

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL – EQUINOS

Marcelle Bettio

**COLORAÇÃO DA CÁPSULA ANTERIOR DA LENTE DE EQUINOS
(*Equus caballus*) COM TRÊS CONCENTRAÇÕES DE VIOLETA GENCIANA:
ESTUDO *EX VIVO***

PORTO ALEGRE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL – EQUINOS

**COLORAÇÃO DA CÁPSULA ANTERIOR DA LENTE DE EQUINOS
(*Equus caballus*) COM TRÊS CONCENTRAÇÕES DE VIOLETA GENCIANA:
ESTUDO *EX VIVO***

Autor: Marcelle Bettio

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Medicina
Animal – Equinos.

Orientador: Prof. Dr. João Antonio Tadeu Pigatto

PORTO ALEGRE

2022

Marcelle Bettio

COLORAÇÃO DA CÁPSULA ANTERIOR DA LENTE DE EQUINOS (*Equus caballus*) COM TRÊS CONCENTRAÇÕES DE VIOLETA GENCIANA: ESTUDO *EX VIVO*

Aprovada em 6 DEZ 2022

APROVADO POR:

Prof. Dr. João Antonio Tadeu Pigatto
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Carlos Afonso de Castro Beck
Membro da Comissão

Prof. Dr^a. Ana Cristina Pacheco de Araújo
Membro da Comissão

Dr^a. Paula Stieven Hünning
Membro da Comissão

CIP - Catalogação na Publicação

Bettio, Marcelle

Coloração da cápsula anterior da lente de equinos
(Equus caballus) com três concentrações de violeta
genciana: estudo ex vivo / Marcelle Bettio. -- 2022.
41 f.

Orientador: João Antonio Tadeu Pigatto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, , Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. capsulotomia anterior. 2. violeta genciana. 3.
treinamento cirúrgico. 4. equinos. I. Antonio Tadeu
Pigatto, João, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Uma das coisas que mais admiro na minha família é a intensidade com que participamos um dos sonhos dos outros, e é isso que torna a conquista de cada um igualmente especial para todos. Agradeço e dedico esse trabalho especialmente à minha mãe, mulher guerreira e batalhadora, que nunca mediu esforços para a minha formação e sempre me apoiou incondicionalmente.

À minha irmã, Francielle, que sempre esteve presente ao meu lado acreditando nesse sonho junto comigo.

Ao meu namorado, Vinícius, por toda cumplicidade, apoio e todo suporte ao longo desta trajetória.

Ao meu orientador, Prof. João Pigatto que me despertou o amor pela oftalmologia veterinária. Agradeço imensamente por todas as oportunidades e ensinamentos, serei eternamente grata.

A Dra. Fabiana Quartiero pela troca de experiências, pelo acolhimento e apoio nos momentos de incertezas.

À minha amiga e colega de profissão Maiara Poersch, por toda parceria e auxílio na execução do projeto. Obrigada por deixar os momentos de tensão mais leves com seu otimismo.

A toda equipe do Frigorífico Foresta de São Gabriel – RS que foi muito solícita, nos recepcionou muito bem e nos doou o material para execução desse projeto.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

O uso de corantes vitais tornou-se uma ferramenta essencial para melhorar a visualização da cápsula anterior da lente em cirurgias de catarata. A utilização da coloração também é empregada nos treinamentos de *wet labs* de facoemulsificação, para facilitar a prática cirúrgica e a aquisição de habilidades da capsulotomia anterior. Objetivou-se avaliar e comparar a eficácia de três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) para coloração da cápsula anterior da lente de equinos, com a finalidade de treinamento cirúrgico da capsulotomia curvilínea contínua (CCC) para facoemulsificação. Foram coletados 36 olhos de equinos *post mortem*. Os olhos foram subdivididos em três grupos composto de 12 olhos cada, de acordo com a concentração de violeta genciana utilizada. A capsulotomia anterior foi realizada após coloração com auxílio de cistítimo através da técnica de céu aberto, sob a magnificação de um microscópio cirúrgico. A avaliação da eficácia da coloração da cápsula anterior da lente pelas diferentes concentrações de violeta genciana ocorreu por um sistema empírico de avaliação em coloração adequada ou não adequada dos retalhos capsulares. Com base na avaliação dos examinadores, as concentrações de 0,1% e 0,05% de violeta genciana possibilitaram uma visualização adequada da cápsula anterior para treinamento da CCC, enquanto a concentração 0,5% de violeta produziu uma forte e inadequada coloração capsular. O método de treinamento descrito é uma ferramenta útil, econômica e altamente fidedigna para treinamento cirúrgico de capsulotomia curvilínea contínua. A coloração da cápsula anterior com violeta genciana a 0,1% e 0,05% permite uma visualização nítida do retalho capsular e facilita a prática da CCC.

Palavras-chave: capsulotomia anterior, corantes vitais, equino, laboratório úmido, treinamento cirúrgico.

ABSTRACT

The use of vital stains has become an essential tool to improve visualization of the anterior lens capsule in cataract surgery. The use of coloring is also used in training phacoemulsification wet labs, to facilitate surgical practice and the acquisition of anterior capsulotomy skills. The objective was to evaluate and compare the effectiveness of three concentrations of gentian violet (0.5%, 0.1% and 0.05%) for staining the anterior capsule of the lens in horses, with the purpose of surgical training in continuous curvilinear capsulotomy for phacoemulsification. Were collected 36 eyes of horses post mortem. The eyes were subdivided into three groups composed of 12 eyes each, according to the concentration of gentian violet used. The anterior capsulotomy was performed after staining with the aid of the cyst using the open sky technique, under the magnification of a surgical microscope. The evaluation of the effectiveness of staining the anterior capsule of the lens with different concentrations of gentian violet was carried out using an empirical system of evaluation of adequate or inadequate staining of capsular flaps. Based on the examiners' assessment, the 0.1% and 0.05% concentrations of gentian violet provided adequate visualization of the anterior capsule for CCC training, whereas the 0.5% concentration of violet produced inadequate, strong capsular staining. The described training method is a useful, cost-effective, and highly reliable tool for surgical training in continuous curvilinear capsulotomy. Staining the anterior capsule with 0.1% and 0.05% gentian violet allows clear visualization of the capsular flap and facilitates the practice of CCC.

Keywords: anterior capsulotomy, vital dyes, equine, wet lab, surgical training.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 -** Coloração da cápsula anterior da lente de equinos com solução de violeta genciana na concentração 0,05%. (A) incisão em córnea clara com um bisturi de 2,75 mm; (B) injeção de uma grande bolha de ar na câmara anterior; (C) 0,4 mL de corante injetado na câmara anterior entre a cápsula anterior e a bolha de ar; (D) excisão do botão corneoescleral; (E) remoção da íris (F) impregnação da cápsula anterior com corante violeta genciana a 0,05%. 25
- Figura 2 -** Técnica de capsulotomia curvilínea contínua após coloração da cápsula anterior com solução de violeta genciana a 0,05%, remoção do botão corneoescleral e da íris. (A) perfuração no centro da cápsula anterior com auxílio de cistítimo; (B) retalho capsular erguido, rasgando-o no sentido anti-horário até atingir incisão inicial do lado oposto; (C) finalização da capsulotomia curvilínea contínua. 25
- Figura 3 -** Realização da capsulotomia curvilínea contínua com três concentrações de violeta genciana utilizadas (A) 0,5% (B) 0,1% (C) 0,05%..... 26
- Figura 4 -** Avaliação macroscópica do retalho capsular com diferentes concentrações de violeta genciana. (A) 0,5% (B) 0,1% (C) 0,05%.... 26

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Descrição dos resultados da classificação de coloração, em adequada ou não adequada, entre os examinadores e resultado do coeficiente de reprodutibilidade/concordância entre eles27
- Tabela 2** - Descrição da adequação dos resultados segundo concentração do corante para cada examinador e resultado dos testes de associação...27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Percentual de resultados de coloração adequada segundo concentrações do corante para ambos os examinadores.....	28
--------------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCC - capsulotomia curvilínea contínua

G - *gauge*

LIO - lente intraocular

Ltda - Sociedade de Responsabilidade Limitada

RS - Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Lente	15
2.2	Catarata em equinos	16
2.3	Facoemulsificação em equinos	17
2.3.1	Capsulotomia curvilínea contínua	17
2.4	Corantes vitais	19
2.4.1	Violeta genciana	19
2.5	Treinamento cirúrgico	20
3	ARTIGO	22
3.1	Coloração da cápsula anterior da lente de equinos (<i>Equus caballus</i>) com três concentrações de violeta genciana: estudo <i>ex vivo</i>	22
	Introdução	23
	Materiais e métodos	23
	Resultados	27
	Discussão	28
	Conclusão	32
	Referências	32
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

A catarata, opacificação da lente, é uma das causas mais comuns de perda de visão, com milhões de pessoas acometidas em todo o mundo (ASBELL *et al.*, 2005). Da mesma forma, diversas espécies de animais sofrem com esta condição (LAUS *et al.*, 2008). Apesar da busca por soluções farmacológicas, o único tratamento efetivo para a catarata é a remoção cirúrgica da lente opacificada (PIGATTO *et al.*, 2007; TOWNSEND, 2017). Distintas abordagens cirúrgicas desta afecção já foram propostas. No entanto, com o desenvolvimento e avanços da facoemulsificação o índice de sucesso cirúrgico aumentou consideravelmente e essa técnica é, atualmente, a preconizada (McMULLEN JUNIOR; UTTER, 2010; McMULLEN; STOPPINI, 2017).

A cirurgia de facoemulsificação se assemelha entre as espécies, e é considerada uma técnica etapa-dependente (LAUS *et al.*, 2008; CENTURION; LACAVA; CABALLERO, 2011; BROOKS *et al.*, 2014). Dentre as vantagens desse procedimento são citadas o tamanho reduzido da incisão cirúrgica, a manutenção da câmara anterior durante o procedimento, a pouca manipulação das estruturas intraoculares e o menor tempo de execução. Já as dificuldades estão relacionadas ao alto custo do equipamento e materiais, e a longa curva de aprendizado (ASBELL *et al.*, 2005; PIGATTO *et al.*, 2007). A técnica consiste na emulsificação e aspiração do núcleo e do córtex da lente através da ponteira de uma caneta que vibra a uma frequência ultrassônica. As principais etapas cirúrgicas da facoemulsificação são: incisões de córnea, injeção de substância viscoelástica, capsulotomia curvilínea contínua, hidrodissociação, remoção da catarata, aspiração do material cortical, aspiração do viscoelástico e por fim sutura de córnea (PIGATTO *et al.*, 2007).

Entre as etapas, a confecção da capsulotomia curvilínea contínua (CCC) é considerada o passo mais desafiador e crítico da cirurgia de catarata (HASSABALLA; OSMAN, 2011; HAEUSSLER-SINANGIN *et al.*, 2017; HU; CHEN, 2018; SHARMA *et al.*, 2019; NAIK; SETHI.; KASIVISWANATHAN, 2020), pois é a base para uma cirurgia segura, eficaz e com menores complicações operatórias (JACOBS *et al.*, 2006; HASSABALLA; OSMAN, 2011; HAEUSSLER-SINANGIN *et al.*, 2017; HU; CHEN, 2018; SHARMA *et al.*, 2019). A CCC consiste na realização da abertura de uma “janela” na cápsula anterior da lente, à mão livre, utilizando-se um cistítimo, uma pinça de Utrata ou de uma pinça específica para capsulorrexe, para se ter acesso ao conteúdo lenticular. Para isso, a observação adequada da cápsula anterior é fundamental para uma boa

execução da técnica (ELDIN *et al.*, 1999; MELLES *et al.*, 1999; JACOBS *et al.*, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2009; ANDJELIĆ *et al.*, 2014; SHARMA *et al.*, 2019; SIMSEK; GOKMEN, 2020). A visualização nítida desta estrutura também é vantajosa para cirurgões que estão em fase de treinamento (DADA *et al.*, 2004; JACOBS *et al.*, 2006). Para este fim, são necessários uso de adjuvantes cirúrgicos, como os corantes vitais para melhorar a identificação da cápsula anterior (RODRIGUES *et al.*, 2009; SHARMA *et al.*, 2019).

Diferentes corantes e métodos alternativos de colorações foram propostos com o objetivo de manchar a cápsula anterior da lente, sendo o azul de trypan o corante mais empregado atualmente para esta finalidade (RODRIGUES *et al.*, 2010; JHANJI *et al.*, 2011). Dentre os corantes já avaliados está o violeta genciana. Este é um corante com uma extensa e diversificada aplicação como agente medicinal (PONA *et al.*, 2020; PRABHA *et al.*, 2020), principalmente, devido sua ação antisséptica (ÜNLÜ *et al.*, 2000). Na oftalmologia, pode ser empregado como marcador de córnea, conjuntiva e da cápsula anterior da lente (RODRIGUES *et al.*, 2009). No entanto, estudos demonstram que apesar de corar a cápsula anterior de modo eficaz, o violeta genciana apresenta efeitos citotóxicos, e por isso não é o corante de eleição em oftalmologia (ÜNLÜ *et al.*, 2000; CHANG *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2010; ANDJELIĆ *et al.*, 2014). É um produto comercialmente disponível, de baixo custo, simples de diluir e que apresenta uma coloração consistente, sendo uma excelente alternativa para treinamento cirúrgico (ELDIN *et al.*, 1999; ÜNLÜ *et al.*, 2000; CHANG *et al.*, 2005; ANDJELIĆ *et al.*, 2014).

A curva de aprendizado da facoemulsificação e, especialmente, para a etapa da capsulorrexe é íngreme e requer muita prática até que o cirurgião esteja hábil. Vários modelos e protocolos de treinamento foram desenvolvidos para aquisição de habilidades cirúrgicas para uma CCC bem executada (BENJAMIN, 2002; OFLAZ *et al.*, 2018; JACOBSEN *et al.*, 2019; NAIK; SETHI; KASIVISWANATHAN, 2020; DONG *et al.*, 2021, PUJARI *et al.*, 2021). Dentre os modelos, os *wet labs* e simuladores cirúrgicos são métodos considerados altamente fidedignos, já que se aproximam do procedimento cirúrgico real (MOHARANA *et al.*, 2021).

Devido à importância do treinamento da capsulorrexe e a necessidade de um corante adequado para corar a cápsula anterior do cristalino, fez-se necessário a busca por um corante vital de baixo custo e alta eficiência. Neste sentido, objetivou-se avaliar e comparar a eficácia de três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) para

coloração da cápsula anterior da lente de equinos, com a finalidade de treinamento cirúrgico da capsulotomia curvilínea contínua na facoemulsificação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lente

A lente, também denominada de cristalino, compõe, juntamente com a córnea e os humores aquoso e vítreo, os meios ópticos do olho (LAUS *et al.*, 2008), sendo responsável pela refração dos raios luminosos para a retina. É uma estrutura biconvexa, transparente e avascular. Localizada no segmento anterior do olho, está situada atrás da íris e apoiada na fossa patelar do vítreo. Essa estrutura é suspensa, em toda sua circunferência, por prolongamentos do corpo ciliar denominados de fibras zonulares (LAUS *et al.*, 2008; MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021).

A estrutura anatômica da lente é constituída por um núcleo, córtex, cápsula (anterior e posterior) e epitélio. O epitélio do cristalino reveste a parte interna apenas da cápsula anterior, estendendo-se até o equador da lente. Constituído de uma monocamada celular, é metabolicamente ativo e o responsável pela formação e crescimento da lente ao longo da vida. Na região equatorial (zona germinativa), as células epiteliais se diferenciam em fibras lenticulares. As fibras recém formadas são adicionadas continuamente ao córtex, causando compressão das fibras mais antigas e formando o núcleo (McMULLEN; STOPPINI, 2017; MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021). O epitélio é responsável por realizar a maioria das funções metabólicas do cristalino, mantendo-o transparente. Qualquer desequilíbrio que altere seu metabolismo ou atividade enzimática pode conduzir a cataratogênese (McMULLEN; STOPPINI, 2017; LAUS *et al.*, 2008).

A cápsula do cristalino é a membrana basal exagerada do epitélio anterior, e seu principal componente é o colágeno tipo IV. A espessura do saco capsular varia de acordo com a região e a idade do animal. É no primeiro ano de vida que ocorre a maior parte do espessamento capsular, sendo o polo posterior significativamente mais fino que o anterior (MEEKINS; RANKIN; SAMUELSON, 2021). Em equinos, a espessura da cápsula anterior, posterior e equatorial mede 91 μm , 14 μm e 20 μm respectivamente (PLUMMER, 2021). A lente do cavalo apresenta um volume de aproximadamente 2,5 a 3 mL, espessura média de 12 a 15 mm, diâmetro equatorial de 17 a 22 mm e tem um poder de refração de +14,88 dioptrias (PLUMMER, 2021).

2.2 Catarata em equinos

A catarata é caracterizada pela opacificação total ou parcial da lente e/ou de sua cápsula. É considerada a alteração lenticular mais comum em todas as espécies (McMULLEN; STOPPINI, 2017). Estima-se que 5% a 7% de todos os cavalos com olhos normais apresentam algum grau de opacificação da lente (MATTHEWS, 2000).

As cataratas podem ser classificadas conforme ao estágio de desenvolvimento ou maturação, idade de ocorrência, localização anatômica dentro da lente ou causa (MATTHEWS, 2000; BROOKS *et al.*, 2014; EDELMANN *et al.*, 2014; TOWNSEND, 2017). A classificação, segundo o estágio de desenvolvimento, é baseada no grau de opacificação do cristalino. A catarata pode variar desde opacidades focais sem *déficit* visual, denominadas de incipientes, até estágio mais avançados, classificados como maduros, em que ocorre o envolvimento total da lente e, conseqüentemente, perda da acuidade visual (TOWNSEND, 2017). A disfunção visual na espécie equina, torna estes animais incapazes de desenvolver suas atividades esportivas ou de trabalho, e isso acarreta em desvalorização econômica e provável descarte do animal (MATTHEWS, 2000; McMULLEN; STOPPINI, 2017).

Quanto a divisão etiológica, a catarata pode ocorrer como defeitos congênitos e adquiridos. Estima-se que aproximadamente 35% dos potros com alterações oculares congênitas são diagnosticados com catarata (McMULLEN; STOPPINI, 2017). As causas adquiridas ou secundárias podem acontecer em qualquer idade e resultam de influências externas à lente. Em equinos, entre as mais habituais, são citadas a uveíte recorrente equina e o trauma (MATTHEWS, 2000; BROOKS *et al.*, 2014; EDELMANN *et al.*, 2014; PLUMMER, 2021). Porém, as causas também podem ser secundárias ao glaucoma, ao descolamento de retina, à neoplasias ou à doenças metabólicas e tóxicas (MATTHEWS, 2000).

A catarata é considerada a causa mais prevalente de cegueira tratável entre as espécies. A remoção cirúrgica da lente comprometida é o único método eficaz para o restabelecimento visual, sendo a facoemulsificação a técnica preconizada (TOWNSEND, 2017).

2.3 Facoemulsificação em equinos

Diferentes procedimentos cirúrgicos já foram descritos para remoção de catarata em cavalos, e incluem: extração intracapsular, extração extracapsular e facoemulsificação. Porém, com os avanços da técnica de facoemulsificação na espécie, os outros procedimentos encontram-se em desuso (McMULLEN JUNIOR; UTTER, 2010; McMULLEN; STOPPINI, 2017).

Em equinos, a cirurgia de facoemulsificação atual se assemelha a de outras espécies. Entretanto, desafios peculiares à evolução da técnica cirúrgica em cavalos são descritos (McMULLEN JUNIOR; UTTER, 2010). Entre os desafios, a necessidade da modificação de instrumentos adequados e específicos de facoemulsificação, especialmente em cavalos adultos devido ao grande tamanho ocular (MILLICHAMP; DZIEZYC, 2000; McMULLEN JUNIOR; UTTER, 2010; McMULLEN; STOPPINI, 2017), e o desenvolvimento de uma lente intraocular dobrável compatível com as dimensões do globo ocular da espécie (McMULLEN JUNIOR; UTTER, 2010).

O procedimento consiste na emulsificação e aspiração do núcleo e do córtex através da ponteira de uma caneta que vibra a uma frequência ultrassônica com posterior implante da lente intraocular (LIO) (BROOKS *et al.*, 2014). A implantação de lentes intraoculares é, atualmente, preconizada em cavalos (McMULLEN JUNIOR; UTTER, 2010; HARRINGTON *et al.*, 2013; MEISTER *et al.*, 2018). Caso a LIO não seja colocada, ou por condições preexistentes ou complicações intraoperatórias, os equinos permanecem afácicos, conseqüentemente hipermetropes (McMULLEN; STOPPINI, 2017; MEISTER *et al.*, 2018) e visualmente comprometidos (MEISTER *et al.*, 2018).

A ruptura da cápsula posterior é a complicação intraoperatória mais frequente, já que é uma estrutura extremamente fina e altamente móvel (MILLICHAMP; DZIEZYC, 2000; EDELMANN *et al.*, 2014). Já, a opacificação da cápsula posterior é a complicação pós-operatória tardia mais habitual (MILLICHAMP; DZIEZYC, 2000; HARRINGTON *et al.*, 2013).

2.3.1 Capsulotomia curvilínea contínua

A capsulotomia anterior, ou capsulorrexe, é considerada uma etapa essencial na cirurgia de facoemulsificação (HASSABALLA; OSMAN, 2011; HAEUSSLER-SINANGIN *et al.*, 2017; HU; CHEN, 2018; SHARMA *et al.*, 2019; NAIK; SETHI;

KASIVISWANATHAN, 2020), e tem a finalidade de criar uma abertura na cápsula anterior da lente para fragmentação, emulsificação e aspiração material lenticular, além de possibilitar o implante da lente intraocular dentro do saco capsular (ÜNLÜ *et al.*, 2000; McMULLEN; STOPPINI, 2017).

O padrão-ouro para uma capsulotomia anterior é que essa seja curvilínea e contínua. Além disso, parâmetros como tamanho e centralização da capsulorrexe também são importantes, já que influenciam na posição e estabilidade da lente intraocular (HASSABALLA; OSMAN, 2011; HU; CHEN, 2018; SHARMA *et al.*, 2019; DONG *et al.*, 2021). Uma capsulorrexe bem executada é a base para uma cirurgia mais segura, eficaz e com menores complicações operatórias (JACOBS *et al.*, 2006; HASSABALLA; OSMAN, 2011; HAEUSSLER-SINANGIN *et al.*, 2017; HU; CHEN, 2018; SHARMA *et al.*, 2019).

A confecção de uma capsulotomia contínua reduz as taxas de rupturas capsulares radiais quando a borda capsular remanescente é submetida às forças mecânicas da cirurgia. Já, a formação da capsulorrexe circular e centrada são importantes para evitarem a inclinação e descentralização da LIO (HU; CHEN, 2018; SHARMA *et al.*, 2019; NAIK; SETHI; KASIVISWANATHAN, 2020).

O diâmetro adequado para a capsulotomia é 1 mm menor que o diâmetro óptico da LIO que será inserida (McMULLEN; STOPPINI, 2017). Em equinos, a capsulorrexe deve possuir um diâmetro entre 11 e 12 mm (McMULLEN JUNIOR; UTTER, 2010). Essa etapa pode ser realizada com uma agulha calibre 26 dobrada (cistítico), pinça de Utrata (NAIK; SETHI; KASIVISWANATHAN, 2020) ou pinça de capsulorrexe específica (ELDIN *et al.*, 1999; DONG *et al.*, 2021).

Uma visualização adequada da cápsula anterior do cristalino é fundamental para uma execução boa e completa da CCC. Em olhos que apresentam uma retroiluminação do fundo de olho, é possível distinguir a cápsula anterior do tecido lenticular subjacente. Porém, em olhos que esse reflexo está prejudicado ou ausente, como nos casos de catarata madura, a diferenciação se torna difícil (ELDIN *et al.*, 1999; MELLES *et al.*, 1999; JACOBS *et al.*, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2009; ANDJELIĆ *et al.*, 2014; WILINSKA *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2019; SIMSEK; GOKMEN, 2020), já que a cápsula do cristalino é uma membrana fina e semitransparente (RODRIGUES *et al.*, 2009).

A observação nítida do retalho capsular garante que haja um maior controle da capsulorrexe durante sua criação, permitindo que essa manobra seja curvilínea e contínua. Além disso, uma melhor visualização da cápsula facilita o treinamento para aqueles que

estão em fase de treinamento da técnica (DADA *et al.*, 2004; JACOBS *et al.*, 2006). Entre as alternativas para facilitar a visualização da cápsula são relatados a diminuição da iluminação do bloco, aumento da magnificação do microscópio cirúrgico, o uso de endoiluminador ou iluminação coaxial, injeção de viscoelástico na câmara anterior, uso de diatermia, método de capsulorrexe em dois passos ou uso de corantes vitais (ÜNLÜ *et al.*, 2000; DADA *et al.*, 2004).

2.4 Corantes vitais

Na oftalmologia, os corantes vitais tornaram-se ferramentas cirúrgicas eficazes e úteis para a visualização de tecidos oculares, principalmente em procedimentos cirúrgicos (JHANJI *et al.*, 2011). Com o objetivo de melhorar a identificação da cápsula anterior da lente no intraoperatório da facoemulsificação, em 1993, Hoffer e McFarland (1993) relatam pela primeira vez a coloração desta estrutura com o uso do corante de fluoresceína. Desde então, a utilização de outros corantes como adjuvantes cirúrgicos foi amplamente estudada (RODRIGUES *et al.*, 2009; SHARMA *et al.*, 2019).

Entre os diferentes corantes vitais propostos e testados para manchar cápsula anterior podem ser citados: azul de trypan, indocianina verde, fluoresceína sódica, violeta genciana (CHANG *et al.*, 2005; DADA *et al.*, 2004; SHARMA *et al.*, 2019), soro autólogo (DADA *et al.*, 2004; SHARMA *et al.*, 2019), azul de metileno (CHANG *et al.*, 2005) e azul brilhante (HISATOMI *et al.*, 2006). Dentre estes, o azul de trypan é o mais utilizado para coloração capsular, por ser eficaz e apresentar maior segurança para uso intraocular (CHANG *et al.*, 2005; JHANJI *et al.*, 2011).

Além de diferentes corantes, técnicas alternativas para coloração da cápsula anterior da lente foram propostas e incluem injeção subcapsular, coloração sob uma bolha de ar ou coloração sob material viscoelástico (JACOBS *et al.*, 2006; WONG *et al.*, 2006).

2.4.1 Violeta genciana

O violeta genciana, também conhecido como violeta cristal ou violeta metila, é um corante trifenilmetano (ANDJELIĆ *et al.*, 2014; PRABHA *et al.*, 2020). É comumente empregado como corante no método de coloração de Gram, para categorizar bactérias Gram positivas. Além disso, é usado em procedimentos cirúrgicos como marcador de tecidos (PRABHA *et al.*, 2020). Historicamente, esse corante foi utilizado

no tratamento de uma variedade de doenças devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, anti-parasitária, anti-angiogênicas, antivirais e antitumorais (PONA *et al.*, 2020; PRABHA *et al.*, 2020).

Na oftalmologia, o violeta genciana tem sido empregado como marcador de córnea, conjuntiva e da cápsula anterior da lente (RODRIGUES *et al.*, 2009). Em 1998, foi apresentado no XVI Congresso da Sociedade Europeia de Cirurgias de Catarata e Refrativos na França, pela primeira vez, a aplicação deste corante na cápsula anterior da lente humana (ÜNLÜ *et al.*, 2000; RODRIGUES *et al.*, 2009). A partir de então, estudos foram desenvolvidos para avaliar a citotoxicidade intraocular e a eficácia deste corante na cápsula anterior da lente em diferentes concentrações.

Em 1999, pesquisadores avaliaram a capacidade de coloração do violeta genciana em concentrações que variaram de 0,05% a 2%, e obtiveram resultados satisfatórios quanto a eficácia da coloração com as diferentes soluções. No entanto, embora uma ampla gama de concentrações de violeta genciana tenha se mostrado eficaz para coloração da cápsula anterior (ELDIN *et al.*, 1999), estudos posteriores observaram que concentrações iguais ou superiores a 0,1% dificultam a visualização do retalho capsular durante a capsulorrexe, pois reduz o contraste entre cápsula e córtex (CHANG *et al.*, 2005b). Além disso, concentrações iguais ou superiores a 0,1% ocasionaram citotoxicidade endotelial (CHANG *et al.*, 2005a) e danos estruturais à córnea (ELDIN *et al.*, 1999).

Diferentes estudos demonstraram que a toxicidade está diretamente relacionada com a concentração do corante utilizado. Sendo assim, apenas a concentração de 0,01% de violeta genciana não causou efeitos tóxicos intraoculares na avaliação histopatológica (*ex vivo*), e se mostrou a concentração mais baixa efetiva para visualizar a cápsula anterior do cristalino com nitidez (ÜNLÜ *et al.*, 2000; CHANG *et al.*, 2005; ANDJELIĆ *et al.*, 2014); embora, *in vivo*, seja sugerido que edema de córnea leve e transitório possa ocorrer com esta concentração (ÜNLÜ *et al.*, 2000).

2.5 Treinamento cirúrgico

A facoemulsificação é uma técnica etapa-dependente, e que requer uma curva de aprendizado íngreme (HU; CHEN, 2018; NAIK; SETHI; KASIVISWANATHAN, 2020). Estudos apontam que a elaboração da capsulotomia curvilínea contínua é considerada a etapa tecnicamente mais desafiadora pelos residentes em oftalmologia (PRAKASH *et al.*, 2009).

Diversos modelos de simulação cirúrgica foram desenvolvidos, na oftalmologia humana, para melhorar as habilidades operatórias e confiança dos cirurgiões, principalmente com o objetivo de aperfeiçoar a manobra de CCC, e incluem: uso de frutas como uvas e tomates (BENJAMIN, 2002), simuladores de realidade virtual (OFLAZ *et al.*, 2018; JACOBSEN *et al.*, 2019), laboratório úmido (olhos de animais, *in vivo* ou *ex vivo*, ou de cadáveres humanos) conhecido como *wet lab* (PUJARI *et al.*, 2021), laboratório seco (modelos sintéticos) (DONG *et al.*, 2021), criação de instrumentos ou materiais para utilização como marcadores-guias para capsulorrexe (HASSABALLA; OSMAN, 2011; NAIK; SETHI; KASIVISWANATHAN, 2020), entre outros.

Os sistemas de treinamentos são importantes pois recriam toda ou parte do ambiente cirúrgico real, maximizando as habilidades práticas, porém livre de riscos. Todos os métodos de treinamento para CCC apresentam vantagens e limitações, e o seu grau de fidelidade é dado de acordo com a semelhança clínica que este reproduz (MARAN; GIAVIN, 2003). As frutas e verduras, apesar de serem uma alternativa econômica e facilmente disponível (BENJAMIN, 2002), são exemplos de baixa fidelidade (MOHARANA *et al.*, 2021). O uso de modelos sintéticos em laboratório seco, apesar de recriar muitas estruturas que se assemelham à realidade (DONG *et al.*, 2021) é considerado de média fidelidade, pois não utiliza tecidos biológicos (MOHARANA *et al.*, 2021). O treinamento em laboratório úmido ou através de realidade virtual são estratégias de alta fidelidade, já que proporcionam uma experiência prática tridimensional, simulam aspectos físicos reais da CCC e da sala cirúrgica.

O treinamento cirúrgico é de extrema importância para formação de cirurgiões habilidosos. Com a prática cirúrgica repetida, é possível vencer a curva de aprendizado, reduzir o risco de complicações operatórias e melhorar o desempenho em situações cirúrgicas reais (OFLAZ *et al.*, 2018; DONG *et al.*, 2021; PUJARI *et al.*, 2021).

3 ARTIGO

3.1 Coloração da cápsula anterior da lente de equinos (*Equus caballus*) com três concentrações de violeta genciana: estudo *ex vivo*

Staining of the anterior lens capsule of horses (*Equus caballus*) with three concentrations of gentian violet: an *ex vivo* study

Bettio, M*, Seibel, M.P*, Franceschini, M.E.M*, Rocha, R.S*, Baptista, R.L*, Pigatto, J.A.T*

* Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 9090, cep 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

Resumo

Objetivos Avaliar e comparar a eficácia de três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) para coloração da cápsula anterior da lente de equinos, com a finalidade de identificar concentrações adequadas do corante para auxiliar no treinamento cirúrgico de capsulotomia curvilínea contínua em *wet-labs* de facoemulsificação.

Materiais e métodos Foram coletados 36 olhos de equinos *post mortem*. Os olhos foram subdivididos em três grupos composto de 12 olhos cada, de acordo com a concentração de violeta genciana utilizada. A avaliação da eficácia da coloração da cápsula anterior da lente pelas diferentes concentrações de violeta genciana ocorreu por um sistema empírico de avaliação em coloração adequada ou não adequada dos retalhos capsulares.

Resultados Com base na avaliação dos examinadores, as concentrações de 0,1% e 0,05% de violeta genciana possibilitaram uma visualização adequada da cápsula anterior para treinamento da CCC, enquanto a concentração 0,5% de violeta produziu uma forte e inadequada coloração capsular.

Conclusão O modelo desenvolvido com uso de violeta genciana nas concentrações de 0,1% e 0,05% permitiram uma visualização nítida do retalho capsular o que o viabiliza como modelo para treinamento da etapa de capsulotomia curvilínea contínua em cirurgia de cataratas em equinos.

Palavras-chave: capsulotomia anterior, corantes vitais, equino, laboratório úmido, treinamento cirúrgico.

Introdução

A facoemulsificação tornou-se o procedimento cirúrgico preconizado para o tratamento de catarata (^{1,2,3}), e a confecção de uma capsulotomia anterior adequada é uma etapa crucial dessa técnica (^{2,4,5,6,7,8}). A visibilidade necessária da cápsula anterior da lente para criar uma capsulorrexe ideal é comprometida em olhos com cataratas em estágios maduros (^{4,8,9,10,11,12,13}).

Os corantes vitais em cirurgias oftálmicas tornaram-se ferramentas eficazes e úteis para visualização de tecidos alvos (²). A utilização destes produtos para a coloração seletiva da cápsula anterior da lente permite a identificação adequada desta estrutura (^{8,11,14}) e, conseqüentemente, a realização de uma capsulorrexe com maior controle da técnica, o que corrobora para uma cirurgia mais segura e bem sucedida. Além disso, a fácil identificação capsular é importante para cirurgiões que estão na curva de aprendizado da técnica (^{4,15}).

A capsulotomia curvilínea contínua (CCC) está entre as manobras tecnicamente mais desafiadoras de dominar durante a facoemulsificação (¹⁶). Uma capsulotomia mal executada pode levar a complicações graves intra e pós-operatórias (^{2,4,5,6,7,8}). Na oftalmologia humana, diversos estudos já foram realizados com intuito de avaliar diferentes corantes vitais para coloração da cápsula anterior da lente, explorando uma ampla gama de concentrações e analisando seus efeitos nocivos sobre as estruturas intraoculares (^{8,15,20,21}).

Até o presente momento, este é o primeiro estudo utilizando violeta genciana para coloração da cápsula anterior da lente de equinos no treinamento de capsulotomia curvilínea contínua de facoemulsificação. Assim, com o objetivo de facilitar a identificação da cápsula anterior da lente para o treinamento da CCC foi avaliada a eficácia de três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) em olhos de equinos *ex vivo*.

Materiais e métodos

Foram utilizados 36 olhos de 18 equinos (*Equus caballus*), machos ou fêmeas, de diferentes idades e raças, obtidos do Frigorífico Foresta Ltda de São Gabriel/RS, Brasil. Os animais foram abatidos por motivos não relacionados a esse estudo. A pesquisa foi conduzida conforme o estatuto da *Association for Research in Vision and Ophthalmology*

para o uso de animais em pesquisas oftálmicas, e foi aprovada pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Os olhos foram coletados imediatamente após o abate, por enucleação subconjuntival, e mantidos em câmara úmida por 2 horas até a realização do experimento. Todos os olhos foram submetidos ao exame oftálmico, que incluiu biomicroscopia com lâmpada de fenda (*Portable Slit lamp*, Kowa SL 15, Nagoya, Japão) e prova da fluoresceína (Fluoresceína sódica 1%, Allergan®) para incluir somente bulbos oculares com córneas hígidas.

Três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) (Violeta Genciana solução a 2%, Needs® 30 mL) foram utilizadas para a coloração da cápsula anterior da lente. A preparação das concentrações foi realizada da seguinte forma: 0,5%: diluição 1 mL de corante em 3 mL de ringer lactato; 0,1%: 1 mL de corante em 19 mL de ringer lactato; 0,05%: 1 mL de corante em 39 mL de ringer lactato.

Os olhos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, composto por 12 bulbos oculares cada, com base na concentração do corante: Grupo A (0,5%), Grupo B (0,1%) e Grupo C (0,05%). Cada olho foi fixado no isopor com auxílio de alfinetes, sob o microscópio cirúrgico (DFVasconcellos MU-M19, Rio de Janeiro, Brasil), para realização da coloração da cápsula e posterior treinamento da capsulotomia curvilínea contínua (CCC). Todas as colorações e a execução da CCC foram realizadas pela mesma cirurgiã.

Sob o microscópio cirúrgico, uma incisão em córnea clara, com bisturi corneano de 2,75 mm, foi realizada para acesso à câmara anterior. Pela incisão, uma grande bolha de ar foi injetada, utilizando uma cânula de calibre 27-gauge (G) conectada à seringa de 3 mL, a fim de refazer a câmara anterior. Com a cânula 27 G conectada a uma seringa contendo corante, 0,4 mL da respectiva solução de violeta genciana (Grupo A: 0,5%; Grupo B: 0,1%; Grupo C: 0,05%) foi injetada suavemente abaixo da bolha de ar sobre a superfície da cápsula. Aguardou-se 1 minuto para a impregnação do corante, sendo este removido e irrigando-se a câmara anterior com solução de ringer lactato, esta responsável por remover o corante remanescente. Após a coloração, a córnea foi dissecada, por incisão límbica 360 graus a 2 mm da esclera, e posteriormente a íris foi removida para facilitar a visualização da cápsula e a execução da CCC (Figura 1).

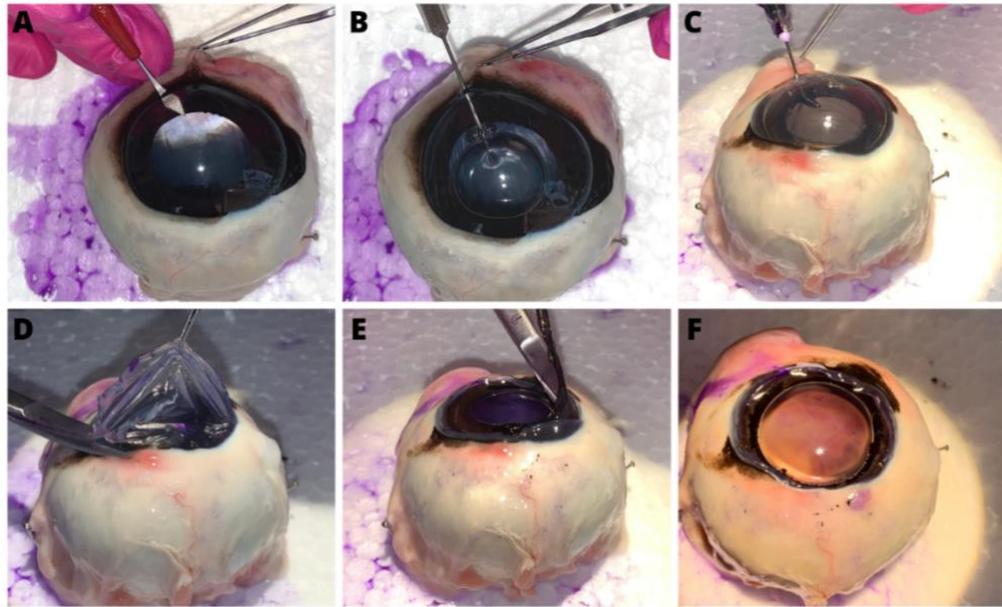


Figura 1 - Coloração da cápsula anterior da lente de equinos com solução de violeta genciana na concentração 0,05%. (A) incisão em córnea clara com um bisturi de 2,75 mm; (B) injeção de uma grande bolha de ar na câmara anterior; (C) 0,4 mL de corante injetado na câmara anterior entre a cápsula anterior e a bolha de ar; (D) excisão do botão corneoescleral (E) remoção da íris (F) impregnação da cápsula anterior com corante violeta genciana a 0,05%.

A técnica de capsulorrexe anterior foi realizada na configuração de céu aberto (sem a câmara anterior), utilizando a ampliação do microscópio cirúrgico e com o auxílio de um cistítimo. Este instrumento foi elaborado com uma agulha dobrada 26 G. A manobra começa com uma perfuração no centro da cápsula anterior com o cistítimo, no intuito de levantar um retalho capsular. Após, a borda deste retalho é segurada, rasgando a cápsula no sentido horário ou anti-horário, até atingir o lado oposto da incisão inicial (Figura 2).

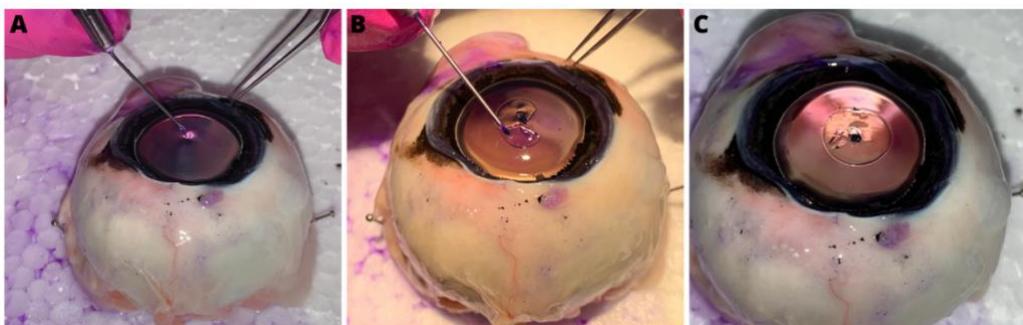


Figura 2 - Técnica de capsulotomia curvilínea contínua após coloração da cápsula anterior com solução de violeta genciana a 0,05%, remoção do botão corneoescleral e da íris. (A) perfuração no centro da cápsula anterior com auxílio de cistítimo; (B) retalho capsular erguido, rasgando-o no sentido anti-horário até atingir incisão inicial do lado oposto; (C) finalização da capsulotomia curvilínea contínua.

A CCC foi realizada com os três grupos de concentrações de violeta genciana preparadas (Figura 3). Todos os olhos de equinos utilizados neste estudo apresentavam o cristalino transparente e não possuíam alterações oculares dignas de nota.

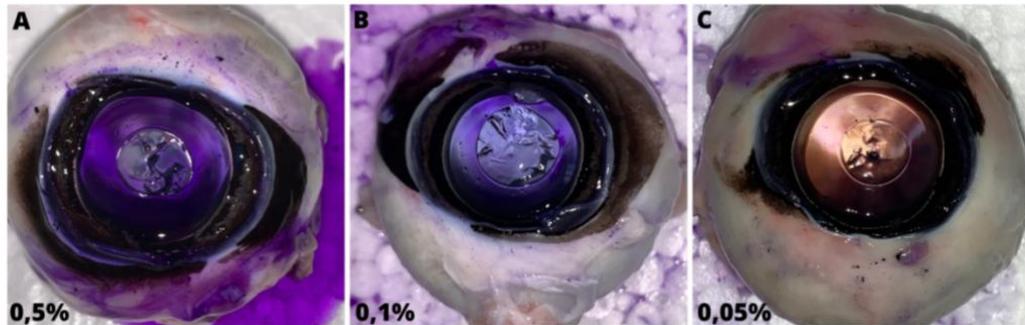


Figura 3 - Realização da capsulotomia curvilínea contínua com três concentrações de violeta genciana utilizadas (A) 0,5% (B) 0,1% (C) 0,05%.

As amostras consistiam em retalhos capsulares obtidos logo após a técnica de coloração e a elaboração da capsulorrexe. Estas capsulotomias anteriores foram colocadas sob uma lâmina de vidro e posicionada sobre uma folha de caderno pautado, com a respectiva solução ao lado, e então fotografadas (Figura 4).

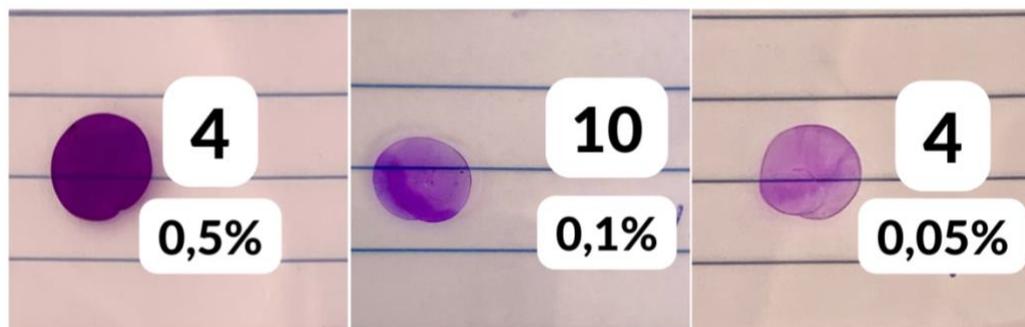


Figura 4 - Avaliação macroscópica do retalho capsular com diferentes concentrações de violeta genciana. (A) 0,5% (B) 0,1% (C) 0,05%.

A avaliação da eficácia da coloração da cápsula anterior da lente pelas diferentes concentrações de violeta de genciana (0,05%, 0,1% e 0,5%) foi graduada conforme um sistema empírico de avaliação em coloração adequada ou não adequada por dois examinadores. Esta análise ocorreu após todas as amostras serem fotografadas. Os avaliadores analisaram as imagens ao acaso e às cegas, ou seja, em ordem aleatória e com a concentração encoberta, desta forma não era possível que os examinadores identificassem a qual grupo a amostra pertencia.

Resultados

Todas as concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,1% e 0,05%) evidenciaram a cápsula anterior do cristalino, sendo possível a confecção da capsulotomia anterior em todos os 36 olhos. No entanto, apenas 25 retalhos capsulares apresentaram classificação adequada pelos examinadores. Dos dados cruzados entre os avaliadores, o percentual de concordância foi de 98,2%, havendo apenas uma amostra divergente, sendo a reprodutibilidade/concordância entre eles quase perfeita (Kappa = 0,936) (Tabela 1).

Tabela 1 - Descrição dos resultados da classificação de coloração, em adequada ou não adequada, entre os examinadores e resultado do coeficiente de reprodutibilidade/concordância entre eles

	Examinador 1	Examinador 2	Kappa (IC: 95%)
Não adequada	11 (30,6)	12 (33,3)	0,936
Adequada	25 (69,4)	24 (66,67)	(0,813; 1,000)
Total	36 (100)	36 (100)	

Dados expressos como n (%)

Na Tabela 2 está demonstrada a associação estatisticamente significativa entre as concentrações do corante e os resultados de adequação de coloração dos retalhos capsulares para ambos os examinadores ($p < 0,001$), sendo a concentração de 0,5% de violeta genciana a única que apresentou resultados não adequados de coloração para ambos os examinadores.

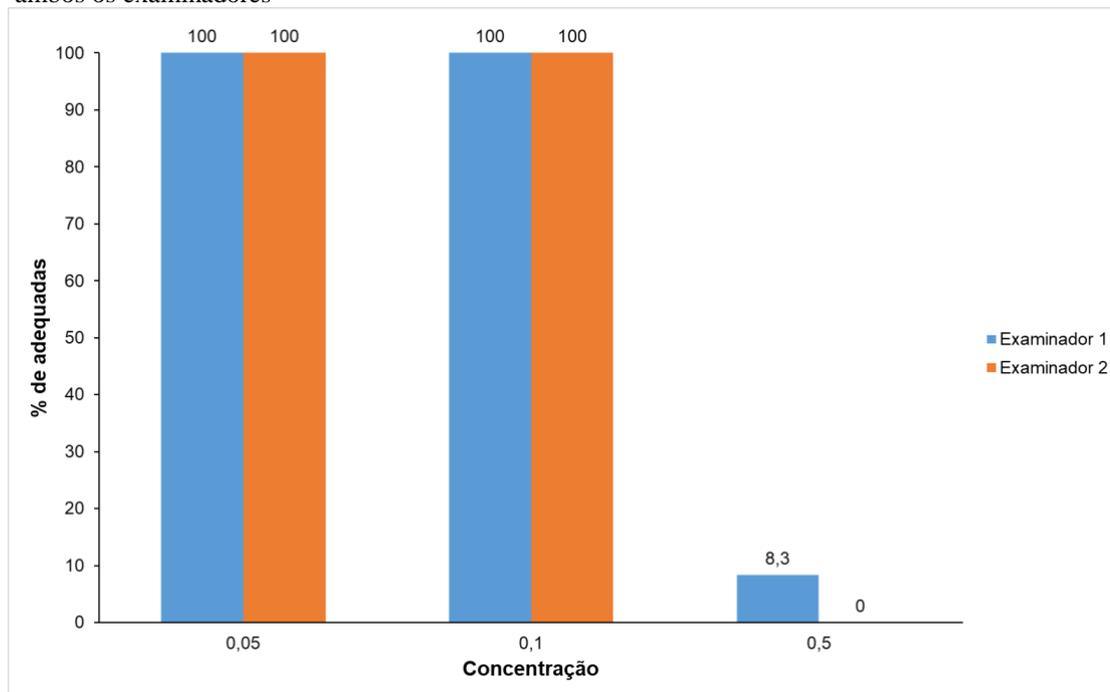
Tabela 2 - Descrição da adequação dos resultados segundo concentração do corante para cada examinador e resultado dos testes de associação

Resultado	Concentração			P
	0,05	0,1	0,5	
Examinador 1				<0,001
Não adequada	0 (0)	0 (0)	11 (91,7)	
Adequada	12 (100)	12 (100)	1 (8,3)	
Examinador 2				<0,001
Não adequada	0 (0)	0 (0)	12 (100)	
Adequada	12 (100)	12 (100)	0 (0)	
Total	12 (100)	12 (100)	12 (100)	

Dados expressos como n (%); Teste da razão de verossimilhanças

Os resultados apresentados na Tabela 2 forma representados visualmente através do Gráfico 1 a seguir.

Gráfico 1 - Percentual de resultados de coloração adequada segundo concentrações do corante para ambos os examinadores



Todas as amostras das capsulotomias anteriores corados com concentrações de 0,1% e 0,05% de violeta de genciana foram classificadas como coloração adequada para a prática cirúrgica por ambos os examinadores. A concentração de 0,5% teve apenas uma amostra categorizada pelo examinador 1 como adequada, não representando um percentual significativo.

Discussão

Os corantes vitais tornaram-se ferramentas essenciais para melhorar a visualização da cápsula anterior da lente e, atualmente, o seu uso está bem estabelecido e difundido (2). Diferentes tipos de corantes, incluindo azul de trypan, indocianina verde, fluoresceína sódica, violeta genciana (8,15,20), azul de metileno (20) e azul brilhante (21) já foram propostos e testados. No entanto, por questões de segurança, apenas o azul de trypan é aprovado para uso *in vivo* (2,20). No presente estudo, a escolha pelo corante vital violeta genciana visou o uso em animais *ex vivo*, portanto, sua toxicidade não foi levada em consideração.

O violeta genciana é um corante com uma extensa e diversificada história como agente medicinal (24,25), principalmente devido sua ação antisséptica (26). Na oftalmologia, há relatos do seu uso como marcador de córnea, conjuntiva e da cápsula

anterior da lente ⁽¹¹⁾. Optou-se pelo uso deste corante para este estudo por ser uma solução de fácil obtenção, já que está disponível comercialmente nas drogarias, de baixo custo, simples de diluir e que apresenta uma coloração intensa.

A utilização de corantes na cápsula anterior da lente também é benéfica e empregada o domínio da técnica de CCC em laboratórios úmidos (*wet lab*). Os *wet labs* são modelos de treinamento cirúrgico que utilizam olhos de animais, *in vivo* ou *ex vivo*, ou de cadáveres humanos. Embora existam diferentes modelos de prática cirúrgica de CCC, Pujari *et al.* ⁽¹⁹⁾ defendem o modelo de treinamento em *wet labs*, pois auxilia a curva de aprendizado e aumenta as habilidades operatórias e a segurança dos cirurgiões. Em acordo, Moharana *et al.* ⁽²⁷⁾ classifica o uso de *wet labs* associado a coloração vital como um método altamente fidedigno, já que mimetiza o procedimento cirúrgico. Além de ser um modelo de prática cirúrgica barato, aplicável e reproduzível. Assim, considerando a importância do treinamento cirúrgico oftálmico em laboratório úmido associado ao uso de corante adjuvantes para aprendizagem da CCC, avaliamos três concentrações de violeta genciana (0,5%, 0,01% e 0,05%) sobre a cápsula anterior da lente de equinos *post-mortem*, no intuito de evidenciar concentrações adequadas deste corante para a realização da prática cirúrgica da capsulorrexe em um laboratório experimental.

Diferentes técnicas de coloração da cápsula da lente são utilizadas em estudos *in vitro* para avaliar a eficácia do corante, não havendo um consenso ou padronização entre os experimentos. Alguns autores optam pela imersão das lentes nas soluções investigadas ⁽²⁰⁾, outros sugerem realizar a coloração sobre a lente exposta ^(11,14), já Fernández *et al.* ⁽²⁸⁾, preferem injetar o corante sob uma sob bolha de ar, como descrito originalmente por Melles *et al.* ⁽¹⁰⁾. No presente estudo, optou-se pela técnica de coloração sob bolha de ar, pois é um método já descrito anteriormente em estudos de treinamento de facoemulsificação. Além disso, trata-se de uma técnica fácil, econômica, reproduzível, que possibilita a coloração homogênea da cápsula. e seletiva da cápsula. O tempo de exposição adequado da cápsula anterior ao corante vital ainda não está estabelecido. Em estudos prévios foram estabelecidos tempos de 10 ⁽¹⁴⁾, 30 ⁽²⁸⁾ e 60 ^(11,20) segundos. Em nosso estudo, o tempo de contato entre o corante e a cápsula anterior foi de 60 segundos. A divergência entre a duração da exposição dos trabalhos pode ser devido ao método de coloração utilizado ou corante vital escolhido.

A CCC está entre as etapas mais críticas da facoemulsificação, e o domínio da técnica requer uma curva íngreme de aprendizado. Dong *et al.* ⁽¹⁸⁾, descreveram o uso de

um dispositivo para o treinamento da CCC autoprotetido. Neste estudo, os grupos e subgrupos foram divididos de acordo com a experiência de manipulação da capsulorrexe e com o aumento da dificuldade do treinamento do dispositivo, respectivamente. No subgrupo 01, o dispositivo não possuía a tampa, que representava a córnea no sistema. Dong *et al.* (18) afirmam que esta condição é adequada para cirurgias sem qualquer experiência, pois facilita a percepção da confecção de capsulotomia curvilínea contínua, bem como a aquisição de coordenação motora fina. Em nosso experimento, por se tratar de treinamento em olhos *post-mortem*, optou-se pela elaboração da CCC sem a presença da córnea e da íris. Esta escolha ocorreu pela falta de midríase dos olhos e para facilitar o treinamento da técnica pelo cirurgião inexperiente. Essa metodologia já foi utilizada em outro estudo e mostrou-se eficaz (11).

O treinamento com o uso do microscópio cirúrgico é de extrema importância para conferir ao cirurgião a habilidade de coordenação óculo-manual, essencial para as cirurgias oftálmicas (19). Então, embora o acesso a cápsula anterior e a realização da capsulorrexe tenham sido realizadas a céu aberto, a abordagem inicial, sob o uso do microscópio cirúrgico, assemelha-se a visão do cirurgião e a execução das primeiras etapas do procedimento de facoemulsificação: incisão para acesso a câmara anterior, injeção de bolha de ar, coloração e irrigação da cápsula anterior, o que torna a simulação mais semelhante à prática cirúrgica; além de fornecer coordenação motora fina avançada, essenciais para cirurgias de catarata.

A capsulotomia foi realizada com um cistítimo confeccionado a partir de uma agulha dobrada calibre 26 G. O uso deste instrumento não é universal, entretanto, é uma alternativa simples, barata e de fácil elaboração, e é uma ferramenta utilizada com sucesso em outros experimentos e na rotina cirúrgica (29). Além disso, Plummer (30) comenta que devido aos equinos possuírem um bulbo ocular maior, uma câmara anterior rasa e a incisão corneal para acesso ser pequena, as pinças de Utrata padrão ou as alongadas não permitem a execução da técnica, sendo necessário o uso de uma pinça de capsulorrexe adequada para a espécie, o que encarece o treinamento.

Apesar do azul de trypan ser o único corante aprovado para uso *in vivo* por ser eficaz, seguro e manchar a cápsula anterior de modo confiável e seletivo (2,20), quando seu uso é direcionado para treinamento cirúrgico o custo-benefício não é vantajoso: é um material de uso hospitalar, o que dificulta a aquisição, além de ser apresentado em frascos de apenas 1 mL e vendido somente em caixas com dez frascos, o que encarece o treinamento.

O uso do violeta genciana para corar a cápsula foi proposto em 1998. A partir de então, estudos foram realizados para avaliar a eficácia do corante e sua segurança para uso intraocular. No entanto, no presente estudo não levamos em conta a toxicidade do corante, pois a finalidade do experimento é identificar concentrações adequadas do corante sob a cápsula anterior da lente para auxiliar no treinamento cirúrgico de CCC em *wet-labs*. Então, optou-se pela solução de violeta genciana 2%, vendida em drogarias para uso antisséptico tópico devido a fácil disponibilidade de encontrar este produto.

Eldin *et al.* ⁽⁹⁾ avaliaram concentrações de 0,05% a 2% em um estudo *ex vivo* em coelhos, obtendo resultados satisfatórios com todas as concentrações. Outros pesquisadores usaram concentrações de 0,01% e 0,001% para corar cápsulas anteriores de ratos e humanos, e concluíram que a concentração 0,01% proporcionaram melhor visualização da cápsula. Chang *et al.* ⁽²⁰⁾ examinaram o potencial de coloração de diferentes tipos de corantes, incluindo o violeta genciana em concentrações de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% por 01 minuto, para corar a cápsula anterior de coelho, e concluíram que a concentração mínima necessária para produzir coloração efetiva foi de 0,01%. Outro estudo *in vitro* comparou 13 corantes vitais para coloração da cápsula, que incluiu o violeta genciana, em concentração de 0,5% e 0,05%. Os autores relataram que a concentração 0,5% obtiveram uma coloração moderada e a 0,05% produziu uma coloração leve.

No presente estudo, em contraste com esses resultados, encontrou-se a coloração adequada para a prática cirúrgica com a concentração de 0,1% e 0,05%, e coloração classificada como inadequada em 0,5% por ocasionar coloração excessiva, o que pode dificultar a diferenciação com clareza da cápsula e do córtex durante a capsulorrexe. A classificação inadequada de concentrações elevadas de violeta genciana já foi descrita em outro trabalho ⁽²⁰⁾, o que corrobora com os resultados do presente estudo.

Algumas explicações para resultados divergentes observados na literatura incluem o tempo de exposição da cápsula ao corante em cada experimento, a técnica utilizada para aplicação do corante, diferenças entre as purezas dos produtos de violeta genciana utilizados, já que alguns estudos utilizam o corante em pó, e diferenças anatômicas das cápsulas anteriores de diferentes espécies utilizadas como modelos nos estudos. Portanto, estudos clínicos que padronizem os métodos de coloração e tempos de exposição são necessários.

Métodos de análise e classificação de intensidade de coloração da cápsula anterior da lente não estão pré-estabelecidos. O uso de avaliação macroscópica e subjetiva para

avaliar se a coloração está adequada foi empregada em estudos anteriores (11,14). Fernández-Bueneo (28) avaliou a coloração macro e microscopicamente, e afirmou que a avaliação macroscópica é um método rápido e útil para os cirurgiões escolherem um produto para uso durante as cirurgias cotidianas. No presente estudo, optou-se pela avaliação macroscópica e subjetiva de dois examinadores com experiência cirúrgica. A análise foi realizada às cegas e ao acaso, e após os dados foram cruzados. A escolha do número de examinadores foi feita para aumentar a "fidelidade" do estudo. A escolha do método ocorreu pela intenção de uma análise que reproduzisse o ambiente cirúrgico real.

Conclusão

Com base nos resultados apresentados foi possível concluir que as concentrações de 0,1% e 0,05% de violeta genciana foram adequadas para coloração da cápsula anterior da lente de equinos.

Referências

- (1) McMullen Junior RJ, Utter ME. Current developments in equine cataract surgery. *Equine Vet J Suppl.* 2010 Mar;(37):38-45.
- (2) Jhanju V, Chan E, Das S, Zhang H, Vajpayee RB. Trypan blue dye for anterior segment surgeries. *Eye (Lond)* 2011 Sep;25(9):1113-20.
- (3) McMullen RJ, Stoppini R. Diseases and surgery of the lens. In: Gilger BC, editor. *Equine Ophthalmology*. 4th ed. Hoboken: John Wiley & Sons; 2017. p. 416-52.
- (4) Jacobs DS, Cox TA, Wagoner MD, Ariyasu RG, Karp CL. Capsule Staining as an Adjunct to Cataract Surgery. *Ophthalmol.* 2006;113(4):707-13.
- (5) Hassaballa MAM, Osman AAEL. Delineating the extent of anterior capsulorhexis with gentian violet using capsulorhexis marker: a preliminary study of efficacy and toxicity in na animal model. *Clin Ophthalmol.* 2011; 5:831-6.
- (6) Haeussler-Sinangin Y, Dahlhoff D, Schultz T, Dick HB. Clinical performance in continuous curvilinear capsulorhexis creation supported by a digital image guidance system. *J Cataract Refract Surg.* 2017 Mar;43(3):348-352.
- (7) Hu WF, Chen SH. Advances in capsulorhexis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2019 Jan;30(1):19-24.
- (8) Sharma B, Abell RG, Arora T, Antony T, Vajpayee RB. Techniques of anterior capsulotomy in cataract surgery. *Indian J Ophthalmol.* 2019 Apr; 67(4): 450-460.

- (9) Eldin SAG, Mehelmy EM, Shazli EM, Mostafa YM. Experimental staining of the anterior lens capsule in albino rabbits. *J Cataract Refract Surg*. 1999 Sep;25(9):1289-94.
- (10) Melles GRJ, Waard PW, Pameyer JH, Beekhuis WH. Trypan blue capsule staining to visualize the capsulorhexis in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*. 1999 Jan;25(1):7-9.
- (11) Rodrigues EB, Costa EF, Penha FM, Melo GB, Bottós J, Dib E, et al. The use of vital dyes in ocular surgery. *Surv Ophthalmol*. 2009 Sep-Oct;54(5):576-617.
- (12) Andjelić S, Zupančič G, Hawlina M. The effect of gentian violet on human anterior lens epithelial cells. *Curr Eye Res*. 2014 Oct;39(10):1020-5.
- (13) Simsek C, Gokmen O. The effects of vital dyes on mechanical properties of the human anterior lens capsule. *Indian J Ophthalmol*. 2020; 68:66-70.
- (14) Wilinska J, Awad D, Mocanu B, Gousia D. New strains for anterior capsule surgery. *J Cataract Refract Surg*. 2018;45(2):213-8.
- (15) Dada VK, Sharma MDM, Sudan R, Sethi H, Dada T, Pangtey MS, et al. Anterior capsule staining for capsulorhexis in cases of white cataract. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30(2):326-33.
- (16) Prakash G, Jhanji V, Sharma N, Gupta K, Titiyal JS, Vajpayee RB. Assessment of perceived difficulties by residents in performing routine steps in phacoemulsification surgery and in managing complications. *Can J Ophthalmol*. 2009 Jun;44(3):284-7.
- (17) Oflaz AB, Köktekir, BE, Okudan S. Does cataract surgery simulation correlate with real-life experience? *Turk J Ophthalmol*. 2018;48(3):122-6.
- (18) Dong J, Yang X, Yang X, Li J. A practical continuous curvilinear capsulorhexis self-training system. *Indian J Ophthalmol*. 2021 Oct;69(10):2678-86.
- (19) Pujari A, Saluja G, Bhaskaran K, Modaboyina S, Asif MI, Agarwal T, et al. Animal and cadaver human eyes for residents' surgical training in ophthalmology. *Surv Ophthalmol*. 2021;67(1):226-51.
- (20) Chang YS, Tseng S, Tseng S. Comparison of dyes for cataract surgery: Part 2: Efficacy of capsule staining in a rabbit model. *J Cataract Refract Surg*. 2005 Apr;31(4):799-804.
- (21) Hisatomi T, Enaida H, Matsumoto H, Kagimoto T, Ueno A, Hata Y, et al. Staining ability and biocompatibility of brilliant blue G. *Arch Ophthalmol*. 2006 Apr;124(4):514-9.
- (22) Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33:159-74.
- (23) Kirkwood BR, Sterne JAC. *Essential medical statistics*. 2nd ed. Massachusetts: Blackwell Science;2006.

- (24) Pona A, Quan, EY, Cline A, Feldman SR. Review of the use of gentian violet in dermatology practice. *Dermatol Online J*. 2020 May 15;26(5):13030.
- (25) Prabha N, Arora RD, Ganguly S, Chhabra N. Gentian violet: revisited. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2020;86:600-3.
- (26) Ünlü K., *et al*. Gentian violet solution for staining the anterior capsule. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2020 Sep-Oct;86(5):600-603.
- (27) Moharana B, Singh P, Patel S, Srivastava P, Sharma B. Commentary: High fidelity and cost-effective cataract surgery training system: need of the hour. *Indian J Ophthalmol*. 2021 Oct;69(10):2686-7.
- (28) Fernandez-Bueno I, Usategui-Martín R, Pastor JC, Andrés-Iglesias C. Ex-vivo method to quantifiably evaluate the staining effectiveness of anterior lens capsule dyes. *Transl Vis Sci Technol*. 2021 Dec;10(17):1-6.
- (29) Naik MP, Sethi H, Kasiviswanathan P. Modified bandage-contact-lens used as a guide-marker for performing continuous-curvilinear-capsulorhexis by a first-year-post-graduate-ophthalmology-resident. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2020 Dec; 20:100889.
- (30) Plummer CE. Equine ophthalmology. In: Gellat K. (org.). *Veterinary ophthalmology*. 6th ed. New York: Wiley-Blackwell;2021.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do violeta genciana permitiu a identificação nítida da cápsula anterior da lente de equinos. A metodologia empregada no presente estudo poderá ser utilizada para o treinamento e aperfeiçoamento da cirurgia de catarata.

REFERÊNCIAS

- ANDJELIĆ, S.; ZUPANČIČ, G.; HAWLINA, M. The effect of gentian violet on human anterior lens epithelial cells. **Current Eye Research**, [s. l.], v. 39, n. 10, p. 1020-1025, 2014.
- ASBELL, P. A. *et al.* Age-related cataract. **The Lancet**, [s. l.], v. 365, n. 9459, p. 599-609, 2005.
- BENJAMIN, L. Training in surgical skills. **Community Eye Health**, [s. l.], v. 15, n. 42, p. 19-20, 2002.
- BROOKS, D. E. *et al.* Visual outcomes of phacoemulsification cataract surgery in horses: 1990-2013. **Veterinary Ophthalmology**, [s. l.], v. 17, p. 117-128, 2014.
- CENTURION, V.; LACAVA, A. C.; CABALLERO, J. C. A capsulotomia descontínua durante a facoemulsificação. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, São Paulo, v. 70, n. 6, p. 367-370, 2011.
- CHANG, Y. S. *et al.* Comparison of dyes for cataract surgery: Part 1: Cytotoxicity to corneal endothelial cells in a rabbit model. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 792-798, apr. 2005a.
- CHANG, Y. S. *et al.* Comparison of dyes for cataract surgery: Part 2: Efficacy of capsule staining in a rabbit model. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 799-804, apr. 2005b.
- DADA, V. K. *et al.* Anterior capsule staining for capsulorhexis in cases of white cataract. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 326-333, 2004.
- DONG, J. *et al.* A practical continuous curvilinear capsulorhexis self-training system. **Indian Journal of Ophthalmology**, [s. l.], v. 69, n. 10, p. 2678-2686, 2021.
- EDELMANN, Michele L. *et al.* Retrospective evaluation of phacoemulsification and aspiration in 41 horses (46 eyes): visual outcomes vs. age, intraocular lens, and uveitis status. **Veterinary Ophthalmology**, [s. l.], v. 17, s1, p.160–167, maio 2014.
- ELDIN, S. A. G. *et al.* Experimental staining of the anterior lens capsule in albino rabbits. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, [s. l.], v. 25, n. 9, p. 1289-1294, 1999.
- FERNANDEZ-BUENO, Ivan *et al.* Ex-vivo method to quantifiably evaluate the staining effectiveness of anterior lens capsule dyes. **Translational Vision Science & Technology**, v. 10, n. 17, p. 1-6, dec. 2021.
- HAEUSSLER-SINANGIN, Y. *et al.* Clinical performance in continuous curvilinear capsulorhexis creation supported by a digital image guidance system. **Journal of Cataract Refractive Surgery**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 348-352, 2017.

- HARRINGTON, J. T. *et al.* Phacoemulsification and +14 diopter intraocular lens placement in a Saddlebred foal. **Veterinary Ophthalmology**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 140-148, 2013.
- HASSABALLAM, M. A. M.; OSMAN, A. A. E. L. Delineating the extent of anterior capsulorhexis with gentian violet using capsulorhexis marker: a preliminary study of efficacy and toxicity in an animal model. **Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ)**, [s. l.], v. 5, p. 831, 2011.
- HISATOMI, T. *et al.* Staining ability and biocompatibility of brilliant blue G. **Archives of Ophthalmology**, [s. l.], v. 124, p. 514-519, 2006.
- HOFFER, K. J.; McFARLAND, J. E. Intracameral subcapsular fluorescein staining for improved visualization during capsulorhexis in mature cataracts. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, [s. l.], v. 19, n. 4, 1993.
- HU, W. F.; CHEN, S. H. Advances in capsulorhexis. **Current opinion in ophthalmology**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 19-24, 2018.
- JACOBS, Deborah S. *et al.* Capsule staining as an adjunct to cataract surgery. **Ophthalmology**, [s. l.], v. 113, n. 4, p. 707-713, apr. 2006.
- JACOBSEN, M. F. *et al.* Correlation of virtual reality performance with real-life cataract surgery performance. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, [s. l.], v. 45, n. 9, p. 1246-1251, 2019.
- JHANJI, V. *et al.* Trypan blue dye for anterior segment surgeries. **Eye**, [s. l.], v. 25, n. 9, p. 1113-1120, 2011.
- KIRKWOOD, B. R.; STERNE, J. A. C **Essential medical statistics**. 2. ed. Massachusetts: Blackwell Science, 2006.
- LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, [s. l.], v. 33, p. 159-174, 1977.
- LAUS, J. L. *et al.* Afecções da Lente. In: HERRERA, D. (org.). **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. 1. ed. São Paulo: MedVet Livros, 2008.
- MARAN, N. J.; GLAVIN, R. J. Low- to high-fidelity simulation - a continuum of medical education? **Medical Education**, [s. l.], v. 37, s1, p. 22-28, 2003.
- MATTHEWS, A. G. Lens opacities in the horse: a clinical classification. **Vet Ophthalmol.**, [s. l.], v. 3, n. 2-3, p. 65-71, 2000.
- McMULLEN, R. J.; STOPPINI, R. Diseases and surgery of the lens. In: GILGER, B. C. (Ed.). **Equine Ophthalmology**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2017.
- McMULLEN JUNIOR, R. J.; UTTER, M. E. Current developments in equine cataract surgery. **Equine Veterinary Journal**, [s. l.], v. 42, n. S37, p. 38-45, 2010.

- MEEKINS, J. A.; RANKIN, A. J.; SAMUELSON, D. A. Ophthalmic anatomy. *In*: GELATT, K. (org.). **Veterinary ophthalmology**. 6. ed. New York: Wiley-Blackwell, 2021.
- MEISTER, U. *et al.* Cálculo da potência da lente intraocular para o olho equino. **Pesquisa veterinária BMC**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1-8, 2018.
- MELLES, G. R. J. *et al.* Trypan blue capsule staining to visualize the capsulorhexis in cataract surgery. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 7-9, 1999.
- MILLICHAMP, Nicholas J.; DZIEZYC, Joan. Cataract phacofragmentation in horses. **Veterinary Ophthalmology**, [s. l.], v. 3, n. 2-3, p. 157-164, 2000.
- MOHARANA, Bruttendu *et al.* Commentary: high fidelity and cost-effective cataract surgery training system: need of the hour. **Indian Journal of Ophthalmology**, [s. l.], v. 69, n. 10, p. 2686-2687, out. 2021.
- NAIK, M. P.; SETHI, H.; KASIVISWANATHAN, P. Modified bandage-contact-lens used as a guide-marker for performing continuous-curvilinear-capsulorhexis by a first-year-post-graduate-ophthalmology-resident. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, [s. l.], v. 20, p. 100889, dec. 2020.
- OFLAZ, Ayse Bozkurt *et al.* Does cataract surgery simulation correlate with real-life experience? **Turkish Journal of Ophthalmology**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 122-126, 2018.
- PIGATTO, João Antônio Tadeu *et al.* Avanços e benefícios da facoemulsificação. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s. l.], v. 35, supl. 2, s248-s249, 2007.
- PLUMMER, C. E. Equine ophthalmology. *In*: GELATT, K. (org.). **Veterinary ophthalmology**. 6. ed. New York: Wiley-Blackwell, 2021.
- PONA, A. *et al.* Review of the use of gentian violet in dermatology practice. **Dermatology Online Journal**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 1-15, 2020. Disponível em: <https://escholarship.org/uc/item/79g6z0cf>. Acesso em: 12 jul. 2022.
- PRABHA, N. *et al.* Gentian violet: revisited. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, [s. l.], v. 86, n. 5, p. 600-603, 2020.
- PRAKASH, G. *et al.* Assessment of perceived difficulties by residents in performing routine steps in phacoemulsification surgery and in managing complications. **Canadian Journal of Ophthalmology**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 284-287, 2009.
- PUJARI, A. *et al.* Animal and cadaver human eyes for residents' surgical training in ophthalmology. **Survey of Ophthalmology**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 226-251, 2021.
- RODRIGUES, E. B. *et al.* The use of vital dyes in ocular surgery. **Survey of Ophthalmology**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 576-617, 2009.
- RODRIGUES, Eduardo B. *et al.* Ability of new vital dyes to stain intraocular membranes and tissues in ocular surgery. **American Journal of Ophthalmology**, [s. l.], v. 149, n. 2, p. 265-277, nov. 2010.

SHARMA, B. *et al.* Techniques of anterior capsulotomy in cataract surgery. **Indian Journal Ophthalmology**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 450-460, apr. 2019.

SIMSEK, Cem; GOKMEN, Onur. The effects of vital dyes on mechanical properties of the human anterior lens capsule. **Indian Journal Ophthalmology**, [s. l.], v. 68, n. 1, p. 66-70, jan 2020.

TOWNSEND, W. M. Disease and surgery of the equine lens. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 483-497, 2017.

ÜNLÜ, K. *et al.* Gentian violet solution for staining the anterior capsule. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, [s. l.], v. 26, n. 8, p. 1228-1232, 2000.

WILIŃSKA, J. *et al.* New stains for anterior capsule surgery. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**. [s. l.], v. 45, n. 2, p. 213-218, 2018.

WONG, V. W. Y. *et al.* A prospective study on trypan blue capsule staining under air vs under viscoelastic. **Eye**, [s. l.], v. 20, n. 7, p. 820-825, 2006.