

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DOS EXAMES HEPÁTICOS DE BIOQUÍMICA E CITOPATOLOGIA POR AGULHA FINA EM PAPAGAIOS VERDADEIROS (*Amazona aestiva*)

Thatiana Felix Sanches¹
Sheila Canevese Rahal²
Fernanda Zuliani³
Vanessa Wickbold⁴
Priscila Zorzetto¹
Jeana Pereira da Silva²
Maria Jaqueline Mamprim²

RESUMO

Este estudo teve como objetivo correlacionar os resultados dos exames bioquímicos séricos usados para avaliação hepática de papagaios verdadeiros submetidos ao exame de citopatologia por agulha fina (CAF), a fim de identificar diferenças entre os achados bioquímicos de exames citológicos normais e alterados. Amostras de citopatologia por agulha fina guiada por ultrassom foram coletadas de 20 papagaios verdadeiros, assim como amostras de sangue para a realização de exames de bioquímica sérica para avaliação da lesão e função hepática. Foram efetuadas as dosagens séricas de AST, ALT, FA, CK, GGT, PT e albumina, colesterol total e triglicérides. As amostras de CAF foram apenas classificadas em normal ou alterada. Dentre as 20 aves, 10 apresentaram CAF normal e 10 CAF com alteração citológica. Apenas a enzima AST mostrou diferença estatística entre os dois grupos ($p=0,04$). Os demais testes bioquímicos não apresentaram significância estatística na comparação entre os grupos. Dentre as diversas enzimas estudadas, muitas ainda apresentam poucas informações sobre seu possível valor diagnóstico em aves, havendo a necessidade de mais investigações que possam elucidar a respeito dos seus potenciais valores diagnósticos na medicina aviária.

Palavras-chave: patologia clínica, hepatopatia, exame citológico, aves.

COMPARATIVE EVALUATION OF BIOCHEMISTRY TESTS AND FINE NEEDLE CYTOPATHOLOGY IN LIVERS FROM BLUE FRONTED PARROTS (*Amazona aestiva*)

ABSTRACT

This study aimed to correlate the results of serum biochemical tests used for liver evaluation of blue fronted parrots submitted to fine needle cytopathology (FNC) examination, in order to identify differences between the biochemical findings of normal and abnormal cytological tests. Ultrasound-guided fine-needle cytopathology samples were collected from 20 blue fronted parrots, as well as blood samples for serum biochemistry tests to assess liver injury and function. Serum dosages of AST, ALT, FA, CK, GGT, PT and albumin, total cholesterol and

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Campus Botucatu/SP. *Correspondência: thatiana.sanches@unesp.br.

² Docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp - Campus Botucatu/SP, Brasil. sheila.canevese-rahall@unesp.br

³ Laboratório de Patologia Veterinária ObjetivaVet - Botucatu/SP, Brasil. f.zuliani@unesp.br

⁴ Laboratório de Patologia Clínica Veterinária - LPCVet - São Paulo/SP, Brasil. vany_wick@yahoo.com.br

triglycerides were performed. FNC samples were only classified as normal or altered. Among the 20 birds, 10 had normal FNC and 10 had a cytological alteration. Only the AST enzyme showed statistical difference between the two groups ($p=0.04$). The other biochemical tests did not show statistical significance in the comparison between groups. Among the various enzymes studied, many still have little information about their possible diagnostic value in birds, with the need for further investigations that can elucidate their potential diagnostic values in avian medicine.

Keywords: clinical pathology, liver disease, cytological examination, birds.

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE PRUEBAS HEPÁTICAS DE BIOQUÍMICA Y CITOPATOLOGÍA CON AGUJA FINA EN LORAS FRENTIAZUL (*Amazona aestiva*)

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo correlacionar los resultados de las pruebas bioquímicas en suero utilizadas para la evaluación del hígado de loras frentiazul sometidos a un examen de citopatología con aguja fina (CAF), con el fin de identificar las diferencias entre los hallazgos bioquímicos de las pruebas citológicas normales y anormales. Se recolectaron muestras de citopatología con aguja fina guiadas por ultrasonido de 20 loras frentiazul, así como muestras de sangre para pruebas de bioquímica sérica para evaluar la lesión y la función del hígado. Se realizaron dosificaciones séricas de AST, ALT, FA, CK, GGT, PT y albúmina, colesterol total y triglicéridos. Las muestras de CAF solo se clasificaron como normales o alteradas. De las 20 aves, 10 tenían CAF normal y 10 tenían alteración citológica. Solo la enzima AST mostró diferencia estadística entre los dos grupos ($p=0,04$). Las demás pruebas bioquímicas no mostraron significación estadística en la comparación entre grupos. Entre las diversas enzimas estudiadas, muchas aún tienen poca información sobre su posible valor diagnóstico en aves, con la necesidad de más investigaciones que puedan dilucidar sus posibles valores diagnósticos en medicina aviar.

Palabras clave: patología clínica, hepatopatía, examen citológico, aves.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico de doenças hepáticas em psitacídeos pode ser difícil, pois os sinais clínicos são inespecíficos (1) e, frequentemente, as manifestações clínicas de insuficiência hepática não ocorrem até o estágio final da doença (2).

A interpretação das atividades de enzimas hepáticas comumente avaliadas em mamíferos tem sido aplicada nas aves. Contudo, estudos experimentais que analisam a sensibilidade e a especificidade dessas enzimas se limitam a poucas espécies aviárias (3). Como a especificidade e a sensibilidade dessas enzimas podem variar em função da espécie e da natureza da doença hepática, é possível fazer apenas considerações generalizadas a respeito das alterações nas atividades enzimáticas (4).

A realização do exame citopatológico hepático na rotina veterinária de pequenos animais está se expandindo devido sua rapidez de diagnóstico, simplicidade da técnica e por se tratar de um procedimento menos invasivo, em comparação a biópsia (5). Além de possibilitar a identificação das alterações hepatocelulares com base nas características dessas células (6).

Dessa forma, este estudo teve como objetivo comparar os achados dos exames bioquímicos séricos, comumente utilizados como métodos diagnósticos, para a avaliação da lesão e função hepática em papagaios verdadeiros submetidos ao exame de citopatologia por agulha fina, a fim de identificar diferenças entre os achados bioquímicos de exames citológicos normais e alterados.

MATERIAL E MÉTODOS

Para que pudesse ser realizado este estudo obteve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ-Unesp) sob o número CEUA 0079/2021 e a autorização pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob o número 78644-1.

Para este estudo foram utilizados 20 papagaios verdadeiros (*Amazona aestiva*) submetidos a citopatologia por agulha fina (CAF) guiada por ultrassom, sendo 10 animais pertencentes ao grupo dos que não apresentaram alterações citopatológicas (resultado normal - CN) e 10 pertencentes ao grupo que apresentaram alterações citoplasmáticas (resultado alterado - CA). Todas as aves eram adultas, com peso médio de 382 gramas e sem sexo determinado.

Estas aves eram provenientes do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Silvestres (CEMPAS) do Hospital Veterinário, pertencente a FMVZ-Unesp e oriundas de apreensões realizadas pela Polícia Ambiental na região da cidade de Botucatu no estado de São Paulo.

Para a realização da CAF guiada por ultrassom as aves foram submetidas a jejum prévio de 3 horas e sedadas com 30mg/kg de cetamina e 5mg/kg midazolam pela via intramuscular, e também 0,2mg/kg de cetoprofeno e cloridrato de tramadol 5mg/kg por via oral.

A amostra de sangue foi coletada respeitando a margem de segurança de 1% do peso corpóreo (7-9). Sendo usado como principal via de acesso a veia jugular direita, devido ao seu maior calibre, e as veias ulnares, quando necessário. Devido ao risco de hemorragias em consequência a realização da CAF, a coleta de sangue foi realizada após o procedimento e confirmação ultrassonográfica da ausência de hemorragias.

Após a coleta, o sangue foi acondicionado em tubos com ativador de coágulo e gel separador, para posterior centrifugação na centrífuga Basic 12T (Sislab, Brasil) a 1.700G por 10 minutos e o soro congelado a -20°C até o processamento das análises.

Para a análise bioquímica sérica utilizou-se o equipamento Diagnostics Express Plus (Chiron Diagnostics, Estados Unidos) onde foram mensuradas, por fotometria cinética, as atividades das seguintes enzimas hepáticas: aspartato aminotransferase (AST), alanino aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT), creatina fosfoquinase (CK) e, por método colorimétrico os analitos: proteína total, albumina, colesterol total e triglicérides.

Para a avaliação dos resultados das dosagens séricas bioquímicas foram adotados como intervalos de referência os descritos em GUZMAN et al. (10) e para o intervalo de referência da GGT foi utilizado o relato de PINTO et al. (11).

As análises estatísticas foram realizadas com o software SAS Studio. Para a verificação da normalidade foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk, e para a análise estatística das frequências foi usado o teste de Fisher. Foram empregados também teste T de Student e Mann-Whitney bicaudal e teste de correlação de Spearman. A significância estatística adotada foi para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Com relação as 20 aves utilizadas neste estudo, o grupo de 10 aves com resultado alterado (CA) apresentou alterações como microvacuolizações, macrovacuolizações e pigmentação

fortemente basofílica intracitoplasmáticas. As outras 10 aves, não apresentaram alterações citopatológicas.

Nem todas as variáveis estudadas passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$), portanto houve a necessidade da utilização de testes estatísticos paramétricos e não paramétricos. Os resultados obtidos nos exames bioquímicos seguem na tabela 1.

Tabela 1. Resultados dos exames bioquímicos séricos para avaliação hepática de *Amazona aestiva* com resultados de CAF normal e alterado.

Exame bioquímico	Intervalo de referência*/**	CAF Normal		CAF Alterada		p-valor
		Média	Mediana	Média	Mediana	
AST (UI/L)	141-437	457,5	425,6	277,6	295,8	0,04
CK (UI/L)	125-345	2662,4	2234,5	2076,6	1672	0,36
FA (UI/L)	15-150	328,6	224	140,9	137	0,26
ALT (UI/L)	5-11	35,1	35,9	26,3	21,8	0,27
GGT (UI/L)	1 a 28	99	54,5	78	29	0,21
PT (g/dL)	3-4,5	3,61	3,35	4,08	3,85	0,91
ALB (g/dL)	1,79-2,81	1,96	1,90	1,98	1,90	0,79
COL (mg/dL)	180-305	406,4	359,5	437,3	439,5	0,44
TRIG (mg/dL)	49-190	177,3	163	238,4	189,5	0,44

*GUSMAN et al. (10); **GGT: PINTO et al. (11). **Negrito**: valores acima do intervalo de referência.

Houve apenas diferença estatística entre os grupos estudados para a atividade enzimática da AST, apesar de o grupo CAF normal ter apresentando valores de FA acima do intervalo de referência, enquanto o grupo CAF alterada apresentou valores de atividade enzimática da FA de acordo com o intervalo considerado normal. Já para as provas de função hepática ambos os grupos apresentaram valores dentro do intervalo de referência.

Das dez aves do grupo CA, apenas uma apresentou dosagem sérica de AST fora do intervalo de referência (10%). Para as 20 aves analisadas, 14 apresentaram AST dentro do intervalo de referência (70%) sendo nove pertencentes ao grupo CA (tabela 2).

Tabela 2. Número de aves que obtiveram diferentes valores de AST de acordo com o resultado da citopatologia por agulha fina.

AST (UI/L)	Valores acima do intervalo de referência	Valores dentro do intervalo de referência	Valores abaixo do intervalo de referência
Sem alterações	5	5	0
Com alterações	0	9	1

Foi encontrada uma forte correlação positiva entre as variáveis CK e AST das aves pertencentes ao grupo CN ($r=0,75$, $p=0,013$), demonstrando que há relação entre o aumento das duas enzimas. Com relação as variáveis CK e AST das aves do grupo CA não foi encontrada nenhuma correlação entre as duas variáveis ($r=0,19$, $p=0,60$).

DISCUSSÃO

Nas aves pertencentes ao grupo CA, dentre as alterações citoplásticas encontradas estão as microvacuolizações e macrovacuolizações em hepatócitos; a presença dessas alterações em hepatócitos representam lipídeos que foram eliminados durante o processo de fixação e

coloração da amostra (12). Essas vacuolizações nos hepatócitos representam o acúmulo de gordura ou esteatose hepática (12,13). As aves utilizadas neste estudo, de forma geral, eram mantidas como animais de companhia de forma ilegal, portanto foram submetidas a diferentes tipos de manejo ambiental e alimentar constituindo um grupo predisposto ao desenvolvimento de esteatose hepática.

A síndrome do fígado gorduroso, conhecida também por degeneração hepática gordurosa, lipidose hepática ou esteatose hepática é uma doença comum em psitacídeos cativos (14), especialmente papagaios do gênero *Amazona* (15). Ocorre em consequência do desequilíbrio do metabolismo energético, associado ao acúmulo excessivo de gordura abdominal e hepática (16). É observada em aves adultas alimentadas com dieta a base de sementes predominantemente oleaginosas (especialmente sementes de girassol) ou quando guloseimas gordurosas (laticínios, chocolate, etc) são oferecidas (17).

Outro achado na CAF do grupo alterado foi a presença de pigmentação fortemente basofílica intracitoplasmáticas. Dentre os pigmentos mais comuns encontrados nos hepatócitos estão a lipofuscina e o biliar. A lipofuscina, o mais comum deles, consiste em lisossomos cheios de lipídeos contendo resíduos indigeríveis. Acumula-se devido ao processo de degradação celular natural (12,13). A bile constitui a principal via de eliminação da bilirrubina e excesso de colesterol livre e sais biliares (13). A retenção de pigmento biliar, denominada colestase, é uma consequência de doença hepática, resultando em acúmulo hepatocelular ou canalicular (12).

Em coloração citológica baseada na técnica de Romanowsky ambos os pigmentos, lipofuscina e biliar, apresentam coloração basofílica no exame citopatológico (12). Esse fato, consiste em uma limitação da técnica de citopatologia por agulha fina, pois não foi possível diferenciar quais dos dois pigmentos de fato estavam presentes nas amostras estudadas uma vez que essa foi a coloração utilizada. Devido a isso, as amostras que apresentaram pigmentos basofílicos foram consideradas alteradas por poderem tratar-se de colestase.

Dentre os exames bioquímicos séricos realizados, apenas foi encontrada significância estatística para a enzima AST na comparação dos achados entre os dois grupos. Dentre a média dos valores de AST dos dois grupos, o fato de no grupo CN ter apresentado valor acima dos de referência enquanto, o grupo das aves CA obteve valores de acordo com a referência pode ter sido por influência de lesão músculo esquelética, evidenciada pela alta CK.

A alta atividade de AST tem sido encontrada em uma infinidade de tecidos (fígado, músculo esquelético e cardíaco, cérebro e rins), mas principalmente no fígado e tecidos musculares, e sua distribuição entre os tecidos varia dependendo da espécie (2, 4,18).

As fontes primárias de atividade plasmática da AST são os músculos, o fígado e os rins (19); portanto, a AST é sensível, mas não específica para dano hepatocelular e lesão muscular, sendo frequentemente avaliada em conjunto com a CK, que é uma enzima muscular específica, para diferenciar entre os danos hepáticos e musculares (2-4,18, 20).

Nas aves a CK trata-se de uma enzima músculo-específica que pode ser utilizada como indicador de lesão muscular (4, 19) e o aumento de sua atividade pode ser em decorrência de lesões musculares provenientes de traumas, esforço físico exagerado, distúrbios convulsivos, contenção física, aplicação de medicamentos intramusculares e alterações em miocárdio (4,19).

Como as aves eram originalmente mantidas em recinto amplo, provavelmente houve lesão muscular durante o estresse da captura neste recinto. Somado a isso, a aplicação intramuscular dos fármacos sedativos, no dia do estudo, também deve ter gerado lesão muscular significativa, influenciado no aumento da CK, por isso que neste estudo foram encontrados valores altos desta enzima. Quando são observados aumentos concomitantes nas atividades enzimáticas da CK e da AST há indicação de ocorrência de dano muscular (19). A influência da lesão muscular, observada através da elevação da CK, pode ser confirmada por meio do resultado obtido no teste de correlação, que mostrou uma correlação forte e positiva entre os

aumentos simultâneos das enzimas AST e CK. Existe a possibilidade de que sem o aumento significativo da CK, ou seja, de lesão muscular, poderíamos ter encontrado valores de AST menores para ambos os grupos estudados.

Embora os demais exames bioquímicos hepáticos de lesão e função não tenham apresentado diferenças estatísticas significativas entre os dois grupos, é interessante observar suas variações em relação aos valores de referência na literatura.

A atividade da ALT ocorre em muitos tecidos diferentes (21) como no fígado e no músculo esquelético ocorrendo extravasamento para o sangue quando há lesão tecidual (4). A atividade plasmática da ALT não é um teste específico, tampouco sensível, para a detecção de doença hepatocelular em aves (2, 4) e o aumento significativo da ALT em ambos os grupos, provavelmente também tenha ocorrido pela lesão muscular. Embora a ALT não seja considerada uma enzima de importância para o diagnóstico hepático aviário (2, 4, 19), a mensuração desta enzima neste estudo teve como objetivo confrontar as informações em literatura, na tentativa de talvez encontrar alguma informação relevante sobre esta enzima.

Neste estudo, nas aves do grupo CN, a FA se mostrou acima dos valores de referência, enquanto no grupo CA se manteve nos parâmetros normais. Nas aves, o aumento significativo da atividade plasmática da FA parece estar relacionado com a atividade osteoblástica e a modificação óssea associada ao crescimento, ocorrência de trauma, reparação do tecido ósseo, processos neoplásicos, hiperparatireoidismo nutricional secundário e formação da casca do ovo (3, 4, 20).

As aves utilizadas para este estudo eram adultas, sem sinais de atividade osteoblástica (fraturas, lesões, traumas), doença metabólica (hipertireoidismo), neoplasia e não foram observados ovos em formação, na ocasião da realização da CAF guiada por ultrassom, que pudessem justificar valores séricos de FA elevados. Em galinhas a atividade da FA foi observada no fígado e ausente nos pulmões, sistema músculo esquelético e coração. Já em perus, a maior atividade foi encontrada nos testículos e depois no fígado. Em patos a atividade da FA foi encontrada no duodeno e nos rins (22). Sendo assim, a real atuação enzimática da FA nas diferentes espécies aviárias ainda consiste em uma lacuna a ser investigada. A realização de mais investigações em doenças colestáticas e do trato biliar, como o carcinoma biliar, poderá elucidar a sensibilidade e especificidade da FA nesses casos (3, 20).

A gama glutamiltransferase (GGT) é uma enzima encontrada nas células das membranas dos ductos biliares (23) tem alta especificidade e baixa sensibilidade para o tecido hepático aviário (23, 24). Aumentos significativos de GGT são devido à obstrução ou danos a árvore biliar incluindo neoplasias, inflamação ou colelitíase. Dano hepático sozinho não altera significativamente a concentração plasmática (3). Poucas informações foram encontradas na literatura a respeito dos valores de referência da GGT para a espécie em estudo. Segundo HARR (3) intervalos de referência para a GGT ainda não foram estabelecidos para as aves. Na literatura adotada para os valores de referência deste estudo (10), não há valores descritos dessa enzima para papagaios verdadeiros.

Dessa forma, foi necessária a busca por outra fonte de referência sendo adotado o estudo realizado por PINTO et al. (11), onde foram relatados valores máximo e mínimo da GGT (1,0 U/L a 28 U/L) por meio do estudo de papagaios verdadeiros mantidos sob cuidados humanos. Os valores encontrados por PINTO et al. (11) foram menores em comparação aos encontrados neste estudo. A dosagem da GGT neste estudo teve o objetivo de buscar possíveis variações desta enzima em aves com alterações hepáticas. Porém, foram encontrados valores maiores no grupo CN em comparação ao grupo CA. Uma limitação deste estudo para melhor compreensão desses valores encontrados é o fato da CAF não fornecer informações a respeito da presença ou ausência de obstrução ou danos na árvore biliar, que poderiam auxiliar na compreensão dos valores encontrados.

Dentre as proteínas que o fígado é responsável pela síntese estão: albumina, fibrinogênio, enzimas, hormônios e proteínas de transporte e coagulação (4). A hipoproteïnemia é observada em distúrbios nutricionais (inanição, má nutrição, má absorção intestinal), parasitose intestinal e na insuficiência hepática devido a menor produção (4, 19). Nos dois grupos estudados os valores de proteína total e albumina estavam dentro dos valores de referência para a espécie. Apesar da evidência de lesão hepatocelular no grupo CA aparentemente as lesões encontradas não foram suficientes para que o metabolismo proteico hepático fosse afetado.

O colesterol plasmático provém tanto da dieta como da síntese hepática (25), em aves carnívoras as concentrações se apresentam mais elevadas enquanto aves que se alimentam de frutas ou de grãos apresentam concentrações menores (21). Hipercolesterolemia também pode ser causada por hipotireoidismo, dietas ricas em gorduras e lipemia, ocorre também durante a vitelogenese em aves fêmeas que se preparam para a oviposição e no período pós-prandial (4). Concentrações muito altas de colesterol plasmático são geralmente acompanhadas por lipemia, especialmente em papagaios do gênero amazona, araras e cacatuas com degeneração hepática gordurosa (21).

As médias encontradas em ambos os grupos para colesterol e triglicérides foram mais elevadas que os valores de referência. Os achados demonstram que apesar de as aves utilizadas neste estudo receberem alimentação balanceada, os cardápios devem ser revistos, pois os altos valores provavelmente estão relacionados com excessos dietéticos. Apesar do descrito em literatura e das concentrações plasmáticas aumentadas, nenhuma ave apresentou lipemia no plasma. O fato de as colheitas de sangue terem sido realizadas em jejum, podem ter contribuído para evitar a ocorrência de lipemia plasmática.

CONCLUSÃO

A AST é uma enzima que pode trazer informações a respeito da lesão hepática, mas a influência da lesão muscular sobre seus valores séricos é significativa. Portanto, no caso de aves ariscas ou que vivem em recintos grandes onde a captura pode trazer lesão muscular, seu valor diagnóstico pode ficar comprometido.

Embora a proteína total e albumina sejam importantes para a avaliação da função hepática, provavelmente apenas comprometimento hepática severo poderá levar a alterações significativas em suas concentrações séricas, visto que os valores encontrados entre ambos os grupos foram semelhantes.

Dentre as diversas enzimas estudadas, muitas ainda apresentam poucas informações sobre seu possível valor diagnóstico em aves, sendo assim, devem ser encorajadas mais investigações que possam elucidar a respeito de seus usos na medicina aviária.

REFERÊNCIAS

1. Reavill DR, Lennox AM. Comparison of serum biochemistry values and liver biopsy histopathology results in psittacines. In: Proceedings of 9th European Association of Avian Veterinarians Conference; 2007; Zurich (CH). Zurich: [publisher unknown]; 2007. p. 27-31. doi: 10.1136/vr.105214.
2. Hochleithner M, Hochleithner C, Harrison LD. Evaluating and treating the liver. In: Harrison GJ, Lightfoot T. Clinical avian medicine. Palm Beach: Spix Publishing; 2005. Vol. 1, p. 441-9.
3. Harr K. Diagnostic value of biochemistry. In: Harrison GJ, Lightfoot T. Clinical avian medicine. Palm Beach: Spix Publishing; 2005. Vol. 1, p. 613-29.

4. Campbell WT. Bioquímica clínica das aves. In: Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. 2a ed. São Paulo: Rocca; 2015. p. 508-21.
5. Teixeira LBC, Lagos MS. Diagnóstico citológico das hepatopatias caninas. Bol Med Vet [Internet]. 2007 [citado 1 Jun 2023];3(3):52-66. Disponível em: <http://ferramentas.unipinhal.edu.br/bolmedvet/include/getdoc.php?id=79&article=23&mode=pdf>
6. Campbell TW, Grant KR. Mammalian cytodiagnosis. In: Campbell TW, Grant KR. Exotic animal hematology and cytology. 5th ed. Hoboken: John Wiley and Sons; 2022. p. 99-174.
7. Echols S. Collecting diagnostic samples in avian patients. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 1999;2(3):621-49. doi: 10.1016/s1094-9194(17)30113-5.
8. Power LV. Common procedures in psittacines. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 2006;9(2):287-302. doi: 10.1016/j.cvex.2006.03.001.
9. Dyer SM, Cervasio EL. An overview of restraint and blood collection techniques in exotic pet practice. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 2008;11(3):423-43. doi: 10.1016/j.cvex.2008.03.008.
10. Gusman DSM, Beaufrère H, Welle K, Heatley J, Visser M, Harms CA. Birds. Table 5.19 - Amazon Parrots (*Amazona spp.*). In: Carpenter JW, Harms CA. Carpenter's exotic animal formulary. 6th ed. St. Louis: Elsevier; 2022. p. 495.
11. Pinto FE, Andrade TU, Endringer DC, Lenz D. Haematological and serum biochemical reference values for captive blue-fronted amazon parrot. Comp Clin Pathol. 2016;25:519-24. doi: 10.1007/s00580-015-2215-8.
12. Meyer DJ. The liver. In: Raskin RE, Meyer DJ. Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide. 3rd ed. St. Louis: Elsevier; 2016. p. 259-83.
13. Crawford JM, Sage PB, Hytioglou P. Structure, function, and responses to injury. In: Burt AD, Ferrell LD, Hübscher SG, editors. MacSween's pathology of the liver. 7th ed. St. Louis: Elsevier; 2012. p. 1-87.
14. Carciofi AC, Oliveira LD. Doenças nutricionais. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de animais selvagens. São Paulo: Rocca; 2007. p. 838-64.
15. Godoy SN. Psitaciformes (arara, papagaio, periquito). In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de animais selvagens. São Paulo: Rocca; 2007. p. 222-51.
16. Harrison GJ, McDonald D. Nutricional considerations section II – Nutricional disorders. In: Harrison G, Lightfoot T. Clinical avian medicine. Palm Beach: Spix Publishing; 2005. Vol. 1, p. 115-52.
17. Davies RR. Avian liver disease: etiology and pathogenesis. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine. 2000;9(3):115-25. doi: 10.1053/ax.2000.7138.

18. Capitelli R, Crosta L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2013;16(1):71-120. doi: 10.1016/j.cvex.2012.10.002.
19. Sabater M, Forbes N. Avian haematology and biochemistry 2. Biochemistry. In *Pract.* 2015;37(3):139-42. doi: 10.1136/inp.g6976.
20. Harr K. Clinical chemistry of companion avian species: a review. *Vet Clin Pathol.* 2002;31(3):140-51. doi: 10.1111/j.1939-165x.2002.tb00295.x.
21. Hochleithner M. Biochemistries. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR. *Avian medicine: principles and application.* Lake Worth: Wings Publishing; 1994. p. 223-45.
22. Lumeij JT, Westerhot I. Blood chemistry for the diagnosis of hepatobiliary disease in birds - a review. *Vet Q.* 1987;9(3):255-61. doi: 10.1080/01652176.1987.9694110.
23. Doneley B. *Avian medicine and surgery in practice, companion and aviary birds.* 2nd ed. New York: Taylor and Francis Group; 2016. Clinical anatomy and physiology; p. 1-43.
24. Fudge AM. *Laboratory medicine: avian and exotic pets.* Philadelphia: W. B. Saunders Company; 2000. Avian liver and gastrointestinal testing; p. 47-55.
25. Vila LG. *Bioquímica em aves: revisão de literatura [seminário] [Internet].* Goiânia: Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás; 2013 [citado 1 Jun 2023]. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/2013_Laura_Vila_2corrig.pdf

Recebido em: 03/07/2023

Aceito em: 08/12/2023