-Operatória.....	57
5.5 COMPLICAÇÕES	59
5.5.1 Relacionadas ao acesso.....	59
5.5.2 Avaliação da cavidade e obtenção das biópsias	59
5.5.3 Evolução pós-operatória.....	59
5.5.4 Avaliação microbiológica	60
5.6 PERSPECTIVAS.....	62
6 CONCLUSÃO	64
REFERENCIAS.....	65
APÊNDICE.....	74
ANEXOS	78

1 INTRODUÇÃO

A despeito de muitas décadas de desenvolvimento tecnológico, a realização do ato cirúrgico propriamente dito (habilidade de corte e sutura de artesão) apresentou avanços relativamente modestos. O advento da cirurgia minimamente invasiva (CMI), entretanto, representou importante progresso na área cirúrgica. A premissa tradicional de que grandes problemas cirúrgicos necessitam de grandes incisões para o tratamento adequado não é mais válida.

A primeira cirurgia laparoscópica (CL) ou videolaparoscópica foi realizada no início do século XX, quando cirurgiões adaptaram cistoscópios para examinar a cavidade peritoneal (CHANG & REGE, 2005). Em 1987, foi realizada na França a primeira colecistectomia laparoscópica (LITYNSKI, 1995; MOURET, 1991). Os pacientes apresentavam menos dor e recuperação pós-operatória mais precoce, assim, rapidamente a videolaparoscopia se tornou o método de escolha para a remoção da vesícula biliar. Um dos objetivos da CMI é reduzir a magnitude do trauma cirúrgico quando comparada à técnica cirúrgica tradicional. A redução da resposta local e sistêmica à injúria produz benefícios fisiológicos, imunológicos e clínicos. As vantagens são menor dor pós-operatória e tempo de hospitalização, menor taxa de complicações e redução do tempo de recuperação, além de melhor efeito cosmético quando comparados à cirurgia aberta correspondente.

Recentemente, na busca de melhorias para reduzir ainda mais o trauma cirúrgico, surgiu a cirurgia por orifícios naturais. O conceito de cirurgia sem cicatriz sempre fascinou pacientes e cirurgiões. É com este objetivo que a cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais (N.O.T.E.S) - terminologia consagrada do inglês que significa: *Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery* - têm se desenvolvido (WAGH & THOMPSON, 2007).

O princípio central do NOTES consiste na passagem de um endoscópio flexível através de um dos orifícios naturais do corpo, perfuração de uma víscera, e realização da cirurgia sem violar a integridade da parede abdominal. O endoscópio pode ser inserido através da boca, ânus, uretra ou vagina, com perfuração do estômago, cólon, bexiga ou fundo de saco, respectivamente. Uma vez o endoscópio dentro da cavidade abdominal, o pneumoperitônio é gerado por insuflação do próprio aparelho. Instrumentos endoscópicos são então passados através de canais de

trabalho para manipulação tecidual. Quando a operação é completada, o endoscópio é retirado e a abertura do lúmen da víscera é fechada.

Além do melhor efeito estético, a ausência de incisões na parede abdominal pode estar associada à menor dor pós-operatória e risco reduzido de complicações relacionadas à incisão cirúrgica como infecção de ferida ou hérnia incisional. Entretanto, muitas limitações técnicas são evidentes. A principal é o fato de uma abertura ser intencionalmente realizada em uma víscera ou estrutura potencialmente contaminada, o que contraria os princípios de cirurgia estéril. Dessa forma, o *NOTES* poderia ter consequências infecciosas e imunológicas que não estão presentes na laparoscopia ou na cirurgia convencional. O fechamento não adequado ou não cicatrização da perfuração também representa um risco adicional de complicações (JONATHAN & JEFFREY,2008).

1.1 OBJETIVO

O objetivo deste estudo é determinar a ocorrência de contaminação e infecção após *NOTES* comparado com a cirurgia videolaparoscópica convencional em modelo suíno vivo, mediante a análise de hemoculturas e culturas intra-abdominais. Também são avaliados parâmetros fisiológicos intra-operatórios, complicações e evolução pós-operatórias.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A laparotomia ou cirurgia aberta até poucos anos era considerada o padrão-ouro no tratamento da maioria das afecções abdominais. Entretanto, complicações como infecção de ferida, hérnias incisionais, bridas, dor e retardo na recuperação pós-operatória justificaram o surgimento da cirurgia laparoscópica e a investigação de outros métodos menos invasivos.

2.1 CIRURGIA LAPAROSCÓPICA

A introdução da videolaparoscopia representou uma mudança radical nos paradigmas da prática cirúrgica. A premissa “grandes cirurgias, grandes incisões” não é mais aplicável. A primeira CL foi realizada no início do século XX, quando cirurgiões adaptaram cistoscópios para examinar a cavidade peritoneal. Inicialmente, essa técnica se limitou ao diagnóstico de tuberculose e carcinomatose peritoneais. Posteriormente, modificações no equipamento permitiram a realização de operações simples, como biópsias e ligadura tubária. A associação do laparoscópio a uma câmara de vídeo, em meados da década de 80, aumentou o potencial da laparoscopia, ao deixar livre as duas mãos do cirurgião para manipular os instrumentos. Os assistentes puderam, simultaneamente, acompanhar o procedimento e auxiliar o cirurgião durante a operação (CHANG & REGE, 2005). Apenas cinco anos após a realização da primeira colecistectomia por videolaparoscopia, esta já havia se tornado o método de escolha para retirada da vesícula biliar (SUGIMOTO *et al.*, 2009). No quadro 1 estão listados os principais avanços na padronização da CL.

1921	Benjamin Orndoff Otto Goetze	primeira agulha de pneumoperitônio desenvolvimento do insuflador
1938	Janos Veress	agulha para pneumoperitonio
1948	Raoul Palmer	recomendou o monitoramento da pressão intra-abdominal
Década de 80	Cuschieri	laparoscopia para o diagnóstico de metástases peritoneais
	Kurt Semm	primeira apendicectomia
	Muhe	primeira colecistectomia (não publicada)
	Mouret, Dubois, Perissat	colecistectomia com videoendoscópio rígido
Década de 90		realização da maioria dos procedimentos abdominais por CL

QUADRO 1 - EVOLUÇÃO DA CIRURGIA VIDEOLAPAROSCÓPICA
FONTE: O AUTOR

O principal objetivo da CMI é a redução da magnitude do trauma cirúrgico (CHAUDHARY *et al.*, 2009). As vantagens, quando comparadas à cirurgia tradicional, são: menor agressão tecidual, menor resposta endocrinometabólica ao trauma, redução da dor pós-operatória, redução no tempo de internamento hospitalar e no retorno às atividades habituais. O resultado estético também representa um grande atrativo.

Além disso, estudos experimentais mostraram que a cirurgia aberta provoca maior grau de imunossupressão quando comparado à laparoscopia (WALKER *et al.*, 1999; NEUHAUS *et al.*, 2000; GUPTA & WATSON, 2001). Entretanto, após minilaparotomia estas alterações não são significativamente diferentes da laparoscopia, sugerindo que o grau de imunossupressão esteja também relacionado ao tamanho da incisão abdominal e a extensão do quanto à parede abdominal é traumatizada (ALLENDORF *et al.*, 2009).

Esses resultados levaram cirurgiões a desenvolverem métodos para a realização de procedimentos intra-abdominais e torácicos mais complexos. Este

processo foi estimulado pela indústria, que viu um grande potencial comercial na CMI. Atualmente, quase todas as operações abdominais e muitos procedimentos torácicos podem ser realizados por essa técnica.

2.2 PAPEL DA ENDOSCOPIA

Inicialmente, a endoscopia era utilizada apenas como exame diagnóstico e incluía avaliação de doenças esofágicas e gástricas. Entretanto, rapidamente procedimentos terapêuticos para sangramento gastrointestinal foram introduzidos, incluindo o uso de eletrodos monopolar e bipolar, terapia com injeção de vasoconstritores e aplicação de *clips*. Estes métodos foram extremamente eficazes e mudaram o tratamento dos pacientes com sangramento gastrointestinal, reduzindo drasticamente a necessidade de cirurgia de emergência (CLARKE *et al.*, 2010). A gastrostomia endoscópica percutânea, descrita em 1979, é o primeiro procedimento endoscópico que propositalmente viola o lúmen gástrico, e estendeu a endoscopia para fora do tubo digestivo (GAUDERER *et al.*, 1980). A introdução da colecistectomia laparoscópica aumentou as indicações da colangiopancreatografia endoscópica retrógrada para detecção e remoção de cálculos, definição da anatomia biliar e manejo de fístulas biliares (GUPTA & WATSON, 2001; STRASBERG & SOPER, 1995). Além disso, avanços técnicos e equipamentos resultaram em aumento no número de papilotomias e inserção de próteses. No cólon, a colonoscopia evoluiu da simples identificação e localização de afecções benignas e malignas para remoção da maioria dos pólipos.

Em 1993, Collard *et al.* relataram o manejo endoscópico dos divertículos faringo-esofágicos, também conhecidos como divertículos de Zenker. As paredes anterior e posterior do esôfago são anastomosadas e seccionadas usando endogrampeador inserido através de um endoscópio especialmente desenvolvido, prevenindo fístula, mediastinite ou sangramento. Sen e Bhattacharyya (2004), em revisão da literatura, relataram complicações de 0% a 17% e mortalidade de 0,43%. Resultados a curto-prazo mostraram resolução completa dos sintomas em 53% a 100% dos pacientes. Outra opção de tratamento endoscópico é a secção com eletrocautério do tecido entre o divertículo e o esôfago para criar uma cavidade única (RIZZETTO *et al.*, 2008).

Ao mesmo tempo, todas as áreas de atuação da endoscopia evoluíram e se tornaram altamente sofisticadas. Novos esforços para ablação e remoção de mucosa de Barrett estão sendo avaliados (MALIK *et al.*, 2006; SPECHLER *et al.*, 2010). A técnica de mucosectomia e de dissecação sub-mucosa permitem realizar a exérese de cânceres superficiais do tubo digestivo ou de tumores submucosos (TADA *et al.*, 1984; URAOKA *et al.*, 2005). Tumores do estroma gastrointestinal (GIST) podem ser submetidos à ressecção endoscópica, apesar de ainda controverso em função do risco de perfuração e de comprometimento das margens cirúrgicas (LANDI *et al.*, 2010). Obstruções gástricas ou colônicas atribuídas a doenças benignas ou malignas podem ser tratadas eficazmente pela colocação de próteses enterais.

Além disso, a ultrassonografia endoscópica tem se tornado uma importante ferramenta para avaliar a natureza das lesões assim como a profundidade de invasão.

Novas áreas de terapia endoscópica endoluminal são promissoras para o futuro. Vários dispositivos e técnicas estão sendo avaliados para o tratamento endoluminal do refluxo gastro-esofágico, assim como para o tratamento da obesidade mórbida (MALIK *et al.*, 2006; FELSHER *et al.*, 2004).

2.3 CIRURGIA ENDOSCÓPICA TRANSLUMINAL POR ORIFÍCIOS NATURAIS – NOTES

2.3.1 Histórico

A primeira descrição do uso de endoscópio através da vagina para exploração da cavidade abdominal foi realizada por Dimitri Oskarovich Ott, em 1901 na Rússia, técnica que denominou de “ventroscopia” (HARRELL & HENIFORD, 2005).

Apesar de, no final da década de 90, muitos procedimentos transvaginais (TV) com auxílio da laparoscopia terem sido publicados, esta abordagem não se desenvolveu, principalmente devido à falta de instrumental adequado. A grande revolução da cirurgia endoscópica transluminal por orifícios naturais ocorreu em 2004, quando Kaloo *et al.* demonstraram a viabilidade e segurança da exploração peritoneal transgástrica (TG) em suínos. Dezesete animais foram submetidos à

peritonioscopia TG com biópsia hepática, e destes cinco foram mantidos vivos e acompanhados. Não foi observada nenhuma complicação. Todos os animais se recuperaram satisfatoriamente e tiveram ganho de peso (KALLOO *et al.*, 2004). Desde então, muitas pesquisas têm avaliado técnicas e viabilidade do *NOTES* em modelos animais, incluindo ligadura tubária, colecistectomia, gastrojejunostomia, esplenectomia, ooforectomia e até pancreatectomia (Quadro 2).

Cirurgia Geral	Procedimentos Ginecológicos
Adrenalectomia	Histerectomia
Apendicectomia	Ligadura tubária
Nefrectomia	Ooforectomia
Colecistectomia	Histerectomia parcial
Espenectomia	
Biópsia Hepática	
Hérnia Inguinal	
Gastrectomia vertical	
Gastroenteroanastomose	
Pancreatectomia distal	
Hepatectomia	

QUADRO 2 - PROCEDIMENTOS JÁ REALIZADOS POR *NOTES* COM SUCESSO EM MODELOS ANIMAIS

FONTE: O AUTOR

Em curto período de tempo, o *NOTES* demonstrou ser viável em vários estudos com animais em laboratório. Em humanos, Rao e Reddy realizaram na Índia, em 2004, uma série de apendicectomias e ligaduras tubárias transgástricas. Apesar de não publicados, os vídeos foram amplamente divulgados em congressos ao redor do mundo. A série apresentou pelo menos 12 pacientes, com relato de bons resultados (POTTER & SWANSTROMW, 2009). Provavelmente o primeiro caso de *NOTES* “puro” publicado em humanos seja o caso de uma sonda de gastrostomia colocada para nutrição que migrou três dias após a colocação. O estômago não tinha aderido ainda à parede abdominal anterior, e portanto havia uma comunicação livre entre o lúmen do estômago e o abdome. O abdome foi explorado e irrigado via transgátrica, e a sonda de gastrostomia recuperada e recolocada (MARKS, 2007).

O entusiasmo inicial da cirurgia abdominal sem cicatriz (“*no scar*”) pode ter resultado em aplicações clínicas prematuras da cirurgia por orifícios naturais. Para que o *NOTES* não propagasse sem restrições, em 2005 uma nova organização foi criada: a *Natural Orifice Surgical Consortium for Assessment and Research* (NOSCAR). Em colaboração conjunta, membros da Sociedade Americana de Endoscopia Gastrointestinal (ASGE) e da Sociedade Americana de Cirurgias Gastrointestinais e Endoscópicas (SAGES) se juntaram com o objetivo de regular o progresso do *NOTES* e garantir a segurança das aplicações clínicas.

Um importante documento foi elaborado pela NOSCAR, chamado de “*White Paper*”, que delinea as orientações para cirurgia por orifícios naturais tanto em animais como em humanos (RATTNER & KALLOO, 2006).

Neste documento, os autores determinam os pré-requisitos para a realização de pesquisas em *NOTES* (Quadro 3) assim como os principais problemas técnicos e algumas soluções potenciais (Quadro 4). Foi dada especial ênfase à rigorosa pesquisa científica antes do emprego clínico do *NOTES*.

- Deve ser realizado por equipe multidisciplinar, que tenha habilidades terapêuticas endoscópicas avançadas, assim como laparoscópicas avançadas;
- Deve ter fácil acesso a laboratório experimental para realizar pesquisa e treinamento;
- Deve concordar em compartilhar os resultados de laboratórios com a NOSCAR;
- Deve concordar que qualquer e todos os procedimentos animais devem ser realizados apenas após aprovação institucional;
- Deve apresentar todos os casos para um registro de resultados.

QUADRO 3 - PRÉ-REQUISITOS PARA REALIZAÇÃO DE PESQUISAS EM *NOTES* (SEGUNDO O *WHITE PAPER*)

- acesso à cavidade peritoneal;
- fechamento gástrico;
- prevenção de infecção ;
- desenvolvimento de dispositivos de suturas e anastomose;
- desenvolvimento de plataforma de treinamento;
- orientação espacial;
- manejo de complicações intra-operatórias;
- alterações fisiológicas indesejáveis.

QUADRO 4 - POTENCIAIS OBSTÁCULOS AO DESENVOLVIMENTO CLÍNICO DO *NOTES* (SEGUNDO O *WHITE PAPER*)

No início de 2007, Grady e Bessler *et al.*, relataram a realização de colecistectomia em humanos por acesso TV com auxílio da laparoscopia. Poucos meses mais tarde, Marescaux *et al.* (2007) realizaram a primeira colecistectomia transvaginal sem nenhuma incisão cutânea, à exceção de uma agulha de 2 mm que permitia a insuflação e controle da pressão intra-abdominal. Quase ao mesmo tempo, Potter e Swanstrom (2009) relataram a primeira colecistectomia transgástrica (Quadro 5).

2004	2005	2006	2007
Peritoneoscopia transgástrica	NOSCAR	White Paper	- Primeiro <i>NOTES</i> publicado - colecistectomia transvaginal - colecistectomia transgástrica (relatos em humanos)

QUADRO 5 - CRONOLOGIA DAS REALIZAÇÕES SIGNIFICATIVAS EM *NOTES*
FONTE: O AUTOR

2.3.2 Resultados obtidos com *NOTES* em estudos clínicos

Considerando que o *NOTES* utiliza um acesso não-abdominal, as vantagens potenciais incluem menor dor pós-operatória associado a reduzido risco de complicações relacionadas à incisão cirúrgica, como infecção de ferida ou hérnia incisional.

Zorrón *et al.* (2008) realizaram, com sucesso, colecistectomia TV em quatro pacientes. Não foram relatadas complicações intra ou pós-operatórias e três pacientes não necessitaram nenhuma medicação analgésica pós-operatória.

Award *et al.* (2009) relataram os primeiros resultados a longo prazo de quatro pacientes submetidos a colecistectomia TG. Com seguimento médio de 15 meses (entre 14 e 18 meses), todos pacientes relataram estar satisfeitos com os resultados do procedimento. Nenhum sintoma gastrointestinal específico ou alteração endoscópica foi observado.

Hazey *et al.* (2008), publicaram o primeiro ensaio clínico humano com NOTES. Os autores realizaram peritoneoscopia endoscópica transgástrica (PET) em pacientes com suspeita de neoplasia de cabeça de pâncreas. O diagnóstico inicial laparoscópico foi realizado em 10 pacientes. Um segundo cirurgião, sem saber dos achados da laparoscopia, realizou PET sob supervisão laparoscópica. Em 2010, os dados foram atualizados, aumentando o número de pacientes para 20. O tempo cirúrgico para o diagnóstico laparoscópico foi 10 minutos, comparado com 21 minutos para PET. Em 19 dos 20 casos, os achados diagnósticos da PET estiveram de acordo com os achados durante a laparoscopia. Não houve complicações diretamente relacionadas ao procedimento TG. Os autores concluem que a peritoneoscopia transgástrica em humanos é viável e segura e pode se tornar rotina no estadiamento de pacientes com câncer de pâncreas localmente avançado que poderiam requerer laparoscopia ou laparotomia (NAU *et al.*, 2010).

Souza *et al.* (2009) relataram a utilização de dois endoscópios via TV para realização de colecistectomia em quatro pacientes. O procedimento foi possível em todos os casos. O tempo operatório médio foi 210 minutos. Não foram relatadas complicações pós-operatórias.

Entretanto, Palanivelu *et al.* (2008), ao publicarem o primeiro caso de apendicectomia TV totalmente endoscópica, relataram insucesso em cinco outras tentativas. Duas pacientes apresentaram desconforto vaginal no pós-operatório.

Park *et al.* (2009), em três pacientes submetidos a apendicectomia TG, relataram uma conversão para laparoscopia convencional devido a dificuldades técnicas (apêndice gravemente inflamado), uma conversão para cirurgia aberta devido a não localização do apêndice por via endoscópica. Em apenas um caso o procedimento foi concluído por via TG. Um caso de pneumotórax, complicação grave, foi relatado durante o fechamento da gastrostomia. Os autores consideraram

a técnica factível, porém com significantes problemas técnicos a serem solucionados.

Zorron *et al.* (2010), reportaram recentemente os resultados, a curto prazo, da cirurgia por orifícios naturais em estudo prospectivo e multicêntrico (IMTN Study). Foram realizados diferentes procedimentos, via TV e TG, em 362 pacientes. O tempo operatório médio para colecistectomia TV foi 96 minutos, comparados com 111 minutos para colecistectomia TG. A taxa de complicações foi de 8,84%. Três quartos dos pacientes submetidos a colecistectomia ou apendicectomia não necessitaram de analgesia pós-operatória.

2.3.3 Técnica Híbrida

Devido às dificuldades técnicas e falta de instrumental adequado para realização dos procedimentos totalmente por orifícios naturais, a maioria dos autores têm realizado procedimentos híbridos, ou seja, combinando a utilização do endoscópio por orifícios naturais com portais de laparoscopia tradicional ou minilaparoscopia.

Zornig *et al.* (2009) realizaram colecistectomia TV com um portal acessório de 5 mm em 68 pacientes. Não houve nenhum caso de conversão e o tempo cirúrgico médio foi de 51 minutos. Nenhuma complicação intra-operatória ou pós-operatória imediata foi relatada. Entretanto, uma paciente apresentou abscesso pélvico três semanas após a operação. Todas as pacientes foram entrevistadas 3 e 10 meses após a cirurgia e não apresentavam nenhuma queixa abdominal ou ginecológica.

Laudano *et al.* (2009) analisaram a satisfação pós-operatória de vinte e duas pacientes submetidas à colecistectomia TV com dois portais de laparoscopia. O procedimento foi completo em 21 pacientes (95%). Uma paciente necessitou conversão para laparoscopia devido a aderências decorrentes de cinco cesárias prévias. Em outro caso houve necessidade de minilaparotomia para controle de sangramento do fundo de saco vaginal. A avaliação ginecológica mostrou adequada cicatrização do acesso vaginal, sem complicações locais. Nenhuma paciente referiu dispareunia.

Salinas *et al.* (2010) publicaram sua experiência inicial de 39 colecistectomias por NOTES híbrido (27 acessos TG e 12 acessos TV). O tempo

cirúrgico médio foi de 140 minutos. Embora o tempo cirúrgico tenha sido discretamente menor no grupo TG comparado ao TV, a diferença não foi estatisticamente significativa. Houve taxa de morbidade global de 20% e a taxa de mortalidade foi zero. As taxas de complicações para os grupos TG e TV foram de 18% e 25%, respectivamente, diferença que não foi estatisticamente significativa. As complicações relacionadas propriamente a colecistectomia foram fístula biliar e infecção de ferida em dois casos, enquanto as relacionadas ao acesso TG foram hematoma da grande curvatura, sepse abdominal, laceração da mucosa do esôfago e perfuração do terço superior do esôfago. Relacionada ao acesso TV foi relatada uma injúria colônica secundária ao fechamento vaginal. Devido a estas complicações, houve uma conversão para cirurgia aberta, uma conversão para laparoscopia e três re-operações, por sepse abdominal, fístula biliar e perfuração esofágica.

Pugliese *et al.* (2010) não relataram nenhuma complicação intra-operatória e nenhuma conversão em 18 pacientes submetidas à colecistectomia TV híbrida. O tempo cirúrgico médio foi de 75 minutos. A única complicação relatada foi fístula biliar, tratada conservadoramente. Nas primeiras 48 horas pós procedimento nenhuma paciente referiu dor abdominal ou na região vaginal. Após seguimento médio de 12 meses, nenhuma paciente referiu dispareunia ou desconforto vaginal.

Palanivelu *et al.* (2009) relataram os resultados de oito pacientes submetidas à colecistectomia TV híbrida. Houve duas conversões para laparoscopia convencional, que foram excluídas da análise. O tempo cirúrgico médio foi de 148,5 minutos. A taxa de complicações maiores foi de 16% (1/6), uma paciente apresentou coleção sub-hepática tratada por drenagem percutânea.

Cuadrado-Garcia *et al.* (2010) reportaram série prospectiva de 25 pacientes submetidas à colecistectomia TV com dois portais de minilaparoscopia. Não ocorreram complicações intra-operatórias. Uma paciente apresentou hematuria leve que resolveu em menos de 12 horas, e nenhuma outra complicação ocorreu durante seguimento médio de 140 dias. Todas as pacientes receberam alta em 24 horas ou menos.

Linke *et al.* (2010) relataram os resultados do uso rotineiro da colecistectomia TV híbrida na prática clínica. De 137 pacientes consecutivas com colelitíase, após os critérios de exclusão, 102 foram submetidas ao procedimento TV. Houve duas conversões para laparoscopia e duas complicações maiores pós-

operatórias, um infarto cerebral e uma herniação pelo acesso umbilical. Complicações menores ocorreram em 12,7% das pacientes. Seis semanas pós procedimento, foi relatado menor taxa de dispareunia que no pré-operatório ($p=0,0049$).

2.3.4 Infecção associada ao NOTES

Uma das maiores preocupações associada ao NOTES é o risco de infecção intra-abdominal decorrente de contaminação oriunda do acesso ou do fechamento inadequado do mesmo.

2.3.4.1 NOTES transgástrico

Narula *et al.* (2009) realizaram estudo em 10 pacientes com câncer de pâncreas presumido. Todos os pacientes foram submetidos à laparoscopia diagnóstica seguido de peritonioscopia diagnóstica TG. Os achados da peritonioscopia TG foram comparados àqueles da laparoscopia diagnóstica, com endoscopista “cego” em relação aos achados da laparoscopia. O tempo médio para laparoscopia foi 7,2 minutos, comparados com 18 minutos para instrumentação TG. Foram colhidas amostras do aspirado gástrico e aspirado peritoneal antes da gastrotomia e aspirado peritoneal pós-gastrotomia. Não houve contaminação da cavidade peritoneal com espécies isoladas no aspirado gástrico. Não houve complicações infecciosas ou fístula anastomótica no pós-operatório, apesar da contagem total de bactérias pós gastrostomia ter sido superior à contagem do aspirado gástrico ($p=0,058$). Os pacientes foram acompanhados por 30 dias e não desenvolveram complicações infecciosas.

Narulla *et al.* (2008), com o objetivo de avaliar o potencial risco de contaminação da cavidade abdominal em decorrência da abertura do estômago, analisaram as culturas de amostras de líquidos em 50 pacientes submetidos a gastroplastia redutora em Y-de-Roux. Foram colhidas amostras do aspirado gástrico e aspirado peritoneal antes da gastrotomia e aspirado peritoneal pós-gastrotomia. Como esperado, houve diferença significativa entre a contaminação bacteriana peritoneal antes e após a gastrotomia (12% *versus* 46%; $p<0,01$). Entretanto, não

houve correlação entre as bactérias do aspirado gástrico e do aspirado peritoneal pós-gastrotomia. Nenhum paciente desenvolveu complicações infecciosas.

2.3.4.2 NOTES transvaginal

Meltomaa *et al.* (1999) realizaram estudo prospectivo observacional durante um ano com 687 mulheres que foram submetidas a 516 histerectomias abdominais (HA), 105 histerectomias vaginais (HV) e 66 histerectomias laparoscópicas (HL). Infecção pós-operatória foi a principal complicação, em 39%, 24% e 3% das pacientes submetidas à histerectomia vaginal, abdominal e laparoscópica, respectivamente. Infecção do trato urinário baixo foi responsável por mais da metade de todas as infecções (53%). Quando apenas as pacientes que receberam antibioticoprofilaxia foram analisadas, a incidência de infecção pós-operatória foi de 17,1% no grupo HA, 25% no grupo HV e 3% no grupo HL. A incidência de infecção foi significativamente menor nas pacientes que receberam antibioticoprofilaxia (18% *versus* 28%, $p = 0,001$). Histerectomia vaginal foi associada mais frequentemente a efeitos adversos, principalmente complicações infecciosas, do que histerectomia abdominal e laparoscópica.

Entretanto, Mäkinen *et al.* (2001) relataram que infecção pós-operatória é a mais comum complicação após histerectomia, com incidência de 10,5%, 13% e 9% das pacientes submetidas a HA, HV e HL, respectivamente, em mais de 10 mil procedimentos realizados. Apesar da incidência total de eventos infecciosos ter sido similar entre os três grupos, infecção do trato urinário foi claramente mais comum no grupo submetido à histerectomia vaginal (7,3%), o que pode ser explicado pelo maior uso de sonda urinária neste grupo.

Persson *et al.* (1996) relataram que a presença de vaginose bacteriana está associada a aumento do risco de infecção pós-operatória. No entanto, a utilização de antibióticos no pré ou pós-operatório de histerectomia vaginal está associada a redução do risco de complicações infecciosas.

Otossen *et al.* (2000), em estudo prospectivo randomizado, compararam os resultados a curto prazo da histerectomia abdominal, histerectomia vaginal e histerectomia vaginal assistida por laparoscopia. Histerectomia vaginal assistida por laparoscopia foi associada à maior tempo cirúrgico enquanto a HA foi associada à maior tempo de internamento hospitalar e maior tempo de recuperação. Entretanto,

a incidência de infecção de ferida e infecção vaginal pós HA, HV ou HV assistida por laparoscopia foi equivalente.

2.3.5 Percepção dos Pacientes em Relação à Cirurgia por Orifícios Naturais

Varadarajulu *et al.* (2008) realizaram questionário em 100 pacientes candidatos a colecistectomia. Foram dadas informações sobre colecistectomia laparoscópica (LC) (técnica, riscos e benefícios) assim como sobre *NOTES* (conceito, vias de acesso, potenciais vantagens, ser procedimento ainda não validado e complicações). Setenta e oito por cento dos pacientes preferiram *NOTES* e apenas 22% escolheram LC. As razões mais comuns pelas quais os pacientes escolheram *NOTES* foram menor dor (99%) e ausência de cicatriz (88%), enquanto segurança comprovada (100%) e efetividade (100%) da LC foram os principais motivos para escolha da técnica laparoscópica. A via transgástrica foi o acesso preferido para *NOTES* em 85% dos pacientes. Oitenta e um por cento das mulheres expressaram preferência pelo acesso TG sobre o acesso transvaginal e transretal. Na análise multivariada, *NOTES* foi mais comumente preferido por jovens (<50 anos), sexo feminino e histórico de exame endoscópico prévio. Dos pacientes que preferiram *NOTES*, 97% a 99% se submeteriam ao procedimento por esta técnica se as taxas de complicações fossem comparáveis à LC ($\leq 3\%$). Entretanto, esta preferência caiu para 15% se a taxa de complicações for duas vezes maior à LC (6%).

Peterson *et al.* (2009) analisaram a percepção das mulheres em relação à cirurgia *NOTES* transvaginal comparada à videolaparoscopia. Das 100 mulheres que participaram da pesquisa, 68% indicaram que escolheriam o acesso TV, desde que os resultados fossem equivalentes aos da laparoscopia. Quando questionadas sobre as razões, 61% indicaram motivação cosmética, 90% desejam diminuir o risco de hérnia e 93% minimizarem a dor. Mulheres que rejeitaram a técnica TV são mais preocupadas com questões infecciosas ($p=0.019$). Não houve diferença significativa entre mulheres jovens ou idosas, assim como não houve correlação entre idade e preocupações estéticas.

Swanstrom *et al.* (2009) analisaram a atitude dos pacientes em relação ao *NOTES* comparado à videolaparoscopia. Colecistectomia foi escolhida a operação de referência, e os dois procedimentos foram explicados. Pacientes indicaram que o

risco de complicações, tempo de recuperação e dor pós-operatória são mais importante que o tempo de internamento, efeito estético ou custos na escolha do procedimento. Quando questionados sobre a hipótese de serem submetidos à remoção da vesícula biliar, 56% optariam pelo acesso *NOTES* enquanto 44% escolheriam a técnica videolaparoscópica. As principais razões para não escolher *NOTES* foram: muito arriscado (35%), muito novo (35%), sem vantagens em relação a LC (22%) ou simplesmente não atraente (36%). Mesmo que *NOTES* apresente risco de complicações um pouco superior à laparoscopia (2% versus 1%), 80% dos pacientes escolheria a cirurgia por orifícios naturais.

Entretanto, Strickland *et al.* (2010) realizaram questionário com 300 pacientes, e demonstraram que três quartos das mulheres se mostraram indiferentes ou insatisfeitas com as perspectivas do *NOTES*, mesmo quando estipulado que o *NOTES* apresente segurança e eficácia equivalentes às técnicas laparoscópicas. Mulheres jovens e nulíparas mostraram preocupação com possíveis efeitos negativos do *NOTES* sobre a função sexual. Apenas um grupo pequeno de mulheres demonstrou interesse no efeito estético do *NOTES*. Em todas as idades, houve ceticismo em utilizar a via transvaginal para acesso à cavidade abdominal.

2.3.6 Percepção dos Cirurgiões em Relação ao *NOTES*

Wolckmann *et al.* (2009) realizaram questionário referente ao *NOTES* com 357 cirurgiões. Ao decidir sobre uma abordagem cirúrgica, o risco de complicações foi o mais importante fator considerado pelos cirurgiões. Complicações, tempo de recuperação, dor pós-operatória e tempo de internamento foram mais importantes que estética, custos e tipo de anestesia. Quando comparado à laparotomia e videolaparoscopia, o *NOTES* foi considerado exigir maiores habilidades técnicas além de estar associado a menos dor pós-operatória e recuperação mais rápida, apesar de maiores custos e aumento no risco de complicações. Setenta e dois por cento demonstraram interesse em iniciar treinamento em *NOTES*. Cirurgiões com idade inferior a 60 anos e aqueles que realizam CMI são os mais interessados no treinamento, enquanto realizar endoscopia como menos de 10% da prática clínica foi preditivo de desinteresse. Assumindo que o *NOTES* seja viável e o cirurgião treinado, apenas 44% prefeririam *NOTES* à laparoscopia para realização de colecistectomia. Destes, 61% ainda escolheriam *NOTES* se a taxa de complicações

fosse levemente superior a laparoscopia (2% vs 1%), enquanto apenas 3% se a taxa de complicações fosse muito maior (10% vs 1%). Entre os 56% que não escolheriam *NOTES*, 88% mudariam de opinião se os estudos demonstrassem melhora dos resultados comparado à laparoscopia. Entretanto, apenas 26% dos cirurgiões se submeteriam a colecistectomia por orifícios naturais.

2.3.7 Estudos Experimentais com *NOTES* em Animais

2.3.7.1 Resposta Inflamatória

Teoricamente, um acesso menos invasivo deveria causar diminuição da resposta inflamatória, contribuindo para menor estresse e trauma para o paciente. Entretanto, a potencial contaminação da cavidade peritoneal no *NOTES* pode acarretar maior insulto fisiológico e imunológico que anteriormente pensado.

Mc Gee *et al.* (2007), em estudo experimental em suínos, controlado e prospectivo, compararam o estresse fisiológico induzido após peritonioscopia por *NOTES* transgástrico comparado a laparoscopia. Os níveis plasmáticos TNF- α , IL-1 e IL-6 foram determinados no pré-operatório, ao fim da operação e após uma hora, dois dias, sete dias e 14 dias. Não houve diferença significativa nos níveis séricos pós-operatórios entre o grupo *NOTES*, grupo laparoscópico ou grupo controle (animais submetidos apenas a anestesia). Entretanto, houve diminuição consistente, porém não significativa, nos níveis pós-operatórios de TNF- α nos animais submetidos à peritonioscopia TG comparado ao grupo laparoscopia. Os autores concluíram que o trauma fisiológico induzido pelo *NOTES* é similar ao grupo laparoscopia e ao grupo controle.

Um ano mais tarde, os mesmos autores, publicaram estudo com 37 suínos submetidos à peritonioscopia por *NOTES* transgástrico, laparoscopia ou laparotomia. Os níveis de IL-1 e IL-6 foram indetectáveis na maioria das amostras. Ao final da operação, os animais submetidos a laparotomia apresentaram níveis de TNF- α elevados. Após uma hora e dois dias os níveis de TNF- α foram similares entre os grupos. Apesar de níveis comparáveis de TNF- α no pós-operatório imediato, os animais do grupo *NOTES* apresentaram redução consistente dos níveis de TNF- α

no pós-operatório tardio, indicando um efeito imunomodulador na cirurgia por orifícios naturais, não presente na laparoscopia e laparotomia (McGEE *et al.*, 2008).

Bingener *et al.* (2010) compararam parâmetros imunológicos do acesso TG aos da laparoscopia em estudo experimental, randomizado e cego, com porcos. Doze animais foram submetidos a 90 minutos de procedimento, com insuflação de CO₂ no grupo laparoscopia e ar no grupo *NOTES*, e foram mantidos vivos durante 14 dias. Não foram observadas diferenças clínicas nem na contagem plasmática de glóbulos brancos. Os níveis de interleucina 1-b não foram diferentes entre os grupos. Entretanto, no grupo *NOTES* houve aumento dos níveis de TNF- α nas primeiras 24 horas, persistindo até o sétimo dia pós-operatório. Os níveis de TNF- α no 7º PO foram significativamente superiores no grupo *NOTES* comparado ao grupo laparoscopia (p=0,005).

Em contraste, Fan *et al.* (2009) demonstraram não haver diferenças na resposta inflamatória sistêmica da colecistectomia transvaginal em porcos comparados ao grupo controle (não realizado nenhum tipo de intervenção). Os níveis de TNF- α e IL-6 medidos 24 e 48 horas após a operação foram similares nos dois grupos.

Freeman *et al.* (2009) realizaram estudo comparativo para avaliação de dor e estresse pós-operatório em cadelas submetidas a ooforectomia bilateral por *NOTES*, laparoscopia ou laparotomia. O tempo cirúrgico foi significamente superior no grupo *NOTES* comparado aos demais. O escore médio de dor e a medida de limiar nociceptivo revelaram que os animais submetidos ao *NOTES* apresentaram menor evidência de dor em comparação aos grupos laparoscopia e aberta. Entretanto, os marcadores IL-6 e proteína C reativa foram mais elevados no grupo *NOTES*.

Trunzo *et al.* (2010) realizaram estudo com 51 suínos para avaliar o insulto fisiológico causado pelo *NOTES* comparado à laparoscopia. Seis animais foram excluídos por complicações técnicas operatórias. Os animais foram divididos em quatro grupos: exploração abdominal via transgástrica usando ar ambiente ou CO₂; ou exploração abdominal via laparoscopia usando ar ou CO₂ para pneumoperitônio, além de dois grupos controle. O objetivo dos autores, além de comparar as duas técnicas, foi avaliar o efeito do pneumoperitônio com CO₂ ou ar ambiente. A endoscopia flexível tradicional usa ar ambiente como fonte de insuflação. Entretanto,

alguns autores têm sugerido um efeito imunomodulador favorável ao CO₂ durante procedimentos laparoscópicos. Os autores demonstraram que a reação inflamatória no *NOTES* é similar à laparoscopia tradicional. Houve maior resposta inflamatória no grupo laparoscopia/CO₂ comparado à laparoscopia/ar ambiente. O gás utilizado para o pneumoperitônio não afetou a resposta das citocinas após *NOTES*, sugerindo que o ar ambiente seja adequado para o *NOTES*.

2.3.7.2 Infecção e *NOTES*

Giday *et al.* (2010) realizaram estudo experimental com 16 porcos com o objetivo de estabelecer o potencial risco de infecção durante o *NOTES*, comparando abordagens estéreis e não estéreis. Os animais foram randomizados em dois grupos: grupo estéril, os animais foram submetidos à peritonioscopia TG e biópsias do fígado e ovário, que foram realizadas através de endoscópios e acessórios estéreis, após antibioticoprofilaxia endovenosa e lavagem gástrica com solução anti-séptica; grupo não estéril (controle), os mesmos procedimentos foram realizados com endoscópios e acessórios não estéreis, sem o uso de antibióticos pré-operatórios ou lavagem gástrica. No 7º PO os animais foram mortos e foram realizadas culturas peritoneais e coloração de Gram. Nos animais do grupo não estéril, foi detectada a presença de sinais infecciosos em todos os animais (100%), enquanto no grupo estéril, nenhum animal apresentou evidência de infecção. Os autores concluem que condições não estéreis invariavelmente causam infecção intraperitoneal. Técnicas anti-sépticas durante o *NOTES* podem prevenir infecção intra-abdominal.

2.3.7.3 Formação de aderências e *NOTES*

Aderências pós-operatórias são fibroses teciduais que se desenvolvem nos locais de manipulação/lesão tecidual após cirurgia. Aderências são consequência quase inevitável de laparotomia e laparoscopia, embora a cirurgia laparoscópica produza menos aderências que a cirurgia aberta.

Dubcenco *et al.* (2009), compararam a formação de aderências após peritonioscopia com biópsia hepática por laparotomia, laparoscopia ou *NOTES* transgástrico. Os parâmetros avaliados basearam-se no escore de formação de

aderências de Hopkins: 1) extensão – (documentado o número de quadrantes abdominais envolvidos); 2) frequência – (número de bandas); 3) tamanho; 4) número de órgãos envolvidos; 5) densidade das aderências. Os animais foram mortos no 14º dia de pós-operatório. Cem por cento dos animais no grupo laparotomia e 33,3% no grupo laparoscopia tiveram aderências, comparados a 16,7% no grupo *NOTES*.

As características minimamente invasivas relacionadas às técnicas cirúrgicas endoscópicas revolucionaram a história recente da cirurgia. O principal fator para este sucesso foram estudos que comprovaram sua eficácia e segurança. Para que qualquer nova técnica seja incluída entre as opções de tratamento, são necessários estudos que comprovem que essa técnica seja efetiva na resolução da afecção em questão, com aceitáveis taxas de morbidade e mortalidade, no mínimo comparáveis às técnicas consideradas como padrão.

3 MATERIAL E MÉTODO

As normas técnicas utilizadas neste trabalho seguiram as orientações do Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES) contidas nas Normas para Apresentação de Documentos Científicos da Universidade Federal do Paraná de 2007. O protocolo de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Positivo (ANEXO A). O experimento foi realizado no biotério da Universidade Positivo, Curitiba, Brasil.

A metodologia utilizada baseou-se nos princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e orientações do *Canadian Council of Animal Care* (CCAC).

3.1 MATERIAL

3.1.1 Animais

Foram utilizados 12 porcos fêmeas (*Sus scrofa domestica*, *mammalia*), adultos, com peso entre 40 e 46 quilogramas (Kg), provenientes da Granja Bela Vista (Indústria e Comércio de Carnes Bela Vista) localizada em Campo Magro, Paraná. Os animais foram levados ao biotério da Universidade Positivo 48 horas antes da realização do experimento cirúrgico, onde receberam água e ração apropriada *ad libitum*. As condições ambientais do laboratório foram controladas eletronicamente, mantendo-se temperatura aproximada de 22 graus Celsius e ciclo claro-escuro de 12 horas (FIGURA 1A). Após o procedimento, os animais foram mantidos no biotério da Universidade Positivo por 7 dias em grupos de três animais. (FIGURA 1B)

3.1.2 Material Utilizado

Para anestesia geral foi utilizado aparelho de anestesia veterinária VETCARE® plus (Incotec, Westeinde, Holanda). Monitorização intra-operatória (oximetria, capnografia, frequência cardíaca, frequência respiratória) foi realizada com monitor multiparamétrico OHMEDA 4700 Oxi Cap® (SOMA Technology, Bloomfield, EUA). Hemostasia e eletrodissecção foram realizadas com gerador

eletrocirúrgico EMAI BP-100® (Transmai Equipamentos Médicos Hospitalares, São Paulo, Brasil).

Os procedimentos endoluminais foram realizados com vídeo-endoscópio flexível de duplo canal (CV 100, Olympus Optical, Tóquio, Japão) com lâmpada de xenônio e captura de imagens. Os acessórios descartáveis utilizados foram cautério tipo needle-knife KD-10Q-1 A® e cautério tipo esfínterótomo 210Q-0720® (Olympus Optical, Tóquio, Japão) e trocarte de 12 mm Versaport TM® (Covidien, Mansfield, EUA).

Para os procedimentos de videolaparoscopia foi utilizado videolaparoscópio da marca Storz (Karl Storz, Tuttlingen, Alemanha). Instrumental cirúrgico permanente incluiu pinças de dissecação e prensão, tesouras e trocartes (EDLO®, Canoas, Brasil). (FIGURA 2)

A desinfecção química do material não descartável foi realizada por técnica de imersão em peróxido de hidrogênio (Sekusept Aktiv®, Ecolab GmbH, Minnesota, EUA) por 30 minutos (FIGURA 3). Após este período, o material foi irrigado com água destilada e secado. Todo o instrumental cirúrgico e o endoscópio, após a desinfecção, foram manipulados seguindo os princípios de cirurgia estéril.

3.2 MÉTODO

3.2.1 Grupos de Estudo

Após 48 horas de aclimação, os porcos foram pesados e divididos em dois grupos: grupo laparoscopia (GLap) e grupo cirurgia endoscópica transvaginal (GNotes).

- Grupo laparoscopia (N=6): cada animal foi submetido à biópsia peritoneal e biópsia hepática por videolaparoscopia;
- Grupo *NOTES* (N=6): cada animal foi submetido à biópsia peritoneal e biópsia hepática através de endoscópio flexível por via transvaginal.

3.2.2 Procedimento Cirúrgico

Pré-operatório: todos os animais foram pesados antes do procedimento, submetidos a jejum por 12 horas e o suprimento de água foi retirado seis horas antes do procedimento.

Per-operatório

Anestesia: como medicação pré-anestésica, foi aplicada injeção intramuscular de associação de 14mg/kg de cloridrato de quetamina, 2mg/kg de cloridrato de xilazina e 0,4 mg/kg de acepromazina. Após admissão no Centro Cirúrgico Experimental, foi realizada a canulação da veia marginal da orelha com cateter 22G e iniciado infusão de ringer lactato. Em seguida, após 5 a 10 minutos, foi realizada indução anestésica pela injeção endovenosa de 10mg/kg de thiopental 2,5%. Após perda total dos reflexos, os animais receberam propofol intravenoso (1–3 mg/kg EV).

Em seguida, foi realizada entubação endotraqueal com tubo endotraqueal 6-French, sob visão direta. O plano anestésico foi mantido com isoflurane (2%) e gás oxigênio (600 ml/min) (FIGURA 4). A frequência respiratória foi mantida em 15 a 30 incursões por minuto e o volume pulmonar 10 a 15 ml/kg com a utilização de ventilador mecânico para manter fração expiratória de CO₂ entre 40 a 50 mmHg. Foi realizada infusão intravenosa de ringer lactato a 10 ml/kg/h durante todo o procedimento cirúrgico. A saturação de O₂ (satO₂), concentração expiratória final de CO₂ (ETCO₂), frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR) foram analisadas durante todo o procedimento. A pressão intra-abdominal foi mantida com insuflador automático (Electronic Endoflator 264305 20; Karl Storz, Tuttlingen, Alemanha), regulado para manter a pressão intra-abdominal em 10 mmHg.

Ato cirúrgico: Os animais foram fixados à mesa cirúrgica por meio de elásticos na posição supina, com os membros em extensão. Amostras sanguíneas para hemocultura (HT0) foram colhidas em todos os animais, via cateterização da veia marginal da orelha, após antissepsia com álcool 70%. No GNotes foram colhidas amostra da cavidade vaginal com swab para cultura de microorganismos antes da antissepsia (CT0) e após antissepsia (CT1) vaginal com betadine (Purdue, Stanford, EUA) (FIGURA 5). No GLap as amostras para cultura foram colhidas através de swab da pele da parede abdominal antes (CT0) e após (CT1) antissepsia com betadine. Após, foi administrado antibiótico por via endovenosa em todos os

animais (1000 mg ampicilina + 500 mg sulbactam). Campos operatórios estéreis foram aplicados nas regiões operatórias. Nos animais do GLap foi realizado pneumoperitônio com injeção de gás carbônico por técnica de punção às cegas com agulha de Verres. Após atingir pressão intraperitoneal de 10 mmHg, foram inseridos quatro trocartes (dois de 10mm e dois de 5mm). A ótica foi colocada no trocar umbilical. Nos demais trocartes foram utilizadas pinças de dissecação e tesoura para realização das biópsias (FIGURA 6). Foram realizadas duas biópsias hepáticas (uma em cada lobo hepático) e quatro biópsias peritoneais (uma em cada um dos quatro quadrantes do abdome). Nos animais do GNotes o acesso foi realizado através da punção com trocar às cegas da parede anterior da vagina, 1cm acima da uretra (FIGURA 7). Após foi introduzido um over tube acoplado a um sistema de insuflação que permitiu a realização do pneumoperitônio com CO₂. Em seguida o endoscópio flexível foi introduzido por dentro do over tube até atingir o andar superior do abdome. As biópsias peritoneais e hepáticas foram realizadas da mesma forma do GLap, porém utilizando instrumental apropriado para endoscópios flexíveis.

O material das biópsias foi colocado em frasco com formol e enviado para análise histopatológica.

O fechamento subcuticular da parede no grupo GLap foi realizado com sutura contínua de fio monofilamentar inabsorvível (Mononylon 3,0, Ethicon, São José dos Campos, Brasil). No GNotes não foi realizado fechamento do acesso vaginal.

Para que não houvesse influência do tempo anestésico e tempo cirúrgico nos resultados entre os dois grupos foi utilizado a técnica par anestésico. O tempo anestésico e cirúrgico de cada animal do GNotes foi reproduzido no GLap.

3.2.3 Evolução Pós-Operatória

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos vivos por 7 dias no biotério da Universidade Positivo. Neste período receberam água e ração *ad libitum*. Diariamente os animais foram avaliados conforme o estado clínico (movimentação, ingesta) em bom, regular e mau estado geral por uma médica veterinária. No sétimo dia os animais foram pesados.

3.2.4 Morte dos Animais

Os animais foram mortos no sétimo dia pós-operatório, após injeção de thiopental sódico intramuscular e complementado com dose letal de cloreto de potássio. Em seguida, foi realizada laparotomia mediana em condições estéreis. Procedeu-se inspeção da cavidade abdominal para detecção de complicações, presença de aderências e coleta de material para cultura bacteriana. Foram colhidas culturas intra-abdominais do hipocôndrio direito (local de manipulação da biópsia hepática) e da pelve (local do acesso a cavidade peritoneal nos animais do GNotes) em todos os animais (CT3).

3.3 DADOS AVALIADOS

3.3.1 Complicações Operatórias

Considerou-se complicação no intra-operatório, sangramento estimado maior que 10% do volume sanguíneo do animal, dificuldade de acesso, lesão de órgão adjacente, hipóxia e hipercapnia prolongadas (acima de 10 minutos). Os dados foram observados e coletados durante todo o procedimento cirúrgico.

3.3.2 Parâmetros Intra-Operatórios

Durante todo o procedimento os animais foram monitorados. A cada dez minutos foram anotadas a FC em batimentos por minuto (bpm), FR em incursões por minuto (ipm), saturação de oxigênio (em %) e concentração expiratória de gás carbônico (em mmHg).

3.3.3 Evolução Pós-Operatória

Os porcos tiveram seus pesos aferidos no dia do procedimento cirúrgico e no sétimo dia de pós-operatório. A balança utilizada para tal aferição foi regulada de acordo com os padrões do Inmetro (Linha B180, Líder Balanças, Araçatuba, Brasil). Os valores de peso foram mensurados e assinalados em quilogramas. Diariamente

os animais foram avaliados e classificados pela mesma veterinária em: bom, regular e mau estado clínico pós-operatório.

Todos os porcos foram submetidos à laparotomia após a morte e inspecionados para a ocorrência de complicações de pós-operatórias (sangramento, lesões inadvertidas de órgãos adjacentes, abscesso, relacionadas ao acesso).

3.3.4 Culturas

Foram realizadas culturas do local do acesso (pele ou mucosa vaginal) no momento do procedimento, antes (CT0) e após a antissepsia (CT1), através de swab colocado em meio de transporte enriquecido (CRAL, Cotia, Brasil), conforme detalhado no Anexo B. As culturas do líquido peritoneal, hipocôndrio direito e pelve, foram realizadas durante a laparotomia após a morte dos animais (CT3), descrito em detalhes no Anexo C. As amostras foram enviadas ao laboratório LACEN (Curitiba, Brasil) para realização das análises. Com auxílio de alça bacteriológica, o material foi estriado em ágar sangue, ágar macconkey, ágar chocolate e incubados em caldo BHI. Após 24 e 48 horas foram realizadas as leituras das placas. Nas placas em que houve crescimento, foi realizada identificação dos microorganismos mediante coloração de Gram e análises bioquímicas específicas para identificação bacteriana.

3.3.5 Hemoculturas

Após antissepsia cutânea com álcool 70%, foi realizada punção da veia marginal da orelha e coletado 2 ml de sangue e enviado para o Laboratório Bianostic (Curitiba, Brasil), procedimento detalhado no Anexo D. Foram realizadas hemoculturas antes do início do procedimento cirúrgico (HT0), após 24 horas (HT1) e no sétimo pós-operatório (HT3). As amostras de sangue foram colocadas em Hemocult®, e em seguida incubadas em estufa 37° durante 24 horas. Com auxílio de alça bacteriológica, o material foi estriado em ágar sangue, ágar macconkey, ágar chocolate e incubados em caldo BHI. Após 24 e 48 horas foram realizadas as leituras das placas. Nas placas em que houve crescimento, foi realizada identificação dos microorganismos através de coloração de Gram e análises bioquímicas específicas para identificação bacteriana.

3.3.6 Qualidade das biópsias

O material das biópsias foi enviado para estudo histopatológico (ANEXO E). As peças não foram identificadas com relação ao tecido/órgão de origem. O objetivo da análise foi determinar o tecido de origem do material.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados descritivamente por freqüências absolutas (n) e relativas (%) para as variáveis categóricas e para as variáveis contínuas usou-se a média, desvio-padrão, mediana, primeiro e terceiro quartil, valores máximos e mínimos. O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar a aderência dos dados à distribuição normal. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar o peso dos animais entre os grupos, antes e depois da intervenção. O teste de sinal foi empregado na avaliação da variação percentual $((PF-PI)/PI*100)$ do peso dentro de cada grupo. Os tempos de anestesia e cirurgia foram analisados a partir do teste "t" de *Student*. Ajustou-se modelos de análise de variância (Anova) para medidas repetidas na avaliação do efeito do grupo e tempo sobre as medidas da PCO_2 , PO_2 , FR e FC. A associação entre os grupos e os resultados da cultura e hemocultura foi analisada segundo o teste exato de Fisher.

Adotou-se o nível de 5% de significância estatística e todas as análises foram realizadas no software SAS (versão 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC, EUA, 2002-2003).

4 RESULTADOS

4.1 TEMPO ANESTÉSICO E TEMPO CIRÚRGICO

Não houve diferenças nos tempos anestésico e cirúrgico entre o GNotes e GLap. Os tempos cirúrgicos e anestésicos médios para cada grupo estão apresentados na Tabela 1 a seguir.

TABELA 1 - COMPARAÇÃO ENTRE O TEMPO (EM MIN) DE ANESTESIA E CIRÚRGIA.

Procedimento	GLap	GNotes	Valor p ^{\$}
	Média(dp) ¹	Média(dp) ¹	
Anestesia	59 (11,3)	61,2 (10)	0,4009
Cirurgia	39,8 (11,2)	42,8 (9,8)	0,2405

FONTE: O AUTOR

NOTA : ^{\$} Teste t de *Student*

¹ dp = desvio padrão

4.2 PESO

Observa-se que antes da cirurgia os grupos apresentaram diferenças de peso, tendo os animais do GNotes maior peso médio (p=0,0318). A maioria dos animais, de ambos os grupos, apresentaram perda ponderal após o procedimento. Entretanto, esta perda, em nenhum caso foi superior a 5%. Ao se avaliar a variação percentual do peso ocorrida após o procedimento, entre os grupos, não se observou diferenças estatisticamente significantes (p=0,7535) (TABELA 2). O peso inicial e ao 7º PO de cada animal estão apresentados no Anexo F.

TABELA 2 - COMPARAÇÃO DO PESO INICIAL E VARIAÇÃO PÓS-PROCEDIMENTO (7ºPO) EM KG

Grupos	Antes	Depois	Variação percentual ^π	Valor p [£]
GLap				0,2500
Média(dp) ¹	41,7 (1,2)	41,0(2,1)	-1,6(3,6)	
GNotes				1,0000
Média(dp) ¹	44,2 (2,1)	42,7 (2,3)	-3,4(1,8)	
Valor p [¥]	0,0318	0,2207	0,7535	

FONTE: O AUTOR

NOTA: ¹dp=desvio padrão

^πVariação percentual=(PF-PI)/PI*100

[£]Teste do sinal para uma amostra

[¥]Teste de Mann-Whitney

4.3 CONCENTRAÇÃO EXPIRATÓRIA DE GÁS CARBÔNICO (ETCO₂)

Ao comparar-se as médias da ETCO₂ não foram evidenciadas diferenças entre os grupos ($p=0,4762$). Os valores médios da ETCO₂ são apresentados na Tabela 3 e Gráfico 1. Entretanto, com o decorrer do tempo, houve aumento da ETCO₂ estatisticamente significativo no GLap ($p=0,0025$) o que não ocorreu no GNotes ($p=0,3679$).

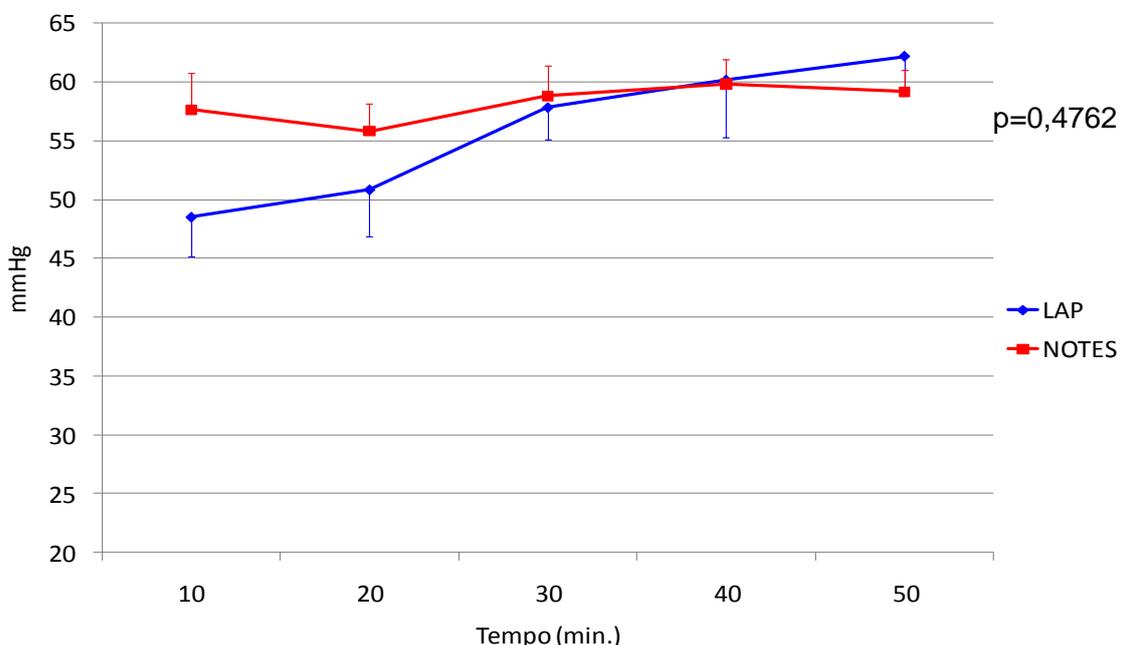
TABELA 3 - COMPARAÇÃO DA PRESSÃO DE GÁS CARBÔNICO (ETCO₂) ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM mmHg.

Tempo	GLap	GNotes
	Média(dp) ¹	Média(dp) ¹
t1	48,5 (8,2)	57,7 (7,7)
t2	50,8 (9,7)	55,8 (5,7)
t3	57,8 (6,7)	58,8 (6,4)
t4	60,2 (11,9)	59,8 (5,2)
t5	62,2 (6,8)	59,2 (4,6)

FONTE: O AUTOR

NOTA: ¹dp=desvio padrão
t = tempo (cada 10 min)

GRÁFICO 1 - ETCO₂, POR GRUPO, AO LONGO DO TEMPO



FONTE: O AUTOR

4.4 SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO (satO₂)

A tabela e o gráfico demonstram as médias da satO₂. O GLap apresentou valores médios de satO₂ superiores aos valores observados no GNotes (p=0,0080). Entretanto, nenhum dos animais apresentou satO₂ inferior a 87%. Não houve variação significativa da satO₂ ao longo do tempo (p = 0,7273). Com o decorrer da operação, os dois grupos apresentaram o mesmo padrão de variação da satO₂ (p = 0,3102).

TABELA 4 - COMPARAÇÃO DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO (satO₂) ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM %.

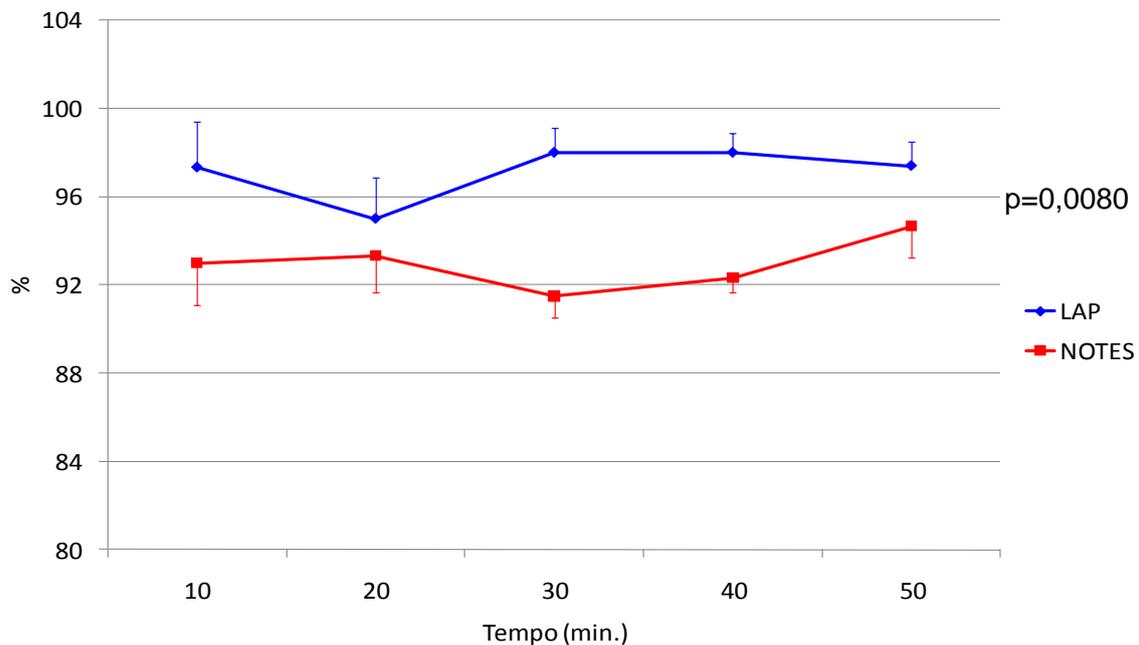
Tempo	GLap		GNotes	
	Média(dp) ¹	(Mín;Máx) ²	Média(dp) ¹	(Mín;Máx) ²
t1	97,3 (5,1)	(87 - 100)	93 (4,7)	(87 - 97)
t2	95 (4,6)	(87 - 100)	93,3 (4)	(88 - 100)
t3	98 (2,8)	(93 - 100)	91,5 (2,4)	(89 - 96)
t4	98 (2,2)	(94 - 100)	92,3 (1,6)	(90 - 94)
t5	97,4 (2,4)	(94 - 100)	94,7 (3,4)	(90 - 100)

FONTE: O AUTOR

NOTA: ¹dp=desvio padrão

²Mín e Máx=valores mínimo e máximo observado na amostra.

GRÁFICO 2 - SatO₂, POR GRUPO, AO LONGO DAS AVALIAÇÕES.



FONTE: O AUTOR

4.5 FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA (FR)

Ao comparar-se as médias da FR foram observadas diferenças estatisticamente significativas, o GLap apresentou valores médios de FR superiores ($p = 0,0043$). Entretanto, não houve variação significativa da FR ao longo do tempo ($p = 0,5337$). A tabela 5 e o gráfico 3 demonstram as médias da FR.

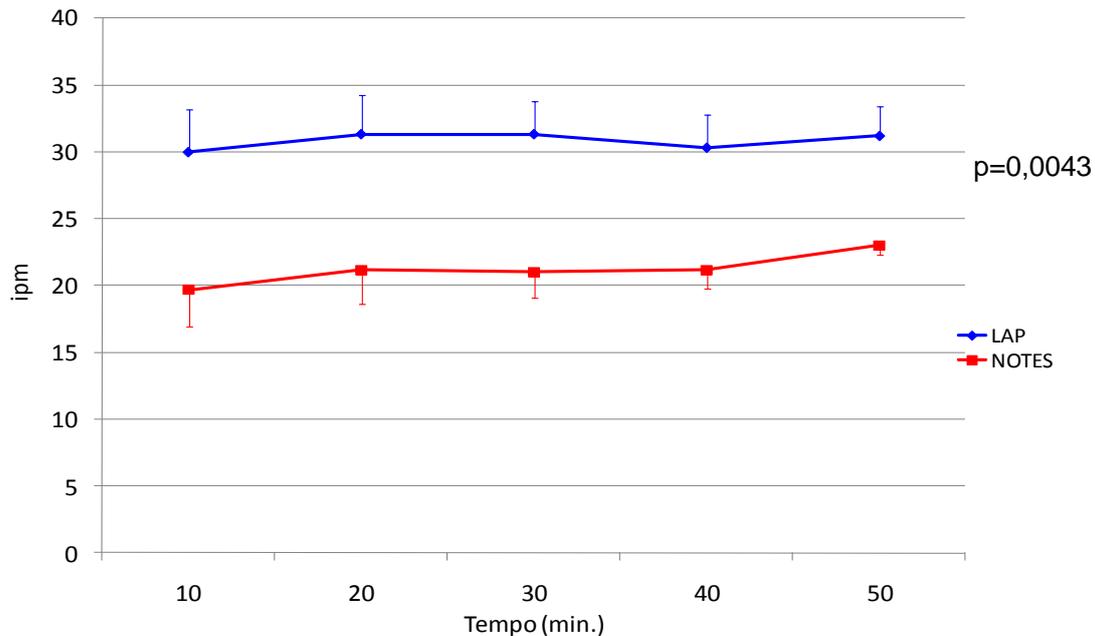
TABELA 5 - COMPARAÇÃO DA FR ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM IPM.

Tempo	GLap	GNotes
	Média(dp) ¹	Média(dp) ¹
t1	30 (7,8)	19,7 (6,8)
t2	31,3 (7,2)	21,2 (6,3)
t3	31,3 (6,1)	21 (4,7)
t4	30,3 (6)	21,2 (3,5)
t5	31,2 (4,9)	23 (1,8)

FONTE: O AUTOR

NOTA: ¹dp=desvio padrão

GRÁFICO 3 - GRÁFICO DA FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA AO LONGO DAS AVALIAÇÕES.



FONTE: O AUTOR

4.6 FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC)

Não foram observados diferenças em relação às médias da FC entre os grupos ($p = 0,6035$), assim como não houve variação significativa da FC ao longo do tempo ($p = 0,1721$). Os dados são demonstrados na tabela 6 e gráfico 4:

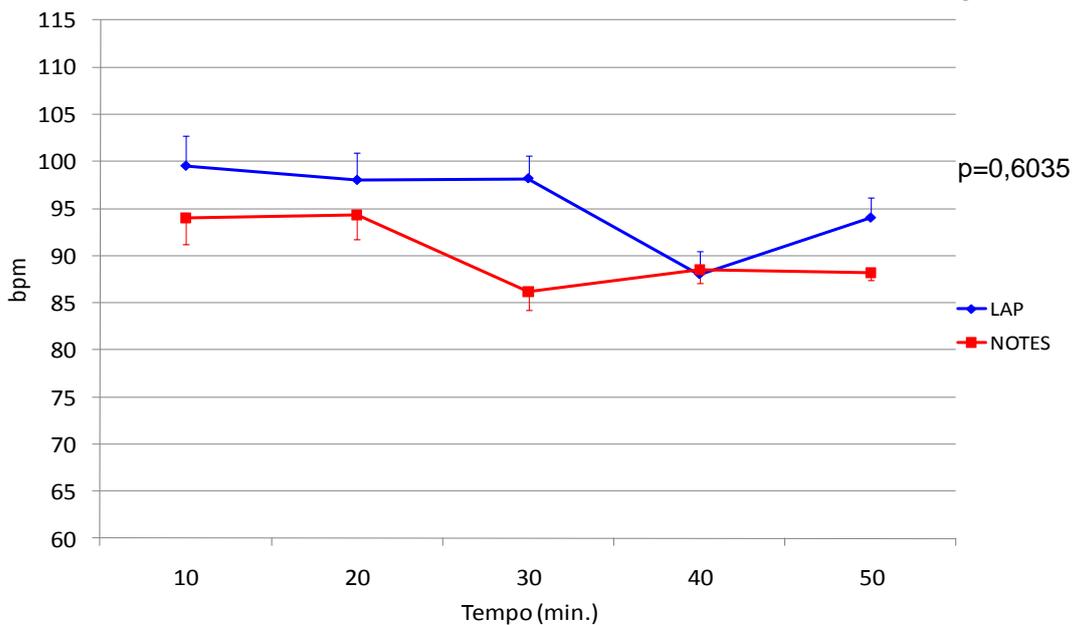
TABELA 6 - COMPARAÇÃO DA FC ENTRE OS GRUPOS, AO LONGO DO TEMPO, EM BPM

Tempo	GLap	GNotes
	Média(dp) ¹	Média(dp) ¹
t1	99,5 (18)	94 (17,1)
t2	98 (15)	94,3 (21,8)
t3	98,2 (17,8)	86,2 (24,8)
t4	88 (16,5)	88,5 (24,5)
t5	94 (18,3)	88,2 (20,6)

FONTE: O AUTOR

NOTA: ¹dp=desvio padrão

GRÁFICO 4 - GRÁFICO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA AO LONGO DAS AVALIAÇÕES.



FONTE: O AUTOR

Os resultados de ETCO_2 , saturação de O_2 , frequência respiratória e frequência cardíaca, de todos os animais, em cada uma das avaliações encontram-se no Anexo G.

4.7 HEMOCULTURA

No pré-operatório (T0) todos os animais apresentaram hemoculturas negativas. Entretanto, após 24 horas (T2) um animal do GLap apresentou hemocultura positiva para *Staphylococcus coagulase negativa*. No 7º PO (T3) foi observado hemocultura positiva em um animal do GLap para *Escherichia coli* e um animal do GNotes para *Staphylococcus coagulase negativa* (ANEXO H). Não houve diferenças na taxa de hemoculturas positivas entre os grupos, conforme demonstrado na Tabela 7.

TABELA 7 - COMPARAÇÃO DAS HEMOCULTURAS NOS DIFERENTES MOMENTOS

Momento	Grupo	Positivo		Negativo		Valor p [£]
		N	%	N	%	
T0 [¥]	GLap	-	-	6	50,0	-
	GNotes	-	-	6	50,0	
						1,0000
T2	GLap	1	100,0	5	45,5	
	GNotes	0	0,0	6	54,5	
						1,0000
T3	GLap	1	50,0	5	50,0	
	GNotes	1	50,0	5	50,0	

FONTE: O AUTOR

NOTA: [£] Teste Exato de Fisher.

[¥] Por não ter nenhum resultado positivo não foi possível calcular o "valor p".

4.8 CULTURA INTRA-ABDOMINAL

Todos os animais apresentaram culturas positivas, para uma flora variada de germes, do local do acesso, pele ou vagina, antes da antissepsia. Após a antissepsia com betadine apenas um animal do GNotes apresentou cultura do local do acesso positiva. No 7º dia PO, durante a laparotomia, um animal do GLap e um animal do GNotes apresentaram cultura da amostra peritoneal da pelve positiva para *Corinebacterium spp* e *Escherichia coli* respectivamente (ANEXO I). As culturas das amostras peritoneais do hipocôndrio direito foram negativas em todos os animais.

Não houve relação entre os patógenos presentes no local do acesso com os patógenos que apresentaram crescimento nas culturas abdominais.

4.9 COMPLICAÇÕES

As complicações foram divididas em complicações intra-operatórias e complicações pós-operatórias. Apenas um animal do GNotes apresentou complicação intra-operatória relacionada ao acesso. Houve dificuldade de acesso com sangramento de 80 ml. Não houve nenhuma complicação pós-operatória. Não houve diferença estatisticamente significativa em relação às complicações perioperatórias, comparados o GNotes e GLap, conforme demonstrado na tabela. Todos os animais receberam avaliação de bom estado clínico, diariamente, no pós-operatório.

TABELA 8 - COMPARAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES INTRA E PÓS-OPERATÓRIAS ENTRE OS GRUPOS

Complicações	Grupo	
	GLap n(%)	GNotes N(%)
Sim	0/6(0,0)	1/6(16,7)

FONTE: O AUTOR

NOTA: Valor p = 1,000 (teste Exato de Fisher)

4.10 ADERÊNCIAS

Durante laparotomia exploradora, após a eutanásia dos animais, não foram observadas aderências em nenhum dos animais.

4.11 RESULTADOS DA ANÁLISE HISTOLÓGICA

Considerando-se a qualidade do material coletado para realização do diagnóstico histológico do tecido biopsiado, os fragmentos da biópsia hepática do GNotes apresentaram tamanho menor comparados ao GLap. Já os fragmentos da biópsia peritoneal apresentavam tamanhos semelhantes. Entretanto, o patologista foi capaz de diagnosticar a origem do material em todos os 12 casos, tanto para a amostra de tecido hepático quanto peritoneal.

5 DISCUSSÃO

5.1 ESCOLHA DO MODELO EXPERIMENTAL

Desde os primórdios da Medicina até os dias atuais, as mais diferentes espécies de animais vertebrados e invertebrados têm sido utilizadas como objeto de experimentação. Essa prática continua sendo largamente empregada com o intuito de se desenvolver métodos e técnicas que possam gerar instrumentos de “cura” ou alívio para os males que acometem o homem e outros animais. Dentre as várias espécies utilizadas em experimentação biomédica destaca-se o porco (*SUS scropha*) (SWINDLE *et al.*, 1988).

Tumbleson (1986) relata que o suíno é um modelo útil para estudos em pesquisas biomédicas, pois apresenta similaridade de estrutura e funções com o homem, incluindo tamanho, padrão de alimentação, fisiologia digestiva, hábitos dietéticos, estrutura e funções do rim, estrutura vascular do pulmão, distribuição da artéria coronária, propensão para a obesidade e comportamento social. Estão hoje amplamente estabelecidas na literatura as semelhanças entre a anatomia, fisiologia e fisiopatologia dos suínos e do homem.

Sousa *et al.* (2007) realizara experimentalmente colecistectomia endoscópica via transvaginal em suínos e considerou este modelo perfeitamente adequado ao desenvolvimento da técnica.

O suíno é frequentemente o modelo animal escolhido em estudos experimentais de técnicas cirúrgicas, bem como em pesquisas de cirurgias minimamente invasivas. Vários cursos de pós-graduação em CMI utilizam o suíno como modelo animal para o treinamento prático. Até o momento, com a exceção de poucos estudos em humanos, a maioria da experiência adquirida em *NOTES* tem sido através de procedimentos realizados em modelos animais, principalmente suínos (AREZZO & MORINO, 2010).

5.2 PROTOCOLO ANESTÉSICO

O protocolo de anestesia utilizado no presente estudo foi desenvolvido pelo departamento de medicina veterinária da Universidade Positivo em conjunto com o curso de pós-graduação em cirurgia minimamente invasiva do Instituto Jacques

Perissat. A técnica anestésica utilizada foi considerada efetiva e sem complicações que comprometessem a evolução pós-operatória dos animais.

5.3 BIÓPSIA HEPÁTICA

A proposta de incluir neste protocolo de pesquisa uma biópsia hepática ocorreu devido à frequente necessidade de se realizar este procedimento na prática clínica. A biópsia do fígado passou a ter importância diagnóstica a partir de 1883, quando Paul Erlich se propôs a estudar o conteúdo de glicogênio do fígado diabético. Há algumas décadas o método passou a ser mais frequentemente utilizado com finalidades diagnósticas, sendo consolidado, a partir da Segunda Guerra Mundial, no estudo de numerosos casos de hepatites virais que acometeram os soldados no conflito. A análise histológica é fundamental no diagnóstico de hepatopatias como hematocromatose, hepatite autoimune, colangite esclerosante e cirrose biliar. Atualmente, as indicações de biópsias hepáticas são bem amplas, sendo considerado valioso instrumento de diagnóstico, prognóstico e monitorização terapêutica dos pacientes (GAYOTTO & BOGLIOLO, 1994).

Ao longo do tempo, a técnica de biópsia hepática tem sido modificada. A escolha depende de alguns fatores, como a provável doença hepática (doença focal ou difusa), a condição geral do paciente e a disponibilidade de equipamento apropriado e de pessoal treinado (KERWIN, 1995).

Geralmente, o procedimento de biópsia hepática é realizado através de punção percutânea, sob anestesia local. É um procedimento seguro, com baixa taxa de morbidade (ACOBS & GOLDBERG, 1989). Pode ser guiada por tomografia computadorizada ou por ultrassonografia, principalmente em afecções hepáticas focais (KADER *et al.*, 2003).

O acesso videolaparoscópico é viável e seguro para se realizar biópsia hepática. Entretanto, atualmente biópsias por laparoscopia raramente são realizadas, a menos que seja parte de outro procedimento operatório, pois implica em anestesia geral e na abertura da cavidade abdominal por incisão cirúrgica. As complicações da biópsia videolaparoscópica são incomuns.

5.3.1 Biópsia Hepática Por *NOTES*

Experimentos realizados em suínos demonstram a factibilidade de biópsias hepáticas por *NOTES* via transgástrica ou transvaginal (KALLOO *et al.*, 2004). Biópsias por *NOTES* podem ser realizadas para lesões localizadas, permitir o controle de eventual sangramento (principal complicação das biópsias hepáticas) e inventário completo da cavidade abdominal, além das potenciais vantagens já discutidas em relação a laparoscopia. Não encontramos na literatura relatos de estudos de biópsia hepática por *NOTES* em humanos. A técnica *NOTES* permitiu a obtenção de tecido, suficiente e adequado, para identificação da origem do material, sem que tenham sido observadas complicações relacionadas ao procedimento.

5.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O conceito de cirurgia minimamente invasiva tornou-se prática corrente em todas as especialidades cirúrgicas, com ampla aceitação. No campo da cirurgia gastrointestinal, cirurgia minimamente invasiva tornou-se sinônimo de cirurgia laparoscópica.

Atualmente, há um grande interesse em ampliar as fronteiras da CMI e desenvolver novos conceitos que levem a procedimentos "ultra-minimamente invasivos". Uma destas novidades tem sido a cirurgia endoscópica por orifícios naturais (*NOTES*). A cirurgia endoscópica por orifícios naturais transmite o conceito de realizar intervenções cirúrgicas no abdome, ou mesmo na cavidade torácica, sem violar a parede abdominal, com acesso realizado através de um orifício natural.

Os defensores do *NOTES* acreditam que os pacientes sejam submetidos a um menor insulto fisiológico e imunológico quando comparado à cirurgia laparoscópica ou convencional (SWAIN, 2007). O resultado desta menor agressão seria menor dor pós-operatória e recuperação mais rápida. Entretanto, estudos experimentais em animais falharam em demonstrar diminuição na resposta inflamatória (marcadores TNF, IL-1, IL-6 e PCR) do *NOTES* comparados à via laparoscópica (McGEE *et al.*, 2007; BINGENER *et al.*, 2010; TRUNZO *et al.*, 2010). Na parede visceral são encontradas menos terminações nervosas do que na pele, fáscia e músculos, o que sugere uma possível redução da dor nos procedimentos

realizados por orifícios naturais. Apesar de relatos de casos em humanos descreverem pouca ou nenhuma dor associada ao *NOTES*, não existem estudos controlados para confirmar esta hipótese.

O principal atrativo desta técnica é a ausência de incisões na parede abdominal, que além de apresentar melhor efeito cosmético, elimina as complicações da parede abdominal como hérnia, deiscência de ferida e infecção do sítio cirúrgico (NESARGIKAR, 2009; PEARL & PONSKY, 2008). Quando comparada à laparoscopia, 56% a 78% dos pacientes indicaram que escolheriam a técnica *NOTES* para realização de colecistectomia. Os principais motivos foram menor dor (93% a 99%), menor risco de hérnias pós-operatórias (90%) e estética (61% a 88%) (VARADARAJULU *et al.*, 2008; PETERSON, 2009; SWANSTROM *et al.*, 2009). Interessante ressaltar que mesmo se o *NOTES* estiver associado a taxa de complicações pouco maior, um número significativo de pacientes escolheria esta técnica (SWANSTROM *et al.*, 2009). Entretanto, a minoria das mulheres é preocupada com os possíveis benefícios estéticos do *NOTES*, assim como o acesso a cavidade peritoneal através da vagina é encarado com ceticismo (STRICKLAND *et al.*, 2010).

Entretanto, quando analisados os critérios de escolha entre laparotomia, laparoscopia e *NOTES* para realização de colecistectomia entre os cirurgiões, o risco de complicações foi o mais importante fator considerado. Apenas 44% dos cirurgiões escolheriam a cirurgia por orifícios naturais, mesmo com a técnica bem estabelecida e em mãos experientes. Além disso, apenas 26% dos cirurgiões se submeteriam a colecistectomia por orifícios naturais (VOLCKMANN *et al.*, 2009).

5.4.1 Aderências

Aderências são, provavelmente, a mais frequente complicação das cirurgias abdominais, com incidência média superior a 80% (DIAMOND, 2006). Apesar da fisiopatologia da formação de aderências ser bastante complexa, o tipo e a magnitude do trauma peritoneal parecem exercer importante papel. Uma vez que procedimentos laparoscópicos estão associados à menor trauma da parede abdominal, assim como manipulação mais delicada dos tecidos, menor sangramento e menor contaminação com corpos estranhos do que a cirurgia convencional, potencialmente a via laparoscópica tem a vantagem de reduzir a formação de

aderências. Gutti *et al.* (2004) realizaram revisão da literatura e, apesar das dificuldades de diagnóstico e diferentes classificações, demonstraram que laparoscopia está associada a menor risco de formação de aderências pós-operatórias quando comparada à laparotomia. Embora sejam dependentes de sua localização, as principais consequências das aderências são infertilidade, dor crônica abdominal e pélvica e obstrução intestinal. Além disso, contribuem para dificultar reoperações, causando aumento no tempo cirúrgico e aumento potencial de complicações intra-operatórias, como sangramento e perfurações de vísceras. Atualmente é discutido se o *NOTES* resulta em menos aderências intra-abdominais. Dubcenco *et al.* (2009) demonstraram menor taxa de formação de aderências pós biópsia hepática em suínos por *NOTES* (16,7%) quando comparados à laparoscopia (33,3%) e laparotomia (100%). Entretanto, no presente estudo, não houve diferença na formação de aderências entre *NOTES* e laparoscopia. Nenhum dos animais apresentou aderências intra-abdominais no 7º pós-operatório. A explicação para a ausência de aderências pós-operatórias pode ter sido a avaliação precoce. Em função da alta frequência com que aderências se formam e suas potenciais consequências, atualmente uma série de estudos tem avaliado a utilização de materiais e substâncias que possam reduzir a formação das aderências pós-operatórias (DIAMOND, 2006; UGURALP *et al.*, 2008).

5.4.2 Avaliação Intra-Operatória

Suínos anestesiados apresentam valores médios de ETCO_2 de 30 e 40 mmHg (TRANQUILLI *et al.*, 1982). Apesar de grandes avanços em instrumentais e equipamentos, o princípio do uso de CO_2 para o pneumoperitônio não se alterou ao longo das últimas décadas. Em procedimentos laparoscópicos nos quais o gás carbônico é utilizado para criação e manutenção do pneumoperitônio, os valores médios da ETCO_2 são maiores, principalmente relacionado ao tempo do procedimento. Efeitos colaterais e complicações, como alcalose metabólica, hipotermia e alterações hemodinâmicas, podem ocorrer principalmente em pacientes de alto risco e operações longas (KRUSCHINSKI, 2005). São descritos aumentos superiores a 50% na ETCO_2 após uma hora de procedimento laparoscópico com pressão intra-abdominal de 10mmHg (LIEM *et al.*, 1994). No presente estudo, as médias da ETCO_2 variaram entre 48 e 62 mmHg. A utilização de CO_2 para

realização e manutenção do pneumoperitônio durante o procedimento explica estes valores elevados. Importante observar que não foram observadas diferenças nas médias da $ETCO_2$ entre os animais submetidos ao procedimento pela via laparoscópica ou *NOTES*. Os animais do GLap apresentaram retenção de CO_2 ao longo do procedimento, o que não foi possível explicar, uma vez que o tempo e a pressão de pneumoperitônio foram equivalentes. Entretanto, nenhum dos animais apresentou embolia gasosa ou alterações hemodinâmicas.

É descrito que a função respiratória de suínos anestesiados sofre significativa redução (MUIR-III & HUBBEL, 2001). Os suínos sob anestesia apresentam FR entre 8 e 18 incursões por minuto (MASSONE, 1988). A FR média variou entre 19 e 31 movimentos por minuto. Este aumento da FR é um mecanismo compensatório comum para hipercapnia, como ocorreu neste estudo. Além disso, o pneumoperitônio causa aumento da pressão intra-abdominal, com conseqüente elevação do diafragma, o que pode resultar em hiperventilação (PULZ *et al.*, 2009). Os animais do GLap apresentaram média de FR estatisticamente superior aos animais do GNotes, provavelmente compensatório ao acúmulo de CO_2 verificado nos animais deste grupo.

A oximetria de pulso é útil para avaliar a função respiratória de suínos anestesiados (AKAS & FLAHERTY, 1987). A saturação de oxigênio na hemoglobina, em animais anestesiados recebendo oxigênio, deve estar entre 96% e 100% para assegurar adequada oxigenação tecidual (TREMPER & BARKER, 1989). Valores entre 85% a 92% são observados em suínos sob anestesia geral e respiração espontânea (HUGHES, 1986). Apesar das médias da $ETCO_2$ e FR estarem elevadas em nosso estudo, a média de saturação de O_2 foi superior a 90% em todos os animais, independentemente do tempo. Ainda, as médias de $satO_2$ do GLap foram estatisticamente superiores ao GNotes (variando entre 95% e 98% versus 91% e 94% respectivamente), entretanto esta diferença não apresenta significância clínica, uma vez que os valores dos dois grupos encontram-se entre os parâmetros normais.

Também não foi observada diferença com relação à FC entre os grupos, assim como não houve diferença com o decorrer do procedimento. A frequência cardíaca média dos animais ao longo do procedimento variou entre 86 e 100 bpm, semelhante aos dados encontrados na literatura para suínos sob anestesia geral (TRANQUILLI *et al.*, 1982).

5.5 COMPLICAÇÕES

5.5.1 Relacionadas ao acesso

Apenas um animal do GNotes apresentou dificuldade de acesso, com sangramento vaginal de 80 ml, o qual não causou repercussões hemodinâmicas e cessou espontaneamente após o acesso a cavidade. Dificuldades para o acesso vaginal, em animais de experimentação, têm sido descritas por outros autores, provavelmente por questões anatômicas, como tamanho dos animais e variações anatômicas da vagina. Diferente do que é descrito em humanos, a culdotomia em suínos é realizada “às cegas” (SOUSA *et al.*, 2007).

5.5.2 Avaliação da cavidade e obtenção das biópsias

Em todos os animais foi possível a visibilização ampla da superfície peritoneal e nítida inspeção hepática. O acesso possibilitou a avaliação da bexiga, útero, alças intestinais, fígado, vesícula biliar, baço, estômago e superfície diafragmática. Em todos os animais obtiveram-se, sem maiores dificuldades técnicas, duas amostras hepáticas e quatro amostras peritoneais. Contudo, a ausência de instrumental adequado para manipulação dos órgãos no GNotes não permitiu maior exposição dos órgãos sob o epíplon. Não houve nenhuma complicação intra-operatória.

5.5.3 Evolução pós-operatória

É importante ressaltar que, para que não houvesse influência do tempo de estresse anestésico assim como do tempo cirúrgico e pneumoperitônio nos resultados intra-operatórios e evolução pós-operatória, realizou-se no presente estudo, a técnica de “par anestésico”. Os animais do GNotes e GLap foram submetidos, propositalmente, a procedimentos com tempo médio anestésico similar (61,2min *versus* 59min respectivamente) assim como tempo médio cirúrgico (42,8min *versus* 39,8min respectivamente).

Em estudos com animais de experimentação, atividade física ou movimentação, ingesta e avaliação do peso são importantes parâmetros de

avaliação quanto à evolução pós-operatória (PULZ *et al.*, 2009; DAMY *et al.*, 2010). No presente estudo, não houve diferenças entre os grupos com relação ao retorno da ingesta assim como na movimentação pós-operatória. Nenhum animal apresentou náuseas/vômitos ou diarreia a partir do primeiro dia de pós-operatório. Apesar da maioria dos animais terem apresentado perda ponderal, em nenhum caso esta perda foi superior a 5% do peso corporal. Também não foram observadas diferenças estatisticamente significantes com relação à perda de peso entre o GNotes e GLap.

Não foram observadas complicações pós-operatórias tais como coleção, sangramento, lesão de víscera em nenhum dos animais.

Apesar das possíveis vantagens, o instrumental do *NOTES* continua a ser um grande obstáculo à realização de cirurgias mais complexas. A flexibilidade inerente do endoscópio impede de se obter um campo operatório estável, assim como a necessidade de retroflexão pode gerar imagens invertidas. A falta de triangulação é também importante barreira técnica. Além disso, a cirurgia por orifícios naturais apresenta um risco potencial de aumento nas taxas de infecção inerentes à abertura de um órgão/estrutura potencialmente contaminado, bem como o risco de fístula devido ao fechamento ou cicatrização inadequado do local do acesso (PEARL & PONSKY, 2008; NESARGIKAR, 2009).

5.5.4 Avaliação microbiológica

Um dos primeiros passos para a realização da cirurgia por orifícios naturais é a escolha do local de acesso. O acesso vaginal já vem sendo utilizado há muitos anos em cirurgias ginecológicas, principalmente histerectomia vaginal, assim como para extração de órgãos abdominais em cirurgias laparoscópicas (esplenectomia, ooforectomia, colectomia). A principal vantagem da via vaginal é permitir o acesso simples e direto à cavidade abdominal, assim como o fechamento fácil e com baixo risco de complicações maiores. Entretanto, uma importante limitação é contemplar apenas a população feminina. Além disso, a via vaginal, por diferentes razões, apresenta restrições entre as próprias mulheres, sendo que mais de 80% das mulheres optariam pela via transgástrica para retirada da vesícula biliar ao invés da via vaginal (VARADARAJULU *et al.*, 2008).

A incidência de complicações infecciosas após operações abdominais via vaginal é controversa. Meltomaa *et al.* relataram taxa de infecção pós histerectomia vaginal de 39%, significativamente superior à histerectomia abdominal (24%) e histerectomia laparoscópica (3%) (MELTOMAA *et al.*, 1999). Entretanto, Mäkinen *et al.* (2001) relataram taxas de complicações infecciosas após HV, HA e HL equivalentes: 10%,13% e 9%, respectivamente. Ottossen *et al.* (2000) também relataram não haver diferenças significativas nas taxas de infecção de ferida e infecção vaginal após HV, HA e HL.

A principal complicação dos procedimentos vaginais é a infecção urinária. O uso de antibioticoprofilaxia parece diminuir a incidência de complicações infecciosas (DONNEZ *et al.*, 2009). No presente estudo, um animal do GLap e um animal do GNotes apresentaram cultura da amostra peritoneal da pelve positiva para *Corynebacterium spp* e *Escherichia coli*, respectivamente. Entretanto, os animais não apresentavam qualquer sinal clínico de infecção ou alteração intra-abdominal. Não houve correlação entre a flora bacteriana do local do acesso com as culturas peritoneais positivas, tanto no GLap quanto no GNotes. Com relação às hemoculturas, um animal do GLap apresentou hemocultura positiva para *Staphylococcus coagulase negativa* 24 horas após o procedimento. Após sete dias, um animal do GLap apresentou hemocultura positiva para *Escherichia coli* e um animal do GNotes para *Staphylococcus coagulase negativa*. Os três casos foram considerados contaminação da amostra. O *Staphylococcus coagulase negativa*, é germe colonizante da pele e, na ausência de sinais clínicos infecciosos, é considerado contaminante (MIRRETT *et al.*, 2001; KHATIB *et al.*, 2002). Apesar da *Escherichia coli* em humanos não ser colonizante da pele e, quando positiva na hemocultura, ser considerada infecção, em porcos, pode ser colonizante da pele, conforme demonstrado nas culturas pré-antisepsia da pele de dois animais do GLap no presente estudo. São descritas na literatura taxa de 3% a 8% de contaminação das hemoculturas (RODRIGUES *et al.*, 2007).

O estômago tem sido outra opção para o acesso à cavidade abdominal. O acesso TG, comparado ao TV, tem a clara vantagem de ser aplicável também em pacientes do sexo masculino. Quando comparado ao acesso transcolônico, parece favorável devido a um menor risco teórico de contaminação e melhor capacidade de cicatrização (AREZZO & MORINO, 2010). Entretanto, novamente questões relacionadas à infecção são colocadas. Estudos recentes têm demonstrado que,

apesar de maior contagem de bactérias no aspirado peritoneal após abertura do estômago comparado à antes da gastrotomia, não houve correlação entre os germes encontrados no suco gástrico (pré-gastrotomia) e aqueles encontrados intraperitoneais (pós-gastrotomia) (NARULA *et al.*, 2008, 2009). O principal problema que se impõe após a abertura do estômago são as potenciais e graves complicações relacionadas ao não fechamento ou não cicatrização adequada no pós-operatório. Vários diferentes equipamentos e métodos de fechamento têm sido estudados, mas até o momento nenhuma técnica foi considerada comprovadamente segura (BERGSTRÖM *et al.*, 2008; AREZZO & MORINO, 2010).

5.6 PERSPECTIVAS

Como os procedimentos podem ser realizados totalmente por via endoscópica, não há necessidade de anestesia geral. Dessa forma o *NOTES* pode ser feito na unidade de endoscopia ou à beira do leito na UTI, evitando o transporte de pacientes e permitindo o diagnóstico preciso de patologias intra-abdominais (RAYMOND *et al.*, 2007). Além disso, o *NOTES* pode ser particularmente adequado em alguns grupos de pacientes, como obesidade, onde a cirurgia convencional ou laparoscópica tem desafios e limitações (DECARLI *et al.*, 2008).

Mesmo se o *NOTES* não resultar em mudanças significativas na prática clínica, as tecnologias que estão sendo desenvolvidas, como resultado do entusiasmo atual, podem ter aplicação em outras áreas. Por exemplo, os novos aparelhos de sutura endoscópica, que estão sendo atualmente submetidos à avaliação clínica, podem ser utilizados no fechamento de perfurações inadvertidas do trato gastrointestinal durante exames endoscópicos de rotina, eliminando a necessidade de tratamento cirúrgico.

Por estas razões, muitos consideram o surgimento do *NOTES* uma progressão lógica do desenvolvimento da cirurgia minimamente invasiva. Entretanto, alguns especialistas não vêem vantagens significativas quando comparadas a laparoscopia, e as vantagens em termos estéticos seriam apenas marginais.

O *NOTES* deve ainda ser considerado uma técnica experimental. Para que essa nova técnica seja incluída no arsenal de opções terapêuticas, são necessários estudos que comprovem sua efetividade, além de demonstrar taxas aceitáveis de morbidade e mortalidade, no mínimo comparáveis às técnicas consideradas como

padrão. O presente estudo, em animais, demonstrou não haver maior infecção ou contaminação peritoneal após peritonioscopia transvaginal. Novos estudos, em humanos, são necessários para confirmar estes resultados e permitir a maior utilização do *NOTES* na prática clínica.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitiram concluir que:

- O *NOTES* transvaginal apresenta parâmetros fisiológicos intra-operatórios equivalentes aos encontrados na cirurgia laparoscópica;
- O *NOTES* está associado à rápida recuperação e evolução pós procedimento satisfatória, assim como após procedimentos laparoscópicos;
- Não há contaminação da cavidade peritoneal clinicamente significativa após a realização de peritonioscopia transvaginal;
- O *NOTES* transvaginal associa-se a taxa de complicações infecciosas similar à laparoscopia.

REFERÊNCIAS

ALLENDORF, J.D., et al. Postoperative immune function varies inversely with the degree of surgical trauma in murine model. **Surg Endosc**, v. 11, p.427-430, 1997.

AREZZO, A.; MORINO, M. Endoscopic closure of gastric access in perspective NOTES: an update on techniques and technologies. **Surg Endosc.**, v.24, n.2, p.298-303, 2010.

AWAD, M.M., et al. NOTES Transgastric Cholecystectomy: Outcomes At One-Year. **Gastrointest Endosc**, v. 69, n. 5, 2009.

BERGSTRÖM, M.; SWAIN, P.; PARK, P.O. Early clinical experience with a new flexible endoscopic suturing method for natural orifice transluminal endoscopic surgery and intraluminal endosurgery (with videos). **Gastrointest Endosc**, v.67, n.3, p.528-533, 2008.

BESSLER, M., et al. Transvaginal laparoscopically assisted endoscopic cholecystectomy: A hybrid approach to natural orifice surgery. **Gastrointest Endosc.**, v.66, n. 6, p.1243-1245, 2007.

BINGENER, J.; KRISHNEGOWDA, N.K.; MICHALEK, J.E. Immunologic parameters during NOTES compared with laparoscopy in a randomized blinded porcine trial. **Endoscopy**. v.42, n.1, p.:73-76, 2010.

BONI, L., et al. Natural orifices transluminal endoscopic surgery (NOTES) and other allied "ultra" minimally invasive procedures: are we losing the plot? **Surg Endosc.**, v.23, p.927-929, 2009.

BUSTARD, L.K.,. Use of pigs in biomedical research. [s.n]:**Nature**, v. 208, p. 531-531, 1965.

CHANG C.; REGE V. R. Cirurgia Minimamente Invasiva.. 17. ed. Sabiston: **Tratado de Cirurgia**, p. 445-470, 2005.

CHAUDHARY, D., et al. Comparative evaluation of the inflammatory mediators in patients undergoing laparoscopic versus conventional cholecystectomy. **ANZ J Surg**, v. 69, p. 369-372, 1999.

CLARKE, M.G., et al. The surgical management of acute upper gastrointestinal bleeding: A 12-year experience. **Int J Surg.**, 2010.

COLLARD, J.M.; OTTE, I.B.; KESTENS, P.J. Endoscopic stapling technique of esophagodiverticulostomy for Zenker's diverticulum. **Ann Thorac Surg.**, v.56, p. 573–576, 1993.

CUADRADO-GARCIA, A., et al. Hybrid natural orifice transluminal endoscopic cholecystectomy: prospective human series. **Surg Endosc.**, 2010.

DAMY, S.B. et al. Aspectos fundamentais da experimentação animal - aplicações em cirurgia experimental. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.56, n.1, São Paulo, 2010.

DECARLI, L., et al. Natural Orifice Translumenal Endoscopic Surgery (NOTES) Transvaginal Cholecystectomy in a Morbidly Obese Patient. **Obes Surg.**, v.18, p.886-889, 2008.

DIAMOND, M.P. Clinical Trials of an Anti-Adhesion Adjuvant. **Clinical Evaluation of Medical Devices: Principles and Case Studies**. 2 ed. Totowa, NJ: Whyte Humana Press Inc., p. 233-240, 2006.

DONNEZ, O, et al. A series of 3190 laparoscopic hysterectomies for benign disease from 1990 to 2006: evaluation of complications compared with vaginal and abdominal procedures. **BJOG.**, v.116, n.4, p.492-500, 2009.

DUBCENCO, E., et al. Postoperative Adhesion Formation After Peritoneoscopy with Liver Biopsy in a Survival Porcine Model: Laparotomic vs Laparoscopic vs NOTES Transgastric Approach. **Gastrointest Endosc AB161**, v. 69, n. 5, 2009.

FAN, J.K., et al. Systemic Inflammatory Response After Natural Orifice Translumenal Surgery: Transvaginal Cholecystectomy in Porcine Model. **JLS**. v.13, n.1, p.9-13, 2009.

FELSHER, J., et al. A novel endolaparoscopic intragastric partitioning for treatment of morbid obesity. **Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.**, v.14, p. 243-246, 2004.

FREEMAN, L.J., et al. Comparison of Pain and Postoperative Stress in Dogs Undergoing Natural Orifice Translumenal Endoscopic Surgery (NOTES), Laparoscopic, or Open Bilateral Oophorectomy. **Gastrointest Endosc.** v. 69, 2009.

GAUDERER, M.W.; PONSKY, J.L.; IZANT JUNIOR, R.J. Gastrostomy without laparotomy: A percutaneous endoscopic technique. **J Pediatr Surg**, v. 15, n. 6, p. 872-875, 1980.

GAYOTTO, L. C. C.; BOGLIOLO, L. Fígado e vias biliares. In: BOGLIOLO, L. (Org.). **Patologia Geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994, p. 599-654.

GIDAY, S.A., et al. Infection during natural orifice transluminal endoscopic surgery: a randomized, controlled study in a live porcine model. **Gastrointest Endosc**. v.71, n.4, p.812-816, 2010.

GRADY D. **Doctors Try New Surgery for Gallbladder Removal**. 2007. Disponível em: <<http://www.nytimes.com/2007/04/20/health/20surgery.html>> Acesso em: 14 abr 2010.

GUPTA, A; WATSON, D.I. Effect of laparoscopy on immune function. **Br J Surg**, v.88, p.1301, 2001.

GUTT, C.N., et al. Fewer adhesions induced by laparoscopic surgery? **Surg Endosc**, v. 18, p. 898-906, 2004.

HARRELL, A.G.; HENIFORD, B.T. Minimally invasive abdominal surgery: lux et veritas past, present, and future. **Am J Surg**, v.190, p.239-243, 2005.

HAZEY, J.W., et al. Natural-orifice transgastric endoscopic peritoneoscopy in humans: Initial clinical trial. **Surg Endosc**,v.22, n.1, p.16-20, 2008.

HUGHES, H.C. Swine in cardiovascular research. **Lab Anim Sci**, 1986; v.36, n. 4, p. 348-350, 1986.

JACOBS, W. H.; GOLDBERGER, S. B. Statement on out-patient percutaneous liver biopsy. **Dig Dis Sci**, v. 34, p. 322-333, 1989.

KADER, H.A, et al. The utility of ultrasound site selection for pediatric percutaneous liver biopsy. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v.36, n.3, p.364-367, 2003.

KALLOO, A.N., et al. Flexible transgastric peritoneoscopy: a novel approach to diagnostic and therapeutic interventions in the peritoneal cavity. **Gastrointest Endosc.**, v.60, p.114-117, 2004.

KERWIN, S.C. Hepatic aspiration and biopsy techniques. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 25, n. 2, p. 275-291, 1995.

KHATIB, R.; SCHAFFER, C.; JOHNSON, L.B. Single Positive Blood Culture for Staphylococcus aureus: Causes and Outcome. **Abstr Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother.** v. 27, n. 30, p. 42, 2002.

KRUSCHINSKI, D. The pneumoperitoneum – a continuing mistake in laparoscopy? **Surg Technol Int.** v.14, p.193-196, 2005.

LANDI, B., et al. Tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) de taille limitée (inférieure à 5 cm): revue de la littérature et propositions pour la prise en charge. **Gastroenterol Clin Biol.**, v.34, n.2, p.120-133, 2010.

LAUDANNO, O.M., et al. Transvaginal NOTES Cholecystectomy: Postoperative Gynecological Evaluation. **Gastrointest Endosc AB**, v. 69, n. 5, 2009.

LIEM, T.; APPLEBAUM, H.; HERZBERGER, B. Hemodynamic and ventilatory effects of abdominal CO₂ insufflation at various pressures in the young swine. **J Pediatr Surg**, v. 29, p. 966-969, 1994.

LINKE, G.R., et al. Transvaginal rigid-hybrid NOTES cholecystectomy: evaluation in routine clinical practice. **Endoscopy**, 2010.

LITYNSKI, G.S. Erich Mühe and the rejection of laparoscopic cholecystectomy (1985): a surgeon ahead of his time. **JSLs**, v. 2, p.341-346, 1998.

MÄKINEN, J., et al. Morbidity of 10100 hysterectomies by type of approach. **Hum Reprod**, v.16, p. 1473-1478, 2001.

MALIK, A., et al. Endoluminal and transluminal surgery: current status and future possibilities. **Surg. Endosc.**, v.20, p.1179-1192, 2006.

MARESCAUX, J., et al. Surgery without scars: Report of transluminal cholecystectomy in a human being. **Arch Surg.**, 2007, v.142, n. 9, p. 823-826, 2007.

MARKS, J., et al. PEG Rescue: ANOTES technique. **Surg Endosc**, v. 21, n. 5, p. 816-819, 2007.

MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária: farmacologia e técnicas**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p. 213-214.

MCGEE, M.F., et al. Case Advanced Surgical Endoscopy Team [CASE-T]. Infectious implications in the porcine model of natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) with PEG-tube closure: a quantitative bacteriologic study. **Gastrointest Endosc**, v.68, n.2, p. 311-318, 2008.

MCGEE, M.F., et al. Late phase TNF-alpha depression in natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) peritoneoscopy. **Surgery.**, v.143, p.318-328, 2008.

MCGEE, M.F., et al. Systemic Inflammation and Physiologic Burden of Transgastric Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery (NOTES) Peritoneoscopy: A Controlled, Prospective comparison between NOTES and Laparoscopy. **Gastrointest Endosc AB127**, v. 65, n. 5, 2007.

MELTOMAA, S.S., et al. One-Year Cohort of Abdominal, Vaginal, and Laparoscopic Hysterectomies: Complications and Subjective Outcomes. **J Am Coll Surg.**, v.189, n.4, p.389-396, 1999.

MIRRETT, S., et al. Relevance of the Number of Positive Bottles in Determining Clinical Significance of Coagulase-Negative Staphylococci in Blood Cultures. **J Clin Microbiol.**, 2001, v. 39, n. 9, p.3279-3281, 2001.

MOURET, P. From the first laparoscopic cholecystectomy to the frontiers of laparoscopic surgery: the future perspectives. **Dig Surg.**, v. 8, p.124-125, 1991.

MUIR-III W.W.; HUBBEL, J.A.E. **Manual de anestesia veterinária**. 3 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2001. p. 283-287.

NARULA, V.K., et al. Transgastric endoscopic peritoneoscopy does not require decontamination of the stomach in humans. **Surg Endosc.**, v.23, p.1331-1336, 2009.

NARULA, V.K, et al. Transgastric instrumentation and bacterial contamination of the peritoneal cavity. **Surg Endosc.**, v.22, p.605-611, 2008.

NAU, P., et al. Diagnostic transgastric endoscopic peritoneoscopy: extension of the initial human trial for staging of pancreatic head masses. **Surg Endosc.**, v.24, n. 6, p.1440-1446, 2010.

NESARGIKAR, P.N. JAUNOO, S.S. Natural orifice transluminal endoscopic surgery (N.O.T.E.S). **Int J Surg.**, v.7, n. 3, p.232-236, 2009.

NEUHAUS, S.J., et al. Influence of gases on intraperitoneal immunity during laparoscopy in tumor-bearing rats. **World J Surg**, v. 24, p. 1227-1231.

OSBORNE, D.A., et al. Laparoscopic cholecystectomy: past, present, and future. **Surg Technol Int**, v. 15, p. 81-85, 2006.

OTTOSEN, C.; LINGMAN, G.; OTTOSEN, L. Three methods for hysterectomy: a randomised, prospective study of short term outcome. **BJOG.**, v.107, n.11, p.1380-5, 2000.

PALANIVELU, C., et al. NOTES: Transvaginal endoscopic cholecystectomy in humans-preliminary report of a case series. **Am J Gastroenterol.** v.104, n.4, p.843-847, 2009.

PALANIVELU, C., et al. Transvaginal endoscopic appendectomy in humans: a unique approach to N.O.T.E.S – world's first report. **Surg Endosc.**, v.22, p.1343-1347, 2008.

PARK, P.O.; BERGSTRÖM, M. Human NOTES_: Transgastric Diagnostic Peritoneoscopy and Appendectomy. **Gastrointest Endosc.** **AB166**, v.69, n. 5, 2009.

PEARL, J.P.; PONSKY, J.L. Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery: A Critical Review. **J Gastrointest Surg.**, v.12, p.1293-1300, 2008.

PERSSON, E., et al. Infections after hysterectomy. A prospective nation-wide Swedish study. The Study Group on Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology within the Swedish Society of Obstetrics and Gynecology. **Acta Obstet Gynecol Scand.**, v. 75, n. 8, p.757-761, 1996.

PETERSON, C.Y., et al. Women's positive perception of transvaginal NOTES surgery. **Surg Endosc.**, v.23, n.8, p.1770-1774, 2009.

POTTER, K; SWANSTROM, L. Natural orifice surgery (NOTES) and biliary disease, is there a role?. **J Hepatobiliary Pancreat Surg**, v.16, p. 261-265, 2009.

PUGLIESE, R., et al. Hybrid NOTES transvaginal cholecystectomy: operative and long-term results after 18 cases. **Langenbecks Arch Surg.**, v.395, n. 3, p.241-245, 2010.

PULZ, R. S., et al. Anestesia inalatória ou anestesia balanceada em suínos. **Rev HCPA**, v.29, n.2, p.104-108, 2009.

RATTNER, D.; KALLOO, A. ASGE/SAGES working group on natural orifice transluminal endoscopic surgery. White paper. **Surg Endosc.**, v.20, n. 2, p. 329-333, 2006.

RAYMOND, P. et al.. Natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) as a diagnostic tool in the intensive care unit. **Surg Endosc.**, v.21, p. 681-683, 2007.

RIZZETTO, C., et al. Zenker's Diverticula: Feasibility of a Tailored Approach Based on Diverticulum Size. **J Gastrointest Surg.**, v.12, p.2057-2065, 2008.

RODRIGUES, F., et al. Hemoculturas positivas num Serviço de Urgência Pediátrica: 1995-2005. **Acta Pediatr Port.**, v.38, n.2, p. 69-72, 2007.

SAKAS, P.; FLAHERTY, M. Análise dos gases sanguíneos e do equilíbrio ácido-básico. In: DUKE, J.; ROSEMBERG, S.G. **Segredos em anestesiologia**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. p 37-42.

SALINAS, G., et al. Early experience in human hybrid transgastric and transvaginal endoscopic cholecystectomy. **Surg Endosc.**, v.24, n.5, p.1092-1098, 2010.

SEN, P.; BHATTACHARYYA, A.K. Endoscopic stapling of pharyngeal pouch. **J Laryngol Otol.**, v.118, p.601-606, 2004.

SOUSA, L.H., et al. Endoscopic Cholecystectomy: Proposal of a New Technique Totally Natural Orifices Transluminal. Preliminary Result of Experimental Study in Pigs. **Rev Bras Videocir**, v.5, n. 2, p.90-102, 2007.

SOUSA, L.H., et al. Totally NOTES (T-NOTES) transvaginal cholecystectomy using two endoscopes: preliminary report. **Surg Endosc.**, v.23, n. 11, p.:2550-2555, 2009.

SPECHLER, S.J., et al. History, molecular mechanisms, and endoscopic treatment of Barrett's esophagus. **Gastroenterology**, v.138, n. 3, p.854-869, 2010.

STRASBERG, S.M.; SOPER, N.J. Management of choledocholithiasis in the laparoscopic era. **Gastroenterology**, v.109, p.320-322, 1995.

STRICKLAND, A.D., et al. Transvaginal natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES): a survey of women's views on a new technique. **Surg Endosc.**, 2010.

SUGIMOTO, M., et al. Evaluation for transvaginal and transgastric NOTES cholecystectomy in human and animal natural orifice transluminal endoscopic surgery. **J Hepatobiliary Pancreat Surg**, p.255–260, 2009.

SWAIN, P. A justification for NOTES–natural orifice transluminal endosurgery. **Gastrointest Endosc.**, v.65, n.3, p. 514-516, 2007.

SWANSTROM, L.L., et al. Patient attitudes and expectations regarding natural orifice transluminal endoscopic surgery. **Surg Endosc.**, v.23, p.1519-1525, 2009.

SWINDLE, M.M.; SMITH, A.C.; HEPBURN, B.J. Swine as models in experimental surgery. **J Invest Surg.**, v.1, n.1, p.65-79, 1988.

TADA, M.; MURATA, M.; MURAKAMI, F. Development of strip-off biopsy. **Gastrointest Endosc**, v.26, p. 833-839, 1984.

TOPAZIAN, M., et al. Clinical utility of endoscopic retrograde cholangiopancreatography. **Gastrointest Endosc.**, v.46, p. 393-399, 1997.

TRANQUILLI, W.J., et al. Organ blood flow and distribution of cardiac output in nonanesthetized swine. **Am J Vet Res.** v.43, n.5, p. 895-897, 1982.

TREMPER, K.K.; BARKER, S.J. Pulse oximetry. **Anesthesiology**, v. 70, p. 98, 1989.

TRUNZO, J.A., et al. Peritoneal inflammatory response of natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) versus laparoscopy with carbon dioxide and air pneumoperitoneum. **Surg Endosc.**, v.24, n. 7, p.1727-1736, 2010.

TUMBLESON, M.E.; Schook, L.B. *Advances in Swine Biomedical Research*. [s.n]:**Plenum Press**; 1986.

UGURALP, S., et al. Reduction of peritoneal adhesions by sustained and local administration of epidermal growth factor. **Pediatr Surg Int.**, v.24, p.191-197, 2008

URAOKA, T., et al. Effectiveness of glycerol as a submucosal injection for EMR. **Gastrointest Endosc**, v.61, p.736-740, 2005.

VARADARAJULU, S.; TAMHANE, A.; DRELICHMAN, E.R. Patient perception of natural orifice transluminal endoscopic surgery as a technique for cholecystectomy. **Gastrointest Endosc.**, v. 67, n. 6, p. 854-860, 2008.

VOLCKMANN, E.T., et al. Surgeon Perceptions of Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery (NOTES). **J Gastrointest Surg.**, v.13:1401–1410, 2009

WAGH, M.S.; THOMPSON, C.C. Surgery insight: natural orifice transluminal endoscopic surgery: an analysis of work to date. **Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.**, v.4, p. 386-392, 2007.

WALKER, C.B., et al. Minimal modulation of lymphocyte and natural killer cell subsets following minimal access surgery. **Am J Surg**, v.177, p.48-54, 1999.

ZORNIG, C., et al. Transvaginal NOTES hybrid cholecystectomy: feasibility results in 68 cases with mid-term follow-up. **Endoscopy.**, v.41, n. 5, p.391-394, 2009.

ZORRON R., et al. International multicenter trial on clinical natural orifice surgery--NOTES IMTN study: preliminary results of 362 patients. **Surg Innov.**, v.17, n. 2, p.142-58, 2010.

ZORRON, R., et al. NOTES transvaginal cholecystectomy: preliminary clinical application. **Surg Endosc.**, v.22, n. 2, p.542-547, 2008.

APÊNDICE

APÊNDICE A - FOTOS

FIGURA 1 - (A) TERMOSTATO QUE REGULA TEMPERATURA E CICLO NOITE/DIA E (B) ANIMAIS ACOMPANHADOS NO PÓS-OPERATÓRIOS

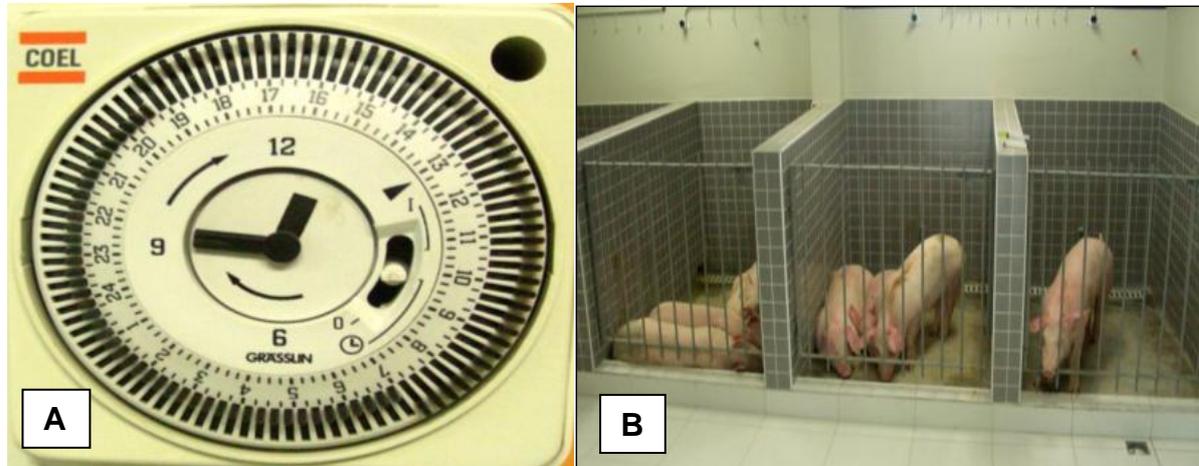


FIGURA 2 - EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NA ANESTESIA, PROCEDIMENTOS POR LAPAROSCOPIA E ENDOSCOPIA



FIGURA 3 - DESINFECÇÃO DE ALTO GRAU DO INSTRUMENTAL (A) INSTRUMENTAL NOTES E (B) INSTRUMENTAL LAPAROSCOPIA

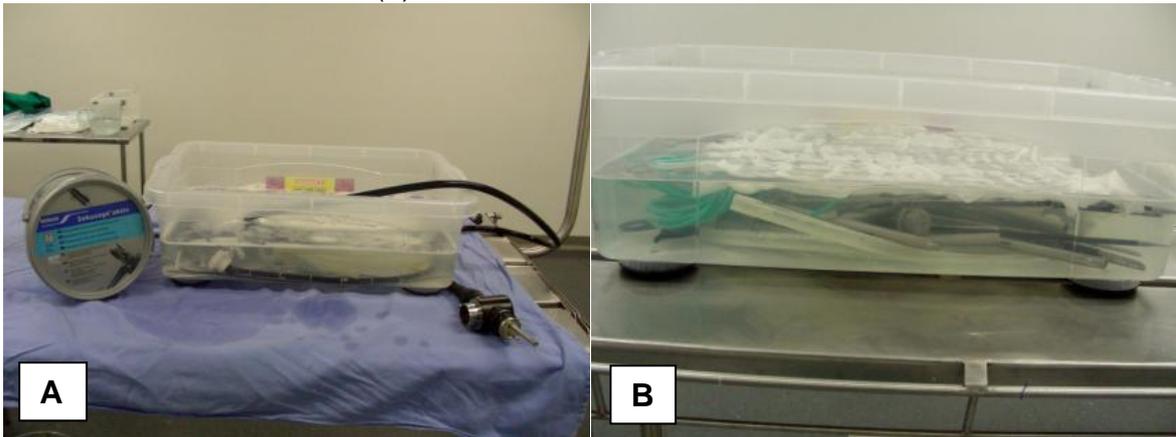


FIGURA 4 - MODELO DE PREPARAÇÃO DOS ANIMAIS



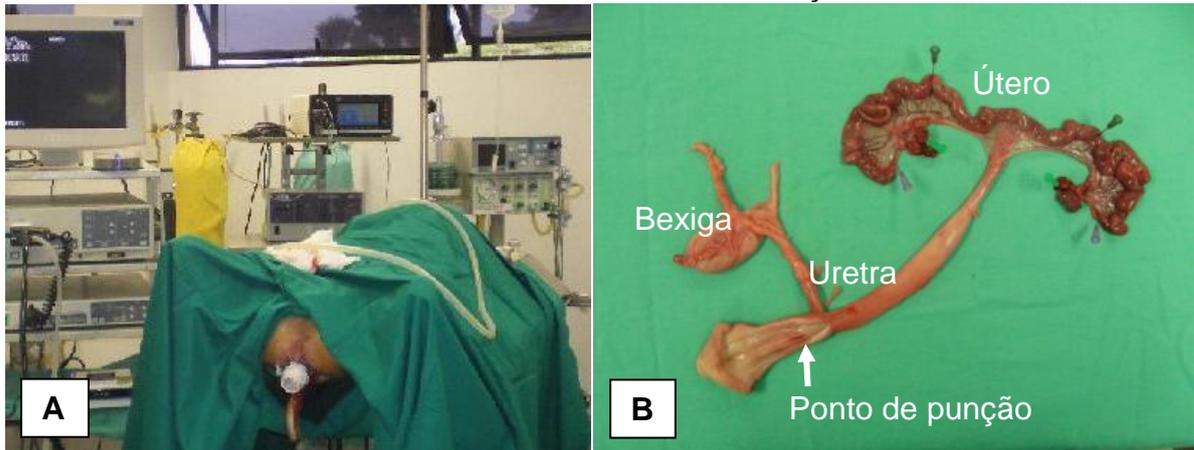
FIGURA 5 - TÉCNICA DE COLETA DA CULTURA VAGINAL



FIGURA 6 - TÉCNICA DO PROCEDIMENTO LAPAROSCÓPICO



FIGURA 7 - (A) TÉCNICA DE PUNÇÃO "AS CEGAS" DO ACESSO VAGINAL E (B) PEÇA PÓS-CIRÚRGICA DEMONSTRANDO LOCAL DA PUNÇÃO VAGINAL



ANEXOS

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE POSITIVO



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Rua Prof. Pedro Viriato Parigot de Souza, 5.300
Fone: (41) 3317-3260 ou 3317-3290
Fax: (41) 317-3030
cep@up.edu.br

PROTOCOLO 166/07

**PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA ANALISADO PELO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UP**

IDENTIFICAÇÃO		
1. Título do Projeto: COLECISTECTOMIA POR VIA ENDOSCÓPICA - ESTUDOS EXPERIMENTAIS EM ANIMAIS.		
2. Pesquisador: Christiano Claus e Eduardo Bonin .		
3. Instituição do pesquisador: UP		
4. Local onde será realizada a pesquisa: Centro cirúrgico experimental - UP		
5. OBJETIVO		
COMPARAR DUAS TÉCNICAS DE COLECISTECTOMIA (POR VÍDEOLAPAROSCOPIA E POR ORIFÍCIOS NATURAIS) MEDIANTE ANÁLISE DE PARÂMETROS HEMODINÂMICOS, BIOQUÍMICOS E DE CICATRIZAÇÃO EM PORCOS. COMPARAR DUAS TÉCNICAS DE FECHAMENTO DE GASTROTOMIA POR VIA ENDOSCÓPICA MEDIANTE ANÁLISE DE FORÇA DE EXPLOSÃO EM PORCOS.		
6. SÍNTESE DO PROJETO		
Serão utilizados 30 porcos fêmeas (Sus scrofus domesticus, mammalia), adultos, com peso aproximado de 30 kilogramas, provenientes da Granja Bela Vista localizada em Campo Magro, Paraná. Os animais serão levados ao Biotério ao UP por 48 horas antes da realização do experimento cirúrgico onde receberão água e ração ad libitum. Pré-operatório: todos os animais serão submetidos a jejum por 8 horas e o suprimento de água será retirado quatro horas antes do procedimento. Per-operatório: Anestesia: como medicação pré-anestésica será aplicado injeção intramuscular de uma associação de 14mg/kg de cloridrato de quetamina, 2mg/kg de cloridrato de xilazina e 0,4 mg/kg de acepromazina. Após a sua entrada no Centro Cirúrgico Experimental será realizada a canulação da veia marginal da orelha com catéter 22G e iniciar-se-a a fluidoterapia. Em seguida, após 5 a 10 minutos, será realizada indução anestésica pela injeção endovenosa de 10mg/kg de thiopental a 2,5%. Após a perda total de reflexos, o animal receberá propofol intravenoso (1-3 mg/kg EV) para a indução anestésica. A intubação entotraqueal será realizada com laringoscópio sob visão direta. O plano anestésico será mantido com isoflurano (2%). Serão obtidas amostras seriadas de sangue para análises bioquímicas e de hemocultura. Nos animais do Grupo GL será realizado pneumoperitônio com injeção de gás carbônico por técnica de punção às cegas com agulha de Verres. Após atingir uma pressão intraperitonal de aproximadamente 10mmHg, serão inseridos três trocarteres, um para a colocação de ótica e os outros dois para a colocação de pinças de manipulação. Nos animais do grupo GEF um tubo longo será introduzido pela via vaginal até a cavidade peritonal e em seguida o vídeo-endoscópio flexível será introduzido por dentro do tubo até atingir-se o andar superior do abdome. Todos os animais serão mortos após 48 horas. A morte do animal será realizada com a injeção de thiopental sódico intramuscular e complementada com dose letal de cloreto de potássio. Em seguida, será realizada laparotomia mediana com acesso e inspeção do cavum abdominis para coleta de material para cultura de bactérias. Os animais receberão Enrofloxacin e Dipirona sódica de 8/8h a partir do final do procedimento cirúrgico.		
COMENTÁRIOS DO RELATOR		
Os protocolos anestésicos e analgésicos são adequados. A justificativa é aceitável do ponto de vista ético.		
PARECER FINAL		
<input checked="" type="checkbox"/> Recomenda a Aprovação	<input type="checkbox"/> Não Recomenda a aprovação	<input type="checkbox"/> Em pendência
10. Solicita-se envio de relatório final, ou carta assinada pelo orientador comunicando término, ou cancelamento da pesquisa.		




MARIA FERNANDA TORRES
COORDENADORA

ANEXO B - TÉCNICA DE COLETA PARA CULTURA BACTERIANA

OBJETIVOS

Documentar a rotina de coletas para as culturas bacterianas

DEFINIÇÃO

A amostra deve ser representativa do local onde está ocorrendo o processo infeccioso, e deve-se evitar contaminação com a microbiota normal.

PROCEDIMENTO

a) Coleta para cultura bacteriana de aeróbios:

- Separar swab estéril, nunca cotonetes;
- Realizar uma boa assepsia da região externa da lesão para evitar contaminações;
- Esfregar com pressão ao foco da lesão a ser analisada, em casos de lesões secas umedecer o swab com soro fisiológico estéril,
- Logo em seguida introduzir o swab no meio de transporte (gel), viabilizando a amostra por 48 horas;
- Identificar o swab;
- No caso de urina para cultura bacteriana, o método de coleta preferencial é a cistocentese, quando a impossibilidade da cistocentese, fazer uma boa assepsia da região de pênis/vulva;
- No caso de fezes para cultura bacteriana, enviar fezes colhidas logo após a defecação, podendo ser feito também um swab retal;
- Manter as amostras em local seco e sem exposição ao sol, no caso de urina e fezes manter refrigerada a 2°C a 8°C até o momento da coleta pelo laboratório, não podendo exceder 12 horas.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Rejeição de amostra

- Swab secos com mais de 2 horas;
- Amostras insuficientes;
- Amostras colhidas com mais de 48 horas;
- Ausência de identificação correta.

- Exames: Cultura Bacteriana e Antibiograma.

OBSERVAÇÃO: Swabs secos, sem meio de transporte, devem ser enviados ao laboratório em até no máximo 2 horas, podendo ser embebido em soro fisiológico para evitar ressecamento da amostra, conseqüentemente perda da amostra. Pêlos não são indicados para cultura bacteriana, devido à grande quantidade de bactérias saprófitas, sendo o SWAB da PELE o material ideal para cultura bacteriana da pele.

ANEXO C - TÉCNICA DE COLETA PARA EXAMES EM LÍQUIDOS CAVITÁRIOS

OBJETIVOS

Padronização e a criação de uma rotina trazem enormes benefícios que refletem diretamente na qualidade da amostra colhida, conseqüentemente uma maior confiabilidade no resultado do exame.

DEFINIÇÃO

As cavidades fechadas do organismo (pleural, pericárdica, e peritoneal) são revestidas por duas membranas conhecidas como serosas. Uma delas reveste as paredes da cavidade parietal e a outra cobre os órgãos do interior da cavidade (membrana visceral). O líquido situado entre essas duas membranas recebe o nome de líquido seroso, cuja função é lubrificar as superfícies das membranas e órgãos facilitando sua movimentação.

PROCEDIMENTO

a) Técnica de Coleta

- Realizar uma assepsia da região externa a ser colhida;
- Com uma seringa e agulha estéril de grande volume aspirar o líquido da cavidade (Pleural, peritonal ou articular);
- Transferir o líquido para um tubo com EDTA (Tampa roxa) e outra metade para um tubo sem aditivo (Tampa vermelha);
- Manter as amostras refrigeradas de 2°C a 8°C até o momento da coleta pelo laboratório, não podendo exceder 24 horas.

EXAMES: Análise de líquidos peritonal, pleural e sinovial.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Rejeição de amostra

- Amostras insuficientes;
- Líquidos colhidos com mais de 24 horas
- Ausência de identificação correta.

ANEXO D - TÉCNICA DE COLETA PARA HEMOCULTURA

OBJETIVOS

Documentar a rotina de utilização de solicitação de hemoculturas.

DEFINIÇÃO

Hemocultura é o exame realizado com o objetivo de isolar e identificar microorganismos patogênicos no sangue de um paciente que se supõe ter uma infecção. É um exame auxiliar relevante, pois seu resultado reflete diretamente na terapêutica.

PROCEDIMENTO

a) Técnica de Coleta

- Lavar as mãos com água e sabão, enxaguar bem, enxugar com papel toalha e calçar as luvas;
- Fazer a anti-sepsia da área com PVPI, por no mínimo 30 segundos. Deixar secar;
- Passar álcool 70%;
- Coletar assepticamente no mínimo 5 ml de sangue, cuidar para que não hajam bolhas de ar na seringa;
- Não trocar de agulha antes de injetar o sangue no frasco.

b) Volume de sangue para cada amostra

Deve ser respeitada a quantidade de sangue de 1:10 em relação ao meio de cultura, isto é: 5ml de sangue para 45ml de meio de TSB -Trypticase Soy Broth.

c) Inoculação e Incubação

- Romper o lacre central dos frascos e fazer assepsia na tampa de borracha dos frascos de meio com TSB (frasco de hemocultura) com álcool 70%;
- Inocular 5 ml de sangue direto da seringa de coleta no frasco de hemocultura adulto (45ml). Misturar bem (sem agitar) para evitar coagulação;

Para distâncias maiores, proceder como o descrito abaixo:

- Em caso de mais de um frasco, em um deles deverá ser introduzindo na tampa de borracha uma agulha estéril com uma pequena porção de algodão na parte posterior, para aeração;
- Incubar a 35°C por 24 horas antes de enviar.

d) Transporte

Após decorrido o tempo de incubação de 24 horas, o TSB deverá ser encaminhado em temperatura ambiente, juntamente com a Ficha de Encaminhamento de Amostras Clínicas devidamente preenchida.

ANEXO E - TÉCNICA PARA A COLETA DE EXAME HISTOPATOLÓGICO

OBJETIVOS

Padronizar e documentar uma rotina para trazer benefícios que refletem diretamente na qualidade da amostra colhida, conseqüentemente uma maior confiabilidade no resultado do exame.

DEFINIÇÃO

O exame histopatológico fornece informações precisas quanto à origem da lesão e também sobre o tempo de evolução (crônica ou aguda), e tipos histológicos envolvidos. Analisam-se as células, sua arquitetura e as relações com o tecido normal. Assim, por se tratar de um material biológico nobre, é importante que o material esteja adequadamente acondicionado e identificado, de forma a evitar perdas, extravios ou inviabilizar tecnicamente sua análise.

PROCEDIMENTO

a) Descrever o procedimento adotado:

- Separar um frasco de boca larga de volume adequado para a peça anatômica a ser colhida, respeitando a proporção de 10 partes de Formol 10% para 1 parte de material, recomenda-se preencher o frasco com formol e depois inserir o fragmento a ser enviado;
- Utilizar sempre e somente Formol 10%, pois álcool e refrigeração não conservam a amostra;
- Retirar o fragmento com no máximo 4 cm, para que o Formol 10% consiga penetrar até o centro do fragmento;
- Fragmentos de pele devem conter todas as camadas da pele;
- Identificar o frasco;
- Preencher de forma mais completa possível o formulário de requisição de histopatológico;
- • O tempo mínimo de fixação é de 24 horas, impossibilitando o preparo da peça antes deste período;

- • Manter as amostras em local seco e sem exposição ao sol, até o momento da coleta pelo laboratório.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Rejeição de amostra

- Fragmentos refrigerados ou fixados em qualquer outro material que não seja Formol 10%;
- Amostras insuficientes;
- Ausência de informações no formulário de requisição de histopatológico, o que impossibilita a identificação da origem da peça;
- Amostras em estado de deteriorização;
- Ausência de identificação correta.

OBSERVAÇÃO: Materiais corretamente fixados com Formol 10% são viáveis para análise por até 2 meses. Respeitar a proporção 10:1 (10 de Formol para 1 de material).

**ANEXO F - TABELA DEMOSTRANDO O PESO DE CADA ANIMAL NO PRÉ-
OPERATÓRIO E 7º PO**

Tabela - Peso pré-operatório e 7º PO (em Kg)

	Peso Pré- Op.	Peso 7º PO
GNotes 1	45	43
GNotes 2	45	44
GNotes 3	46	43,5
GNotes 4	44	44
GLap 1	41	39
GLap 2	42	43
GLap 3	43	41
GLap 4	43	38
GNotes 5	40	38
GNotes 6	45	43.5
GLap 5	41	39
GLap 6	40	40

**ANEXO G - TABELAS DEMOSTRANDO OS DADOS DOS PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS OPERATÓRIOS AVALIADOS**

Tabela - Resultados da ETCO₂ (em mmHg)

Animal	PCO₂ t1	PCO₂ t2	PCO₂ t3	PCO₂ t4	PCO₂ t5
GNotes 1	57	62	66	70	66
GNotes 2	50	55	54	60	53
GNotes 3	60	61	59	56	62
GNotes 4	63	52	61	56	56
GLap 1	52	57	58	71	71
GLap 2	35	38	51	52	54
GLap 3	43	39	49	40	
GLap 4	52	54	66	69	63
GNotes 5	68	58	64	59	60
GNotes 6	48	47	49	58	58
GLap 5	51	59	63	64	57
GLap 6	58	58	60	65	66

t = tempo, a cada 10 minutos

Tabela - Resultados da saturação de O₂ (em %)

Animal	PO₂ t1	PO₂ t2	PO₂ t3	PO₂ t4	PO₂ t5
GNotes 1	87	88	89	90	90
GNotes 2	97	95	92	92	93
GNotes 3	97	93	90	91	94
GNotes 4	92	91	91	93	97
GLap 1	98	87	100	100	100
GLap 2	100	93	100	99	99
GLap 3	87	100	98	99	
GLap 4	100	98	97	99	98
GNotes 5	88	93	91	94	94
GNotes 6	97	100	96	94	100
GLap 5	99	96	93	94	94
GLap 6	100	96	100	97	96

t = tempo, a cada 10 minutos

Tabela - Resultados da FR (em ipm)

Animal	FRt1	FRt2	FRt3	FRt4	FRt5
GNotes 1	20	14	16	17	23
GNotes 2	33	31	30	20	24
GNotes 3	18	24	21	27	22
GNotes 4	16	24	20	21	20
GLap 1	37	40	32	34	36
GLap 2	41	31	43	39	37
GLap 3	23	40	28	30	
GLap 4	30	27	27	26	27
GNotes 5	16	17	20	23	24
GNotes 6	15	17	19	19	25
GLap 5	21	23	27	22	27
GLap 6	28	27	31	31	29

t = tempo, a cada 10 minutos

Tabela - Resultados da FC (em bpm)

Animal	FCt1	FCt2	FCt3	FCt4	FCt5
GNotes 1	102	97	109	105	95
GNotes 2	120	124	118	105	106
GNotes 3	100	100	92	116	102
GNotes 4	72	72	66	68	64
GLap 1	115	109	114	98	117
GLap 2	111	84	101	74	86
GLap 3	93	115	96	100	
GLap 4	70	76	64	61	68
GNotes 5	89	66	54	53	60
GNotes 6	81	107	78	84	102
GLap 5	92	104	107	99	101
GLap 6	116	100	107	96	98

t = tempo, a cada 10 minutos

**ANEXO H - TABELA DEMONSTRANDO O RESULTADO DAS HEMOCULTURAS
EM CADA ANIMAL, ANTES DOS PROCEDIMENTO (T0), APÓS 24H (T2) E NO 7º
PO (T3)**

Animal	T0	T2	T3
GNotes 1	-	-	-
GNotes 2	-	-	-
GNotes 3	-	-	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
GNotes 4	-	-	-
GLap 1	-	-	-
GLap 2	-	-	<i>Escherichia coli</i>
GLap 3	-	-	-
GLap 4	-	-	-
GNotes 5	-	-	-
GNotes 6	-	-	-
GLap 5	-	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	-
GLap 6	-	-	-

ANEXO I - TABELA DEMONSTRANDO OS RESULTADOS DAS CULTURAS DO LOCAL DO ACESSO ANTES E APÓS A ANTISSEPZIA, ASSIM COMO DAS CULTURAS PERITONEAIS DA PELVE E HCD

Animal	Pré-Antissepsia	Pós-Antissepsia	Pelve	HCD
	<i>Echerichia coli</i> 2991			
GNotes 1	<i>Streptococcus disgalactiae</i> <i>subsp. equisimilis</i>	-	-	-
	<i>Aerococcus viridans</i>			
GNotes 2	<i>Streptococcus disgalactiae</i> <i>subsp. equisimilis</i>	-	-	-
	<i>Aerococcus viridans</i>			
GNotes 3		-	-	-
	<i>Streptococcus disgalactiae</i> <i>subsp. equisimilis</i>			
GNotes 4		-	-	-
	<i>Acinetobacter lwoffii</i>			
GLap 1	<i>Pseudomas luteola</i> <i>Serratia phymuthica</i> <i>Echerichia coli</i> 2791 <i>Aerococcus viridans</i>	-	-	-
	<i>Shingomonas paucimobilis</i>			
GLap 2	<i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Echerichia coli</i> 2971	-	<i>Corinebacterium</i> <i>spp</i>	-
	<i>Pseudomas oryzihabitans</i>			
GLap 3	<i>Serratia phymuthica</i>	-	-	-
	<i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Serratia phymuthica</i>			
GLap 4		-	-	-
	<i>Aerococcus viridans</i> <i>Echerichia coli</i> 2991			
GNotes 5		-	<i>Echerichia coli</i> 2791	-
	<i>Streptococcus disgalactiae</i> <i>subsp. equisimilis</i>			
GNotes 6		<i>Streptococcus disgalactiae</i> <i>subsp. equisimilis</i>	-	-
	<i>Streptococcus disgalactiae</i> <i>subsp. equisimilis</i>			
GLap 5		-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>			
GLap 6	<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-