

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Comparação de enxerto ósseo cortical autógeno e implante  
ósseo cortical alógeno liofilizado, congelado a -70°C ou  
conservado no mel na substituição de segmento diafisário do  
fêmur de gatos domésticos**

Márcio Poletto Ferreira

Porto Alegre  
2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Comparação de enxerto ósseo cortical autógeno e implante  
ósseo cortical alógeno liofilizado, congelado a -70°C ou  
conservado no mel na substituição de segmento diafisário do  
fêmur de gatos domésticos**

Autor: Márcio Poletto Ferreira

Dissertação apresentada como requisito parcial para  
obtenção do grau de mestre em Ciências Veterinárias na  
área de Morfologia, Cirurgia e Patologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Antônio de Pádua Ferreira da  
Silva Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Meller Alievi

Porto Alegre  
2008

Dissertação desenvolvida no  
Setor de Cirurgia  
Experimental da Faculdade de  
Veterinária da Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul

Autor: Márcio Poletto Ferreira

**Título: COMPARAÇÃO DE ENXERTO ÓSSEO CORTICAL AUTÓGENO E IMPLANTE ÓSSEO CORTICAL ALÓGENO LIOFILIZADO, CONGELADO A -70°C OU CONSERVADO NO MEL NA SUBSTITUIÇÃO DE SEGMENTO DIAFISÁRIO DO FÊMUR DE GATOS DOMÉSTICOS**

Aprovada em 31 MAR de 2008.

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Antônio de Pádua Ferreira da Silva Filho  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Cássio Ricardo Auada Ferrigno  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. João Eduardo Wallau Schossler  
Membro da Comissão

---

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

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Sérgio Ferreira (*in memoriam*) e Leny Maria Poletto Ferreira, por todo carinho, apoio e compreensão. Sempre me incentivaram a aprender e estudar cada vez mais.

À minha família, Vitório (irmão), Adriana (cunhada), Guilherme e Carolina (sobrinhos), pelo companheirismo e confiança que vocês me passam.

À minha namorada Fernanda pela motivação, ajuda e compreensão despendidas durante estes três anos.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, José Sérgio Ferreira (*in memoriam*), e minha mãe, Leny Maria Poletto Ferreira, pela formação, educação e ajuda que sempre me deram.

Ao meu irmão, à minha cunhada, ao meu sobrinho e minha sobrinha pelo apoio nas horas difíceis e companhia nas horas de descontração.

À minha namorada Fernanda Silveira Nóbrega pela ajuda nas cirurgias e exames radiográficos, por me incentivar e me confortar em todos os momentos. Eu te amo muito.

Aos meus sogros Paulo Roberto Ferreira Nóbrega e Sandra Verônica Silveira Nóbrega pelo carinho.

Ao amigo e orientador, Prof. Dr. Antônio de Pádua Ferreira da Silva Filho por me oportunizar o mestrado, sempre me incentivando desde os tempos de monitoria nas disciplinas de técnica cirúrgica e medicina de cães e gatos.

Ao amigo, mestre e co-orientador Prof. Dr. Marcelo Meller Alievi pelos ensinamentos, paciência e ajuda durante a graduação, residência e mestrado, sempre disposto a ajudar e orientar durante as cirurgias ortopédicas. Não foram poucas às vezes em que me socorreu.

Ao amigo Prof. Dr. Carlos Afonso de Castro Beck pela convivência amigável durante a residência e o mestrado, sempre incentivando o aprendizado e oportunizando novos conhecimentos na área de videocirurgia.

Ao amigo e colega de disciplina Prof. Rafael Stédile, por inúmeras discussões filosóficas a respeito de Medicina Veterinária e pela ajuda na realização do projeto.

Aos alunos de graduação e estagiários do projeto Isis dos Santos Dal-Bó, Paula Cristina Sieczkowski Gonzalez, José Pedro Abatti Vianna Rocha, Giovana Rosa da Costa, Luciana Machado pela ajuda nos procedimentos cirúrgicos, pós-operatório, exames radiográficos, limpeza e alimentação das gatas, sem vocês seria impossível realizar o projeto.

À amiga e mestrande Simone Scherer pela dedicação nas anestésias do projeto.

Ao Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS por permitir a realização dos procedimentos cirúrgicos e exames radiográficos.

Aos funcionários, técnicos, residentes e estagiários do Hospital de Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária da UFRGS, em especial a funcionária Gisele Machado pela ajuda na esterilização dos materiais.

Aos amigos e colegas de mestrado Juliana Voll, Prof. Rafael Rodrigues Ferreira, Prof. Cristiano Gomes, Prof. Alan Gomes Pöppel e Daniel Sia pela convivência amigável durante estes anos e em congressos.

Ao amigo Dr. César Dias Freire, sempre disposto a me abrigar em São Paulo.

Ao Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, em especial ao Jorge Mesquita.

Ao Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS, em especial à Prof.<sup>a</sup> Dra. Marisa da Costa e à aluna de graduação Bianca Svierk.

Ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da UFRGS (LacVet), em especial à Prof. Simone Tostes e a Luciana de Almeida Lacerda.

Ao Setor de Patologia Veterinária da UFRGS em especial ao Prof. Dr. David Driemeier e ao Saulo Petinatti Pavarini.

Ao Laboratório de Virologia, em especial ao Prof. Dr. Claudio Wageck Canal.

Ao Banco de Ossos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre em especial ao Prof. Dr. Carlos Roberto Galia.

Ao Centro de Controle de Zoonoses de Porto Alegre, pela disponibilização dos animais para o projeto.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pelo apoio na realização deste projeto.

Aos animais, por doarem a vida para a realização deste trabalho e no meu aprendizado em Medicina Veterinária.

## RESUMO

Os felinos domésticos há muito tempo são utilizados como animais de companhia, tornando frequentes os atendimentos veterinários a esta espécie. As afecções ortopédicas em gatos ocupam papel de destaque na rotina do traumatologista veterinário, que pode deparar-se com fraturas cominutivas de ossos longos, neoplasias ósseas, não-uniões ou uniões-viciosas de fraturas. Uma das opções para o tratamento dessas afecções é a utilização de enxerto ou implante ósseo. O objetivo deste trabalho foi avaliar implantes ósseos corticais alógenos conservados em mel, congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  ou liofilizados na substituição de segmento diafisário do fêmur de felinos domésticos. Foi confeccionada uma falha óssea de três centímetros na região diáfisária do fêmur de 24 felinos adultos. Em seis felinos (grupo controle), a falha foi preenchida com o próprio osso removido após a retirada do periósteo, endósteo e medula óssea, e em outros 18 animais, foi preenchida com implantes ósseos corticais alógenos conservados em mel (seis animais), congelado (seis animais) e liofilizado (seis animais). Os animais foram avaliados clínica, radiográfica e histologicamente até completarem 180 dias de pós-operatório. A porcentagem de incorporação foi de 91,6% no grupo controle, com tempo médio necessário para consolidação de 83,1 dias; no grupo mel foi de 75%, com tempo médio de 105 dias; no grupo congelado foi de 83,3% com tempo médio de 78 dias e no grupo liofilizado foi de 25%, com tempo médio de 120 dias. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as porcentagens de consolidação do grupo liofilizado em relação aos grupos congelado e controle. Não houve diferença estatística entre os grupos com relação ao tempo de consolidação. Foi identificada a bactéria *Brevibacterium* spp. em um dos implantes conservados no mel. Foi possível concluir que os implantes ósseos autógenos e os conservados no mel e a  $-70^{\circ}\text{C}$  foram eficazes no preenchimento de defeito cortical em fêmur de felinos adultos, enquanto que os implantes liofilizados necessitam de maior avaliação da resistência e imunogenicidade para tornarem-se uma opção viável em felinos.

Palavras-chave: liofilizado, mel, congelado, felino, placa e parafusos, ortopedia.

## ABSTRACT

*Cats with orthopedic conditions are a prominent part of the clinical work of veterinary traumatologists. Conditions such as comminuted fractures of the long bones, bone cancers and non-unions or unions that repeatedly fracture are often difficult to repair surgically and may require the use of bone grafts or implants for successful treatment. This study evaluated cortical bone allografts preserved in honey, frozen at -70°C or lyophilized for correcting 3 cm long bone defects created in the diaphysis of the right femur of adult domestic cats (n=24). In the control group (n=6), the defect was repaired using the autologous bone following removal of the periosteum, endosteum and bone marrow. In the remaining animals (n=6/group), the defect was repaired with cortical bone allografts preserved in honey, frozen or lyophilized. Success of implant incorporation and length of time for consolidation were assessed through clinical, radiographic and histological evaluations performed up to 180 days after surgery. In the control, frozen, honey and lyophilized groups, respectively, success of implant incorporation was 91.6%, 83.3%, 75%, and 25%, with corresponding mean length of time for consolidation of 83.1, 78, 105 and 120 days. Consolidation percentage in the lyophilized group was significantly lower than in the frozen and control groups. Length of time for consolidation was not different between the groups. Brevibacterium spp. was isolated from one of the implants preserved in honey. In conclusion, bone grafts preserved in honey or frozen at -70°C were effective for repairing cortical defects in the femurs of adult cats as compared to autologous bone. Lyophilized implants require more evaluation of resistance and immunogenicity before they can be considered a viable option for bone repair in cats.*

*Key-words: lyophilized, honey, frozen, feline, plate and screws, orthopedy.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática dos locais de osteotomia, produzindo defeito ósseo de três centímetros e um implante para conservação com três centímetros.....	52
Figura 2 -	Placa DCP 2,7 mm com 10 furos e os oito parafusos corticais utilizados para fixação de implante cortical em diáfise femoral de gato doméstico.....	54
Figura 3 -	A) Membro pélvico direito de gato doméstico após colocação dos campos cirúrgicos; B) Diáfise femoral de gato doméstico localizada após acesso lateral.....	55
Figura 4 -	A) Osteotomia em diáfise de fêmur em gato doméstico utilizando serra oscilatória; B) Diáfise femoral de gato doméstico com as duas osteotomias quase finalizadas.....	55
Figura 5 -	A) Diáfise femoral de gato doméstico após remoção de um segmento com aproximadamente três centímetros; B) Segmento ósseo removido da diáfise femoral de gato doméstico.....	56
Figura 6 -	A) Implante ósseo cortical estabilizado à placa DCP com pinça de Verbrugger; B) Implante ósseo cortical estabilizado ao leito receptor em fêmur de gato doméstico.....	56
Figura 7 -	A) Implante ósseo fixado à placa por dois parafusos corticais e estabilizado no leito receptor; B) Implante ósseo cortical fixado ao leito receptor em fêmur felino por placa DCP e oito parafusos corticais.....	56
Figura 8 -	A) Fáscia lata de gato doméstico aproximada com pontos de Sultan e fio sintético absorvível poliglactina 910 3-0; B) Sutura de pele em MPD de gato doméstico com pontos isolados simples e fio mononáilon 3-0.....	57
Figura 9 -	Representação esquemática dos locais de secção óssea transversal para posterior análise histopatológica nas colorações de Hematoxilina e Eosina e Tricômio de Masson.....	62
Figura 10 -	Representação esquemática do local de secção óssea longitudinal para posterior análise histopatológica nas colorações de Hematoxilina e Eosina e Tricômio de Masson.....	63
Figura 11 -	Representação gráfica do tempo cirúrgico médio e desvio padrão dos procedimentos de implantação óssea cortical homóloga ou alógena em fêmur de gatos domésticos dos grupos controle, mel, congelado e liofilizado, bem como o tempo médio da cirurgia e desvio padrão de todos os grupos.....	67

- Figura 12 - A) Imagem da placa e parafusos na implantação óssea cortical do gato doméstico número 18 evidenciando a ausência de um parafuso no fragmento receptor distal (seta azul). B) Implante ósseo cortical alógeno utilizado na gata 13, onde é possível identificar a falta de uma porção com 0,5 cm. C) Implante ósseo cortical alógeno conservado em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ , após reidratação. D) Implante ósseo cortical autógeno imediatamente antes da implantação. E) Implante ósseo cortical alógeno liofilizado, após reidratação. F) Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel, após reidratação. G) Implante ósseo cortical alógeno fixado ao leito receptor por placa DCP e oito parafusos corticais colocados na face crânio-lateral do fêmur gato doméstico..... 68
- Figura 13 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno até 180 dias de pós-operatório..... 70
- Figura 14 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel até 180 dias de pós-operatório..... 70
- Figura 15 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$  até 180 dias de pós-operatório..... 71
- Figura 16 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado até 180 dias de pós-operatório..... 71
- Figura 17 - Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical homóloga nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo controle (GCG1 e GCG4) com 180 dias de pós-operatório sem placa e parafusos, evidenciando o local de não-união (seta azul). A) crânio-caudal gata um; B) médio-lateral gata um; C) crânio-caudal gata quatro; D) médio-lateral gata quatro..... 73
- Figura 18 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número um do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório..... 74
- Figura 19 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número dois do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório..... 74

Figura 20 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número três do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	75
Figura 21 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número quatro do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	75
Figura 22 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número cinco do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	76
Figura 23 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número oito do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	76
Figura 24 -	Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.....	77
Figura 25 -	Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.....	77
Figura 26 -	Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.....	77
Figura 27 -	Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.....	78
Figura 28 -	Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical alógena nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo mel (GMG16 e GMG19) com 180 dias de PO sem placa e parafusos. A) crânio-caudal gata 16; B) médio-lateral gata 16; C) crânio-caudal gata 19; D) médio-lateral gata 19.....	79

Figura 29 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 11 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	80
Figura 30 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 13 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	80
Figura 31 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 15 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	81
Figura 32 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 16 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	81
Figura 33 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 17 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	82
Figura 34 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 19 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	82
Figura 35 - Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.....	83
Figura 36 - Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.....	83

Figura 37 -	Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.....	83
Figura 38 -	Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.....	84
Figura 39 -	Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical alógena nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo congelado (GCOG1 e GCOG4) com 180 dias de pós-operatório sem placa e parafusos evidenciando não-união (seta azul). A) crânio-caudal gata sete; B) médio-lateral gata sete; C) crânio-caudal gata 14; D) médio-lateral gata 14.....	85
Figura 40 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número seis do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	86
Figura 41 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número sete do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	86
Figura 42 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número nove do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	87
Figura 43 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 10 do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	87
Figura 44 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 14 do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	88

Figura 45 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 20 do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	88
Figura 46 -	Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a -70°C.....	89
Figura 47 -	Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a -70°C.....	89
Figura 48 -	Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a -70°C.....	89
Figura 49 -	Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a -70°C.....	90
Figura 50 -	Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical alógena nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo liofilizado (GLG21 e GLG24) com 180 dias de pós-operatório sem placa e parafusos. A) crânio-caudal gata 21; B) médio-lateral gata 21; C) crânio-caudal gata 24; D) médio-lateral gata 24.....	91
Figura 51 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 21 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	93
Figura 52 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 22 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	93
Figura 53 -	Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 23 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	94

Figura 54 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 24 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	94
Figura 55 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 25 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	95
Figura 56 - Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 26 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.....	95
Figura 57 - Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.....	96
Figura 58 - Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.....	96
Figura 59 - Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.....	96
Figura 60 - Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.....	97
Figura 61 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de felinos domésticos no item incorporação/união do implante na interface proximal.....	99
Figura 62 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item incorporação/união do implante na interface distal.....	99

Figura 63 -	Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item qualidade óssea do implante.....	100
Figura 64 -	Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item qualidade do osso receptor.....	100
Figura 65 -	Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item aspecto da fixação da placa e parafusos.....	101
Figura 66 -	Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item impressão global da consolidação.....	101
Figura 67 -	Imagem do fêmur dos gatos domésticos submetidos à eutanásia após implantação óssea cortical autógena ou alógena dos grupos controle (GCG1 e GCG4) e mel (GMG16 e GMG19), respectivamente. Com 180 dias de pós-operatório e após remoção de grande parte dos tecidos moles e da placa com os parafusos. A) cranial gata um; B) lateral gata um; C) cranial gata quatro; D) lateral gata quatro; E) cranial gata 16; F) lateral gata 16; G) cranial gata 19; H) lateral gata 19.....	106
Figura 68 -	Imagem do fêmur dos gatos domésticos submetidos à eutanásia após implantação óssea cortical alógena dos grupos congelado (GCOG7 e GCOG14) e liofilizado (GLG21 e GLG24). Com 180 dias de pós-operatório e após remoção de grande parte dos tecidos moles e da placa com os parafusos. A) cranial gata sete; B) lateral gata sete; C) cranial gata 14; D) lateral gata 14; E) cranial gata 21; F) lateral gata 21; G) cranial gata 24; H) lateral gata 24.....	106
Figura 69 -	Avaliação histológica da implantação óssea cortical autógena na diáfise femoral de gatos domésticos após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata um, interface distal, com coloração de Tricômio de Masson, revelando área de transição entre o enxerto e o osso receptor. B) Fotomicrografia da gata um, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina, revelando presença de fibrose com ativação do periósteo.....	109
Figura 70 -	Avaliação histológica da implantação na diáfise femoral felina de segmento ósseo conservado em mel após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata 19, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina, revelando área de união entre o implante ósseo e o osso receptor, em fase de remodelamento. B) Fotomicrografia da gata 16, interface distal, com coloração de Tricômio de Masson evidenciando a área de transição entre o implante ósseo e o osso receptor, com presença de cartilagem.....	109

- Figura 71 - Avaliação histológica da implantação na diáfise femoral felina de segmento ósseo conservado em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata 14, interface distal, com coloração de Tricômio de Masson, revelando substituição do tecido ósseo por tecido fibroso e cartilaginoso B) Fotomicrografia da gata 14, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina evidenciando áreas com focos de cartilagem e perióstio ativado..... 110
- Figura 72 - Avaliação histológica da implantação na diáfise femoral felina de segmento ósseo liofilizado após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata 24, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina, revelando extensa área de fibrose associado a processo inflamatório purulento. B) Fotomicrografia da gata 21, interface proximal, com coloração de Tricômio de Masson evidenciando área com tecido ósseo implantado morto (área avermelhada), associado à fibrose e cartilagem, sem reação inflamatória..... 110

**LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Distribuição dos animais de acordo com o número, grupo e peso corporal (kg) imediatamente antes da cirurgia e grupo ao qual pertenciam.....	49
--	----

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 -	Escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos.....	60
Tabela 2 -	Características clínicas dos cinco graus utilizados para apreciar o uso do membro de gatos submetidos à substituição de segmento ósseo diafisário do fêmur por implante ósseo cortical autógeno ou alógeno, baseadas na tabela de características clínicas de recuperação proposta por Tudury e Raiser (1985).....	61
Tabela 3 -	Média e desvio padrão do comprimento do fêmur e do implante nos gatos dos grupos controle, mel, congelado, liofilizado e de todos os grupos, bem como a porcentagem e desvio padrão entre eles. Valores obtidos no exame radiográfico do pós-operatório imediato na projeção médio-lateral.....	72
Tabela 4 -	Valores médios das variáveis: tempos de cirurgia, porcentagem: comprimento do fêmur/comprimento do implante, porcentagem dos implantes com consolidação.....	102

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AINE	- Antiinflamatório não esteroidal
BMP	- <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
°C	- Graus centígrados
cm	- Centímetros
CIM	- Concentração inibitória mínima
DCP	- <i>Dynamic compression plate</i>
FAVET	- Faculdade de Veterinária
GC	- Grupo controle
GCG1	- Grupo controle gata um
GCG4	- Grupo controle gata quatro
GCO	- Grupo congelado
GCOG7	- Grupo congelado gata sete
GCOG14	- Grupo congelado gata 14
GL	- Grupo liofilizado
GLG21	- Grupo liofilizado gata 21
GLG24	- Grupo liofilizado gata 24
GM	- Grupo mel
GMG16	- Grupo mel gata 16
GMG19	- Grupo mel gata 19
Gr	- Grupo
Gy	- Gray
HE	- Hematoxilina e Eosina
HIV	- <i>Human immunodeficiency virus</i>
IM	- Intramuscular
IV	- Intravenoso
Kg	- Quilogramas
Kv	- Quilovoltagem
m <sup>2</sup>	- Metros quadrados
mA	- Miliamperagem
ml	- Mililitros

mm	- Milímetros
MPA	- Medicação pré-anestésica
MPD	- Membro pélvico direito
OE	- Óxido de etileno
pH	- Potencial hidrogeniônico
PMO	- Proteínas morfogenéticas ósseas
PO	- Pós-operatório
Pts	- Pontos
PVPI	- Polivinilpirrolidona-iodo
RS	- Rio Grande do Sul
SC	- Subcutâneo
TM	- Tricômio de Masson
UFRGS	- Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**SUMÁRIO**

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>25</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>27</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	<b>Aspectos históricos.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2</b>	<b>Classificação.....</b>	<b>28</b>
<b>3.3</b>	<b>Função dos enxertos ou implantes ósseos.....</b>	<b>30</b>
<b>3.4</b>	<b>Indicações e contra-indicações.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5</b>	<b>Obtenção e preparação do implante.....</b>	<b>31</b>
<b>3.6</b>	<b>Substitutos ósseos.....</b>	<b>32</b>
<b>3.7</b>	<b>Implante ósseo congelado.....</b>	<b>33</b>
<b>3.8</b>	<b>Implante ósseo liofilizado.....</b>	<b>34</b>
<b>3.9</b>	<b>Implante ósseo conservado no mel.....</b>	<b>36</b>
<b>3.10</b>	<b>Outras formas de conservação.....</b>	<b>39</b>
<b>3.11</b>	<b>Métodos de fixação do implante.....</b>	<b>39</b>
<b>3.12</b>	<b>Incorporação e rejeição.....</b>	<b>41</b>
<b>3.13</b>	<b>Métodos de avaliação dos resultados.....</b>	<b>43</b>
<b>3.14</b>	<b>Complicações.....</b>	<b>45</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1</b>	<b>Elaboração do banco de ossos.....</b>	<b>47</b>
<b>4.2</b>	<b>Animais experimentais.....</b>	<b>48</b>
<b>4.3</b>	<b>Grupos.....</b>	<b>48</b>
4.3.1	Grupo controle.....	49
4.3.2	Grupo mel.....	49
4.3.3	Grupo congelado.....	50
4.3.4	Grupo liofilizado.....	50
<b>4.4</b>	<b>Procedimento pré-operatório.....</b>	<b>50</b>
<b>4.5</b>	<b>Procedimento anestésico.....</b>	<b>50</b>
<b>4.6</b>	<b>Procedimento cirúrgico.....</b>	<b>51</b>
<b>4.7</b>	<b>Controle microbiológico.....</b>	<b>57</b>
4.7.1	Amostras de mel.....	57

4.7.2	Análise dos implantes.....	58
<b>4.8</b>	<b>Cuidados no pós-operatório.....</b>	<b>58</b>
<b>4.9</b>	<b>Avaliação radiográfica.....</b>	<b>59</b>
<b>4.10</b>	<b>Avaliação deambulatória.....</b>	<b>61</b>
<b>4.11</b>	<b>Avaliação macroscópica.....</b>	<b>61</b>
<b>4.12</b>	<b>Avaliação histológica.....</b>	<b>63</b>
<b>4.13</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>63</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>65</b>
<b>5.1</b>	<b>Procedimento anestésico.....</b>	<b>65</b>
<b>5.2</b>	<b>Procedimento cirúrgico.....</b>	<b>65</b>
<b>5.3</b>	<b>Avaliação clínica.....</b>	<b>68</b>
<b>5.4</b>	<b>Avaliação deambulatória.....</b>	<b>69</b>
<b>5.5</b>	<b>Avaliação radiográfica.....</b>	<b>72</b>
5.5.1	Grupo controle.....	72
5.5.2	Grupo mel.....	78
5.5.3	Grupo congelado.....	84
5.5.4	Grupo liofilizado.....	90
5.5.5	Avaliação da pontuação radiográfica.....	97
<b>5.6</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>102</b>
<b>5.7</b>	<b>Avaliação macroscópica.....</b>	<b>103</b>
5.7.1	Grupo controle.....	103
5.7.2	Grupo mel.....	103
5.7.3	Grupo congelado.....	104
5.7.4	Grupo liofilizado.....	104
<b>5.8</b>	<b>Avaliação histológica.....</b>	<b>107</b>
5.8.1	Grupo controle.....	107
5.8.2	Grupo mel.....	107
5.8.3	Grupo congelado.....	107
5.8.4	Grupo liofilizado.....	108
<b>5.9</b>	<b>Avaliação bacteriológica.....</b>	<b>108</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>111</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>126</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>127</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Enxertos ou implantes ósseos são amplamente utilizados em Medicina Humana. De acordo com Academia Americana de Cirurgiões Ortopédicos mais de 500.000 operações envolveram algum tipo de enxerto ósseo no ano de 2002, sendo este o tecido mais comumente transplantado (MAXERAS et al., 2002).

Os gatos domésticos há muito tempo são utilizados como animais de companhia e, nos últimos anos, são cada vez mais freqüentes os atendimentos veterinários a esta espécie. As afecções ortopédicas em gatos ocupam papel de destaque na rotina de um Hospital ou Clínica Veterinária. Em felinos, os traumas envolvendo o membro pélvico são muito mais freqüentes do que aqueles que envolvem o membro torácico (SCOTT; McLAUGHLIN, 2007). Sendo assim, não é raro o traumatologista veterinário deparar-se com fraturas cominutivas de ossos longos, neoplasias ósseas, não-uniões ou uniões-viciosas de fraturas. Uma das principais opções para o tratamento dessas afecções é a substituição de um segmento ou o preenchimento de uma falha óssea utilizando enxerto ou implante. Biologicamente, a melhor fonte para a obtenção desse material seria o próprio animal, ou seja, a utilização do enxerto autógeno. Porém, esta manobra muitas vezes acaba sendo preterida, pois aumenta a morbidade, a dor, os tempos cirúrgico e anestésico e, principalmente, não fornece volume suficiente para a reconstrução adequada de grande falha óssea, especialmente em animais de pequeno porte como gatos domésticos, onde a coleta de enxerto autógeno pode ser problemática (DOREA et al., 2005).

Sendo assim, outras fontes de material ósseo têm sido buscadas. A principal delas refere-se aos ossos obtidos de animais da mesma espécie, ou seja, os implantes alógenos. Apesar de imunologicamente inferiores aos enxertos autógenos (GOLDBERG; STEVENSON, 1987), eles têm sido amplamente utilizados e resultados bastante satisfatórios têm sido obtidos (COSTA, 1996, ALIEVI, 2006). Uma grande vantagem é a possibilidade de formação de um banco de ossos, o que elimina a dificuldade de se encontrar um doador disponível e apropriado para o fornecimento emergencial de aloenxertos, além de um único doador poder fornecer vários segmentos ósseos (KERWIN et al., 1991). Segundo Dorea et al. (2005), implantes ósseos alógenos são uma alternativa para preenchimento de falhas em ossos de gatos domésticos, porém, a eficácia deste tipo de implante ósseo ainda não foi avaliada adequadamente nesta espécie.

Os gatos também apresentam osteologia mais semelhante à humana quando comparada com espécies como coelhos e cães. Por esse motivo a espécie felina tem sido utilizada como modelo experimental para estudos de consolidação e incorporação óssea, em Medicina Humana (NATHER, 2005).

Diversos métodos e meios de conservação desses implantes têm sido utilizados, entre eles temos o congelamento (NATHER, 2001), a liofilização (GALIA, 2004), a glicerina (COSTA, 1996), o óxido de etileno (JOHNSON et al., 1987) e o mel (ALIEVI, 2006). O congelamento e a liofilização alcançam sucesso na preservação e na incorporação do enxerto, porém requerem equipamentos sofisticados e de alto custo, o que dificulta a utilização destes métodos em muitos hospitais e clínicas. A glicerina possui baixo custo, porém, não preserva as propriedades biomecânicas. A esterilização pelo óxido de etileno, apesar de eliminar a contaminação do osso conservado, altera suas propriedades biomecânicas e predispõe o mesmo a falhas. Outra opção seria a conservação óssea em mel, já que este é um material de fácil obtenção, baixo custo, não necessitando de equipamento especializado para sua obtenção e possuindo propriedades antimicrobianas tanto *in-vitro* como *in-vivo*. Alguns experimentos têm sido conduzidos para avaliá-lo como meio de conservação de tecidos. Segmentos ósseos têm sido implantados com resultados satisfatórios em cães (AMENDOLA, 2001, ALIEVI, 2006), entretanto, a utilização de implantes ósseos corticais conservados em mel não foi avaliada em gatos domésticos, espécie altamente prevalente na clínica veterinária. Além disso, faz-se necessária a comparação desta forma de conservação com métodos mundialmente consagrados, como o congelamento e a liofilização.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Comparar enxerto ósseo cortical autógeno e implantes ósseos corticais alógenos conservados em mel, congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  ou liofilizados na substituição de segmento diafisário do fêmur de gatos domésticos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Mensurar o tempo e a taxa de incorporação do enxerto cortical autógeno e dos implantes corticais alógenos.
- Avaliar o mel como método de conservação de implantes ósseos corticais alógenos.
- Avaliar o congelamento a  $-70^{\circ}\text{C}$  como método de conservação de implantes ósseos corticais alógenos.
- Avaliar a liofilização como método de conservação de implantes ósseos corticais alógenos.
- Observar o grau de claudicação após substituição de segmento ósseo diafisário do fêmur de gatos domésticos por enxerto ósseo cortical autógeno ou implantes ósseos corticais alógenos conservados em mel, congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$  ou liofilizados.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Aspectos históricos**

O primeiro registro da utilização de transplante ósseo data de 1668, no qual descreve-se a utilização de um enxerto ósseo xenógeno transplantado de um crânio canino para o crânio de um soldado russo, cirurgia esta feita pelo cirurgião holandês Job Van Meekeren obtendo completa integração do enxerto (WEIGEL, 1993). A igreja considerou este um procedimento não cristão, excomungando o soldado que, isolado da sociedade, solicitou a remoção do enxerto ao cirurgião. Devido ao tempo decorrido da cirurgia e a completa integração do enxerto, este não pode ser removido com sucesso (GODWIN, 2000). O primeiro cirurgião a publicar o uso de enxerto ósseo proveniente de um cadáver na ressecção de um sarcoma foi Josef Horak em 1914, que destacou que o doador deveria ser recém morto e sem afecções infecciosas (JULIÁN; VALENTÍ, 2006).

Em Medicina Veterinária, os precursores na utilização de enxertia óssea foram Wadsworth e Henry que, em 1976, publicaram estudo onde descrevem a utilização de aloenxerto ósseo cortical em dois felinos. No primeiro foi utilizado enxerto ósseo cortical alógeno a fresco e autógeno nos fêmures esquerdo e direito respectivamente, fixados com placa e parafusos, sendo este um estudo experimental. No segundo caso foi implantado enxerto ósseo congelado, com quatro centímetros, em uma falha óssea provocada por fratura cominutiva de fêmur. Nos dois casos foi obtida consolidação óssea satisfatória.

#### **3.2 Classificação**

Enxerto ou implante é o tecido ósseo sem vascularização, transplantado para outra região no mesmo indivíduo ou entre indivíduos diferentes, com a finalidade de reconstruir perdas do esqueleto causadas por traumas, infecções ou ressecção de tumores (GOLDBERG; STEVENSON, 1987). O termo enxerto se refere àqueles tecidos ósseos ou não que, quando são transplantados, ainda apresentam células viáveis. Já o termo implante pode ser usado para tecido ósseo sem células viáveis (implante

biológico) ou metal, cerâmica, etc (implantes não biológicos), utilizados no tratamento de afecções em indivíduos vivos (STEVENSON, 1998a).

No que se refere a origem, os enxertos ou implantes podem ser classificados em autógeno quando o osso é transplantado de uma área para outra no mesmo indivíduo (WEIGEL, 1993) sendo este tipo de enxerto rapidamente incorporado ao receptor (MARTINEZ; WALKER, 1999). Os implantes alógenos são aqueles provenientes de outro indivíduo da mesma espécie, porém geneticamente diferente (PIERMATEI; FLO, 1999), sendo normalmente estes implantes submetidos à algum método de conservação antes da implantação (JOHNSON, 2007). Os implantes xenógenos são aqueles transplantados entre indivíduos de espécies diferentes, onde a distância genética e o potencial para rejeição são maiores (WEIGEL, 1993). Há ainda os isógenos (doador e receptor são indivíduos diferentes, mas geneticamente idênticos), no entanto este último é utilizado apenas experimentalmente (MILLIS; MARTINEZ, 2003). Os enxertos/implantes autógenos e alógenos têm sido amplamente utilizados na prática cirúrgica, enquanto que os xenógenos são menos empregados por apresentarem resposta antigênica exarcebada (ARO; AHO, 1993).

Dentro da gama de opções de substitutos ósseos destacam-se ainda as proteínas morfogenéticas ósseas (PMO). As PMO pertencem a uma superfamília de proteínas denominadas de fatores beta de indução de crescimento, sendo responsáveis pela regulação de diversos processos biológicos incluindo crescimento celular, diferenciação e formação embrionária e mostram-se importantes reguladoras na formação e regeneração do tecido esquelético. Possuem também, grande atividade osteogênica (REDDI; CUNNINGHAM, 1993).

Os enxertos/implantes ósseos também podem ser classificados quanto a sua composição. Enxerto esponjoso é composto principalmente por osso trabecular, normalmente coletado da metáfise de ossos longos; enxerto córtico-esponjoso é formado por osso trabecular e cortical; cortical é o enxerto ou implante normalmente coletado da diáfise de ossos longos e podem ser utilizados a fresco ou conservados, sendo estes três os mais comumente utilizados (SINIBALDI, 2001). Os implantes osteocondrais são compostos por osso subcondral e cartilagem articular, enquanto que os de medula óssea são compostos por células mesenquimais indiferenciadas (MILLIS; MARTINEZ, 2003).

### **3.3 Função dos enxertos ou implantes ósseos**

As principais funções dos implantes ósseos corticais são a osteogênese e o suporte mecânico (STEVENSON, 1998b). Nos enxertos ósseos autógenos esponjosos ocorre transferência de osteócitos, osteoblastos e outras células viáveis, e dessa forma a osteogênese ocorre de forma mais rápida e intensa. Nos enxertos corticais autógenos e alógenos, a maior parte do enxerto necrosa devido a interrupção da vascularização, ocorrendo consolidação óssea através de osteocondução (BURCHARDT, 1983).

Osteocondução é o processo onde o material implantado oferece uma armação para a migração dos osteoclastos, osteoblastos e vascularização sendo que, quando se utiliza implantes corticais alógenos, esse processo pode perdurar por anos (GOLDBERG et al., 1991). Durante este período, o osso implantado vai sendo substituído por novo osso proveniente do receptor e é muito importante que, tanto o implante ósseo como o método de estabilização, suportem as cargas compressivas provenientes da movimentação normal do paciente. Quando se utilizam enxertos ósseos mineralizados, como os implantes ossos corticais, também ocorre indução da proliferação condroblástica responsável pela produção de matriz ativa que posteriormente se mineraliza, isto é chamado de osteoindução (NEWMAN-GAGE, 2001).

Para Fitch et al. (1997), implantes ósseos corticais alógenos podem ser osteocondutivos, osteoindutivos e, em alguns casos, promovem suporte mecânico.

### **3.4 Indicações e contra-indicações**

Fraturas cominutivas de ossos longos, neoplasias ósseas, não-uniões e uniões viciosas são afecções comuns na rotina de clínicas e hospitais veterinários e ocorrem tanto em cães como em gatos. Dentre as opções para o tratamento destas afecções ortopédicas, destaca-se o uso de enxertos ou implantes ósseos, como forma de substituição de um segmento ou preenchimento de uma falha óssea (BLOOMBERG et al., 1984, MORELLO et al., 2001, ALIEVI, 2006).

Os implantes ósseos alógenos, conservados de diversas formas, são uma das opções para o tratamento destas afecções, sendo amplamente utilizados e com resultados satisfatórios (PINTO JÚNIOR, 1995, MORELLO et al., 2001). Esta opção de implante apresenta vantagens quando comparado com enxertos autógenos como por

exemplo, diminuição da morbidade, da dor, do tempo cirúrgico e do gasto com anestésicos (MILLIS; MARTINEZ, 2003). Este tipo de implante também pode ser utilizado para aumentar ou melhorar a congruência articular, como na displasia coxofemoral tratada com acetabuloplastia extracapsular (FERREIRA, 2003; FERREIRA, 2007).

Kerwin et al. (1991) enfatizaram que os implantes ósseos corticais alógenos são utilizados com mais frequência em defeitos corticais grandes na diáfise de ossos longos, sendo em veterinária a principal indicação o tratamento de fraturas cominutivas diafisárias. Já LaRue et al. (1989) e Sinibaldi (1989) acreditam que implantes ósseos corticais alógenos também podem ser utilizados em alongamento ósseo, tratamento de mal-união e não-união de fraturas e no salvamento de membros com tumores ósseos.

As contra-indicações da utilização de implantes ósseos corticais alógenos são fraturas expostas, áreas com infecção presente e situações em que a fixação interna rígida não pode ser aplicada ao implante e ao osso hospedeiro (MILLIS; MARTINEZ, 2007).

### **3.5 Obtenção e preparação do implante**

Segundo normas da Associação Americana de Bancos de Tecidos, a seleção dos doadores de enxerto ósseo deve excluir aqueles que apresentarem doenças infecto-contagiosas, metastáticas, ou qualquer evidência de doença sistêmica ou localizada. Também devem ser excluídas, vítimas de morte por envenenamento, grandes queimaduras ou que tenham ingerido drogas ou substâncias tóxicas (FEOFILOFF; JESUS-GARCIA, 1996).

A coleta deve ser feita seguindo normas rigorosas de assepsia. A anti-sepsia pode ser com solução alcoólica de timerosal (1:1000) (PINTO JÚNIOR et al., 1995) ou solução de PVPI degermante e tópica, no máximo até duas horas após a morte do paciente doador (FEOFILOFF; JESUS-GARCIA, 1996). Após a coleta, todos os tecidos moles devem ser retirados (esqueletização), incluindo inserções capsulares e ligamentares, para, então sim, o enxerto ser submetido a testes microbiológicos (PINTO JÚNIOR et al. 1995; FEOFILOFF; JESUS-GARCIA, 1996).

Segundo Henry Jr. e Wadsworth (1981a) o doador ideal deve ser jovem, porém com o esqueleto maduro e livre de afecções. A remoção dos enxertos pode ser feita com o animal em plano profundo de anestesia ou imediatamente após a eutanásia. Apesar de

Alexander (1983) afirmar ser desnecessário a formação de um banco de ossos em Medicina Veterinária, baseando-se na facilidade e baixo custo de obtenção e na diversidade do tamanho de cães, Kerwin et al. (1991) acharam importante a formação de um banco de ossos, pois este forneceria implantes ósseos para situações de emergência e um único doador poderia beneficiar um número grande de indivíduos. Johnson (1988) também considera necessária a manutenção de um banco de ossos, pois dessa forma se evita o sacrifício de um doador a cada procedimento cirúrgico e não se perde a diminuição da antigenicidade que os processos de conservação promovem.

### 3.6 Substitutos ósseos

O tecido ósseo é constituído basicamente por uma matriz orgânica de colágeno tipo I, contendo proteoglicanas de baixo peso molecular. Proteínas não colágenas correspondem a 25% do peso ósseo, a parte mineral representa 65%, constituída em sua maioria por hidroxiapatita e ainda há 10% de água na sua composição (OLIVEIRA et al., 1999).

Através da implantação intramuscular de matriz óssea bovina desmineralizada em coelhos e ratos, foi observada a formação de osso ectópico. Isso gerou a pesquisa de substâncias capazes de induzir diferenciação celular, sendo encontrado que proteínas de baixo peso molecular extraídas de matriz óssea desmineralizada possuem grande atividade osteogênica, sendo denominadas proteínas morfogenéticas ósseas (PMO) (NOGAMI; URIST, 1974 e REDDI; CUNNINGHAM, 1993). Ferrigno et al. (2003) utilizaram com sucesso placa e parafusos em associação com BMP (bone morphogenetic protein) no tratamento de fraturas de rádio, ulna e úmero em tamanduá gigante (*Myrmecophaga tridactyla*).

Segundo Maxeras et al. (2002), os substitutos ósseos podem ser materiais naturais ou sintéticos, de origem animal ou humana. O substituto ósseo ideal é biocompatível, bioabsorvível, tem propriedades osteoindutivas e osteocondutivas, e apresenta estrutura similar àquela que vai ser substituída, sendo facilmente implantado e com custo baixo (Delloye et al., 1985).

A matriz óssea desmineralizada é o osso onde foi removida a parte mineral, permanecendo as proteínas não-colágenas, os fatores de crescimento ósseo e o colágeno. Não proporciona sustentação biomecânica, mas apresenta atividade osteoindutora, podendo ser utilizada como uma alternativa ao enxerto autólogo em

fraturas cominutivas, defeitos ósseos, não-união ou união retardada de fraturas (MILLIS; MARTINEZ, 2007).

Dorea et al. (2005) utilizaram com sucesso cerâmica bioativa (bioglass) no preenchimento de falhas ósseas com quatro milímetros de diâmetro em diáfise femoral de felinos, sendo esse implante sintético constituído por sais de cálcio, fosfato e dióxido de silício.

### **3.7 Implante ósseo congelado**

Em 1912, Albee já usava a refrigeração como método de conservação de implantes ósseos, desde então muitos estudos foram desenvolvidos para se chegar ao método e temperatura ideais de congelamento. A temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  é a considerada ideal, visto que em temperaturas mais elevadas enzimas líticas permanecem ativas destruindo as propriedades osteoindutoras (PAPPAS, 1968). Fitch et al. (1997), recomendaram a utilização de conservação a frio nas temperaturas de  $-20^{\circ}\text{C}$  por um período máximo de seis meses e  $-40^{\circ}\text{C}$  quando for conservado por cinco anos ou mais, mas descreveram a temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  como a preferida para conservação de enxerto ósseo. Roe et al. (1988) utilizaram a temperatura de  $-15^{\circ}\text{C}$  à  $-30^{\circ}\text{C}$  para conservação de implantes em freezer convencional, Kerwin et al. (1991) conservaram em freezer especial à  $-80^{\circ}\text{C}$  e Friedlaender et al. (1976) em gás criogênico à  $-150^{\circ}\text{C}$ .

Kerwin et al. (1991) recomendaram que sejam feitas tricotomia e rígida anti-sepsia no doador quando a forma de conservação for congelamento, também se devem seguir todos os princípios de assepsia cirúrgica durante a coleta, isto porque alguns agentes infecciosos podem resistir a baixas temperaturas, sendo recomendado teste microbiológico dos ossos coletados. Durante a coleta devem ser removidos os tecidos moles, perióstio e medula óssea (KERWIN et al., 1991).

Henry Jr. e Wadsworth (1981a) utilizaram implantes ósseos alógenos coletados de animais jovens sob rígidos princípios de assepsia, que foram conservados em refrigerador doméstico com temperatura oscilando entre  $-15^{\circ}\text{C}$  e  $-20^{\circ}\text{C}$  por um período que variou de dois dias a um ano. Estes implantes foram utilizados no tratamento de fraturas cominutivas de fêmur, úmero e tíbia em 11 cães e 10 gatos. Nove de 10 felinos apresentaram incorporação do implante enquanto que apenas quatro de 11 cães obtiveram o mesmo sucesso. Fratura do implante, seqüestro ósseo, não-união, infecção e fixação inadequada foram as complicações observadas neste estudo. Os autores

também consideraram esta forma de conservação fácil e barata, não atribuindo o fracasso da técnica em cães ao método de conservação do implante.

A temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  foi utilizada por Dueland et al. (1989) para conservação de implantes ósseos corticais alógenos aplicados como tratamento de oito fraturas cominutivas em cães, cinco animais tiveram resultados considerados bons ou excelentes e um dos cães foi submetido à amputação do membro devido a osteomielite irresponsiva ao tratamento. Os implantes correspondiam, em média, a 40% da extensão total do osso e para sua fixação aos fragmentos da fratura, foram utilizadas placas ósseas compressivas e parafusos.

As vantagens da utilização do congelamento para preservação de implantes ósseos são: facilidade de armazenamento, resposta antigênica diminuída, armazenamento por períodos longos e preservação das propriedades biomecânicas do osso. Como desvantagens temos a necessidade de encontrar um doador adequado para as coletas e as despesas com assepsia (KERWIN et al., 1991). Nunamaker e Rhinelaender (1985) afirmam que implantes congelados à  $-70^{\circ}\text{C}$  podem ser utilizados por até dois anos após a coleta.

### **3.8 Implante ósseo liofilizado**

O osso liofilizado é utilizado em medicina humana há mais de 50 anos (CRENSHAW, 1991), mas em medicina veterinária são escassos os trabalhos utilizando esta técnica de conservação, talvez pela necessidade de equipamento específico e de alto custo para a liofilização. Esta técnica consiste na retirada de umidade do osso previamente desengordurado (ZASACKI, 1991). Esta água é removida do osso após este ser congelado, por sublimação, ou seja, a água passa diretamente do estado sólido ao estado de vapor (LUCHESE; DECHECHI, 2003).

Esta é uma forma de processamento e armazenamento de tecido ósseo que permite a utilização de ossos, tendões e fâscias, pois promove uma intensa diminuição da antigenicidade dos tecidos, sendo capaz de fornecer material biocompatível e estéril que pode ser conservado em temperatura ambiente (NOGAMI; URIST, 1974 e KAKIUCHI, 1996).

No processo de liofilização o osso passa pelas seguintes etapas após ser coletado: 1) lavado em água filtrada; 2) centrifugado; 3) desengordurado em uma mistura de clorofórmio e metanol; 4) centrifugado novamente; 5) aerado em contato

direto com o ambiente; 6) lavado novamente; 7) centrifugado novamente; 8) liofilizado a frio (-40°C) durante sete dias (VAJARADUL, 1996). As vantagens desse processo de conservação incluem: diminuição da antigenicidade do aloenxerto (ZASACKI, 1991; GALIA et al., 2005), praticidade do armazenamento, durabilidade e mínima alteração bioquímica (CRENSHAW, 1991; GALIA et al., 2005). Brown e Cruess (1982) e Nunamaker e Rhinelaender (1985) consideraram que enxertos obtidos dessa forma podem ser estocados em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

Silva et al. (2000) primeiro congelaram o osso a -70°C, previamente desmineralizado, e só então o implante ósseo foi colocado no liofilizador a -35°C retirando até 95% da água, enquanto que Burchardt et al. (1978) realizaram a liofilização através de congelamento a -70°C e posterior exposição do osso ao vácuo até que a umidade residual fosse de 5%. Neste mesmo estudo foi verificado que a liofilização não inibe o processo de reparo quando utilizam-se implantes ósseos alógenos em cães porém, a liofilização não protegeu os implantes do processo de rejeição.

Galia et al. (2005) observaram em um estudo com implantes ósseos homólogos e heterólogos conservados com congelamento profundo e liofilização, que este método pode tornar-se uma alternativa na correção de defeitos ósseos. O experimento foi realizado em ratos e mostrou que a utilização de implante heterólogo liofilizado é mais uma alternativa ao uso de enxerto autólogo, muitas vezes de difícil obtenção. Gomes et al. (2007) descrevem a utilização com sucesso do osso bovino esponjoso liofilizado no preenchimento de fístulas oronasais de cães, destacando a facilidade de moldar este implante e o adequado preenchimento da falha aos 120 dias de pós-operatório.

Como desvantagem na utilização desta forma de conservação Schena et al. (1984) citaram o elevado custo do equipamento e o longo tempo para processamento do tecido ósseo, não sendo isso observado com outras técnicas de conservação de tecidos como o mel (ALIEVI et al., 2007 e AMENDOLA, 2007).

Com relação às propriedades biomecânicas dos ossos liofilizados, Itoman e Nakamura (1991) encontraram que, após 16 semanas de implantação, o osso liofilizado desmineralizado apresentou resultados inferiores com relação à rigidez quando comparado com implantes congelados a -80°C e enxerto autógeno. Já Macedo et al. (1999) com testes compressivos *in vitro*, compararam a resistência de ossos bovinos liofilizados e congelados após reidratação de uma hora e encontraram que tanto o osso

lioofilizado quanto o congelado à  $-80^{\circ}\text{C}$  suportavam a mesma carga compressiva e apresentaram a mesma razão de deformação.

A liofilização pode não ser um processo estéril e, em alguns casos, necessita-se esterilização do implante ósseo. Este é um tema ainda controverso, sendo que as técnicas disponíveis atualmente possuem vantagens e desvantagens no que diz respeito à eficácia e manutenção das propriedades biomecânicas e biológicas (ZHANG et al., 1997). Estudo em ratos comparando a osteoindução de enxertos esterilizados por radiação gama, óxido de etileno  $55^{\circ}$  e  $40^{\circ}$  e etanol concluiu não haver diminuição na capacidade osteoindutora quando se utiliza etanol ou óxido de etileno  $40^{\circ}$ , porém ao utilizar radiação gama ou óxido de etileno  $55^{\circ}$  houve uma diminuição significativa na capacidade osteoindutora (ZHANG et al., 1997). A radiação pode destruir as propriedades morfogenéticas, principalmente do osso liofilizado não desmineralizado (URIST; HERNANDEZ, 1974).

Outra forma possível de esterilização é a autoclavagem, sendo recomendado a temperatura de  $132^{\circ}\text{C}$  por uma hora, que provoca inativação inclusive de prions, mas, pode afetar biomecanicamente os implantes ósseos diminuindo em até 70% a sua resistência à compressão (VICECONTI et al., 1996).

### 3.9 Implante ósseo conservado no mel

No Egito antigo, há dois mil anos, já se utilizava o mel para o tratamento de enfermidades nos seres vivos (GREENWOOD, 1993). Segundo Pereira et al. (1995), o mel possui propriedades terapêuticas, tais como: efeito antimicrobiano, antiinflamatório e antipirético e tem capacidade de estimular o sistema imunológico, tendo capacidade de inibir o crescimento tanto de bactérias gram negativas como gram positivas (AGBAJE et al., 2006).

Vardi et al. (1998) descreveram que o mel natural é composto por 40% de glicose, 40% de frutose e 20% de água aproximadamente e ainda contém ácidos orgânicos, vitaminas, minerais e enzimas, como: invertase, glicose-oxidase, amilase, catalase e fosfatase ácida (MARTINS et al., 2003)). O mel *in natura* pode estar contaminado por *Bacillus sp.* (POSTMES et al., 1993, AMENDOLA, 2001; ALIEVI 2006) e *Clostridium perfringes* (POSTMES et al., 1993), mas Amendola (2001) e Alievi (2006) não encontraram sinais de infecção após utilização de implantes ósseos conservados neste mel. Para Efem e Iwara (1992) é normal o mel estar contaminado por

bactérias do gênero *Bacillus* e leveduras do gênero *Saccharomyces*, ambas não patogênicas e afirmaram ainda que a manipulação inadequada do mel pode levar a contaminação por microorganismos patogênicos.

Alguns autores consideram a produção de peróxido de hidrogênio como sendo o principal fator responsável pela atividade antibacteriana do mel (MENDES; COELHO, 1983). Estudos mostram que o mel possui atividade antimicrobiana de amplo espectro e propriedades antifúngicas, não sendo esta ação, somente pela alta concentração de açúcar. Além da produção de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a atividade antibacteriana do mel é devida à produção de substâncias derivadas das plantas que originaram o mel e pela ação de enzimas (MOLAN, 1992). O pH baixo (3,6) também pode inibir o crescimento bacteriano (BERGMAN et al., 1983), assim como a presença de algumas vitaminas e flavonóides com ação antimicrobiana (SABATIER et al., 1992).

Cooper et al. (1999) comprovaram que o mel, ao contrário de soluções hipersaturadas de açúcar, não tem ação antimicrobiana apenas por sua osmolaridade. Em um experimento onde foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM) de dois méis neozelandeses, produzidos a partir de flores da planta *Leptospermum scoparium* ou de flores do campo. A bactéria *Staphylococcus aureus*, isolada de ferimentos infectados de pacientes humanos, foi escolhida para testar a contaminação das amostras. A atividade antimicrobiana advinda do peróxido de hidrogênio produzido pelo mel foi anulada ao submetê-lo a ação da catalase, dessa forma somente os efeitos antimicrobianos vindos das substâncias fitoquímicas foram testados. A CIM dos dois tipos de mel foram similares, 2 a 3% para o primeiro, e 3 e 4% para os segundo, sendo estes valores muito menores que os encontrados para o açúcar com 29% de CIM, dessa forma se pode afirmar que o mel possui ação antibacteriana independente da sua osmolaridade.

Amendola (2007) avaliou o mel e a glicerina 98% como conservantes de implantes ósseos corticais provenientes de caninos, sendo a coleta feita de forma não asséptica. Os resultados demonstraram que a glicerina 98% foi superior ao mel como agente bactericida e fungicida, embora as bactérias encontradas no mel fossem não patogênicas.

O mel pode ser utilizado para conservação de diversos tecidos como, a córnea (ABRAMOV; MARKICHEVA, 1983), implantes ósseos (AMENDOLA, 2001, GAIGA; SCHOSSLER, 2003, ALIEVI, 2006) e pele (SUBRAHMANYAN, 1993).

Gaiga (2002), em um experimento com 14 pombos, avaliou a conservação de xenoenxertos ósseos em mel e observou que este meio de conservação foi eficiente. Foi constatado consolidação óssea satisfatória de todas as fraturas de úmero tratadas com xenoenxerto intramedular conservados no mel por um período que variou de 30 dias à seis meses. Não foram observados sinais clínicos de infecção associados aos implantes, mesmo não tendo sido utilizada técnica asséptica para a coleta.

Amendola (2001) utilizou o mel como conservante de segmentos diafisários femorais utilizando estes implantes alógenos em falhas ósseas na diáfise femoral de 12 cães saudáveis, sendo os mesmos fixados com dois pinos intramedulares e fio de aço na forma de cerclagem. O período de conservação variou de 30 dias a seis meses e, em nenhum dos implantes, foram observadas fissuras ou rachaduras que pudessem significar fragilização do osso. Houve consolidação óssea confirmada radiográfica e macroscopicamente em oito animais e nos outros quatro cães houve reabsorção do implante. Não foi observada rejeição ao implante, sendo assim, o autor recomendou a utilização de mel como conservante de implantes ósseos.

O mel também foi utilizado como conservante em um estudo realizado por Alievi (2006) com implante ósseo cortical alógeno substituindo uma falha óssea segmentar em fêmur de cães. O segmento ósseo implantado representou, em média, 30% do comprimento ósseo e foi utilizada, para fixação, placa compressiva com 3,5 mm de diâmetro e parafusos. Os animais foram avaliados através de exame radiográfico, macroscópico e histológico, sendo que dois animais foram sacrificados a cada 30 dias de pós-operatório, totalizando 360 dias de avaliação para os dois últimos animais. Foi encontrada uma taxa de incorporação de 79,17% e complicações como, não-união, reabsorção e fratura do implante.

O mel foi estatisticamente inferior à glicerina 98% segundo Amendola (2007) no que se refere a resistência em ensaios biomecânicos compressivos, sendo para isso utilizados ossos provenientes das duas diáfises femorais de cães hípidos.

Giordano e Almeida (2006) consideraram que as técnicas utilizando enxertos ou implantes ósseos são eficazes e de custo baixo, principalmente quando se utiliza a glicerina 98% ou o mel como método de conservação do osso, pois apresentam custo insignificante na manutenção de um banco de ossos.

### 3.10 Outras formas de conservação

O tecido ósseo também pode ser conservado em glicerina 98%, substância a qual Cavassani et al. (2001) atribuíram a propriedade de preservar a capacidade osteoindutora do implante, pois a implantação de fragmentos ósseos no tecido subcutâneo de ratos induziu diferenciação de células mesenquimais em novo tecido ósseo. Ziliotto et al. (2003) em um estudo de preservação do membro torácico em cães observaram que a glicerina 98% manteve os fragmentos ósseos livres de contaminação, reduziu a antigenicidade e preservou as funções de osteoindução e osteocondução dos implantes ósseos, sendo isto também observado por Costa (1996) em estudo experimental com cães.

Rappeti et al. (2007) conservaram homoimplantes ósseos de costelas em açúcar cristal *in natura* ou solução hipersaturada de açúcar (300%) por no mínimo 30 dias e reconstruíram com sucesso falhas ósseas experimentais em costelas de felinos.

Pinto Júnior (1995) conservou implantes ósseos corticais homólogos em tintura de iodo à 2% e utilizou estes segmentos ósseos para preencher falhas em fraturas cominutivas dos ossos úmero e fêmur de cães, considerando este meio de conservação eficiente.

Óxido de etileno (OE) foi utilizado por Johnson et al. (1987) sendo considerado um método eficaz na formação de um banco de ossos estéreis, sugerindo ainda a concentração de 84% de OE, sob temperatura e pressão atmosféricas ambientes, como a forma ideal de esterilização. Já outros autores (KAKIUCHI; ONO, 1998, MOREAU et al., 2000) acreditam que possam permanecer resíduos tóxicos da esterilização com OE, sendo estes liberados quando em contato com meios líquidos.

### 3.11 Métodos de fixação do implante

O método de fixação deve ser capaz de promover excelente estabilidade, evitando micro movimentos de rotação nas interfaces, possibilitando a migração de células e novos vasos sanguíneos (JONHSON, 1991).

Existem várias opções para a fixação do implante ósseo, fixação esquelética externa associada a um pino intramedular foi utilizada, com sucesso, por Bloomberg et al. (1984) em dois cães. Apesar do êxito, os autores recomendaram a utilização deste método apenas quando não estiver disponível placa de compressão dinâmica (DCP).

Hastes intramedulares, bloqueadas ou não, também podem ser utilizadas e, segundo Vander Griend (1994), não apresentaram diferença significativa, quanto ao tempo de consolidação, em relação a placas DCP.

Fio de aço na forma de cerclagem associado com pinos intramedulares foi a forma que Amendola et al. (2003) utilizaram para fixação de implante ósseo homólogo conservado em mel, e não foram observadas complicações relativas a forma de estabilização do implante. Porém, neste estudo, o implante não correspondia a toda circunferência da diáfise femoral, o que diminui a necessidade de resistência da fixação. Outra forma de fixação é a utilização de pinos de Steinmann intramedulares (PINTO JÚNIOR, 1995).

Alievi (2006) utilizou placa de compressão dinâmica (DCP) para fixação de implante ósseo alógeno em cães e, dos 14 animais operados, apenas um apresentou quebra da placa, posteriormente à quebra do implante ósseo. O autor cita, ainda, que este método é uma forma consagrada de estabilização por promover estabilidade e compressão na interface implante/receptor. Fatores estes considerados fundamentais para incorporação do implante (HENRY JR.; WADSWORTH, 1981a).

Costa (1996) avaliou a utilização de placa e parafusos de aço inoxidável da série 304L na estabilização de implantes ósseos corticais alógenos conservados em glicerina em 12 cães, considerando estes eficientes na fixação dos implantes pois possibilitaram precoce consolidação e evitaram fraturas por compressão.

Como técnica de salvamento do membro torácico de cães, Ziliotto et al. (2003) realizaram a substituição de segmento da diáfise femoral de seis cães e, para tanto, utilizaram placas de compressão dinâmica para fixação do implante. Observaram que esta técnica foi eficiente na estabilização do implante ósseo, porém, a função de posicionamento e modelagem da placa foram os procedimentos mais demorados, aumentando significativamente o tempo cirúrgico.

O contato entre o implante ósseo e o osso receptor, juntamente com a estabilidade, são os dois principais fatores que irão influenciar no sucesso da técnica de implantação óssea (SINIBALDI, 1989, STEVENSON et al., 1991). É importante que os bordos do implante e do osso receptor estejam regulares para que o contato nas interfaces envolva toda a circunferência do osso. Em gatos domésticos é mais fácil obter um contato ósseo de 360°, quando comparado com cães, por apresentarem menor curvatura nos ossos longos, e quanto maior o contato maior a chance de consolidação (HENRY JR.; WADSWORTH, 1981a).

Um grande número de autores consideram a fixação com placa e parafusos a melhor forma de estabilização de implantes ósseos corticais (HENRY JR.; WADSWORTH 1981a, FRIEDLANDER, 1982, ALEXANDER, 1983, SCHENA; McCURNIN, 1983, BLOOMBERG et. al. 1984, SCHENA et al., 1984, SCHENA et al., 1985, FRIEDLANDER, 1987, JOHNSON 1988, JOHNSON; STEIN, 1988, DUELAND et al., 1989, SININBALDI, 1989, KERWIN, 1991).

### **3.12 Incorporação e rejeição**

Gonçalves et al. (2003) consideraram incorporação e consolidação de um implante ósseo processos distintos e que muitas vezes são confundidos. Consolidação é a fusão entre o enxerto/implante ósseo e o receptor e incorporação seria o termo que descreve as interações biológicas entre o enxerto/implante ósseo e o osso receptor que resultam em uma progressiva substituição do primeiro pelo segundo (BAUER; MUSCHLER, 2000). A incorporação de um implante ósseo cortical inicia com uma lenta reabsorção óssea por osteoclastos, o que provoca uma diminuição da resistência do implante, seguida da atividade osteoblástica depositando novo osso proveniente do receptor; em seguida há um processo de remodelamento do novo osso (MAXERAS et al., 2002). O termo incorporação refere-se ao processo de envelopamento de tecido ósseo necrótico, por novo osso do receptor, no qual foi realizada a implantação óssea, sendo esta uma manifestação fisiológica de remodelamento do tecido esquelético (BURCHARDT, 1983). Pode ser influenciada por fatores como quimioterapia sistêmica, radioterapia e idade do receptor (JULIÁN; VALENTÍ, 2006).

Clinicamente, um enxerto ou implante ósseo pode ser considerado incorporado com sucesso quando há consolidação das interfaces receptor/implante, sendo que esta união deve ser capaz de sustentar as forças fisiológicas de apoio do peso sem fratura ou dor (STEVENSON; HOROWITZ, 1992). Julián e Valentí (2006) afirmaram que o processo de incorporação pode chegar a dois ou três anos quando é utilizado implante ósseo cortical e em alguns casos podem permanecer uma incorporação incompleta com a mistura de osso necrótico e osso vivo.

Quando se utiliza implante cortical alógeno, a atividade celular começa com os osteoclastos e posteriormente inicia a atividade osteoblástica, necessitando, nestes casos, que haja primeiro uma reabsorção no interior dos canais de Havers, para que depois seja introduzida a vascularização (WEIGEL, 1993). Isto explica os resultados

encontrados por Amendola et al. (2003) que verificaram, radiograficamente, decréscimo na densidade óssea mineral em implantes alógenos de cães.

A consolidação óssea, em regiões submetidas à implantação de enxertos ósseos, é classificada como secundária ou indireta, ocorrendo a substituição do tecido ósseo implantado por tecido ósseo do receptor. Em um estudo onde foi avaliada a utilização de implante ósseo cortical alógeno, a incorporação iniciou com reabsorção das linhas da interface óssea, com ação dos osteoclastos e neovascularização, seguiu com reabsorção dos implantes ósseos e formação de pontes ósseas e terminou com a remodelação dos ossos consolidados (ZILIOTTO et al., 2003).

Para que se obtenha sucesso na incorporação do implante é fundamental que haja imobilidade, vascularização (HULSE; HYMAN, 1993) e compressão, sendo que a força compressiva estimula a formação óssea (WEIGEL, 1993). Quando realizada a implantação de um enxerto ósseo não vascularizado, a incorporação não depende somente das propriedades biológicas do enxerto e do leito receptor, a estabilidade da fixação e a resistência mecânica do enxerto também influem de forma determinante para a consolidação (BAUER; MUSCHELER, 2000).

O tamanho do implante é histologicamente importante no processo de consolidação, ou seja, implantes menores podem ser reabsorvidos por gradual substituição, enquanto que implantes maiores precisam de um longo tempo até serem completamente reabsorvidos ou pode nunca ocorrer completa reabsorção (SINIBALDI, 1989), porém, este não é o fator mais importante no processo de incorporação. Segundo este autor, o sucesso na implantação de osso cortical alógeno depende fundamentalmente de fixação rígida do implante ósseo no sítio receptor e ao máximo contato nas interfaces implante ósseo/osso receptor.

A rejeição ao implante ósseo caracteriza-se por reabsorção periférica sem a substituição por tecido reparador, pelo aumento das fraturas com concomitante redução do diâmetro do implante, pela redução da reparação óssea, presença de resposta infamatória, tecido fibroso encapsulando o implante ósseo, necrose progressiva, dor, edema e rubor (SINIBALDI et al., 1976, ROSSO et al., 1997).

Segundo Stevenson e Horowitz (1992) historicamente considera-se rejeição quando há reabsorção do enxerto ósseo ou falha mecânica prematura, embora considerem mais difícil identificar e qualificar rejeição em transplantes de tecidos músculos-esqueléticos do que em transplantes de órgãos parenquimatosos como o rim, sendo o mecanismo de rejeição de implantes ósseos alógenos pouco esclarecido. A

imunidade celular é fator determinante para a destruição de aloenxertos, com a medula sendo o componente mais imunogênico (BURCHARDT, 1983).

As reações antigênicas provavelmente não sejam mediadas por linfócitos T ou B, mas por células da linhagem dos granulócitos existentes na medula óssea, sendo que a remoção destas células pode diminuir a resposta imunológica ao enxerto (Czitrom et al., 1985).

### **3.13 Métodos de avaliação dos resultados**

Tudury e Raiser (1985), em um trabalho que empregou pinos de Steinmann em fraturas distais de fêmur, desenvolveram uma tabela para avaliação da recuperação do uso funcional do membro destes animais, a partir da tabela de Braden e Brinker (1973), contendo cinco diferentes graus, grau I: não usa nem apóia o membro; grau II: uso e apoio infreqüentes do membro na estação e no caminhar. Não suporta peso na extremidade afetada, elevando-a ao correr; grau III: claudicante uso do membro na estação e ao caminhar. Parcial suporte do peso na extremidade, elevando-a ao correr; grau IV: caminha sem claudicar. Normal na estação. Claudica ao correr sem elevar o membro; grau V: uso funcional do membro.

Mankin et al. (1983) desenvolveram uma tabela de escores para pacientes humanos com neoplasias ósseas que foram submetidos à implantação de aloenxertos ósseos, na qual estes eram classificados como excelente, bom, favorável ou com falha da implantação. Aqueles pacientes classificados como excelente apresentavam uso normal do membro com poucas limitações. Foram considerados bons os que não tinham capacidade de desenvolver as mesmas atividades físicas que tinham antes do procedimento, mas ao mesmo tempo não havia recidiva da neoplasia. Nos casos em que a doença não recidivava, mas havia uma significativa perda na capacidade de sustentação do membro, esses indivíduos obtinham resultado favorável. A falha no procedimento de implantação do enxerto cortical alógeno era considerada quando havia algum tipo de complicação que levava à amputação do membro como, por exemplo, recidiva do tumor, metástases em outros órgãos, infecção, ressecção do enxerto ou fratura.

Este sistema de avaliação foi adaptado para a Medicina Veterinária por Dueland et al. (1989), mantendo os mesmos graus de avaliação. Excelente era considerado retorno funcional do membro com nenhuma ou com mínimas alterações. Era

considerado bom, aquele animal que retornava à movimentação sem dor, porém com redução da função do membro. Os animais com déficit significativo na movimentação, presença de dor ou doença eram classificados com o escore ruim. A falha na utilização do implante ósseo era considerada quando havia a necessidade de amputação do membro ou ressecção do enxerto.

Stevenson et al. (1997) desenvolveram uma tabela com escore gradual para avaliar união entre implante ósseo cortical e osso receptor, sendo esta avaliação baseada na aparência histológica da implantação. O perióstio, o endóstio e as interfaces implante ósseo/osso receptor foram avaliadas individualmente podendo obter pontuação entre 0 e 4. Como cada interface foi estudada individualmente, a pontuação máxima em cada animal é de 24 pontos, sendo possível fazer uma análise estatística dos resultados como fez Gomes (2008) ao avaliar enxertos corticoesponjosos mandibulares autógenos em coelhos associados ou não à suspensão de células da medula óssea.

Ehrhart et al. (2005) avaliaram os exames radiográficos pós-operatórios de animais submetidos à implantação óssea cortical alógena através de uma tabela com pontuações independentes para: incorporação/união na interface proximal; incorporação/união na interface distal; qualidade do osso implantado; qualidade do osso receptor; implante metálico e impressão geral da consolidação, atribuindo 0, 1 ou 2 pontos para cada item dependendo do que era observado no exame radiográfico.

Stevenson et al. (1991) utilizaram uma escala de pontuação para avaliar os exames radiográficos de implantes ósseos osteocondrais frescos ou congelados em cães. Esta escala avaliava qualidade da união, aparência do implante em duas posições radiográficas, osso trabecular subcondral e cistos subcondrais, com pontuações que variavam de 0 a 2, podendo-se obter escore máximo de 12 pontos.

Alievi et al. (2007) em um experimento com enxerto cortical alógeno conservado em mel avaliaram os exames radiográficos pós-operatórios dos cães, utilizando a classificação de intenso, moderado, discreto ou ausente nos itens remodelamento, reação periosteal e reabsorção.

Costa (1996) reconstruiu falha óssea em fêmur de cães com implante ósseo cortical alógeno conservado em glicerina e utilizou na avaliação histológica as colorações de hematoxilina e eosina (HE), para avaliação morfológica e tricrômio de Masson (TM) na identificação das fibras colágenas.

### 3.14 Complicações

São muitos os fatores que podem influenciar negativamente a consolidação de fraturas tratadas com enxertia ou implantação óssea, Henry Jr. e Wadsworth (1981b) dividiram estes fatores em três grupos de acordo com sua relevância em relação às complicações na consolidação de enxertos. Os com pouca significância são: idade, sexo, raça, peso e osso tratado. Com significância relativa seriam: envolvimento da artéria nutricia, lesões coexistentes e a espécie com a qual esta se trabalhando. Aqueles fatores marcadamente significativos foram: comprimento do aloenxerto, grau de cominuição, grau de estabilização, grau de contato do local de osteotomia, reconstrução parcial ao longo da fratura com o aloenxerto, tempo entre a ocorrência da fratura e a implantação do aloenxerto, procedimentos cirúrgicos prévios e complicações pós-operatórias.

Tomford et al. (1981) em um trabalho com implante ósseo alógeno liofilizado, encontraram 6,9% como taxa de infecção em 303 pacientes humanos. Dos 21 pacientes que apresentaram esta complicação, em 12 a infecção foi considerada leve e em nove foi considerada grave. Nos pacientes com infecção leve, esta complicação não influenciou a incorporação do implante na maioria dos casos, porém naqueles pacientes com infecção grave o implante ósseo teve que ser removido em quatro casos.

A presença de fraturas em aloenxertos de pacientes humanos foi avaliada por Thompson Jr. et al. (2000), que observaram 42% de taxa de fratura do enxerto ósseo em um total de 74 pacientes, sendo observada uma alta correlação entre a presença da fratura e a penetração cortical no enxerto. Berrey Jr. et al. (1990) classificaram as fraturas de implantes ósseos alógenos em três tipos, I: caracterizada por uma rápida e completa reabsorção do implante, sem infecção, II: ocorrem ao longo do implante e III: quando a fratura envolve a superfície articular.

Ortiz-Cruz et al. (1997) avaliaram as complicações pós-operatórias em 100 pacientes humanos submetidos à implantação óssea cortical alógena como tratamento de tumores ósseos. Dos 104 aloenxertos ósseos, 16 tinham menos de 10 cm, 59 estavam entre 10 e 18 cm e 29 mediam mais que 18 cm. Em 84 pacientes (84%) houve sucesso no procedimento, sendo este classificado como excelente ou bom. A complicação mais freqüente foi não-união, que ocorreu em 31 interfaces implante ósseo/osso receptor, fratura do implante foi observada em 18 pacientes e infecção foi observada em 12 casos. Os casos de não-união foram correlacionados com fratura em cinco pacientes, com infecção em três pacientes e em um caso com fratura e infecção.

Alievi et al. (2007) avaliaram a implantação de segmentos ósseos conservados em mel na diáfise femoral de 14 cães e encontraram como principais complicações reabsorção intensa do implante ósseo em 25% dos animais e fratura do implante em 16,67%.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Elaboração do banco de ossos

Foram utilizados gatos domésticos, fêmeas, sem raça definida, em idade adulta, peso variando entre três e quatro quilos (kg) provenientes do Centro de Controle de Zoonoses do município de Porto Alegre (RS), livres de doenças infecto-contagiosas, neoplásicas, alterações músculo-esqueléticas ou outras enfermidades que pudessem afetar as propriedades físico-químicas dos ossos. Dois felinos foram utilizados como doadores (quatro implantes), a partir de então, os próprios segmentos ósseos removidos para a confecção da falha óssea cortical nos animais experimentais, foram preparados e utilizados nos demais animais.

A coleta dos quatro primeiros implantes ósseos foi efetuada em sala cirúrgica sob todos os princípios de assepsia cirúrgica, imediatamente após a eutanásia dos animais. Após tricotomia dos membros pélvicos, o animal foi levado à sala cirúrgica, onde foi realizada anti-sepsia da face lateral da coxa utilizando o método álcool-iodo povidine-álcool (FOSSUM, 2007) e a colocação dos panos de campo estéreis. A região diafisária do fêmur foi exposta conforme descrição de Piermattei e Johnson (2004) e, com o auxílio de uma serra oscilatória, foi efetuada a remoção de um segmento da diáfise. Após o perióstio, os restos musculares, o endóstio e a medula óssea serem removidos utilizando-se lâmina de bisturi e pino com rosca, os segmentos foram lavados com solução salina estéril morna e acondicionados em frasco plástico individual, opaco e previamente esterilizado em autoclave.

Os implantes seguintes foram obtidos dos animais submetidos à implantação óssea cortical alógena deste experimento, utilizando-se o mesmo método de obtenção, preparação e acondicionamento dos implantes.

Para conservação no mel, os segmentos ósseos foram acondicionados individualmente em frascos plásticos opacos de 100 ml, estéreis, e mantidos submersos no mel estéril por um período entre 30 e 35 dias, em local escuro a temperatura ambiente. O mel<sup>1</sup> escolhido foi proveniente com predominância de flores de angico (*Anadenanthera* sp.) de marca comercial reconhecida e inspecionada pelo Ministério da

---

<sup>1</sup> Agromel, Entrepasto de mel e cera de abelhas – Alcenira Baumgarten, Viamão, RS.

Agricultura. Os implantes conservados sob refrigeração foram acondicionados individualmente em frascos plásticos opacos estéreis e encaminhados para freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  no Laboratório de Virologia (FAVET-UFRGS) permanecendo congelados por um período de 30 a 35 dias. Os implantes encaminhados para liofilização foram acondicionados em frascos e entregues ao Banco de Tecidos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e após um período de aproximadamente 45 dias para remoção da gordura e liofilização, foram esterilizados em autoclave a  $132^{\circ}\text{C}$  durante quatro minutos e acondicionados em pacotes de papel grau cirúrgico<sup>2</sup>.

## 4.2 Animais experimentais

Foram utilizados 24 gatos domésticos adultos clinicamente sadios, fêmeas, castradas, sem raça definida, pesando entre 2,6 e 3,8 kg e média de 3,1 kg (Quadro 1), com idade estimada entre dois e quatro anos, provindos do Centro de Controle de Zoonoses de Porto Alegre (RS). Os animais foram alojados em gaiolas individuais com  $0,5\text{ m}^2$ . O período de adaptação foi de, pelo menos, 14 dias antes do procedimento cirúrgico. Durante a adaptação os animais foram everminados<sup>3</sup> e imunizados com vacina polivalente<sup>4</sup> para gatos domésticos. As gatas permaneceram nas gaiolas até o término das avaliações recebendo água *ad libitum*, ração comercial superpremium<sup>5</sup> na quantidade recomendada para a espécie e tamanho (60 g/dia) e caixa sanitária. Ainda na adaptação, era coletado sangue e traçado perfil bioquímico e hematológico, sendo os exames feitos no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVET-UFRGS). O período de avaliação foi de 180 dias após o procedimento cirúrgico para todos os animais, que permaneciam em gaiolas individuais, sendo soltos dentro do gatil de  $10\text{ m}^2$  somente na hora da limpeza e alimentação.

## 4.3 Grupos

Os 24 gatos foram separados aleatoriamente em quatro grupos de seis animais: grupo controle (GC), grupo mel (GM), grupo congelado (GCO) e grupo liofilizado (GL).

---

<sup>2</sup> Papel grau cirúrgico, Amcor Flexibles Brasil, São Paulo, SP.

<sup>3</sup> Petzi, Vetbrands S.A., Jacareí, SP.

<sup>4</sup> Fel-O-Vax PCT, Fort Dodge, Iowa, EUA.

<sup>5</sup> FIT 32, Royal Canin do Brasil LTDA, Descalvado, SP.

Quadro 1 – Distribuição dos animais de acordo com o número, grupo e peso corporal (kg) imediatamente antes da cirurgia e grupo ao qual pertenciam.

<b>Gr.</b>	<b>Fel.</b>	<b>Peso</b>									
GC	1	3,6 kg	GM	11	3,3 kg	GCO	6	3,5 kg	GL	21	2,9 kg
GC	2	3,8 kg	GM	13	3,2 kg	GCO	7	3,0 kg	GL	22	2,8 kg
GC	3	3,0 kg	GM	15	3,3 kg	GCO	9	2,6 kg	GL	23	2,8 kg
GC	4	3,8 kg	GM	16	3,0 kg	GCO	10	2,8 kg	GL	24	2,8 kg
GC	5	3,1 kg	GM	17	2,8 kg	GCO	14	3,5 kg	GL	25	2,6 kg
GC	8	3,0 kg	GM	19	3,5 kg	GCO	20	2,6 kg	GL	26	3,8 kg

\* Gr: grupo, Fel: felino, GC: Grupo controle, GCO: Grupo congelado, GM: Grupo mel e GL: Grupo liofilizado.

#### 4.3.1 Grupo controle

Neste grupo os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de osteotomia de um segmento de três centímetros da diáfise femoral (Figura 1) direita e reimplantação do mesmo segmento após preparação através da remoção do periósteo, endósteo e medula óssea, sendo utilizado para estabilização, placa de compressão dinâmica (DCP) 2,7 mm com 10 furos e oito parafusos corticais. Estes animais serviram como controle no experimento (Figura 2).

#### 4.3.2 Grupo mel

Neste grupo os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de osteotomia de um segmento de três centímetros da diáfise femoral direita (Figura 1) e substituição por implante ósseo cortical alógeno, conservado em mel estéril por um período de 30 a 35 dias, sendo utilizado para estabilização placa de compressão dinâmica (DCP) 2,7 mm com 10 furos e oito parafusos corticais (Figura 2).

#### 4.3.3 Grupo congelado

Neste grupo os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de ostectomia de um segmento de três centímetros da diáfise femoral direita (Figura 1) e substituição por implante ósseo cortical alógeno, congelado à  $-70^{\circ}\text{C}$  por um período de 30 a 35 dias, sendo utilizado para estabilização placa de compressão dinâmica (DCP) 2,7 mm com 10 furos e oito parafusos corticais (Figura 2).

#### 4.3.4 Grupo liofilizado

Neste grupo os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de ostectomia de um segmento de três centímetros da diáfise femoral direita (Figura 1) e substituição por implante ósseo cortical alógeno liofilizado, sendo utilizado para estabilização placa de compressão dinâmica (DCP) 2,7 mm com 10 furos e oito parafusos corticais (Figura 2).

### 4.4 Procedimento pré-operatório

No dia anterior a cirurgia os animais foram submetidos a exame radiográfico de controle do membro pélvico direito (MPD) nas projeções crânio-caudal e médio-lateral. Sendo para isso realizada tranquilização, com a associação de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepam<sup>6</sup> na dose de  $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  via intramuscular (IM). Foi realizada tricotomia do mesmo membro nas regiões lateral e medial da coxa, ampliada dorsalmente até a região sacro-ílica esquerda e ventralmente até abaixo do joelho, também foi feita tricotomia da região cranial dos antebraços.

### 4.5 Procedimento anestésico

Os animais permaneceram em jejum hídrico de quatro horas e alimentar de 12 horas antes do início da anestesia. Receberam como medicação pré-anestésica (MPA), maleato de acepromazina<sup>7</sup> na dose de  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ , e meperidina<sup>8</sup> na dose de  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,

---

<sup>6</sup> Zoletil 50, Virbac, Jurubatuba, SP.

<sup>7</sup> Acepran, Univet, São Paulo, SP.

<sup>8</sup> Dolosal, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP.

ambos pela via intramuscular (IM). Após 15 minutos da MPA, a indução anestésica foi efetuada utilizando propofol<sup>9</sup> na dose de  $5\text{mg.kg}^{-1}$ , pela via intravenosa (IV), seguida de intubação orotraqueal. A manutenção anestésica foi feita com isofluorano<sup>10</sup> em oxigênio a 100%, utilizando aparelho de anestesia inalatória em sistema respiratório avalvular sem absorvedor e com respiração assistida. Associado à anestesia inalatória, foi realizado bloqueio epidural com cloridrato de lidocaína<sup>11</sup>  $2\text{mg.kg}^{-1}$  e morfina<sup>12</sup>  $0,1\text{mg.kg}^{-1}$  completando o volume até  $0,26\text{ml.kg}^{-1}$ . Todos os animais receberam, 30 minutos antes do procedimento cirúrgico,  $22\text{mg.kg}^{-1}$  de ampicilina sódica<sup>13</sup> (IV) sendo repetida a aplicação após duas horas. Durante o procedimento cirúrgico foi administrado solução de ringer lactato de sódio<sup>14</sup> em gotejamento venoso de  $15\text{ml.kg}^{-1}$  por hora e, quando necessário, citrato de fentanila<sup>15</sup> ( $2\mu\text{g.kg}^{-1}$  IV) nos casos de superficialização da anestesia ou evidência de dor, identificada pelo aumento da frequência cardíaca e/ou respiratória.

#### 4.6 Procedimento cirúrgico

O modelo experimental deste projeto foi baseado no projeto de Alievi (2006) com cães. Todas as cirurgias do projeto foram realizadas no setor de cirurgia do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS.

Após indução anestésica, o animal era posicionado na mesa em decúbito lateral com o membro pélvico direito voltado para cima. A anti-sepsia foi feita utilizando o método álcool-iodo povidine-álcool. A região distal do membro foi envolvida com bandagem elástica<sup>16</sup> previamente esterilizada. Com a delimitação da área operatória utilizando campos cirúrgicos esterilizados (Figura 3A), o acesso à diáfise do fêmur foi feito com incisão de pele e fáscia lata, e rebatimento dos músculos bíceps femoral, vasto lateral, adutor e vasto intermédio como descrito por Piermattei e Johnson (2004) (Figura 3B). A musculatura foi mantida tracionada com dois afastadores auto-estáticos e os músculos adjacentes à diáfise submetida à osteotomia, foram protegidos com

---

<sup>9</sup> Provini, Claris, São Paulo, SP.

<sup>10</sup> Isoforine, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP.

<sup>11</sup> Cloridrato de lidocaína, Hipolabor, Sabará, Mg.

<sup>12</sup> Dimorf, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP.

<sup>13</sup> Ampí, Prodotti, Santo Amaro, SP.

<sup>14</sup> Ringer com lactato de sódio, Texon, Viamão, RS.

<sup>15</sup> Fentanest, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP.

<sup>16</sup> Vetráp, 3M, Saint Paul, USA

afastadores de Hohmann. As osteotomias proximal e distal foram realizadas com serra oscilatória (Figura 4A e B), sendo dessa forma retirado um fragmento ósseo com três centímetros de comprimento (Figura 5A e B). Durante a secção óssea, a área era constantemente irrigada com solução fisiológica estéril<sup>17</sup> em temperatura ambiente e este fragmento ósseo foi recolocado no defeito criado (grupo controle) ou mantido estéril para servir como implante em outro animal após conservação em mel, congelamento a  $-70^{\circ}\text{C}$  ou liofilização.

Os dois primeiros animais do grupo mel e os dois primeiros do grupo congelado, a serem submetidos ao procedimento cirúrgico, utilizaram implantes ósseos coletados dos animais submetidos à eutanásia para a elaboração do banco de ossos. Estes implantes foram coletados em tamanho maior que o utilizado neste experimento (três centímetros), sendo necessário remover um segmento do implante antes de fixá-lo ao sítio receptor. Este procedimento foi realizado com serra oscilatória, acrescentando alguns minutos ao procedimento cirúrgico.

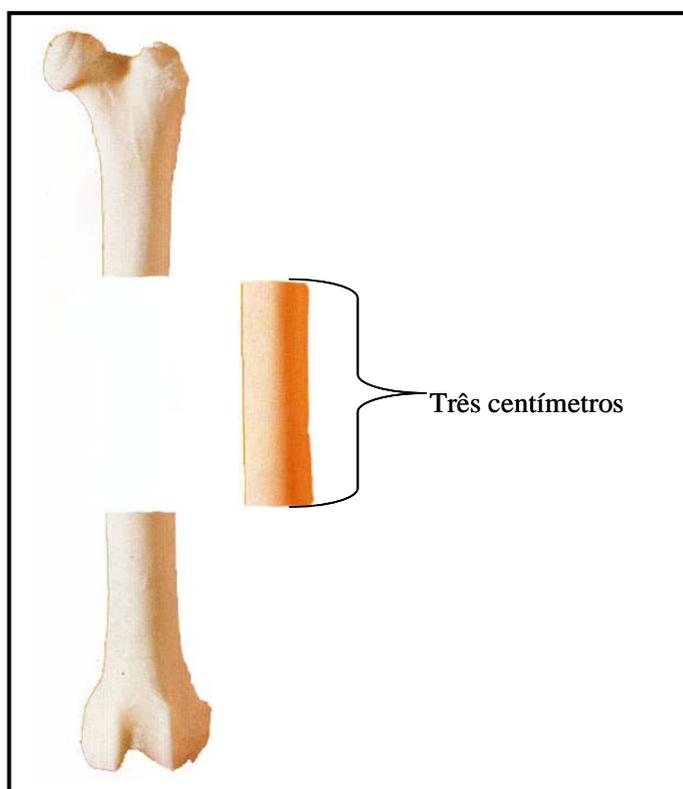


Figura 1 - Representação esquemática dos locais de osteotomia, produzindo defeito ósseo de três centímetros e um implante para conservação com três centímetros.

<sup>17</sup> Cloreto de sódio 0,9%, Texon, Viamão, RS

O implante, que foi reidratado em solução de cloreto de sódio 0,9% por no mínimo 45 minutos, era fixado ao leito receptor utilizando uma placa de compressão dinâmica 2,7 mm com 10 furos, 84 mm de comprimento, sete mm de largura e dois mm de espessura e parafusos<sup>18</sup>. Os parafusos utilizados foram do tipo cortical com 2,7 mm de diâmetro. O implante foi inicialmente estabilizado à placa (Figura 6A), previamente curvada para adaptar-se perfeitamente ao leito receptor, com uma pinça de Verbrugger. O implante junto à placa foi então estabilizado aos fragmentos proximal e distal do leito receptor (Figura 6B), permitindo desta maneira a realização das perfurações em ambas as corticais, utilizando furadeira elétrica à bateria e broca de dois milímetros de diâmetro, sendo a broca resfriada por solução fisiológica estéril durante a perfuração. A seguir era avaliada largura do osso e confeccionada a rosca com macho para passagem do parafuso de tamanho adequado.

Para fixação do implante ósseo ao leito receptor foram utilizados seis parafusos, três proximais e três distais ao implante, e dois parafusos fixaram o implante à placa. Iniciou-se sempre pela colocação dos dois parafusos para fixação do implante ósseo à placa (Figura 7A), seguido da colocação dos parafusos no osso receptor, alternando entre o fragmento proximal e o distal (Figura 7B) sendo que os dois parafusos (um distal e outro proximal) imediatamente adjacentes ao implante foram inseridos primeiramente e com efeito compressivo, utilizando para tal o guia de broca compressivo.

---

<sup>18</sup> Placa de aço inoxidável DCP 2.7 mm, Innovative Veterinary Products Brasil, São Paulo, SP.

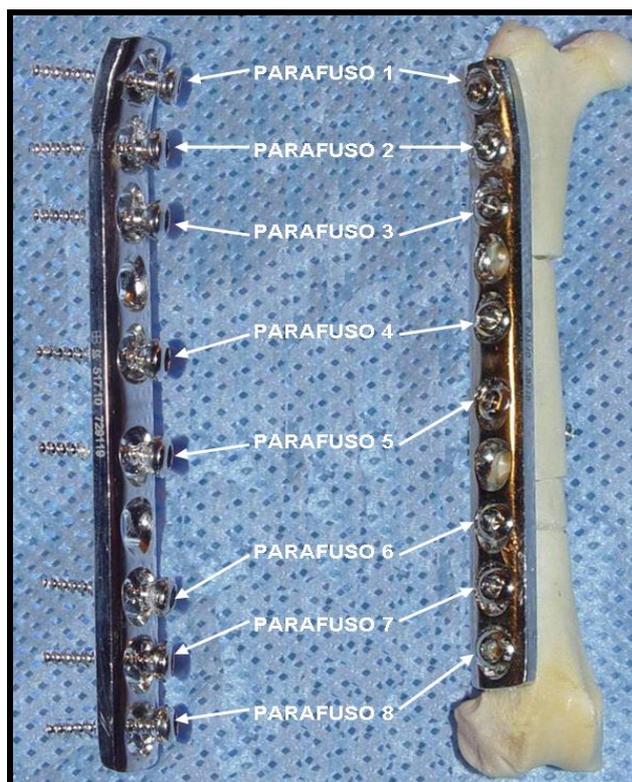


Figura 2 – Placa DCP 2,7 mm com 10 furos e os oito parafusos corticais utilizados para fixação de implante cortical em diáfise femoral de gato doméstico.

Efetuada a fixação da placa, a área foi copiosamente lavada com solução fisiológica estéril morna. Após, a fáscia lata foi aproximada utilizando-se fio sintético absorvível poliglactina 910<sup>19</sup> 3-0 e sutura de Sultan (Figura 8A), o tecido subcutâneo foi reaproximado com este mesmo fio e padrão contínuo simples e a pele foi suturada com mononáilon<sup>20</sup> 3-0 em padrão isolado simples (Figura 8B).

<sup>19</sup> Vicryl, Ethicon Indústria & Comércio, São José dos Campos, SP.

<sup>20</sup> Nylon, Shalon, São Luís de Montes Belos, GO.

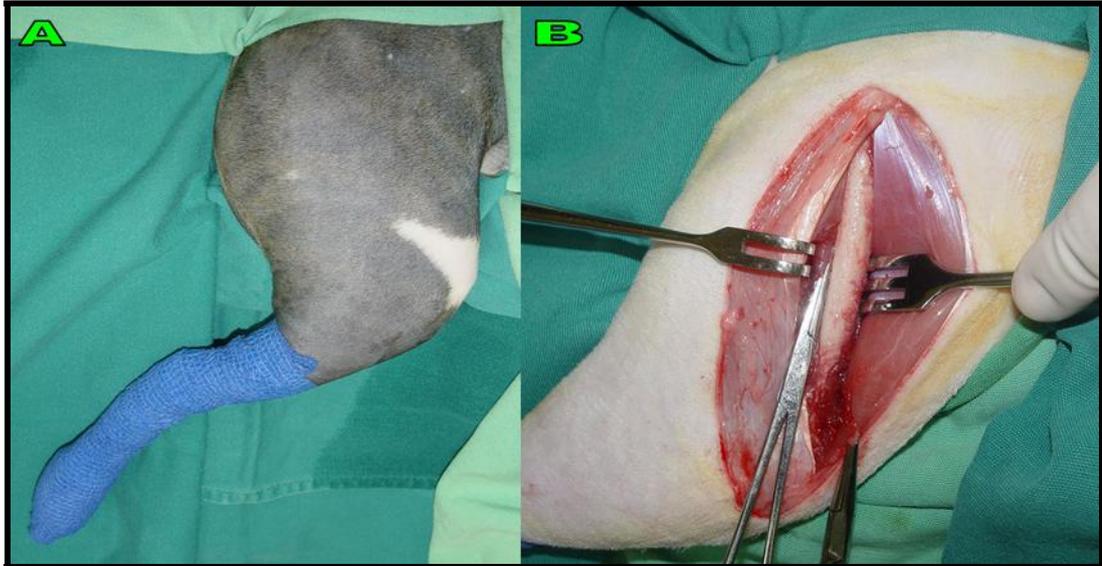


Figura 3: A) Membro pélvico direito de gato doméstico após colocação dos campos cirúrgicos; B) Diáfise femoral de gato doméstico exposta após acesso lateral.

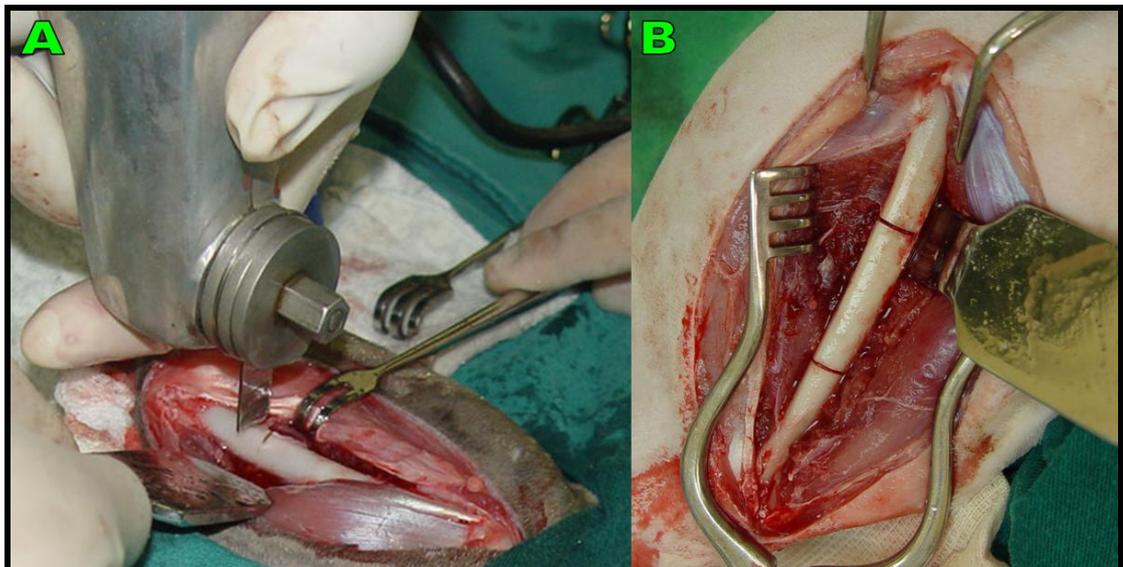


Figura 4: A) Osteotomia em diáfise de fêmur em gato doméstico utilizando serra oscilatória; B) Diáfise femoral de gato doméstico com as duas osteotomias quase finalizadas.

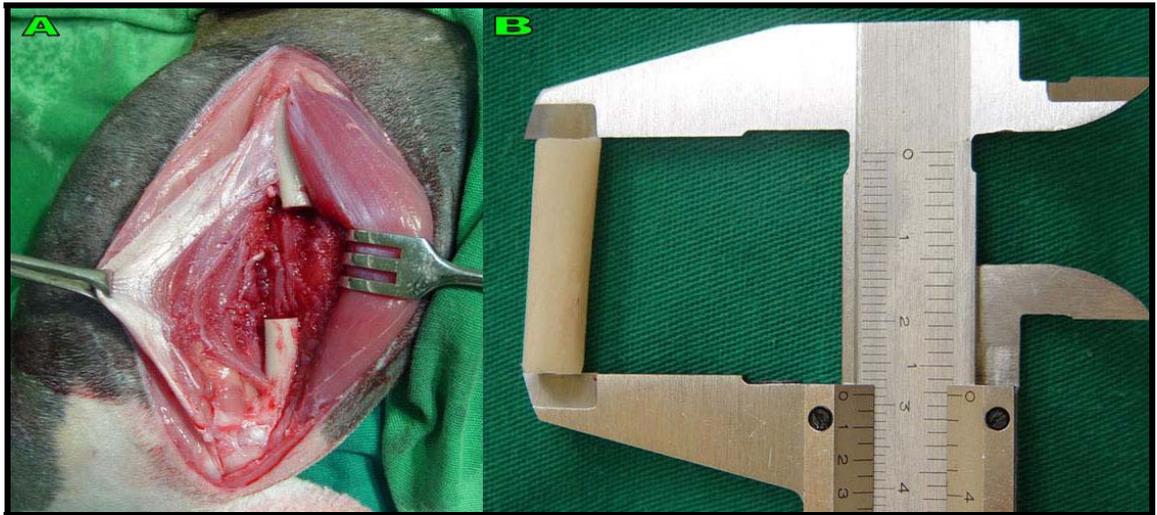


Figura 5: A) Diáfise femoral de gato doméstico após remoção de um segmento com aproximadamente três centímetros; B) Segmento ósseo removido da diáfise femoral de gato doméstico.



Figura 6: A) Implante ósseo cortical estabilizado à placa DCP com pinça de Verbrugger; B) Implante ósseo cortical estabilizado ao leito receptor em fêmur de gato doméstico.

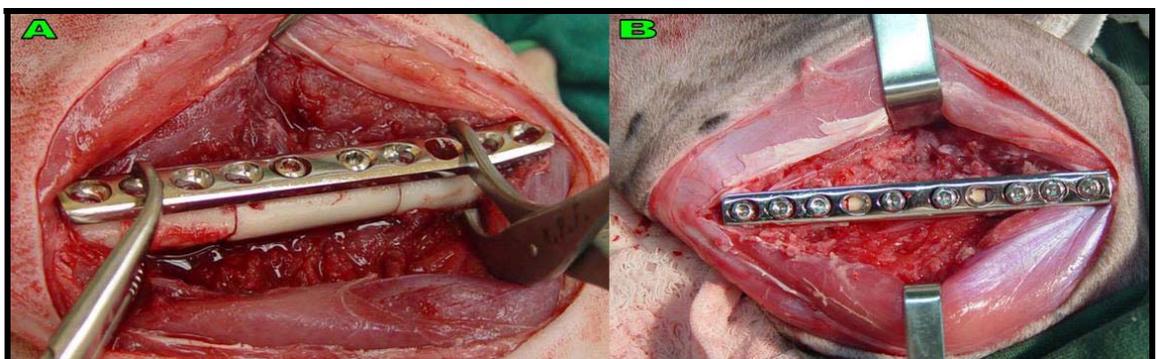


Figura 7: A) Implante ósseo fixado à placa por dois parafusos corticais e estabilizado no leito receptor; B) Implante ósseo cortical fixado ao leito receptor em fêmur felino por placa de compressão dinâmica (DCP) e oito parafusos corticais.

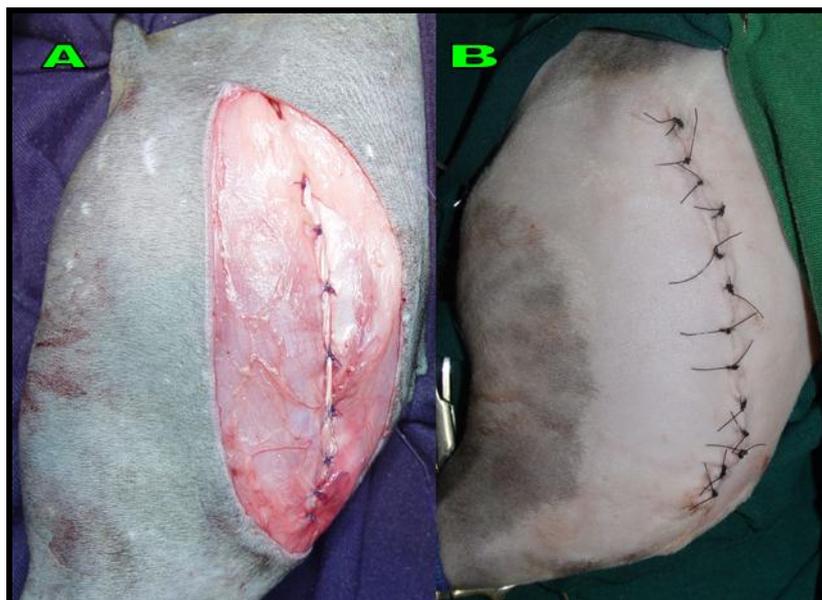


Figura 8: A) Fásia lata de gato doméstico aproximada com pontos de Sultan e fio sintético absorvível poliglactina 910 3-0; B) Sutura de pele no MPD de gato doméstico com pontos isolados simples e fio mononáilon 3-0.

#### 4.7 Controle microbiológico

Todos os implantes ósseos dos grupos mel, congelado e liofilizado foram submetidos à controle microbiológico na coleta, logo após a preparação do osso, e na implantação, imediatamente antes da reidratação, através de coletas com suabe<sup>21</sup> alginatado de haste plástica e estéril, nas faces interna e externa dos implantes. No grupo controle, a avaliação microbiológica foi realizada somente no momento de implantação do enxerto. A avaliação bacteriológica foi executada pelo Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS.

##### 4.7.1 Amostras de mel

Para verificar a presença de contaminantes, três amostras de mel foram analisadas sendo feitas diluições decimais até  $10^{-4}$  em salina (NaCl 0,85%) estéril. Uma alíquota de 100  $\mu$ L de cada diluição foi semeada em ágar para contagem, em duplicata,

<sup>21</sup> BAC-SWAB 1001, DME, Araçatuba, SP.

e incubadas a 37°C por 48 horas. A amostra de mel que não apresentou crescimento bacteriano nas placas foi então utilizada para conservação dos implantes ósseos.

#### 4.7.2 Análise dos implantes

Os suabes coletados foram colocados em meio de Stuart e transportados até o laboratório sem refrigeração em até três horas após a coleta. No laboratório, os suabes foram agitados em 9 ml de salina, até a dissolução do material aderido ao mesmo. A partir dessa solução foram feitas diluições decimais, em salina, até  $10^{-4}$ . Uma alíquota de 100µL de cada diluição foi semeada em ágar para contagem, em duplicata, e incubadas a 37°C, em aerobiose, por 48 horas. Após a incubação, era verificado o crescimento microbiano e feita contagem das unidades formadoras de colônia (UFC). Para quantificação de UFC na amostra, foi feito o seguinte cálculo: média de UFC da diluição X 90 X fator de diluição.

Após o crescimento de colônias, foram executados dois isolamentos subseqüentes em ágar triptose de soja. Com a verificação da pureza, a identificação bacteriana foi executada inicialmente pela análise morfológica colonial e celular (Gram) e após, foram feitos os testes bioquímicos e fisiológicos segundo Holt et al. (1993) e MacFaddin (2000).

### 4.8 Cuidados no pós-operatório

Como terapia analgésica e antiinflamatória pós-operatória, os animais receberam cetoprofeno<sup>22</sup> (2 mg.kg<sup>-1</sup> SC) no pós-operatório imediato e a cada 24 horas durante três dias e tramadol (2 mg.kg<sup>-1</sup> IM) a cada seis horas, 24 horas após a anestesia epidural, durante 48 horas. Na profilaxia antimicrobiana foi utilizado enrofloxacina<sup>23</sup> na dose de 2,5 mg.kg<sup>-1</sup> IM no pós-operatório imediato e a cada 24 horas durante 10 dias. Os curativos foram realizados diariamente, envolvendo limpeza dos pontos com solução fisiológica estéril e troca da fita de micropore até a retirada dos pontos de pele, que ocorreu após 10 dias da cirurgia permanecendo os animais, durante este período, com colar elizabetano.

---

<sup>22</sup> Ketojet, Agener União S.A., Embu-Guaçu, SP.

<sup>23</sup> Flotril, Schering-Plough Veterinária, Rio de Janeiro, RJ.

#### 4.9 Avaliação radiográfica

Todos os animais foram submetidos a exame radiográfico do membro pélvico direito previamente à cirurgia, para descartar qualquer alteração óssea. Após o procedimento cirúrgico foram feitas avaliações radiográficas no pós-operatório imediato e a cada 15 dias até o término do período de avaliação, 180 dias, resultando em 14 exames radiográficos por animal. Todos os exames radiográficos foram feitos no Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS e no mesmo aparelho de raio-x, com carga padrão de 48 quilovolts (kV) e 12 miliampéres (mA) na projeção crânio-caudal e 48 kV e 10 mA na projeção médio-lateral sempre sob tranquilização, com a associação de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepam na dose de  $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  (IM). Na projeção crânio-caudal o animal era posicionado em uma calha de acrílico.

Através dos exames radiográficos, foram avaliados o alinhamento do implante ósseo em relação aos segmentos proximal e distal do fêmur, a estabilidade do implante ósseo e da placa, a migração dos parafusos, os sinais de consolidação das interfaces osso/implante, a formação de calo ósseo e o aspecto do implante.

A união radiográfica foi considerada presente quando existia continuidade cortical completa na interface osso/implante e os calos, periosteal e endosteal apresentaram-se em remodelamento ativo.

Todos os exames radiográficos pós-operatórios foram avaliados através da tabela (Tabela 1) proposta por Ehrhart et al. (2005) e adaptada para este trabalho, onde um avaliador estabeleceu um escore de pontuação para estes exames. O avaliador foi um experiente ortopedista e desconhecedor do grupo a que pertencia cada animal.

Tabela 1 – Escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos.

<b>Crítérios para o escore</b>	<b>Pts.</b>
<b>INCORPORAÇÃO/UNIÃO DO ENXERTO/IMPLANTE</b>	
<b>Interface Proximal</b>	
Perda do detalhe da linha de osteotomia.	2
Linha de osteotomia ainda visível.	1
Linha de osteotomia larga.	0
<b>Interface Distal</b>	
Perda do detalhe da linha de osteotomia.	2
Linha de osteotomia ainda visível.	1
Linha de osteotomia larga.	0
<b>QUALIDADE ÓSSEA DO ENXERTO/IMPLANTE</b>	
Contorno do enxerto inalterado.	2
Presença de leve reabsorção da cortical, sem deformação e/ou fratura.	1
Marcante reabsorção da cortical, deformação e/ou fratura.	0
<b>QUALIDADE DO OSSO RECEPTOR</b>	
Marcante formação de novo osso, com calo formando ponte óssea.	2
Formação de novo osso receptor, mas com ponte óssea pobre.	1
Sem produção de novo osso.	0
<b>ASPECTO E FIXAÇÃO DA PLACA E PARAFUSOS</b>	
Implantes metálicos com aparência normal.	2
Lise ao redor dos parafusos.	1
Afrouxamento, migração ou quebra da placa e/ou parafusos	0
<b>IMPRESSÃO GLOBAL DA CONSOLIDAÇÃO</b>	
União radiográfica.	2
Evidência radiográfica de calo, mas com união retardada.	1
Mínima ou sem evidência radiográfica de união.	0

Este mesmo avaliador observou também reação periosteal, remodelamento e grau de reabsorção, de forma independente para as interfaces proximal e distal. Esta avaliação foi feita a partir dos 15 dias de pós-operatório até o 180º dia, utilizando para isto tanto o exame radiográfico crânio-caudal quanto o médio-lateral. Estas observações

foram classificadas em quatro níveis: ausente (0), discreta (1), moderada (2) ou intensa (3).

No exame radiográfico do pós-operatório imediato, projeção médio-lateral, foram estabelecidos os comprimentos do fêmur após implantação óssea cortical e do implante ósseo utilizado, sendo calculada a proporção entre eles, que foi expressada em porcentagem.

#### 4.10 Avaliação deambulatória

Os animais foram avaliados quanto à deambulação de acordo com a tabela 2 diariamente nos primeiros 10 dias e semanalmente até completarem 180 dias de pós-operatório sendo os dados registrados em uma ficha de avaliação.

Tabela 2 - Características clínicas dos cinco graus utilizados para apreciar o uso do membro de gatos submetidos à substituição de segmento ósseo diafisário do fêmur por implante ósseo cortical autógeno ou alógeno, baseadas na tabela de características clínicas de recuperação proposta por Tudury e Raiser (1985).

GRAU	CARACTERÍSTICA
I	Animal não se mantém em estação.
II	Animal se mantém em estação, porém não apóia o membro.
III	Apóia o membro em estação, porém não utiliza ao caminhar.
IV	Uso claudicante do membro ao caminhar.
V	Utiliza o membro sem qualquer restrição.

#### 4.11 Avaliação macroscópica

Ao término do período de avaliações, foi realizada eutanásia em dois animais de cada grupo, sendo esta feita com cloreto de potássio<sup>24</sup> IV após anestesia geral com tiopental sódico<sup>25</sup> também IV, conforme determina o Conselho Federal de Medicina Veterinária na resolução nº 714 de junho de 2002. Os animais foram escolhidos através de sorteio. Ao se remover o fêmur, foram observados, a existência de reação dos tecidos moles, a formação de calo ósseo, a presença de infecção, o aspecto e a estabilidade da

<sup>24</sup> Cloreto de potássio 10%, Isofarma Industrial Farmacêutica LTDA, Precabura Eusébio, CE.

<sup>25</sup> Tiopental Sódico, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP.

placa, dos parafusos e do implante ósseo. Após a placa e os parafusos serem removidos, o fêmur foi fixado em formol a 10% por um período mínimo de 72 horas. O fêmur foi seccionado transversalmente em três pontos: exatamente no meio do implante, 1,5 cm acima da interface proximal e 1,5 cm abaixo da interface distal, restando assim dois segmentos de três centímetros (Figura 9).

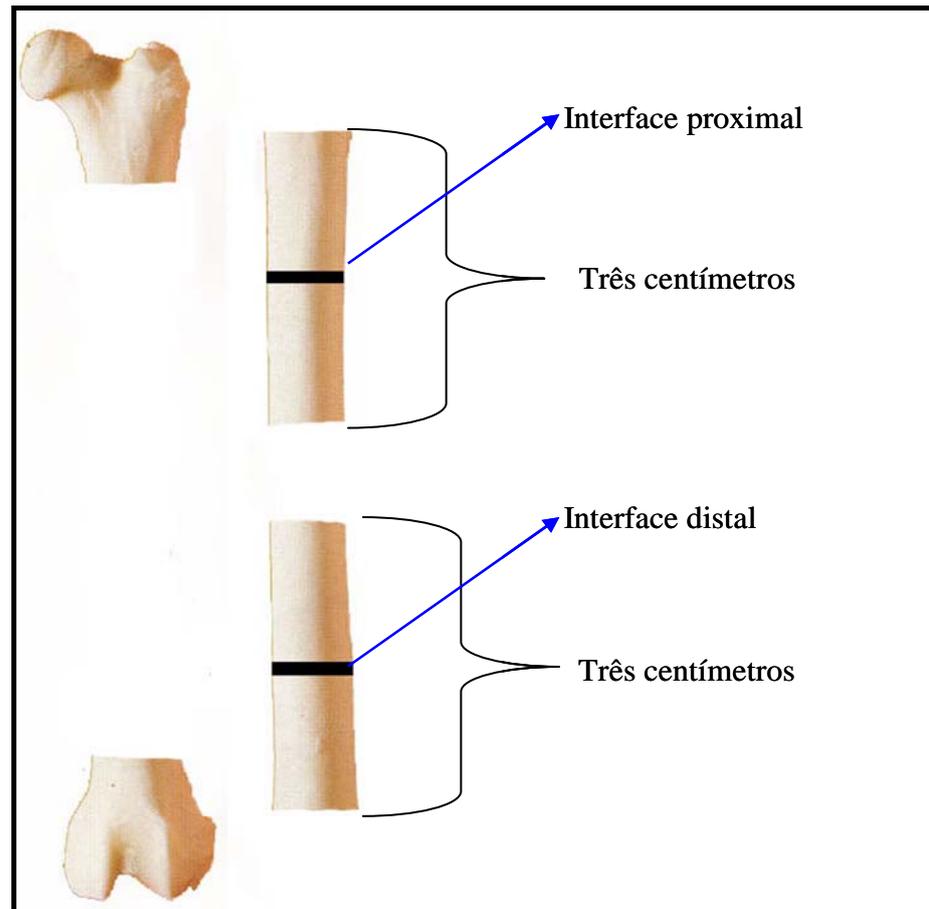


Figura 9 - Representação esquemática dos locais de secção óssea transversal para posterior análise histopatológica nas colorações de Hematoxilina e Eosina e Tricômio de Masson.

Estes segmentos foram seccionados longitudinalmente, sendo um dos lados submetido à avaliação histológica e o outro permanecendo conservado em formol 10%, como testemunho (Figura 10).

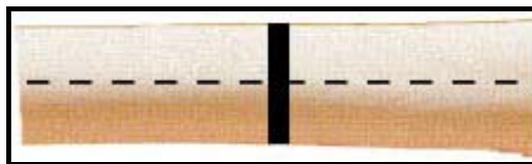


Figura 10 - Representação esquemática do local de secção óssea longitudinal para posterior análise histopatológica nas colorações de Hematoxilina e Eosina e Tricômio de Masson.

#### 4.12 Avaliação histológica

A avaliação histológica foi realizada no Setor de Patologia Veterinária da Faculdade de Veterinária da UFRGS

Após identificação dos segmentos, estes foram recolocados em frascos contendo formol a 10% e, posteriormente, foram descalcificados em solução de ácido nítrico a 10%. Os segmentos foram então processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina. Os cortes histológicos tinham a espessura de cinco micras e foram corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE), e Tricômio de Masson (TM). O material foi encaminhado para avaliação em microscópio óptico.

Nesta análise, foi verificada a presença ou não de união óssea em cada interface, e realizada análise descritiva da reação periosteal, endosteal, inflamatória, taxa de reabsorção e a revascularização do enxerto.

#### 4.13 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pela empresa MW Consultoria Científica. Os dados foram digitados no programa Excel e posteriormente exportados para análise estatística no programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 14.0. Foi utilizado para calcular o poder do estudo e comparação dos percentuais o programa PEPI v.4.0. As variáveis quantitativas foram descritas pela média e desvio padrão e comparadas pelo teste ANOVA seguido de Tukey para comparações múltiplas. Foi considerado um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). A variável consolidação (sim/não) foi comparada pelo teste Qui-quadrado realizando posteriormente as

comparações múltiplas dos percentuais. As variáveis categóricas foram representadas graficamente.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Procedimento anestésico**

A anestesia geral inalatória em circuito aberto, com isoflurano vaporizado em oxigênio 100%, associada ao bloqueio epidural com lidocaína e morfina foi efetiva na dessensibilização da região operada, permitindo manipulação adequada do membro e sendo gastos de 10 a 15 ml de isoflurano em cada procedimento cirúrgico. O bloqueio epidural permaneceu efetivo durante aproximadamente duas horas e a analgesia proporcionada pela morfina permaneceu efetiva durante 24 horas, o que facilitou o manejo pós-operatório, sendo necessário iniciar analgesia com tramadol apenas no dia seguinte à cirurgia.

O tratamento da dor pós-operatória com tramadol (2° e 3° dia) e cetoprofeno (três dias consecutivos) foi eficiente no controle da dor visto que os animais apresentavam apoio parcial do membro e apetite normal.

### **5.2 Procedimento cirúrgico**

A cirurgia mais demorada foi no grupo controle com 155 minutos e a mais rápida foi no grupo congelado com 92 minutos. A média e o desvio padrão do tempo cirúrgico nos diferentes grupos estão representados na figura 11. Houve diferença estatística somente entre os grupos controle e liofilizado com relação ao tempo cirúrgico.

O acesso lateral ao fêmur foi adequado, porém em alguns casos houve necessidade de ampliação da incisão tanto proximal como distalmente devido ao tamanho pequeno do osso em relação à placa. Em um dos animais do grupo controle houve a necessidade de fazer artrotomia do joelho para adequada colocação da placa.

A serra oscilatória foi efetiva na realização das osteotomias na maioria dos casos e foi considerado como um procedimento de rápida execução. Em um dos gatos domésticos do grupo controle ocorreu a quebra de 0,5 cm no fragmento distal durante a osteotomia, sendo neste caso utilizado parafuso monocortical para fixação da placa (parafuso nº 6), também foi impossível proporcionar compressão entre os fragmentos nesta região. No primeiro animal do grupo mel houve necessidade de ajustar o tamanho

do implante, já que o osso utilizado havia sido coletado de um animal submetido à eutanásia para formação do banco de ossos e possuía tamanho maior que o necessário. Durante a osteotomia do implante houve a quebra de um pequeno segmento, porém isto não dificultou o procedimento (Figura 12B).

Em dois gatos domésticos ocorreu fissura longitudinal no fragmento distal do fêmur durante a osteotomia, e, como não seria possível manter a mesma metodologia para estabilização do implante, os animais foram substituídos e encaminhados para doação (Figura 12A).

A preparação do implante através da remoção do periósteo com lâmina de bisturi, e do endósteo e medula óssea com pino rosqueado associado à lavagem com solução salina estéril, foi de rápida execução.

O procedimento de adaptação da placa com o implante ao leito receptor foi considerado a parte mais trabalhosa da cirurgia, sendo também a que tomou o maior tempo. No grupo controle, a adaptação foi mais fácil porque o implante encaixava-se perfeitamente ao osso receptor. Nos demais grupos este encaixe foi mais difícil devido à diferença de circunferência entre o implante e o osso receptor e a irregularidades na linha de osteotomia.

Os implantes submetidos ao processo de conservação em congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$  mantiveram o aspecto igual ao da coleta no momento de implantação (Figura 12C). Os ossos conservados no mel apresentavam coloração amarelada, com pequenas porções do conservante impregnadas no osso. Esta coloração permaneceu após o período de reidratação em solução salina estéril, porém de uma forma mais sutil (Figura 12F). Não houve diferença perceptível na resistência do osso receptor em relação ao implante durante a confecção dos orifícios tanto no osso congelado como no conservado em mel. Nos ossos liofilizados era possível perceber um aumento na porosidade do osso (Figura 12E), sendo que esta desapareceu após reidratação. Entretanto, foi percebido que na confecção dos orifícios para os parafusos os implantes liofilizados apresentavam resistência menor quando comparados com o osso receptor.

A confecção dos orifícios para os parafusos foi de fácil e rápida execução, bem como a medição e a confecção da rosca. O tamanho dos parafusos variou de 10 a 20 mm, e a colocação foi facilmente executada na maioria das vezes. Os parafusos colocados no osso receptor adjacente ao implante, proximal e distal, faziam compressão na interface implante ósseo/leito receptor. Devido a diferenças de tamanho, irregularidades e dificuldades de posicionamento, em alguns casos, a área de contato

entre o implante e o osso receptor não ocorreu em toda circunferência. Apesar disso, não foram verificadas dificuldades de consolidação nesses casos.

Em um dos animais do grupo liofilizado a placa ficou posicionada crânio-lateralmente (Figura 12G), pois esta posição permitiu uma melhor adaptação entre o implante e o leito receptor. Neste animal não houve consolidação nas interfaces proximal e distal e ocorreu formação de trato fistuloso e migração dos parafusos.

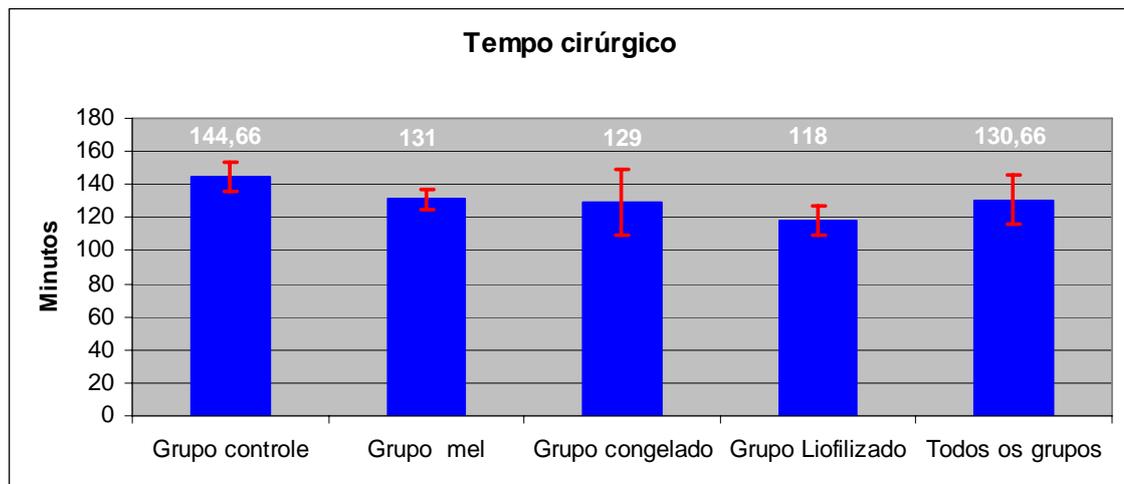


Figura 11 - Representação gráfica do tempo cirúrgico médio e desvio padrão dos procedimentos de implantação óssea cortical homóloga ou alógena em fêmur de gatos domésticos dos grupos controle, mel, congelado e liofilizado, bem como o tempo médio da cirurgia e desvio padrão de todos os grupos.

A sutura da fáscia lata com pontos de Sultan e fio poliglactina 910 3-0, a reaproximação do tecido subcutâneo com sutura contínua simples e o mesmo fio e a sutura de pele com fio mononáilon 3-0 e pontos isolados simples, foram de rápida execução e efetivas, visto que nenhum dos animais apresentou deiscência de sutura.

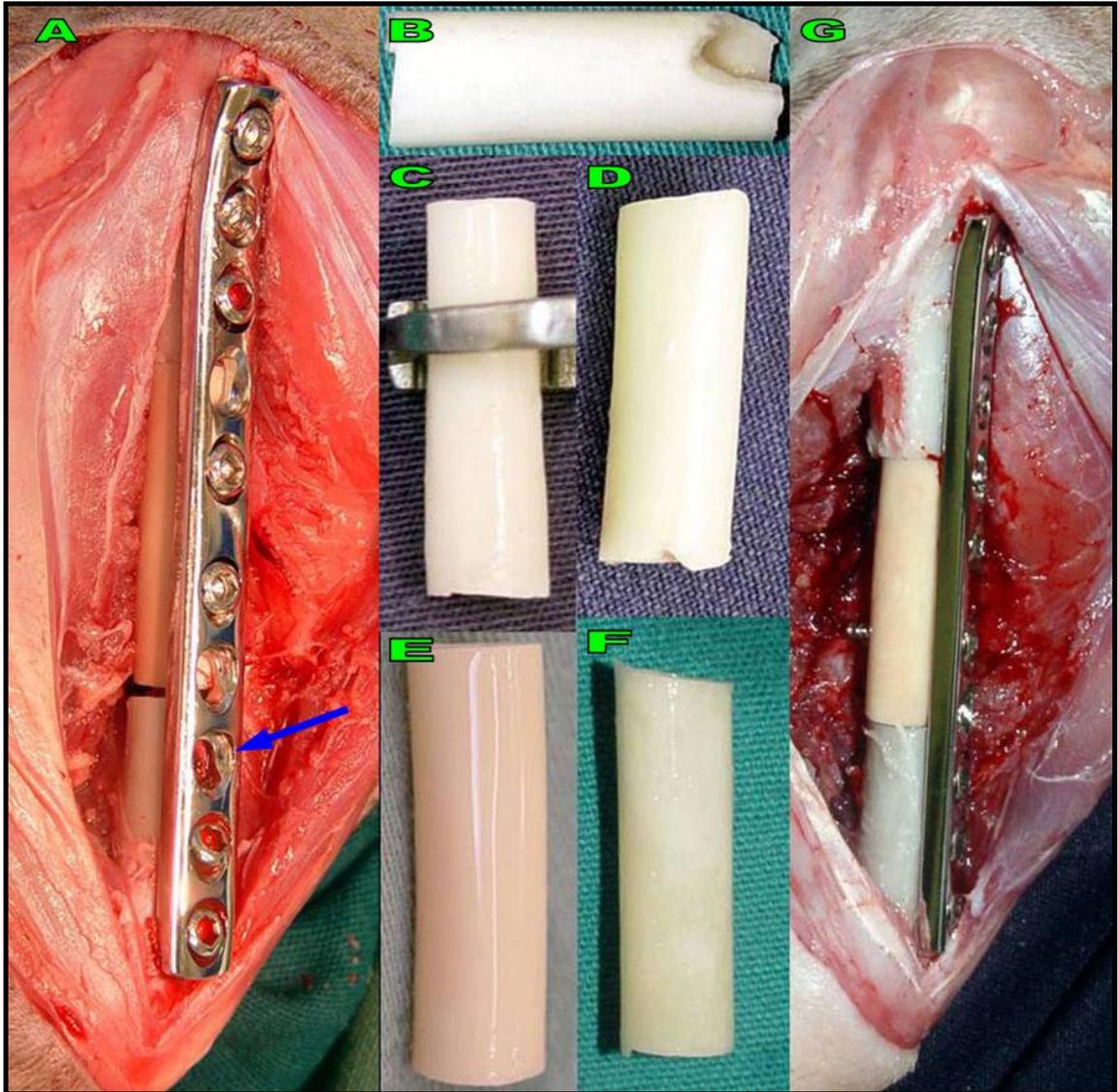


Figura 12 – A) Imagem da placa e parafusos na implantação óssea cortical do gato doméstico número 18 evidenciando a ausência de um parafuso no fragmento receptor distal (seta azul). B) Implante ósseo cortical alógeno utilizado na gata 13, onde é possível identificar a falta de uma porção com 0,5 cm. C) Implante ósseo cortical alógeno conservado em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ , após reidratação. D) Implante ósseo cortical autógeno imediatamente antes da implantação. E) Implante ósseo cortical alógeno liofilizado, após reidratação. F) Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel, após reidratação. G) Implante ósseo cortical alógeno fixado ao leito receptor por placa de compressão dinâmica (DCP) e oito parafusos corticais colocados na face crânio-lateral do fêmur gato doméstico.

### 5.3 Avaliação clínica

Apenas um animal conseguiu retirar o colar elizabetano e remover dois pontos de pele produzindo deiscência de sutura com um centímetro, sendo que esta cicatrizou por segunda intenção em 10 dias. Dez animais apresentaram edema no membro

operado, sendo dois do GC, três do GM, quatro do GCO e um do GL, que perduraram por dois a seis dias. Dos gatos que apresentaram edema, três animais não apresentaram consolidação satisfatória, sendo um do GM, um do GL e um do GCO.

Três gatos domésticos apresentaram rotação externa do joelho no membro operado durante a deambulação, permanecendo desta forma por um período que variou de 14 a 40 dias após a cirurgia. Destes uma gata era do GM, uma do GCO (não consolidou a interface distal) e uma do GL (não consolidou a interface proximal).

Um gato doméstico do grupo liofilizado apresentou trato fistuloso, na região dorsal do membro operado próximo ao trocânter maior, do 21º ao 42º dias de pós-operatório. Deste houve drenagem de secreção purulenta no início e posteriormente serossanguinolenta. O tratamento constou de enrofloxacina e limpeza com solução fisiológica.

Uma gata do grupo mel apresentou luxação medial de patela grau III no membro operado após 35 dias da cirurgia. Esta luxação foi corrigida com sulcoplastia, desmotomia e imbricação da cápsula articular, mas após quatro semanas da cirurgia houve recidiva da luxação. Foi identificada no exame radiográfico pós-operatório subluxação medial de patela em um animal do grupo controle a partir dos 90 dias, sendo diagnosticado luxação de patela grau I no exame clínico. Porém, esta gata não apresentava claudicação nem dor à palpação.

#### **5.4 Avaliação deambulatória**

Não foi observada claudicação incapacitante em nenhum dos animais avaliados. Todos apresentaram deambulação adequada logo após a cirurgia e mantiveram ou melhoraram a deambulação ao longo do tempo de avaliação. Nos gatos domésticos que apresentaram alguma dificuldade de deambulação após 30 dias da cirurgia, esta estava relacionada à excessiva movimentação durante a limpeza da gaiola ou a luxação de patela, que ocorreu em um gato doméstico do grupo mel. As figuras 13, 14, 15 e 16 demonstram o grau de deambulação nos grupos controle, mel, congelado e liofilizado, respectivamente.

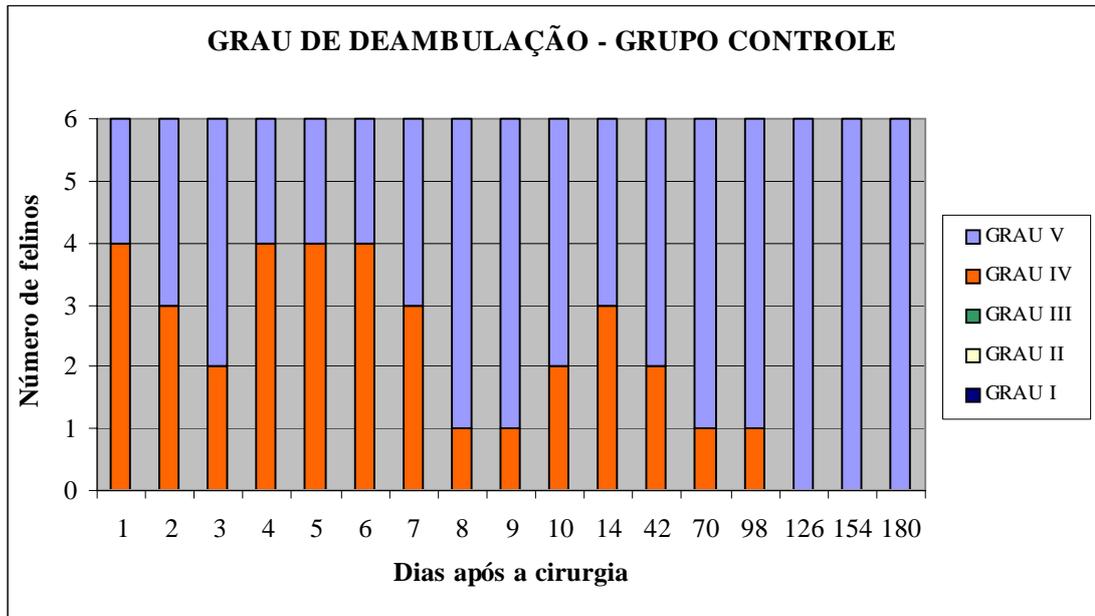


Figura 13 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno até 180 dias de pós-operatório.

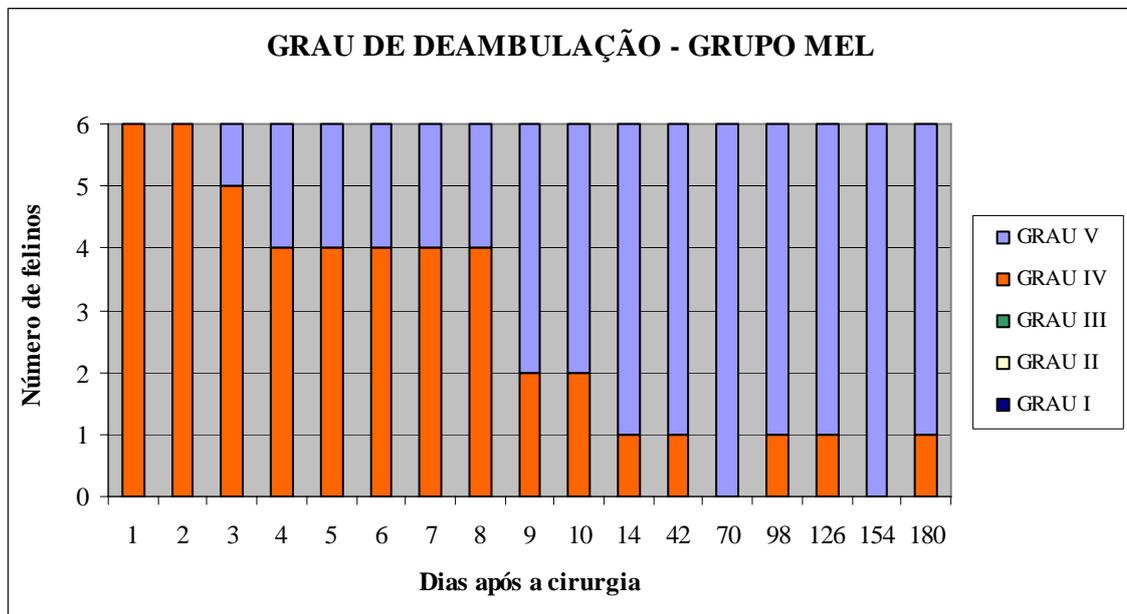


Figura 14 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel até 180 dias de pós-operatório.

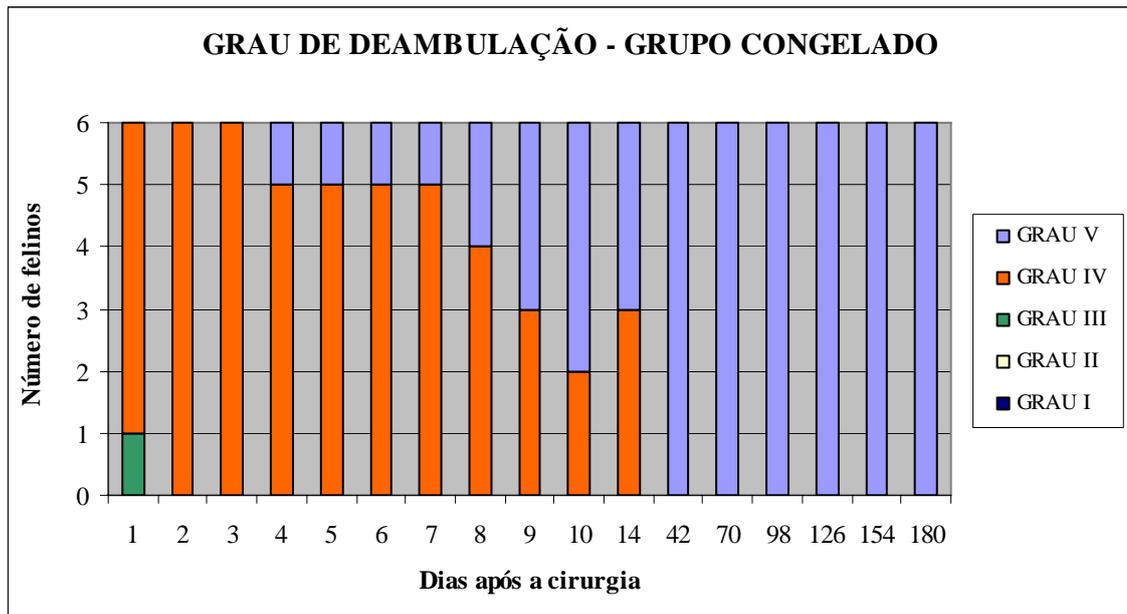


Figura 15 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$  até 180 dias de pós-operatório.

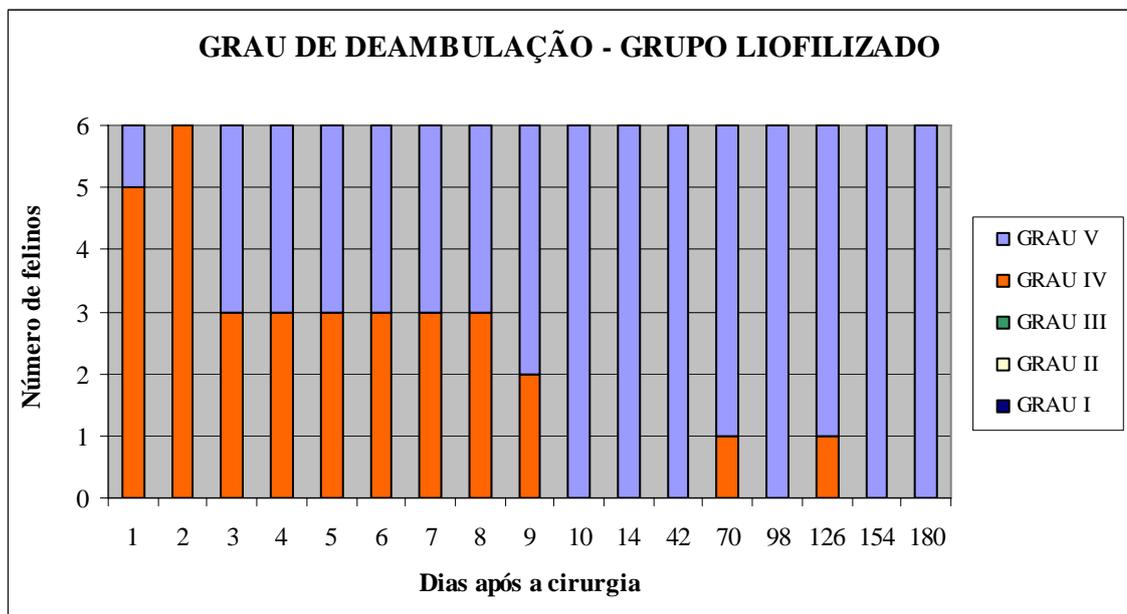


Figura 16 - Representação gráfica do grau de deambulação dos gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado até 180 dias de pós-operatório.

## 5.5 Avaliação radiográfica

Apesar da sedação, alguns animais permaneciam com atividade e isto dificultou o correto posicionamento radiográfico em alguns casos. A projeção crânio-caudal permitia melhor visualização das interfaces implante ósseo/receptor.

Na projeção médio-lateral a placa e os parafusos encobriram a maior parte do osso, podendo ser vista, na maioria dos casos, uma pequena porção da interface implante ósseo/receptor nos orifícios em que não foram colocados parafusos. Esta posição permitia uma aproximação maior do membro operado à película radiográfica, diminuindo a magnificação da imagem. O tamanho do fêmur, do implante e a porcentagem entre eles estão relacionadas na tabela 3, sendo encontrada diferença estatística entre os grupos controle e congelado na porcentagem entre o comprimento do fêmur e do implante.

Tabela 3 - Médias e desvios padrões do comprimento do fêmur e do implante nos gatos dos grupos controle, mel, congelado, liofilizado e de todos os grupos, bem como o percentual e desvio padrão do implante em relação ao fêmur. Valores obtidos no exame radiográfico do pós-operatório imediato na projeção médio-lateral.

<b>Grupo</b>	<b>Comprimento do fêmur (cm)</b>	<b>Comprimento do implante (cm)</b>	<b>Porcentagem (implante:fêmur)</b>
<b>Controle</b>	9,8 ± 0,21	2,88 ± 0,07	29,38% ± 0,80
<b>Mel</b>	9,71 ± 0,33	2,93 ± 0,10	30,15% ± 0,76
<b>Congelado</b>	9,56 ± 0,28	2,95 ± 0,05	30,82% ± 1,13
<b>Liofilizado</b>	9,76 ± 0,32	3,0 ± 0,06	30,68% ± 0,71
<b>Todos</b>	9,70 ± 0,10	2,94 ± 0,08	30,26% ± 0,99

### 5.5.1 Grupo controle

Nos dois animais sorteados para necropsia foram feitos exames radiográficos após a retirada da placa e dos parafusos e ficou evidenciada a completa incorporação nas interfaces proximal e distal da gata quatro e na interface proximal da gata um,

ocorrendo não-união na interface distal desta gata, porém com formação de ponte óssea (Figura 17).

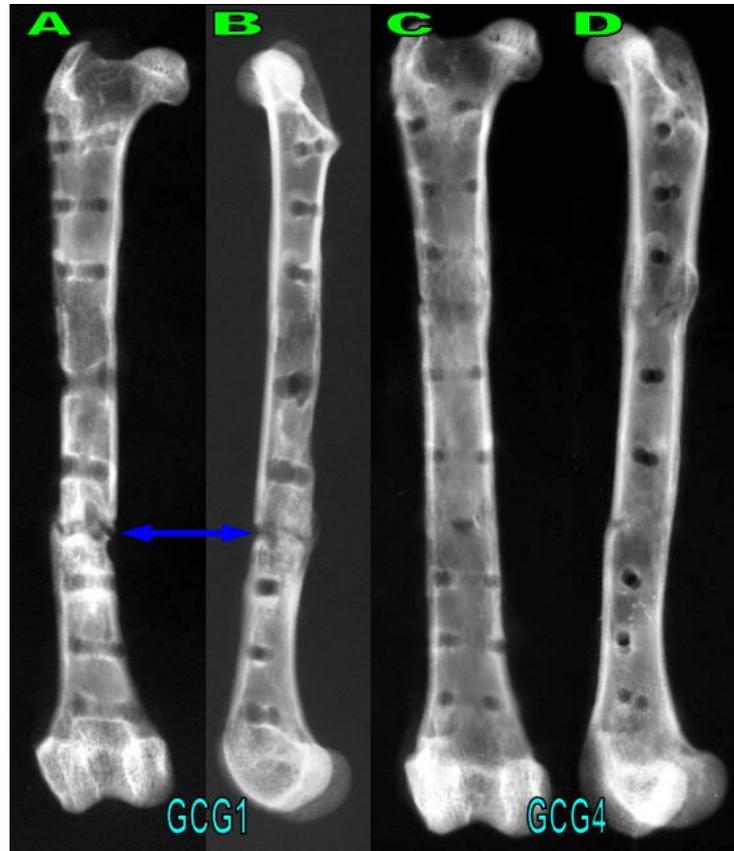


Figura 17 – Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical homóloga nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo controle (GCG1 e GCG4) com 180 dias de pós-operatório sem placa e parafusos, evidenciando o local de não-união (seta azul). A) crânio-caudal gata um; B) médio-lateral gata um; C) crânio-caudal gata quatro; D) médio-lateral gata quatro.

Neste grupo todas as cirurgias resultaram em implantes adequadamente alinhados com os ossos receptores (Figuras 18, 19, 20, 21, 22 e 23).

Na gata número um houve reabsorção do osso ao redor dos parafusos quatro e sete, sendo que o parafuso quatro migrou aos 150 dias de PO (Figura 18F). Na gata oito houve reabsorção na interface proximal junto à placa (Figura 23D) e na gata cinco ocorreu reabsorção entre os parafusos seis e sete (Figura 22E).

A reação periosteal foi mais evidente até os 90 dias de pós-operatório nas interfaces proximal e distal. Não houve remodelamento intenso durante o período de

avaliação em ambas as interfaces e apenas um animal apresentou reabsorção na interface proximal aos 75 dias de pós-operatório (Figura 23D), sendo o remodelamento considerado ausente na maioria das avaliações.

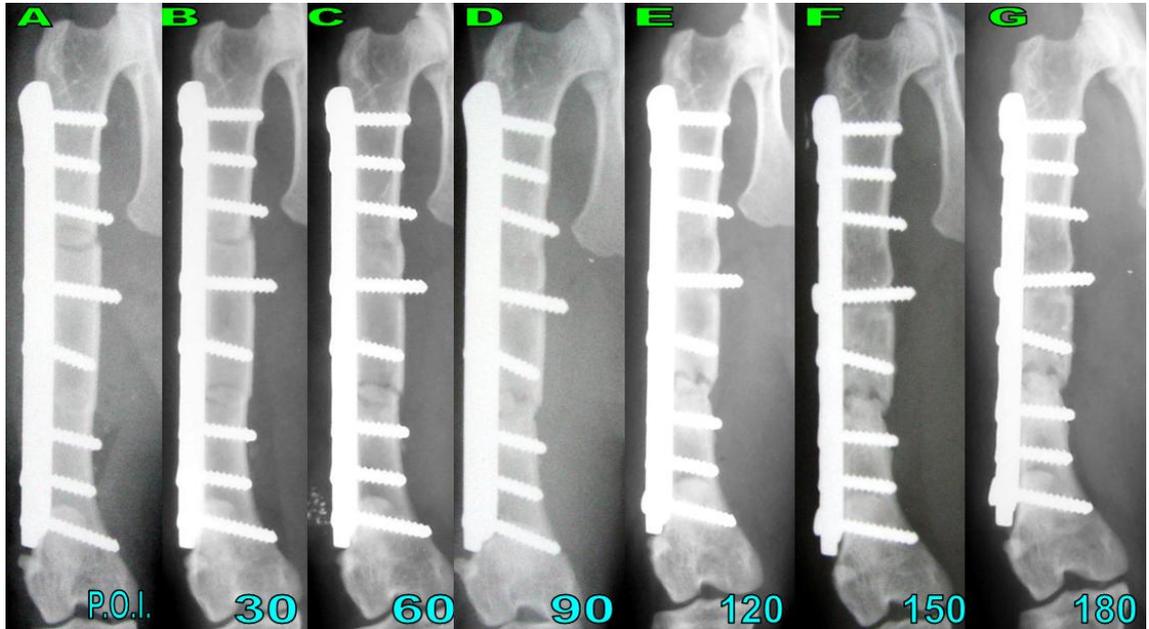


Figura 18 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número um do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

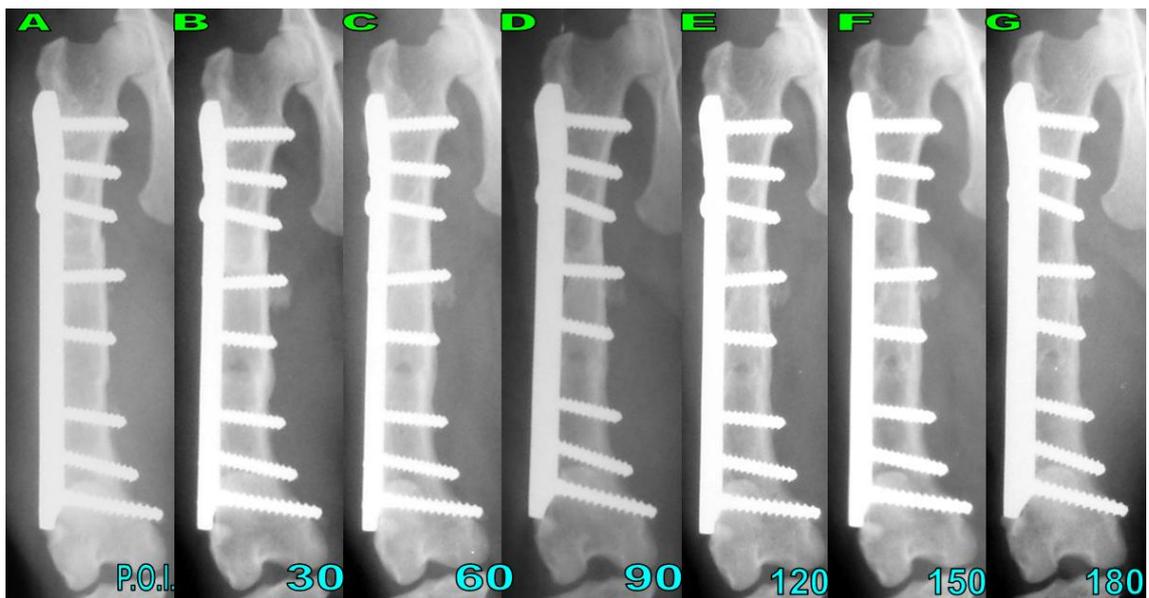


Figura 19 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número dois do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

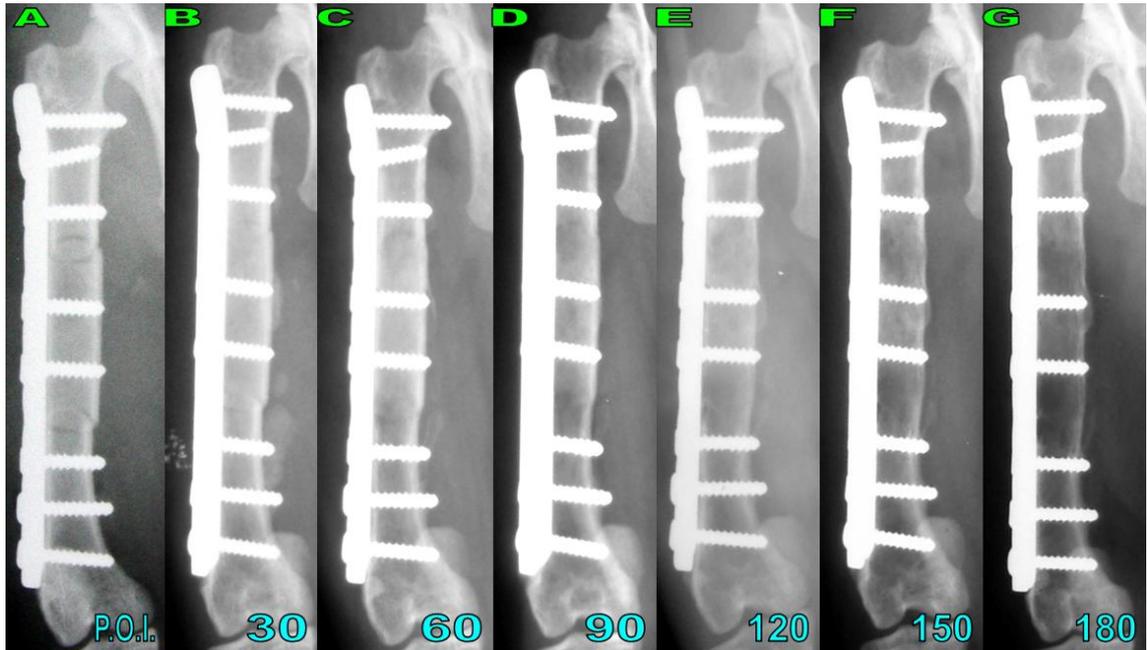


Figura 20 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número três do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

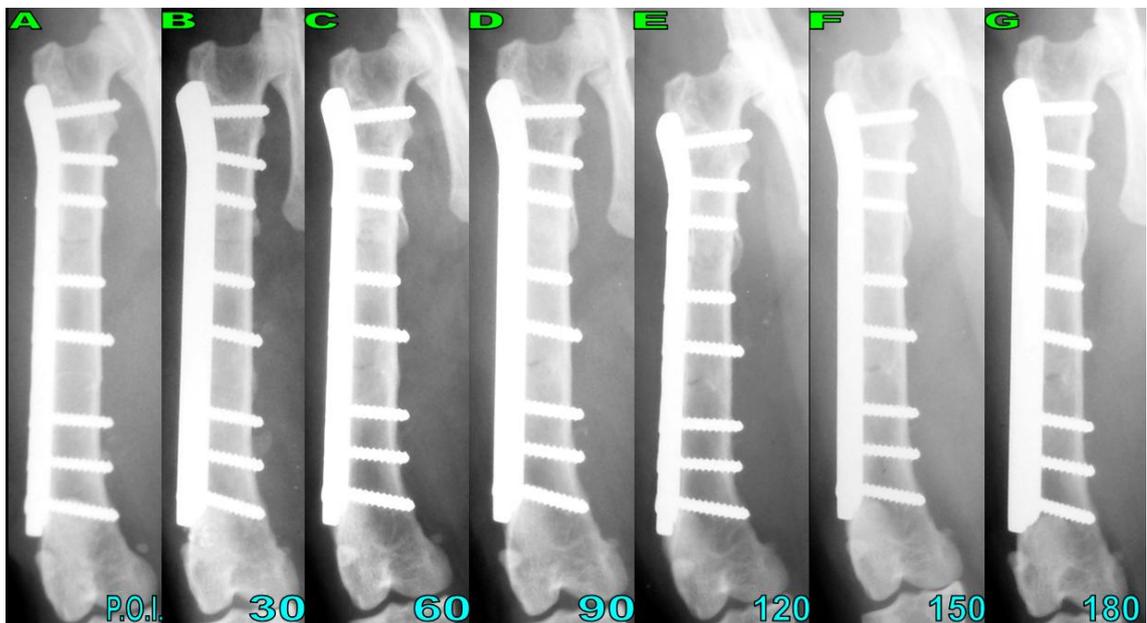


Figura 21 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número quatro do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

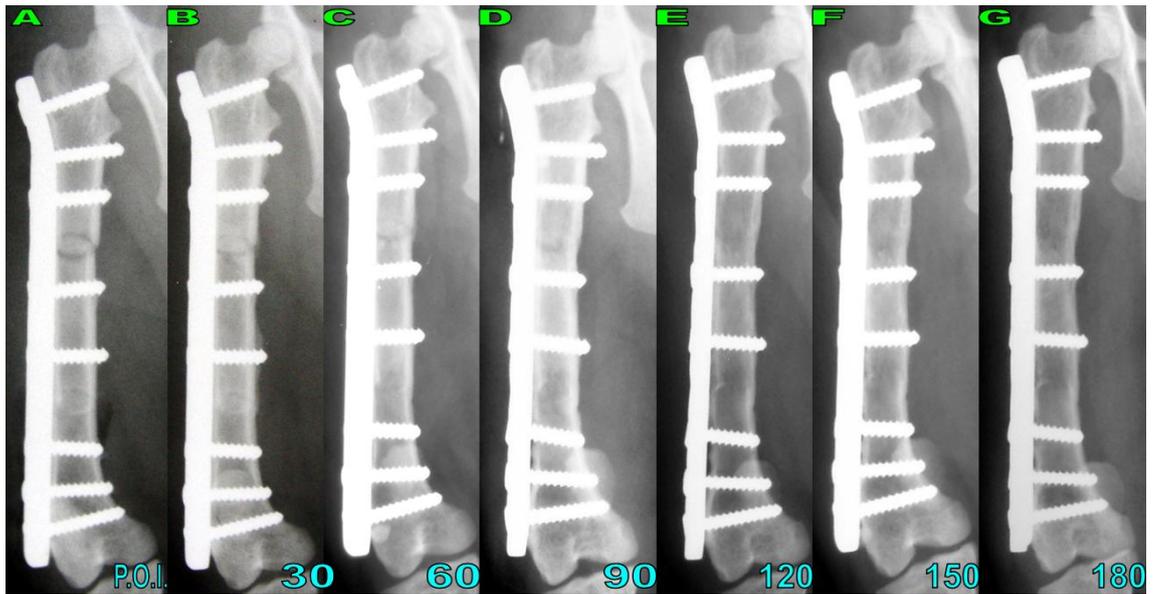


Figura 22 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número cinco do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

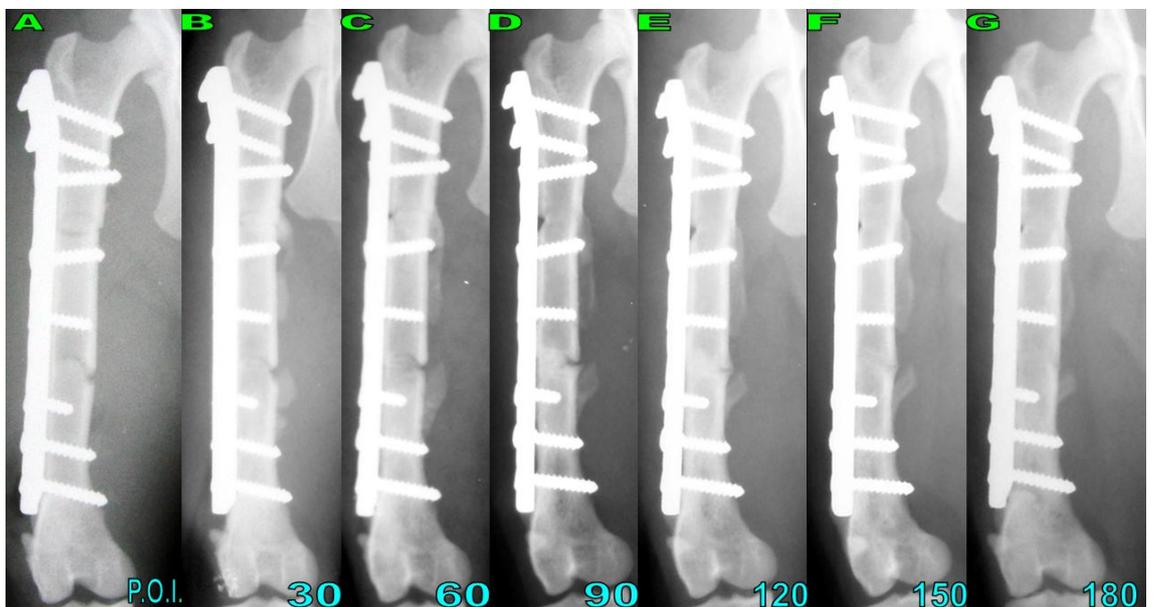


Figura 23 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical autógena do gato doméstico número oito do grupo controle em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

A avaliação dos exames radiográficos em relação à reação periosteal, remodelamento e grau de reabsorção estão representados nas figuras 24, 25, e 26 respectivamente.

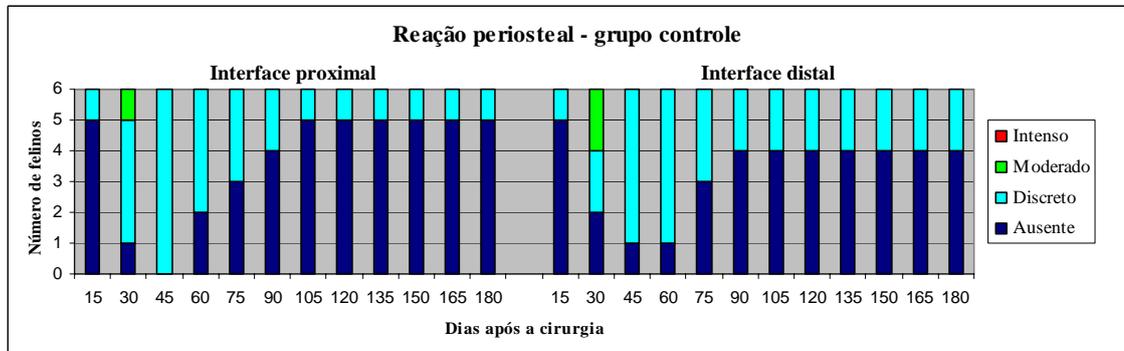


Figura 24 - Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.

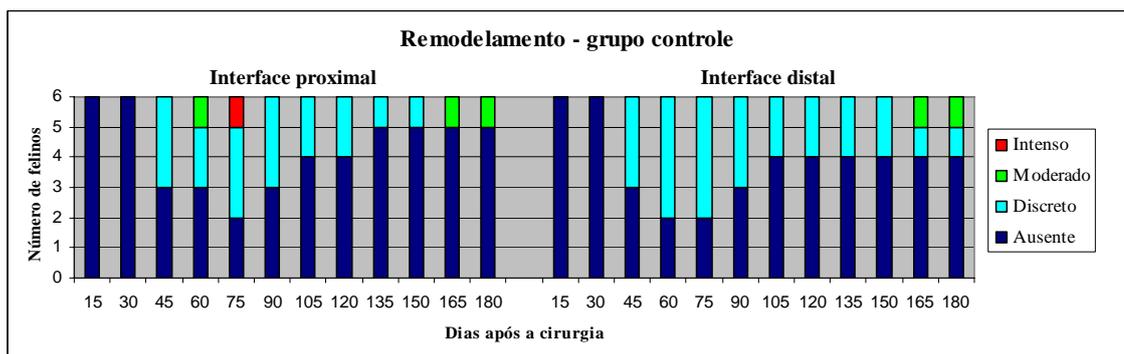


Figura 25 - Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.

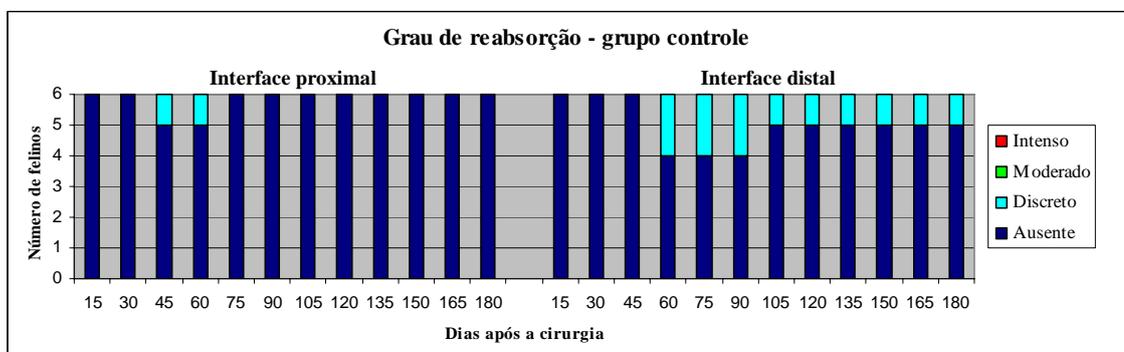


Figura 26 - Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.

A incorporação neste grupo foi de 100% (6/6) na interface proximal, com tempo médio para incorporação de 80 dias, e 83,3% (5/6) na interface distal, com tempo médio de 87 dias, onde um animal não apresentou incorporação (Figura 27).

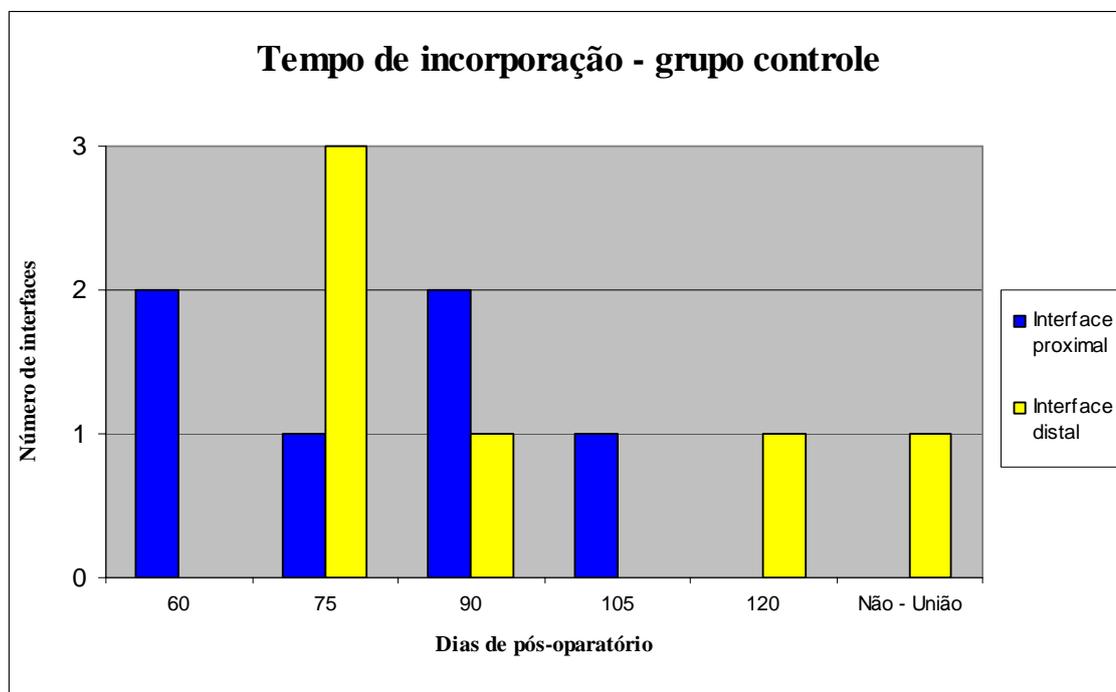


Figura 27 - Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical autógeno.

### 5.5.2 Grupo mel

Nas duas gatas submetidas à eutanásia houve completa incorporação tanto na interface proximal como na distal (Figura 28).

Nos seis procedimentos realizados neste grupo os animais tiveram bom alinhamento entre o osso receptor e o implante (Figuras 29, 30, 31, 32, 33 e 34), em um animal ocorreu a quebra de um pequeno fragmento do implante, porém isso não resultou em perda de alinhamento mas impossibilitou que houvesse contato entre leito receptor/implante em toda a circunferência óssea, na interface proximal.

Uma gata apresentou luxação medial de patela no membro operado aos 75 dias de pós-operatório, sendo essa corrigida cirurgicamente. Após 30 dias do procedimento houve recidiva da luxação, entretanto, optou-se em não reintervir.



Figura 28 – Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical alógena nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo mel (GMG16 e GMG19) com 180 dias de PO sem placa e parafusos. A) crânio-caudal gata 16; B) médio-lateral gata 16; C) crânio-caudal gata 19; D) médio-lateral gata 19.

Ocorreu formação de calo ósseo exuberante em três gatos domésticos (Figuras 29, 33 e 34), todos na interface distal. Em uma gata foi identificada reabsorção ao redor dos parafusos do implante ósseo com 90 dias (Figura 30D) de PO e, com 150 dias de pós-operatório foi identificada reabsorção ao redor do quinto parafuso e, com maior intensidade, na região proximal do implante ósseo (Figuras 30F e G).

Em dois animais foram visualizados parafusos soltos, sendo o primeiro e o sexto aos 90 dias de pós-operatório em uma gata (Figura 31D) e o terceiro aos 120 dias de PO no outro gato doméstico (Figura 33E). Em outro animal a placa afastou-se do osso receptor distal 120 dias após a cirurgia (Figura 31E).

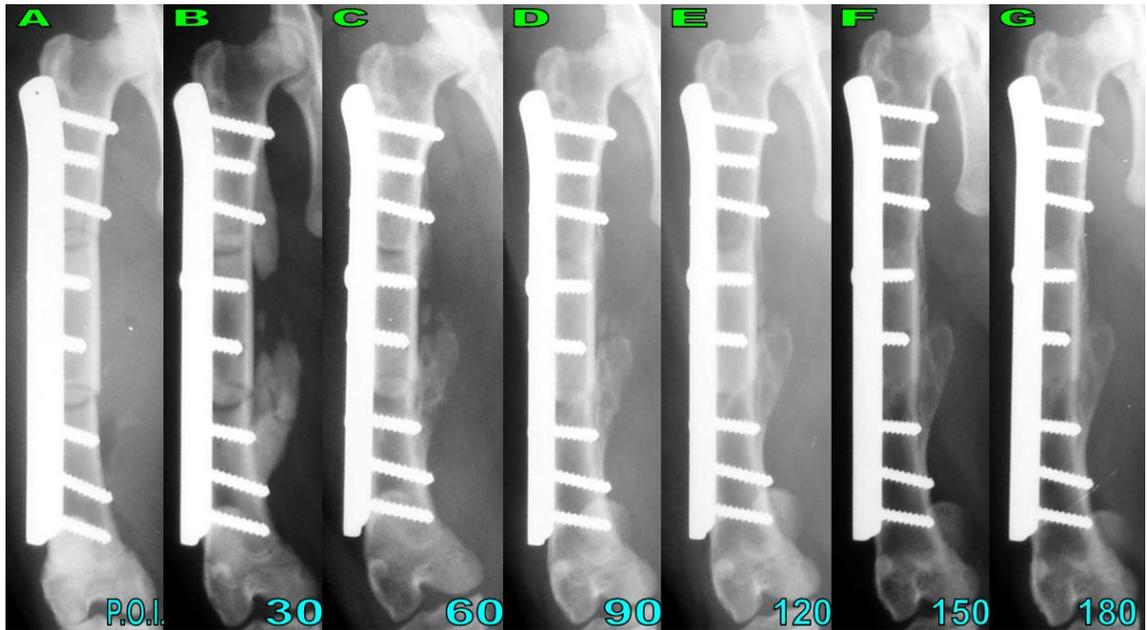


Figura 29 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 11 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

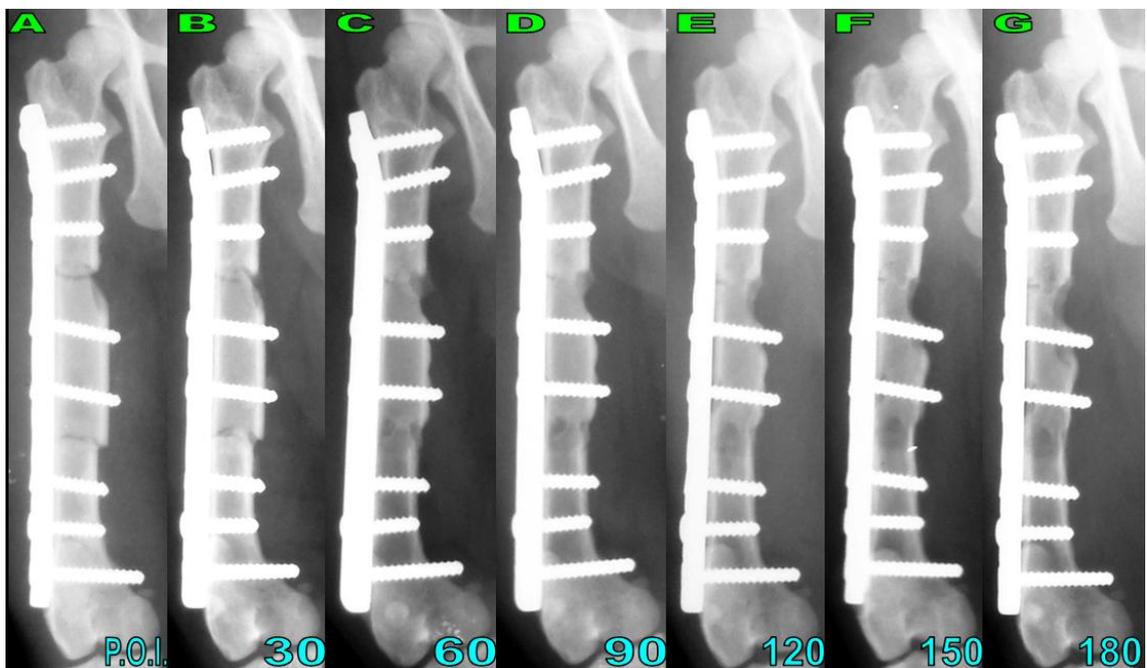


Figura 30 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 13 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

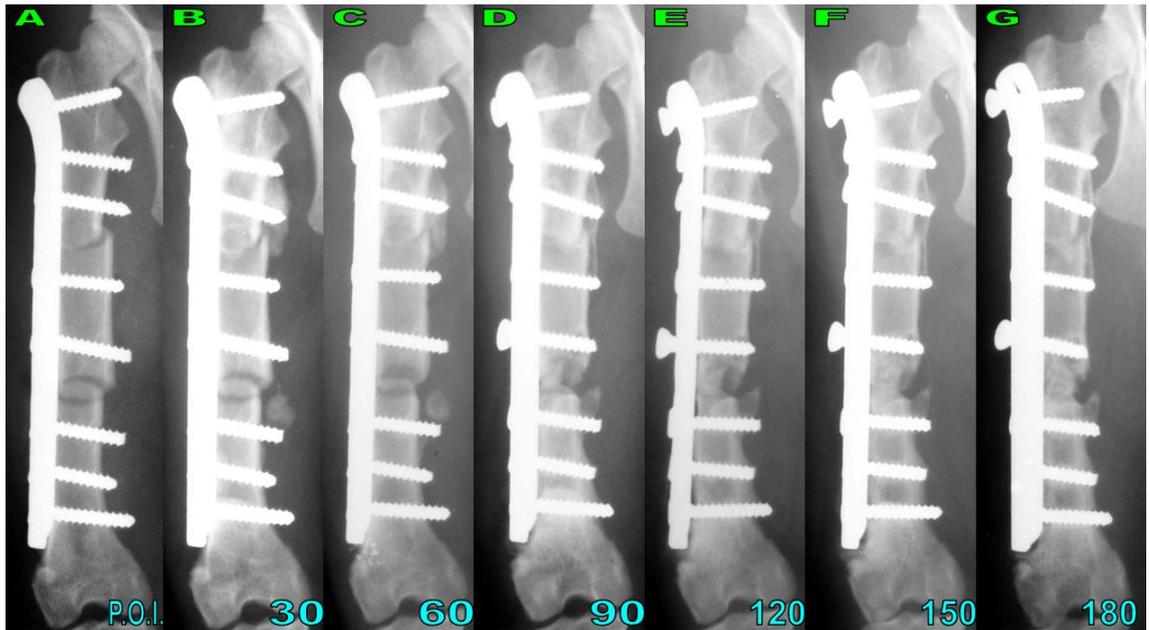


Figura 31 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 15 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

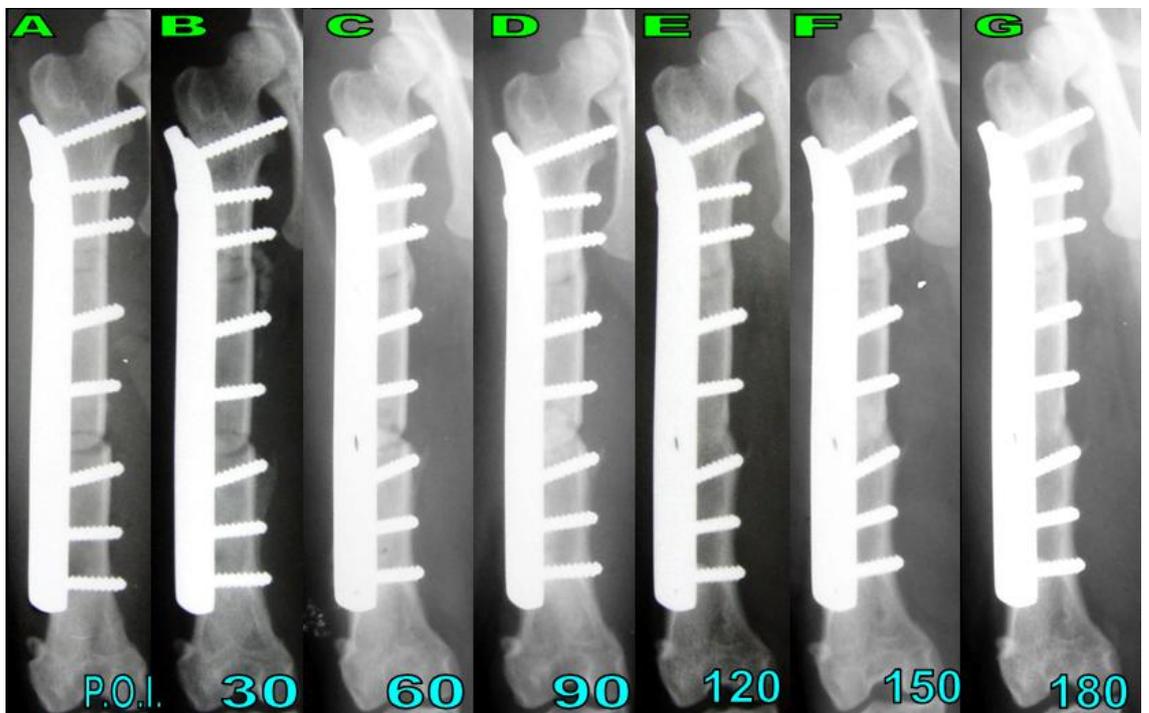


Figura 32 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 16 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

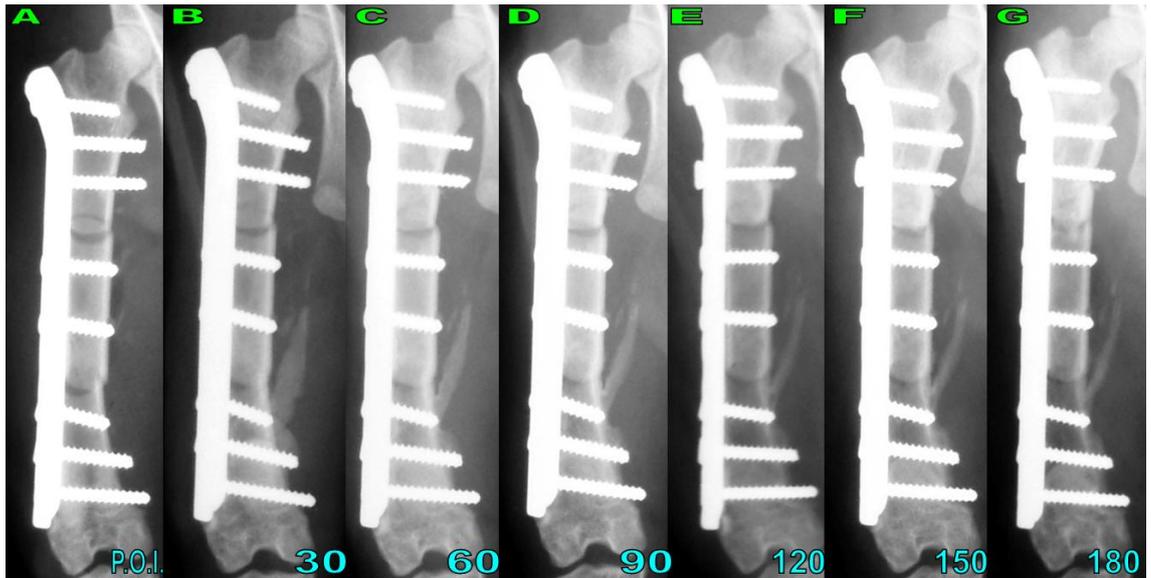


Figura 33 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 17 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

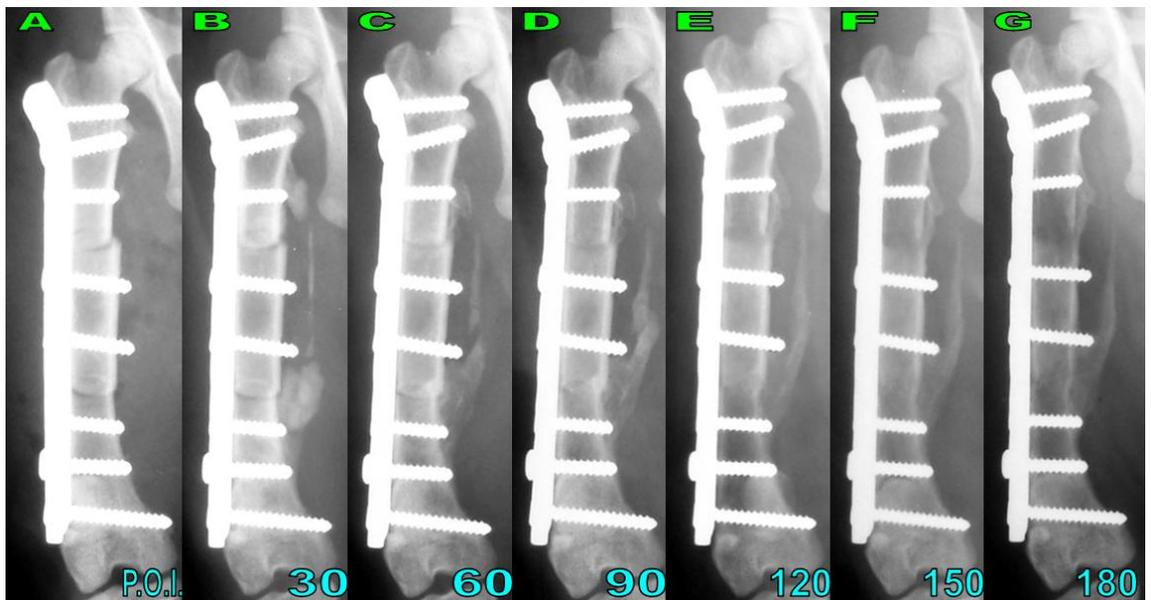


Figura 34 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 19 do grupo mel em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

A avaliação dos exames radiográficos em relação à reação periosteal, remodelamento e grau de reabsorção estão representados nas figuras 35, 36 e 37, respectivamente.

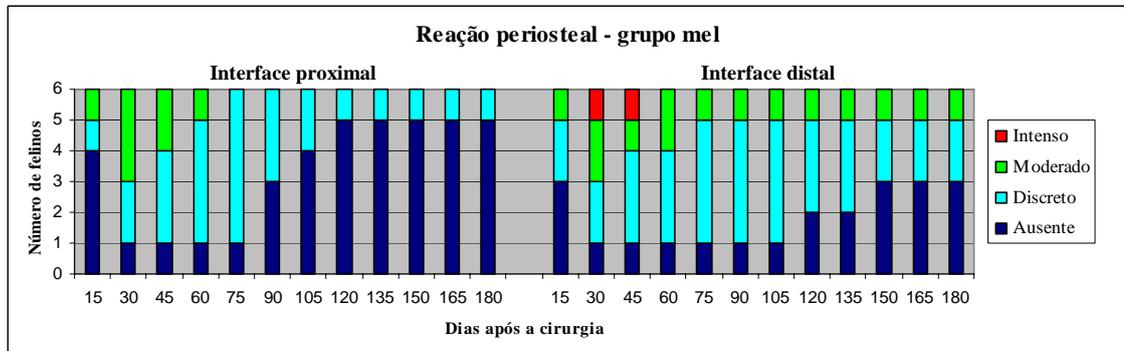


Figura 35 - Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.

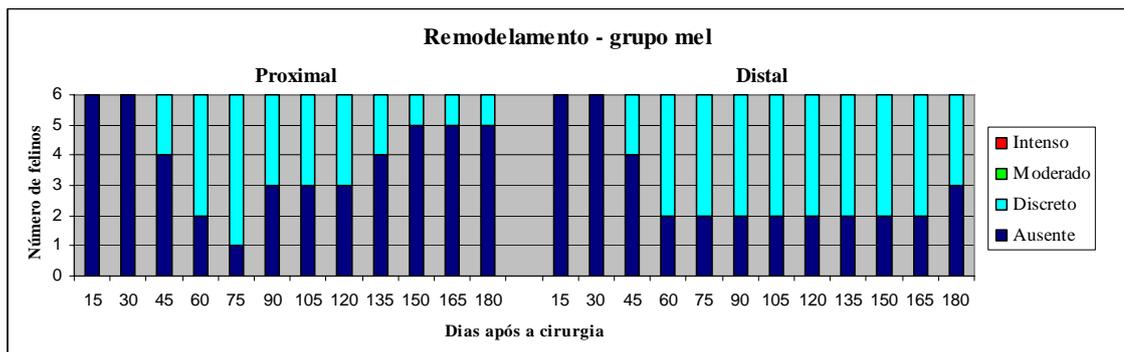


Figura 36 - Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.

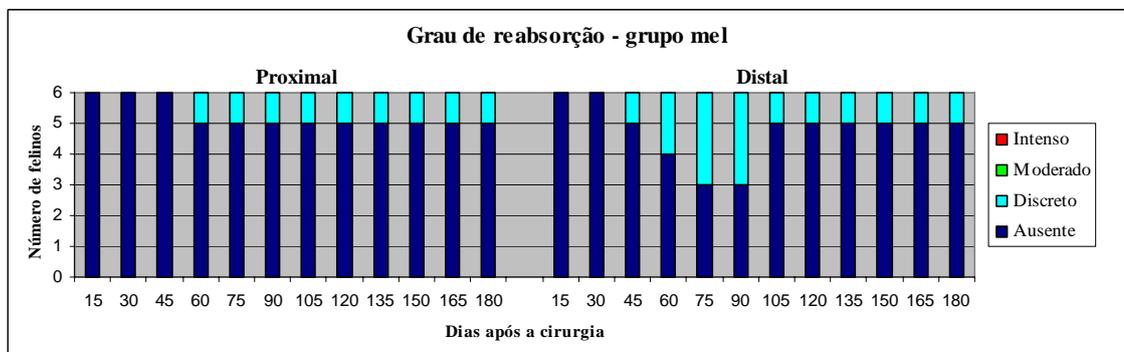


Figura 37 - Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.

A incorporação neste grupo foi de 83,3% (5/6) na interface proximal, com tempo médio para incorporação de 105 dias e 66,6% (4/6) na interface distal, com tempo médio de 105 dias (Figura 38).

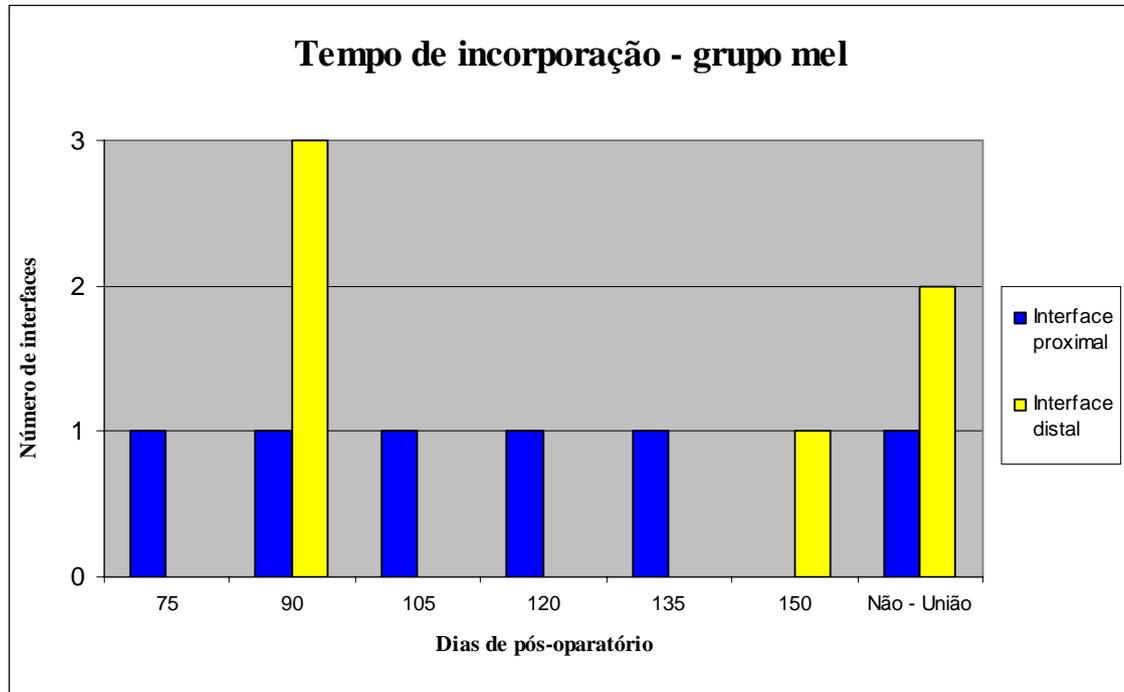


Figura 38 - Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em mel.

### 5.5.3 Grupo congelado

Nos dois animais submetidos à eutanásia foi possível verificar após a retirada da placa e dos parafusos perfeita incorporação nas interfaces proximais. Em um dos animais a interface distal estava incorporada enquanto que no outro animal não houve incorporação na interface distal ficando evidente uma intensa reabsorção (Figura 39).

Houve alinhamento adequado do implante em quatro animais deste grupo, em dois casos o alinhamento na interface distal não ficou perfeito, resultando em um contato implante ósseo/receptor que não envolvia toda a circunferência óssea (Figuras 40, 41, 42, 43, 44 e 45).

Em um animal a placa ficou muito longa no fragmento receptor distal e nesta região não ocorreu um bom contato entre a placa e o osso (Figura 43). O sexto parafuso

ficou muito próximo da interface distal em duas gatas, menos de 0,5 cm de distância (Figuras 43 e 44).



Figura 39 – Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical alógena nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo congelado (GCOG1 e GCOG4) com 180 dias de pós-operatório sem placa e parafusos evidenciando não-união (seta azul). A) crânio-caudal gata sete; B) médio-lateral gata sete; C) crânio-caudal gata 14; D) médio-lateral gata 14.

Ocorreu reabsorção ao redor do sétimo parafuso em um gato doméstico. Neste mesmo animal houve deslocamento do osso receptor distal em relação à placa, ficando os parafusos seis, sete e oito soltos e o membro sem alinhamento (Figura 43). Em duas gatas ficou evidenciada pequena reabsorção do osso próximo à placa sendo uma na interface proximal (Figura 42) e outra na interface distal (Figura 43D).

Na interface distal de um gato doméstico foi diagnosticada intensa reabsorção, tanto no osso receptor quanto no implantado (Figura 44) e em outro animal houve reabsorção na região central do implante próximo a placa (Figura 45E, F e G).

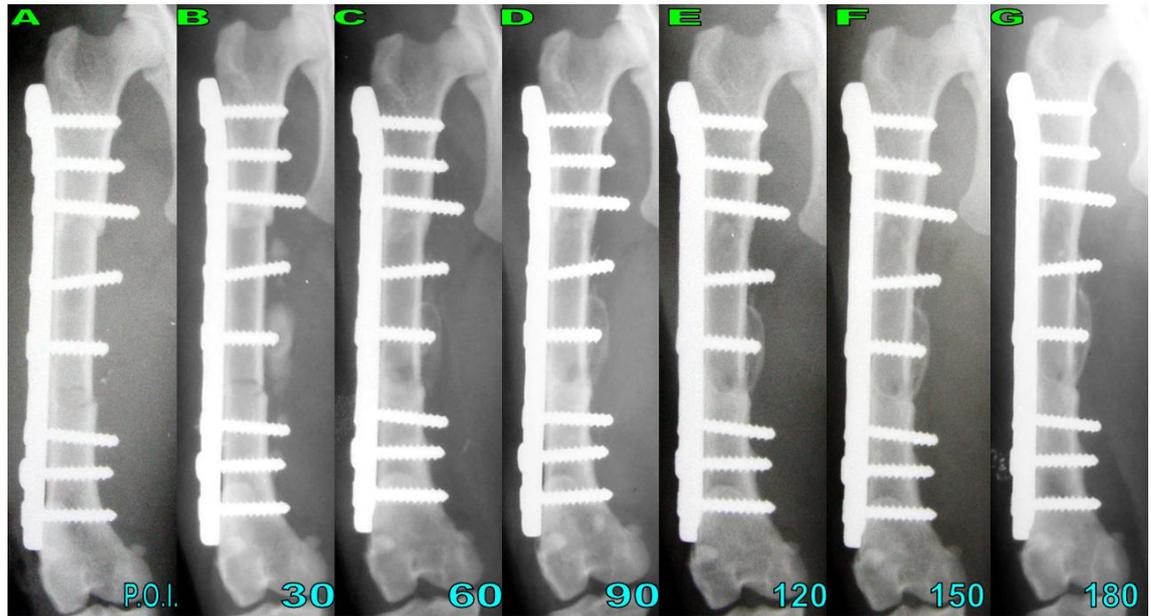


Figura 40 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número seis do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

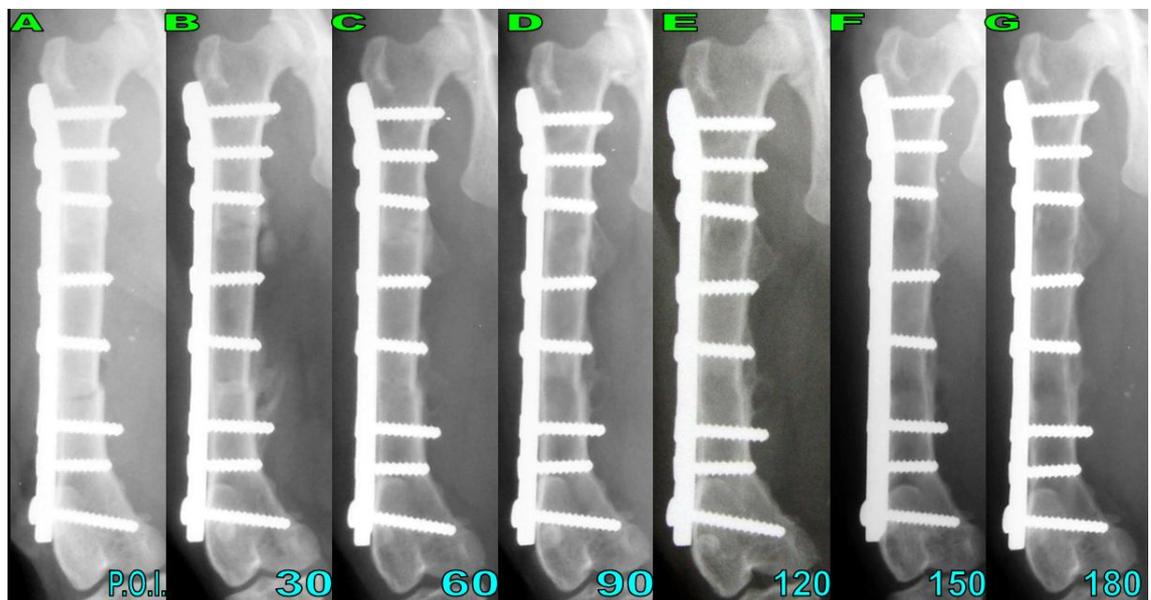


Figura 41 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número sete do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

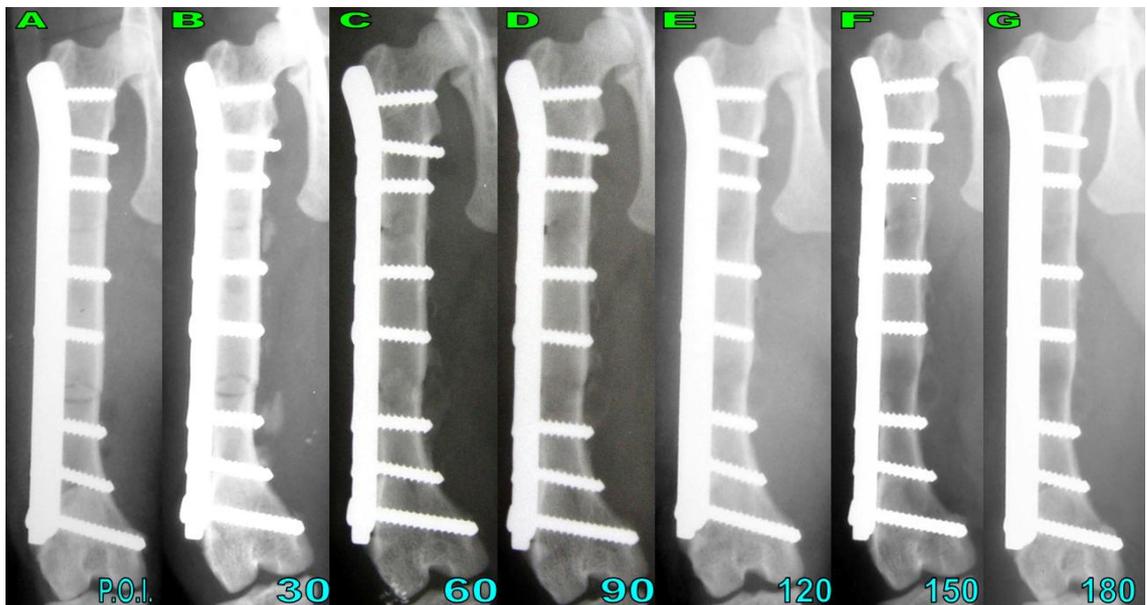


Figura 42 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número nove do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

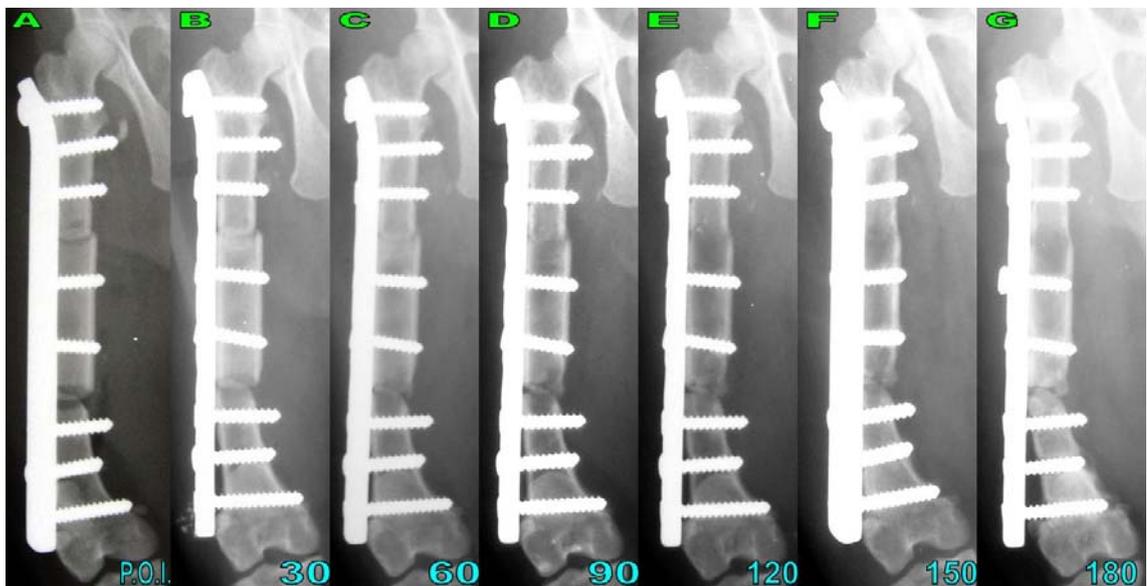


Figura 43 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 10 do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

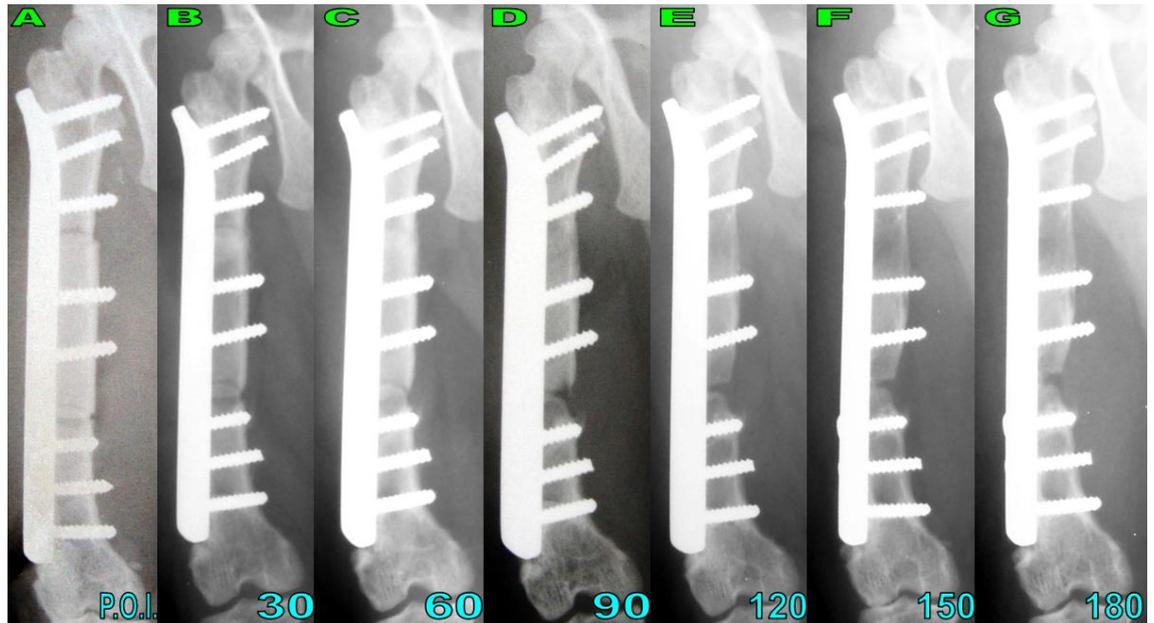


Figura 44 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 14 do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

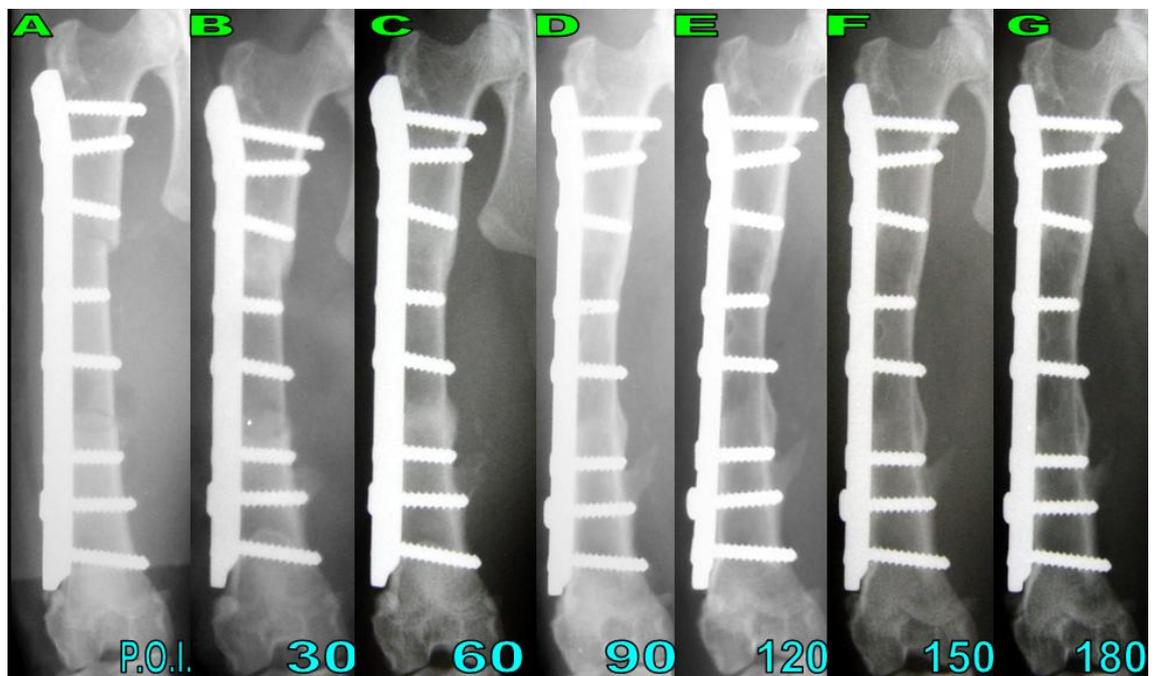


Figura 45 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 20 do grupo congelado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

A avaliação dos exames radiográficos em relação à reação periosteal, remodelamento e grau de reabsorção estão representados nas figuras 46, 47 e 48, respectivamente.

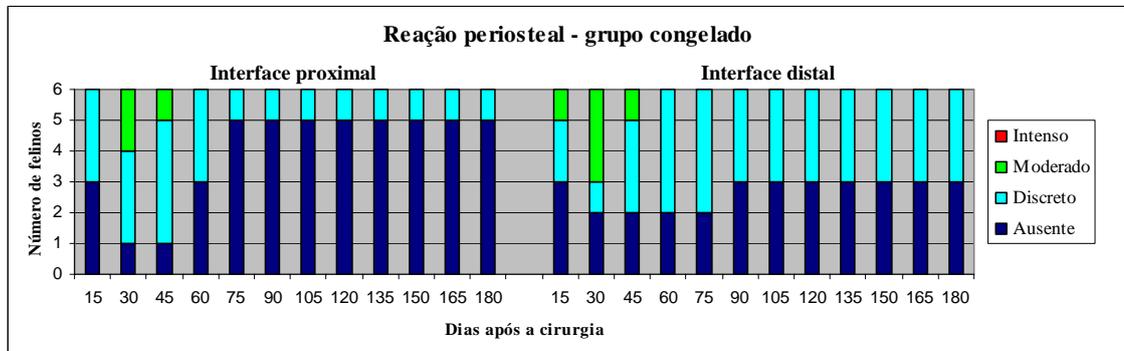


Figura 46 - Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

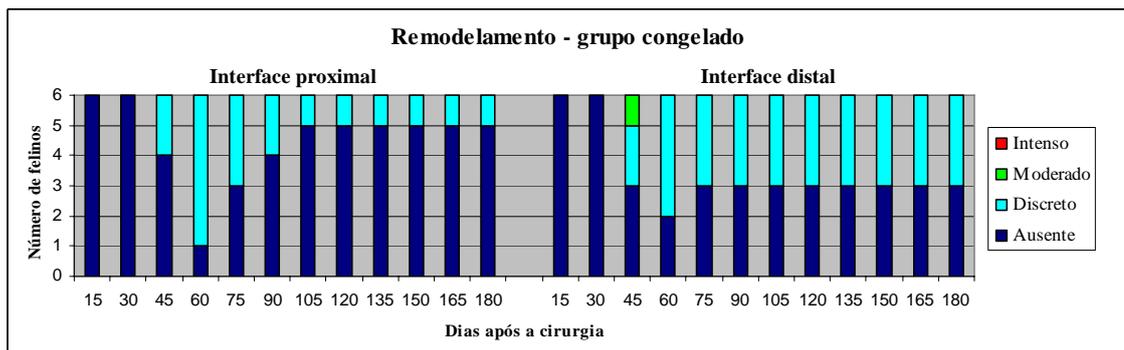


Figura 47 - Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

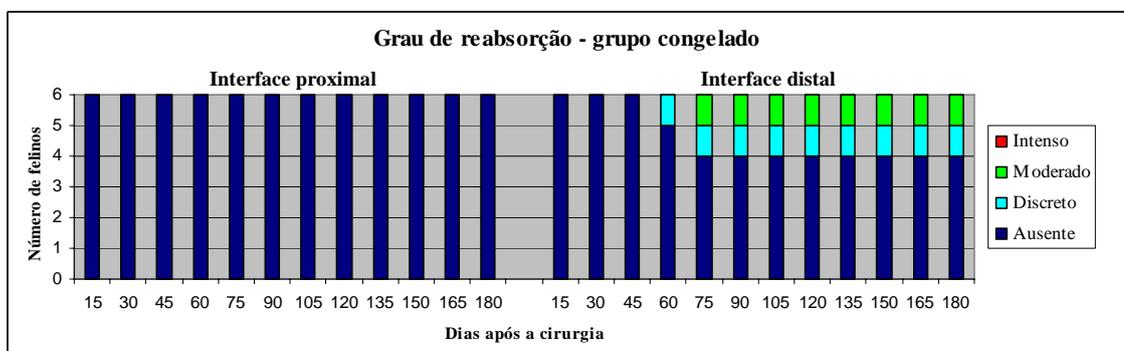


Figura 48 - Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

A incorporação neste grupo foi de 100% (6/6) na interface proximal, com tempo médio para incorporação de 75 dias e 66,6% (4/6) na interface distal, com tempo médio de 82,5 dias (figura 49).

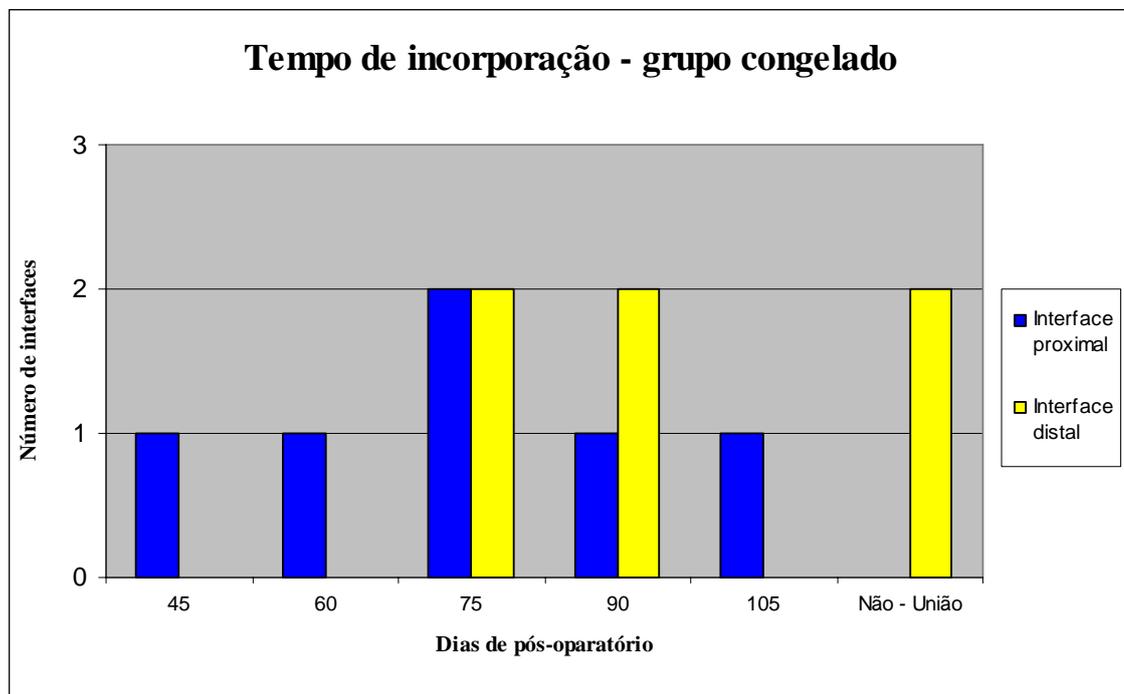


Figura 49 - Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno conservado em congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### 5.5.4 Grupo liofilizado

Nos dois animais submetidos à eutanásia não foi identificada incorporação do implante nas interfaces proximal e distal (Figura 50).

O alinhamento foi considerado satisfatório em cinco animais no PO imediato, ficando apenas a interface distal de uma gata com contato implante ósseo/osso receptor não preenchendo toda a circunferência do osso (Figuras 51, 52, 53, 54, 55 e 56).

A placa foi colocada na superfície crânio-lateral do fêmur em um dos animais (Figura 54). Ocorreu fissura longitudinal do implante em dois animais (gatas 25 e 26), sendo isto identificado no exame radiográfico do PO imediato na gata 25 e com 15 dias de PO na gata 26. Na gata 24 foi identificada fissura longitudinal no osso receptor proximal no exame radiográfico com 30 dias.

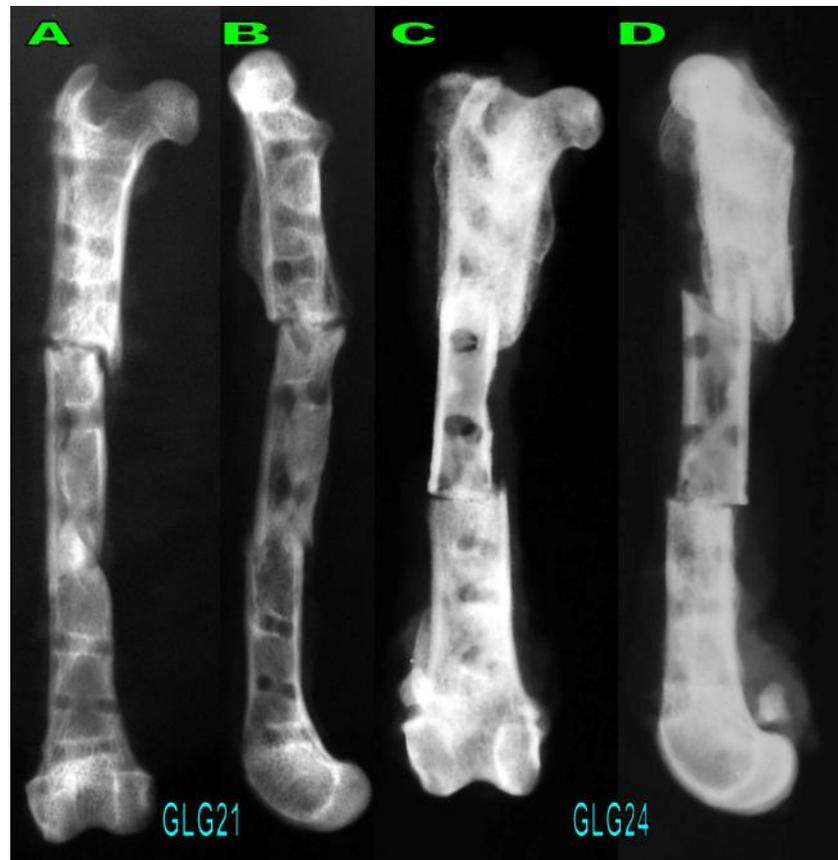


Figura 50 – Imagem radiográfica nas projeções crânio-caudal e médio-lateral da implantação óssea cortical alógena nos gatos domésticos submetidos à eutanásia do grupo liofilizado (GLG21 e GLG24) com 180 dias de pós-operatório sem placa e parafusos. A) crânio-caudal gata 21; B) médio-lateral gata 21; C) crânio-caudal gata 24; D) médio-lateral gata 24.

Houve migração dos parafusos de quatro gatas em diferentes períodos do pós-operatório. Na gata 22 o quarto parafuso migrou com 105 dias de pós-operatório, o terceiro e o sétimo com 120 dias e o quinto e sexto aos 150 dias de pós-operatório. Neste mesmo animal foi identificada reabsorção óssea ao redor dos parafusos três, quatro e cinco com 75 dias de pós-operatório (Figura 52).

No animal 24 os parafusos dois e três migraram com 30 dias de pós-operatório, o primeiro parafuso migrou com 45 dias e aos 75 dias migrou o parafuso quatro. O eixo do osso ficou comprometido, pois apenas a interface distal manteve-se alinhada (Figura 54C). A gata 26 apresentou migração apenas do parafuso três aos 165 dias de pós-operatório.

No gato doméstico 25 o parafuso número três migrou com 15 dias de pós-operatório, o 2 com 30 dias, o seis e o sete com 45 dias, o quatro com 60 dias, o cinco com 90 dias e o primeiro com 120 dias de pós-operatório. O implante apresentou grande deslocamento com apenas 15 dias de pós-operatório, porém não houve perda do eixo normal do osso e a placa deslocou-se após 75 dias da cirurgia (Figura 55).

Em dois animais ocorreu reabsorção intensa do implante tanto na interface proximal quanto na distal (Figuras 52 e 55) e em uma delas houve reabsorção ao redor dos parafusos três, quatro e cinco (Figura 52). Em uma gata houve reabsorção intensa somente na interface proximal (Figura 56) e em outra somente na interface distal, sendo que nesta gata também foi observado reabsorção do implante ao redor dos parafusos (Figura 51).

Calo ósseo exuberante foi identificado em duas gatas, abrangendo todo o osso receptor proximal e parte do implante (Figuras 54 e 55).

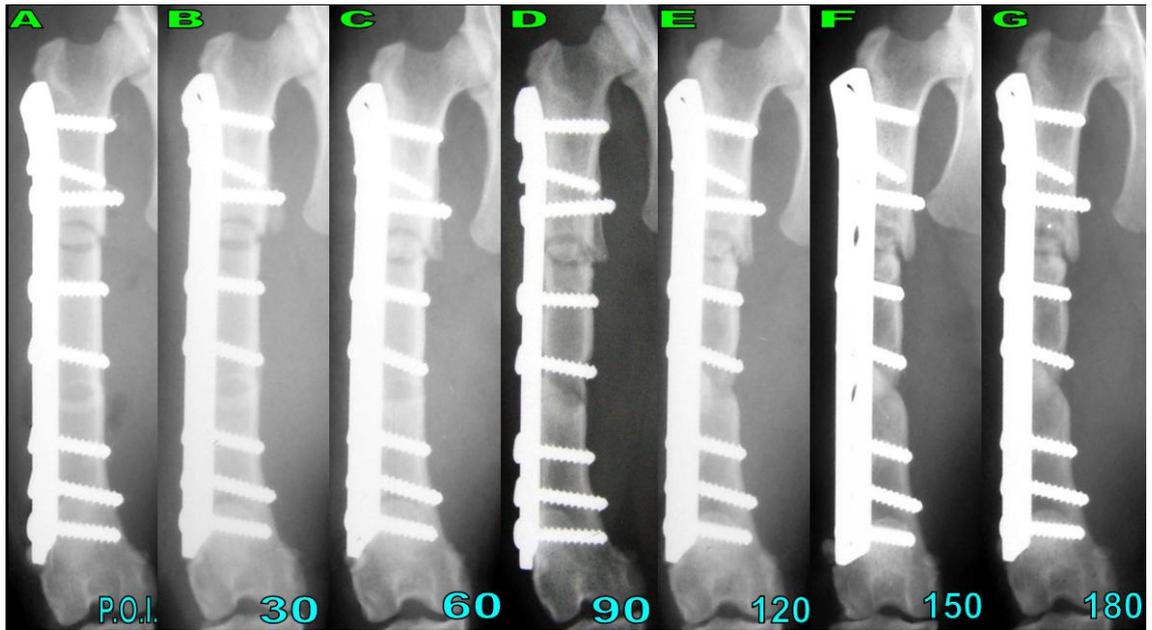


Figura 51 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 21 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

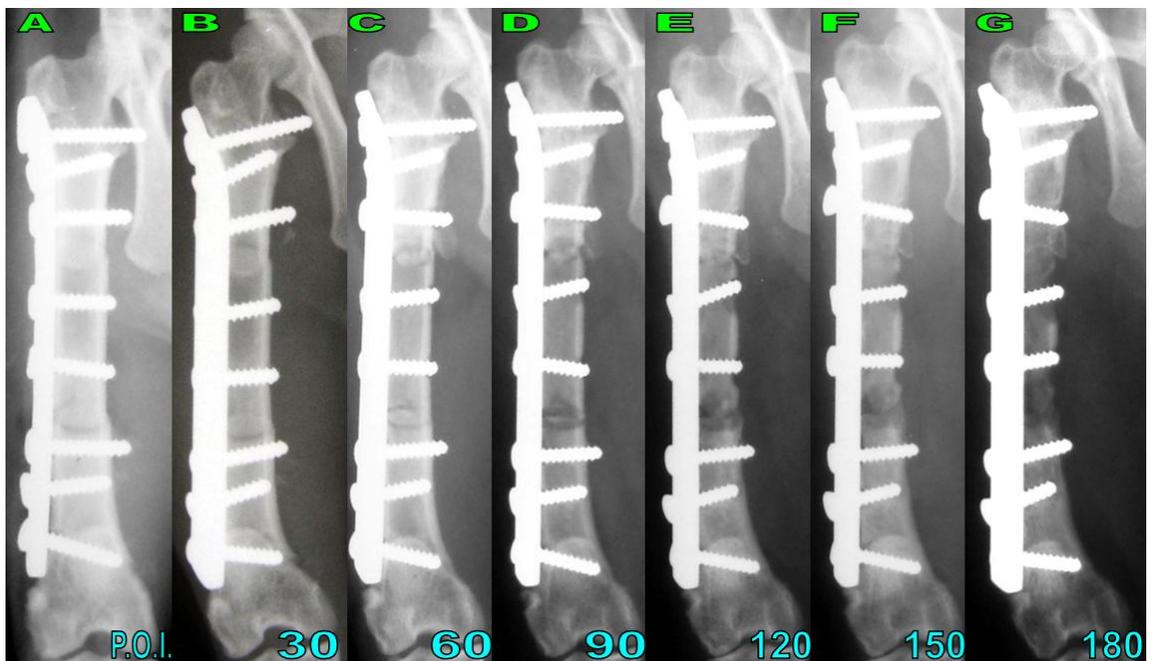


Figura 52 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 22 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

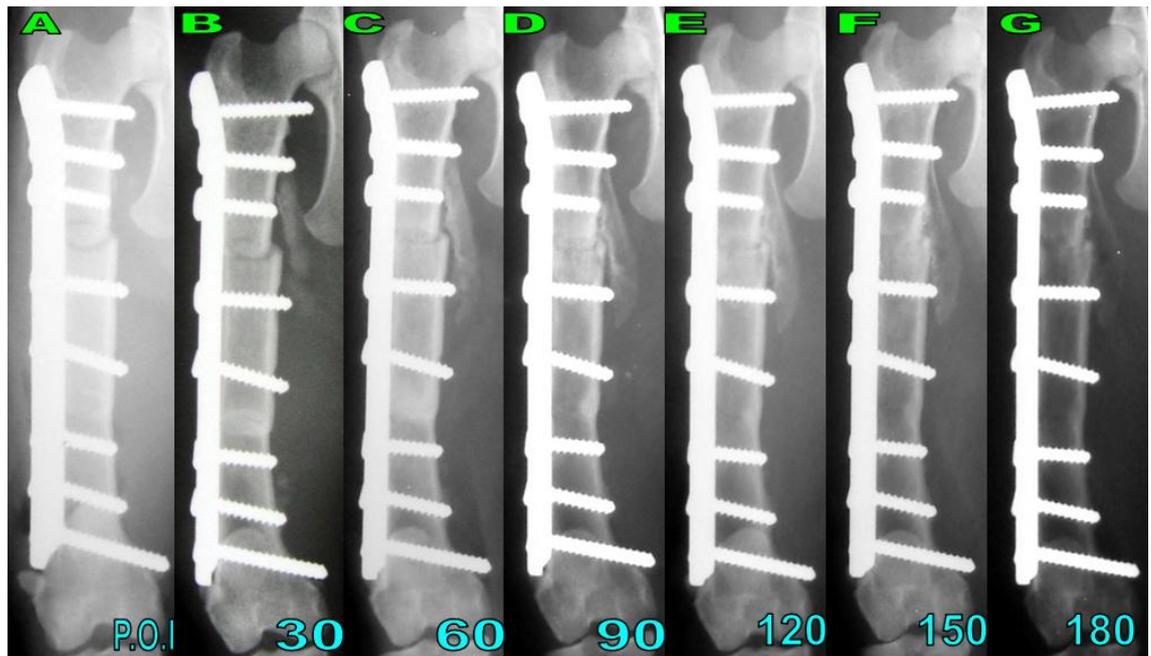


Figura 53 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 23 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

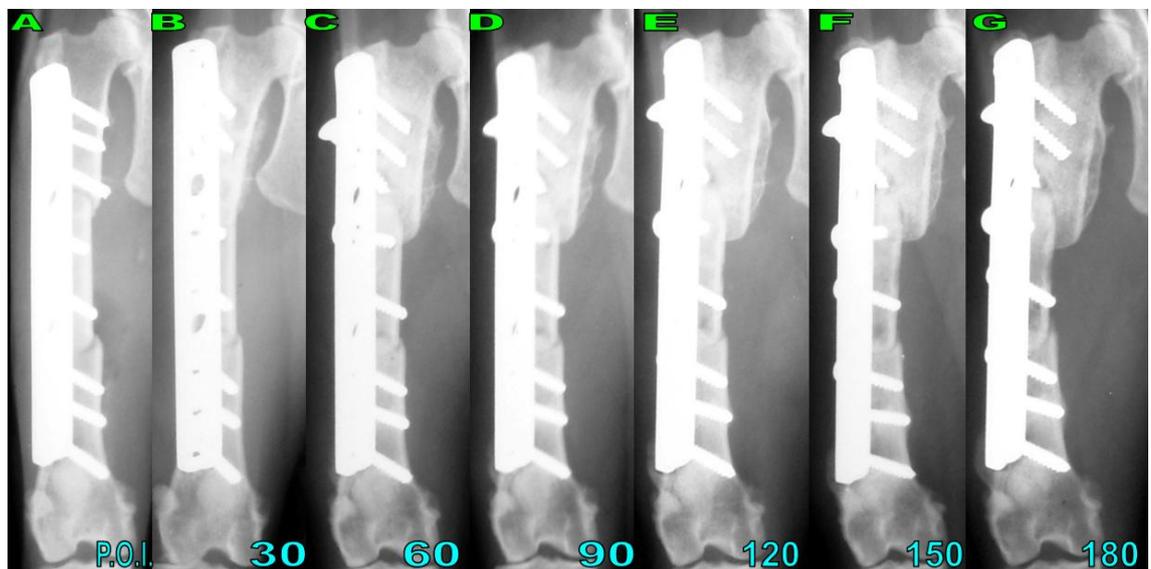


Figura 54 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 24 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

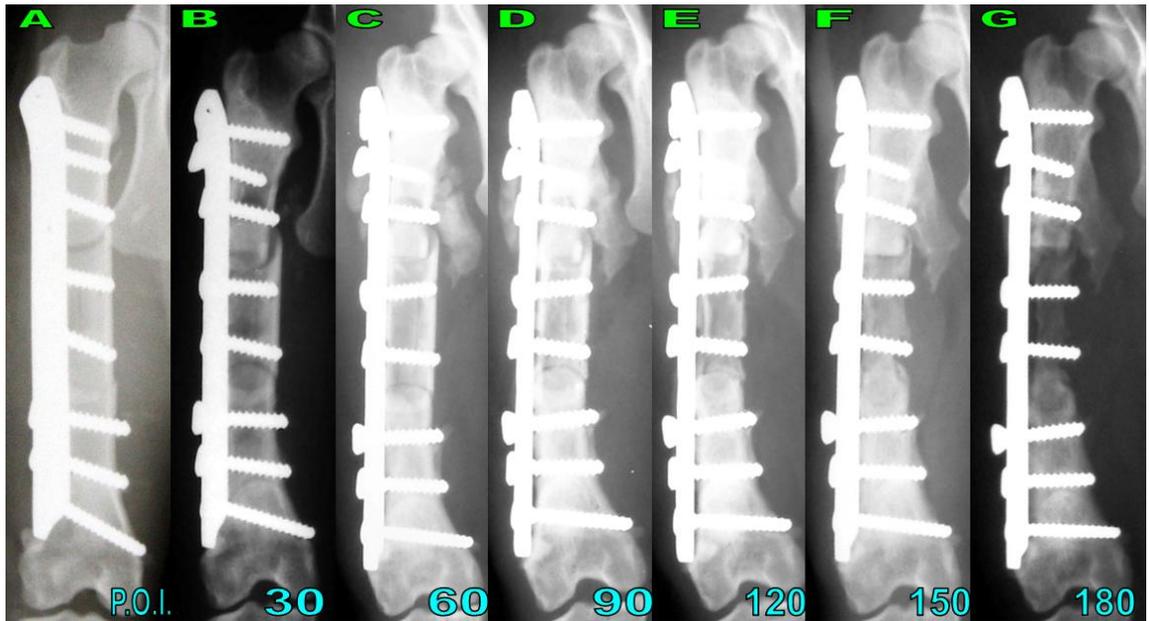


Figura 55 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 25 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

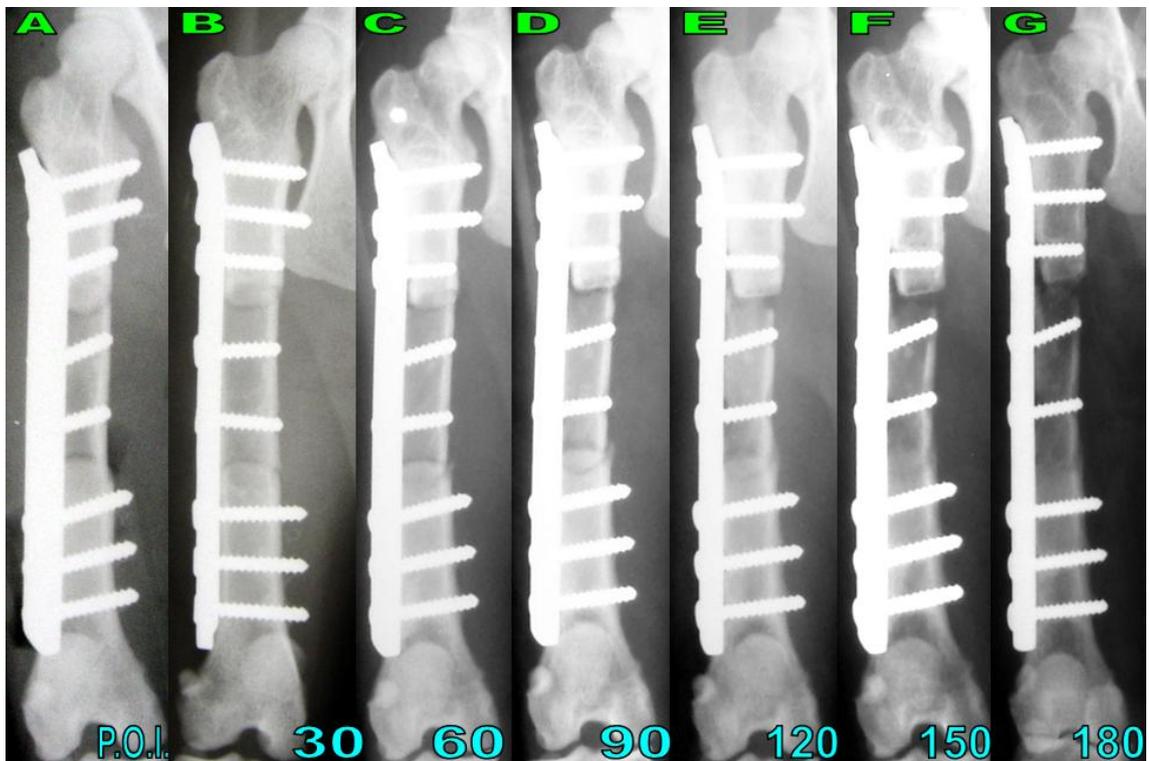


Figura 56 – Imagem radiográfica na projeção crânio-caudal da implantação óssea cortical alógena do gato doméstico número 26 do grupo liofilizado em diferentes períodos do pós-operatório. A) Pós-operatório imediato; B) 30 dias de pós-operatório; C) 60 dias de pós-operatório; D) 90 dias de pós-operatório; E) 120 dias de pós-operatório; F) 150 dias de pós-operatório; G) 180 dias de pós-operatório.

A avaliação dos exames radiográficos em relação à reação periosteal, remodelamento e grau de reabsorção estão representados nas figuras 57, 58 e 59, respectivamente.

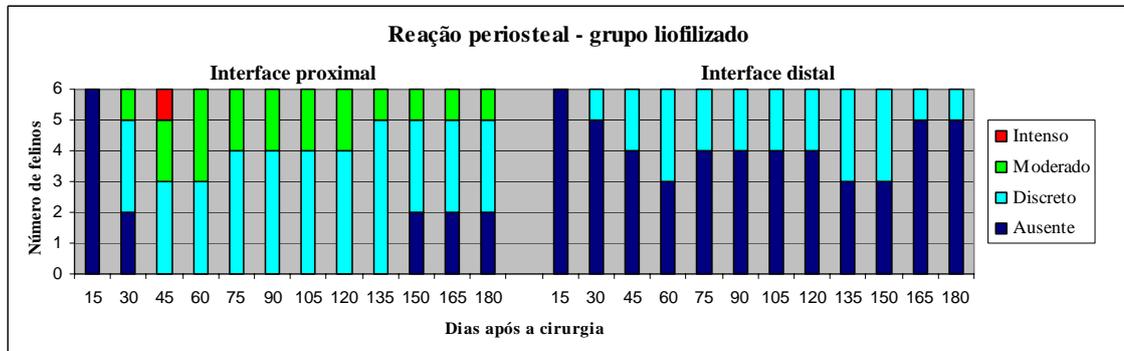


Figura 57 - Representação gráfica do grau de reação periosteal identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.

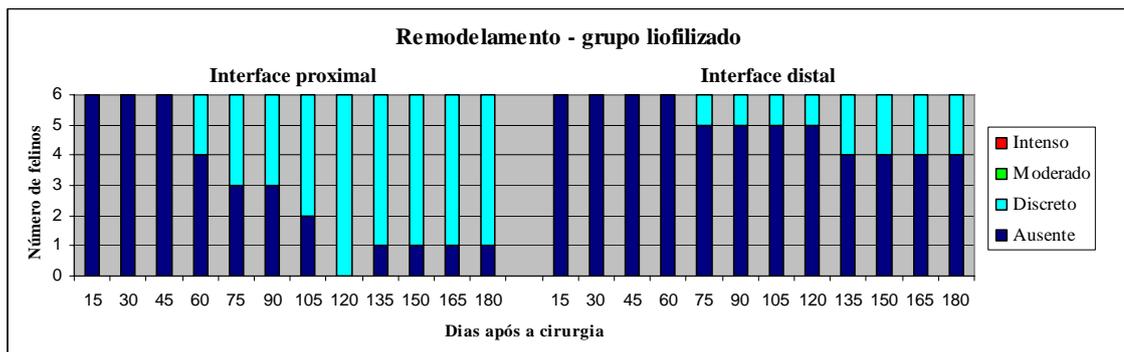


Figura 58 - Representação gráfica do grau de remodelamento identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.

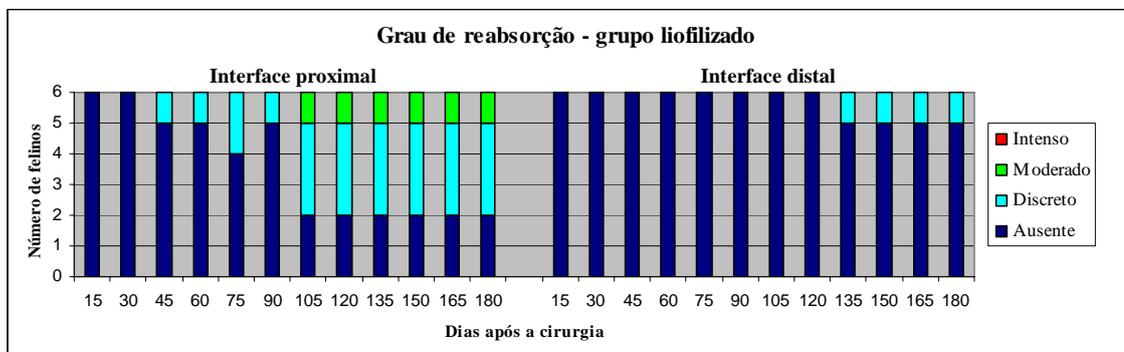


Figura 59 - Representação gráfica do grau de reabsorção identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.

A incorporação neste grupo foi de 16,6% (1/6) na interface proximal, onde em um animal houve incorporação aos 150 dias de pós-operatório e em cinco animais não ocorreu incorporação do implante e 33,3% (2/6) na interface distal, com tempo médio de 105 dias, onde quatro animais não incorporaram o implante (Figura 60).

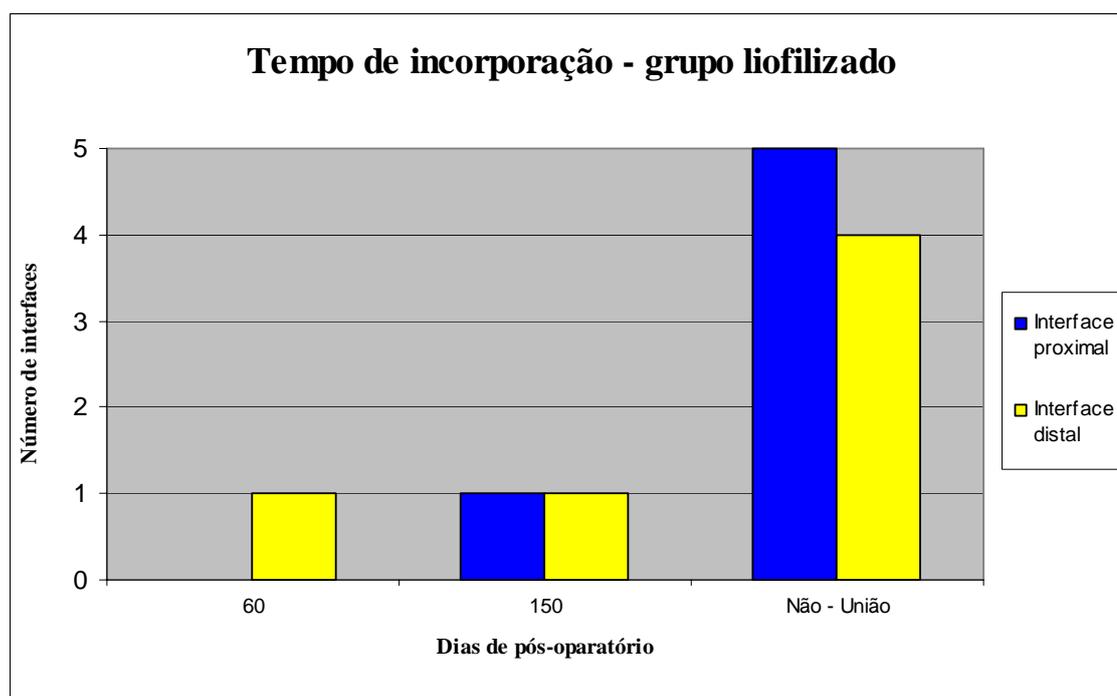


Figura 60 - Representação gráfica do tempo de incorporação identificada por avaliador imparcial nas interfaces proximal e distal em gatos domésticos submetidos à implantação de segmento ósseo cortical alógeno liofilizado.

#### 5.5.5 Avaliação da pontuação radiográfica

Em relação à incorporação/união na interface proximal os resultados dos grupos controle e congelado foram semelhantes, pois ambos apresentaram consolidação nesta interface em todos os animais. No grupo mel houve apenas um animal que apresentou não-união nesta interface e com isso o grupo alcançou pontuação máxima de 11 pontos. Já no grupo liofilizado a pontuação foi bem inferior aos outros grupos, pois apenas um animal obteve consolidação nesta interface (Figura 61).

Na interface distal os grupos controle, mel e congelado mostraram pontuações próximas no que diz respeito à incorporação/união na interface distal, pois no controle um animal não obteve consolidação, enquanto que no congelado e mel isto ocorreu em dois animais. Com relação ao grupo liofilizado, esta pontuação foi menor, pois apenas dois animais apresentaram união adequada (Figura 62).

No item qualidade óssea do implante os animais iniciaram com pontuação próxima do máximo e ela caía de acordo com a visualização de complicações como quebra ou reabsorção. Os grupos controle, mel e congelado mantiveram pontuação alta, pois apresentaram poucas complicações referentes ao implante, porém, houve uma queda grande no grupo liofilizado, pois neste grupo ocorreram duas fraturas do implante e reabsorção em quase todos os animais (Figura 63).

A qualidade do osso receptor foi avaliada normalmente partindo da pontuação mínima e esta aumentava com a resposta do osso ao implante ósseo ocorrendo ou não formação de calo ósseo. Este item revelou uma discrepância um pouco maior entre os grupos controle, mel e congelado, ficando a pontuação do grupo controle próxima do liofilizado apesar dos resultados de consolidação diferentes, isto porque a consolidação no grupo controle se dava sem a formação de calo ósseo exuberante, diferente dos grupos mel e congelado onde a formação de calo ósseo foi mais intensa (Figura 64).

Na pontuação atribuída aos implantes metálicos (placa e parafusos), como não ocorreram complicações significativas nos grupos controle, mel e congelado, esta permaneceu próxima do máximo. No entanto, o grupo liofilizado apresentou um decréscimo grande nesta pontuação, pois houve falha grave dos implantes metálicos em dois animais (Figura 65).

Os animais só obtiveram pontuação máxima no item impressão global da osteossíntese quando havia consolidação em ambas as corticais. Dessa forma, os grupos controle, mel e congelado onde isto ocorreu em cinco, quatro e quatro animais respectivamente, apresentaram pontuação relativamente próxima. No grupo liofilizado a consolidação em duas interfaces somente ocorreu em um animal e a pontuação ficou baixa na relação com os outros grupos (Figura 66).

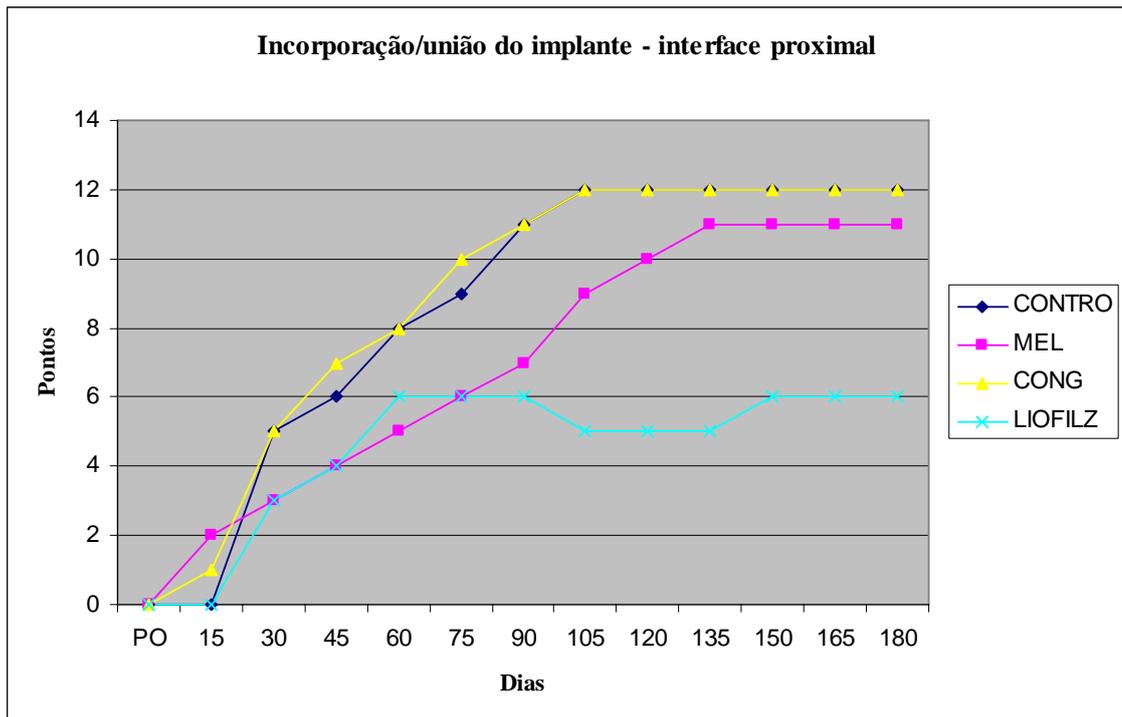


Figura 61 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item incorporação/união do implante na interface proximal.

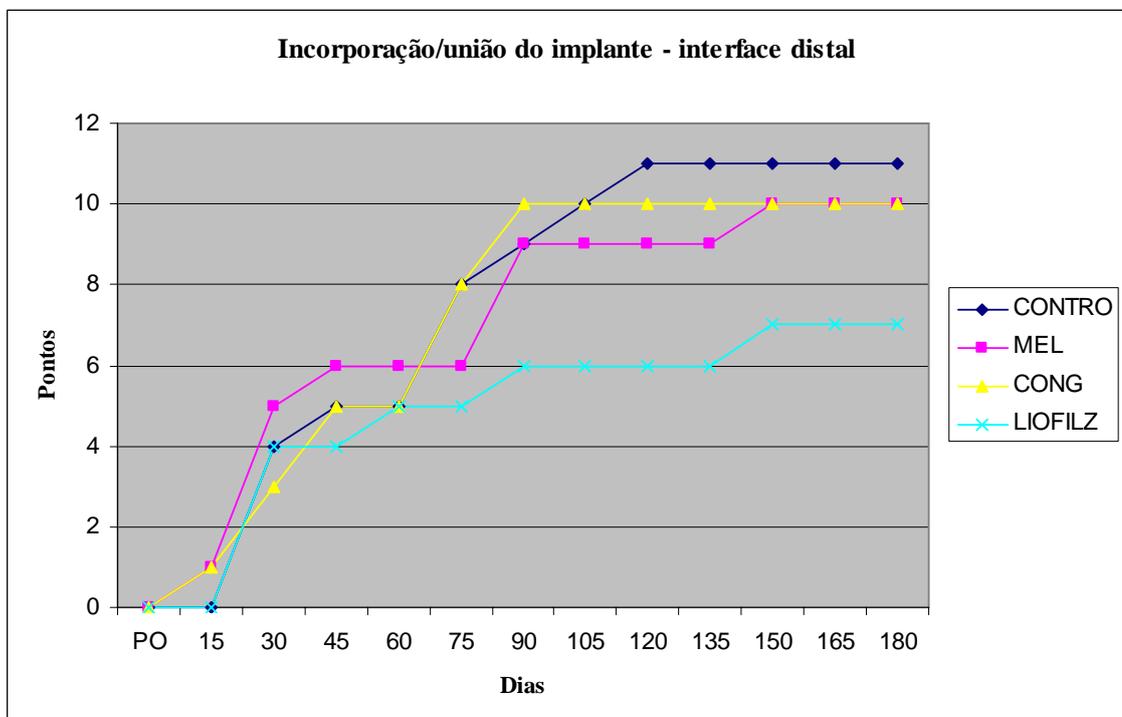


Figura 62 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item incorporação/união do implante na interface distal.

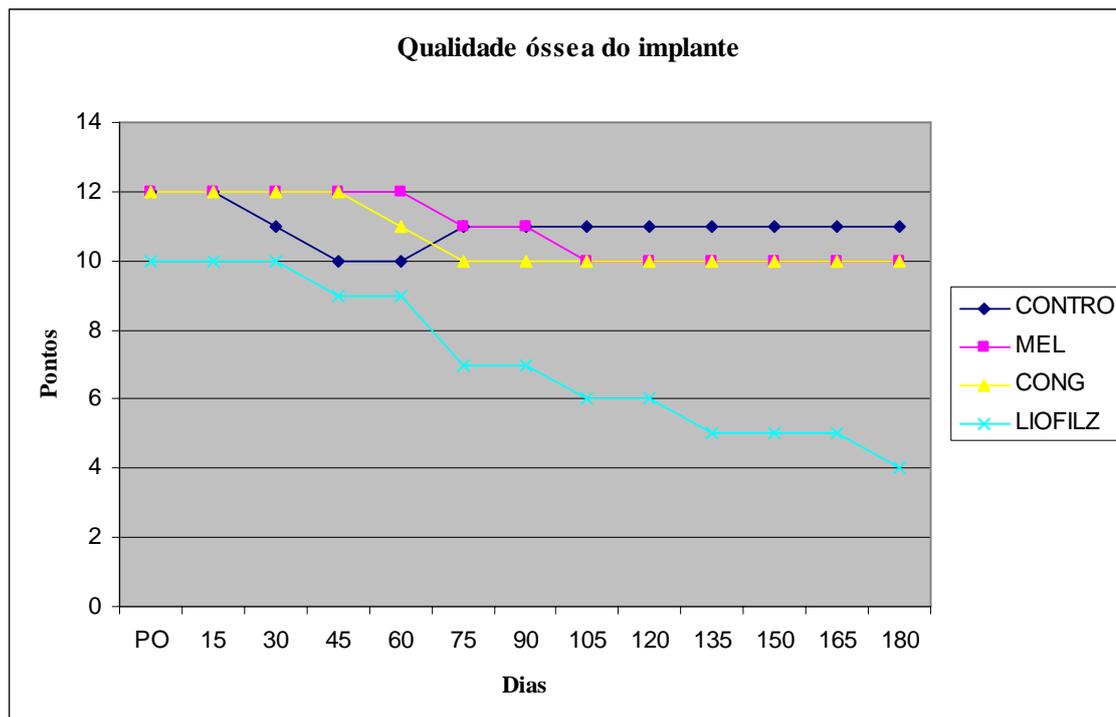


Figura 63 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item qualidade óssea do implante.

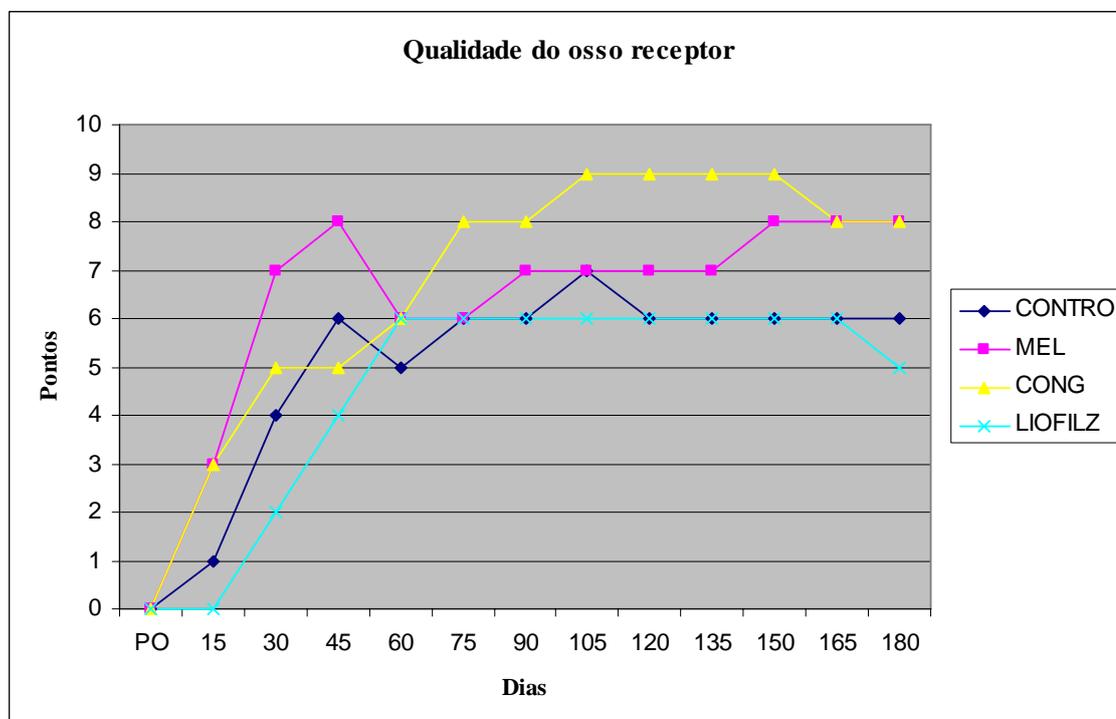


Figura 64 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item qualidade do osso receptor.

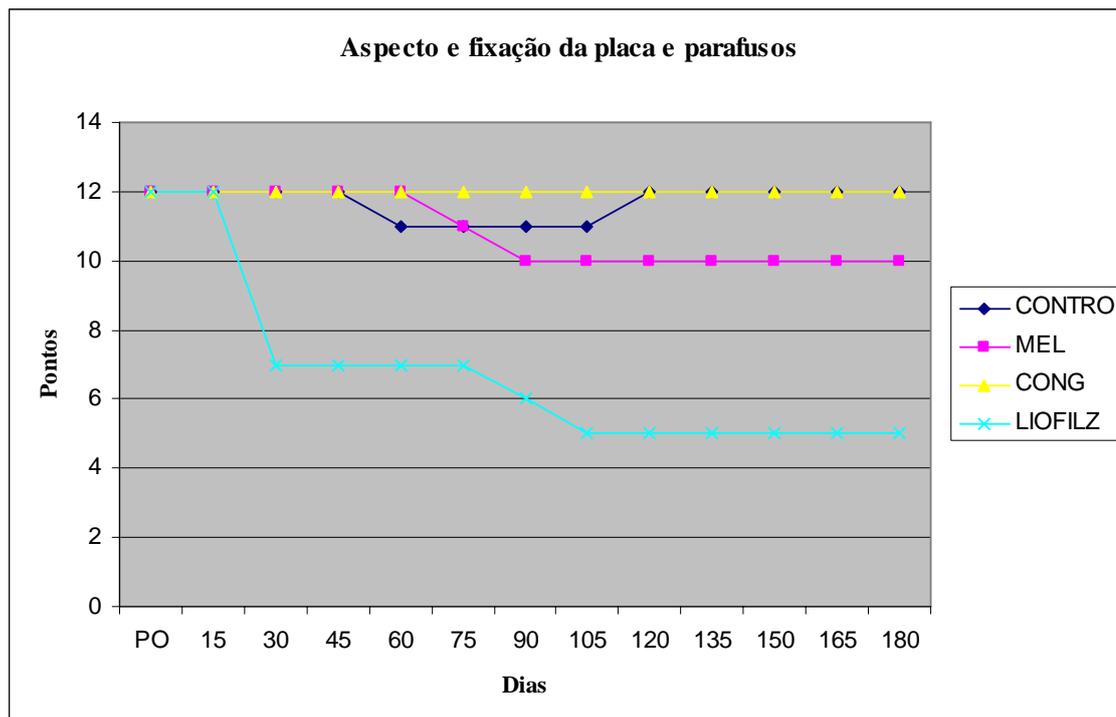


Figura 65 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item aspecto da fixação da placa e parafusos.

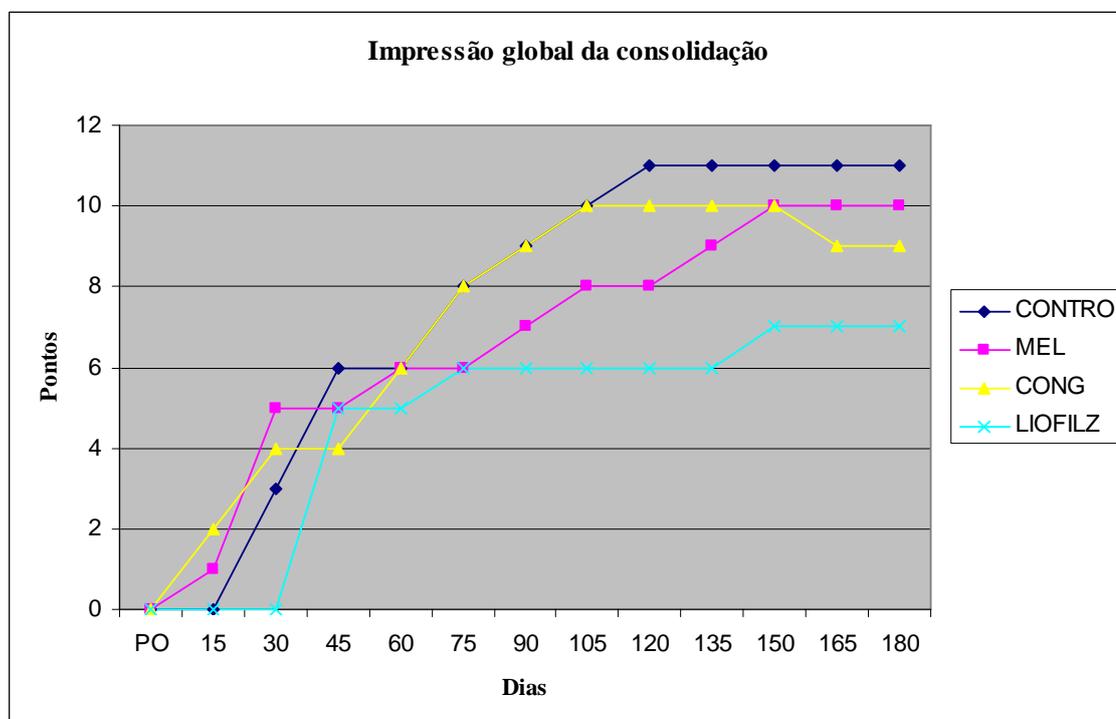


Figura 66 - Representação gráfica da pontuação atribuída por avaliador imparcial através do escore para avaliação radiográfica proposto por Ehrhart et al. (2005) e adaptado para avaliação de enxertos ou implantes ósseos corticais alógenos em diáfise femoral de gatos domésticos no item impressão global da consolidação.

## 5.6 Análise estatística

Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos quando foram comparados: tempo de incorporação na interface proximal, tempo de incorporação na interface distal, peso dos animais, comprimento do fêmur e comprimento do implante. As variáveis categóricas: deambulação, reação periosteal, reabsorção, remodelamento, bem como a pontuação dos exames radiográficos, atribuídas através do escore já citado foram representadas graficamente. As variáveis onde houve diferença significativa estão representadas na tabela 4.

Tabela 4: Valores médios das variáveis: tempos de cirurgia, porcentagem: comprimento do fêmur/comprimento do implante, porcentagem dos implantes com consolidação.

Variáveis	Controle	Mel	Congelado	Liofilizado	P
Tempo de cirurgia (min.)	144,66 <sup>a</sup>	131 <sup>a,b</sup>	129 <sup>a,b</sup>	118 <sup>b</sup>	0,011
Porcentagem: comp.fêmur/comp.implante	29,38% <sup>a</sup>	30,15% <sup>a,b</sup>	30,82% <sup>b</sup>	30,68% <sup>a,b</sup>	0,04
Porcentagem de interfaces com consolidação.	91,7% <sup>a</sup>	75% <sup>a,b</sup>	83,3% <sup>a</sup>	25% <sup>b</sup>	0,002

a,b: letras iguais correspondem a grupos iguais, letras diferentes correspondem a grupos diferentes

## 5.7 Avaliação macroscópica

### 5.7.1 Grupo controle

No grupo controle foram submetidos à eutanásia os animais um e quatro.

No gato doméstico um houve aderência de tecidos moles ao longo do osso, não sendo observada reação periosteal intensa. Durante a retirada dos parafusos e da placa, observou-se que os parafusos um, dois, seis e sete encontravam-se firmes, os parafusos três, quatro, cinco e oito estavam móveis, porém houve necessidade de girá-los para retirada. A placa estava aderida ao osso e recoberta por uma fina camada de tecido fibroso. Após a retirada da placa foram avaliadas as interfaces proximal e distal em relação à mobilidade. Neste animal, as interfaces proximal e distal encontravam-se firmes, não sendo possível diferenciar o osso receptor do implantado (Figura 67A e B).

No gato doméstico quatro todos os parafusos estavam fixados ao osso de forma firme, e recobertos por uma camada fina de tecido fibroso, sendo também observada aderência de tecidos moles ao longo da região. A placa estava aderida ao osso e, ao retirá-la, não foi identificada diferença de coloração entre o osso receptor e o implantado, estando as interfaces proximal e distal sem mobilidade (Figura 67C e D).

### 5.7.2 Grupo mel

No grupo mel foram submetidos à eutanásia os animais 16 e 19.

No animal 16 foi identificada uma quantidade grande de tecido mole (músculo e tecido fibroso) aderida à placa e ao osso. Os parafusos um, dois, três, seis, sete e oito, que fixavam a placa ao osso receptor estavam firmes, já os parafusos quatro e cinco, que fixavam a placa ao implante, estavam soltos, porém foi necessário girá-los durante a remoção. A placa estava firme, principalmente devido à presença de tecido mole adjacente. Havia reação periosteal não muito intensa tanto na interface proximal quanto na interface distal, sendo possível diferenciar a osso receptor do osso implantado na interface distal devido à diferença de coloração. Tanto a interface proximal quanto a distal encontravam-se sem mobilidade (Figura 67E e F).

No animal 19 havia grande quantidade de tecido fibroso envolvendo a placa e o implante. Todos os parafusos encontravam-se adequadamente firmes e a placa estava

aderida ao osso, pois ocorreu crescimento ósseo sobre a placa, sendo difícil a sua remoção. Havia reação periosteal intensa nas interfaces proximal e distal, principalmente na região caudo-medial do fêmur e estas encontravam-se sem mobilidade. Foi possível diferenciar o osso receptor do osso implantado, pois o último apresentava uma coloração mais clara (Figura 67G e H).

### 5.7.3 Grupo congelado

No grupo congelado foram submetidos à eutanásia os animais sete e 14.

Na gata número sete havia moderada quantidade de tecido mole e fibroso aderidos à placa e ao osso, apenas o parafuso cinco estava solto, sendo necessário rosquear no momento da retirada. A placa não estava aderida ao osso, mas estava firme devido à presença de tecido mole adjacente. Não havia mobilidade nas interfaces proximal e distal, porém estas apresentavam uma coloração diferente dos ossos receptor e implantado. Não foi percebida reação periosteal intensa em nenhuma das interfaces (Figura 68A e B).

O animal número 14 apresentava grande quantidade de tecidos mole e fibroso aderidos à placa e ao osso, sendo difícil a localização dos parafusos. Apenas o parafuso cinco estava solto, sendo necessário girá-lo na retirada. Todos os outros parafusos estavam adequadamente firmes, bem como a placa, que estava fixada ao osso por tecido fibroso. A interface proximal estava firme e não apresentou reação periosteal intensa, porém apresentava coloração diferente quando comparada ao restante do osso. A interface distal apresentava mobilidade e, apesar de ter aumento de volume nesta região, este não provinha estabilidade à interface distal (Figura 68C e D).

### 5.7.4 Grupo liofilizado

No grupo liofilizado foram submetidos à eutanásia os animais 21 e 24.

A gata 21 apresentou grande quantidade de tecido mole e fibroso aderido à placa e ao osso, sendo difícil a visualização dos parafusos. No momento da retirada, os parafusos um, dois, três, quatro e cinco estavam soltos, porém foi necessário girá-los. Já os parafusos seis, sete e oito estavam firmes. A placa estava solta, sendo facilmente removida após a retirada dos parafusos. Havia reação periosteal nas interfaces proximal e distal, porém com maior intensidade na distal e elas encontravam-se firmes, sem

mobilidade. As interfaces estavam com uma coloração mais escura que o osso receptor e o implante apresentava áreas amareladas (Figura 68E e F).

Na gata 24 havia uma quantidade muito grande de tecido mole ao redor de todo o osso e uma intensa reação periosteal tanto na interface proximal quanto na distal. Foi difícil localizar a placa e os parafusos, sendo que os parafusos três, quatro, cinco e seis estavam soltos. Os demais parafusos também estavam soltos, porém foi preciso girá-los na hora da retirada. A placa estava solta e tanto a interface proximal quanto a distal apresentavam mobilidade. O osso implantado estava com uma coloração mais escura em relação ao osso receptor e no local de fixação dos parafusos havia dois orifícios grandes com tecido enegrecido em volta. Este foi o animal que apresentou trato fistuloso no pós-operatório, conforme mencionado anteriormente (Figura 68G e H).

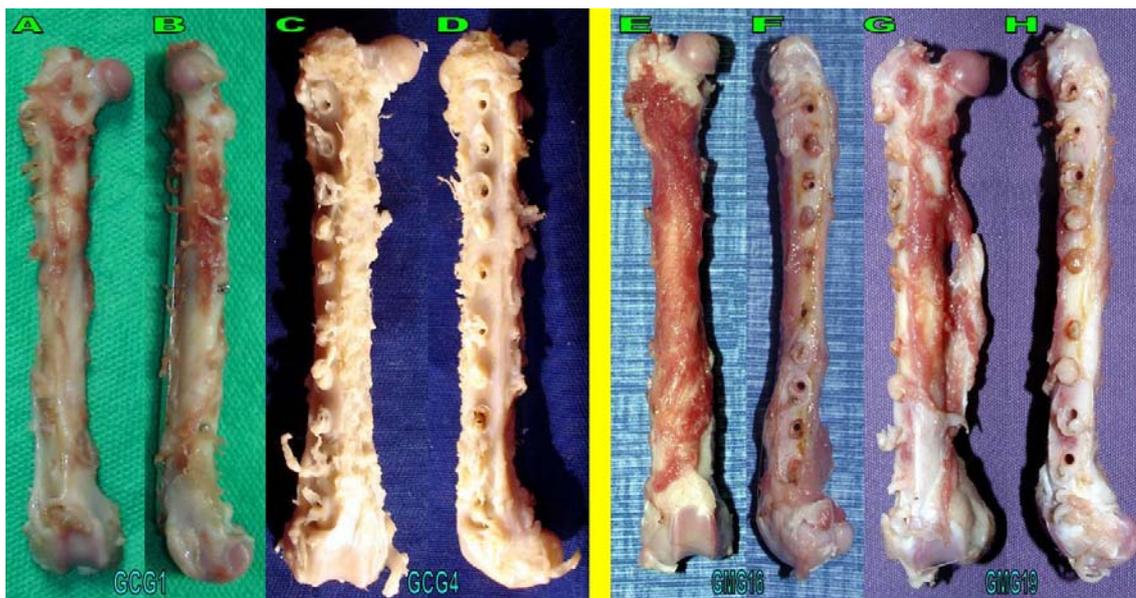


Figura 67 – Imagem do fêmur dos gatos domésticos submetidos à eutanásia após implantação óssea cortical autógena ou alógena dos grupos controle (GCG1 e GCG4) e mel (GMG16 e GMG19), respectivamente. Com 180 dias de pós-operatório e após remoção de grande parte dos tecidos moles e da placa com os parafusos. A) cranial gata um; B) lateral gata um; C) cranial gata quatro; D) lateral gata quatro; E) cranial gata 16; F) lateral gata 16; G) cranial gata 19; H) lateral gata 19.

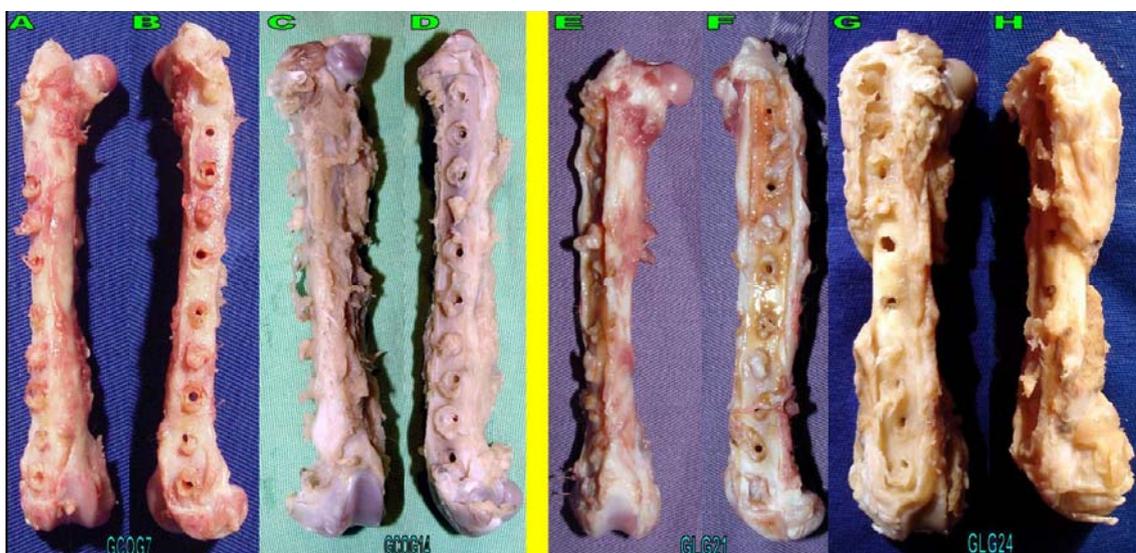


Figura 68 – Imagem do fêmur dos gatos domésticos submetidos à eutanásia após implantação óssea cortical alógena dos grupos congelado (GCOG7 e GCOG14) e liofilizado (GLG21 e GLG24). Com 180 dias de pós-operatório e após remoção de grande parte dos tecidos moles e da placa com os parafusos. A) cranial gata sete; B) lateral gata sete; C) cranial gata 14; D) lateral gata 14; E) cranial gata 21; F) lateral gata 21; G) cranial gata 24; H) lateral gata 24.

## 5.8 Avaliação histológica

Foi realizada a análise histológica de amostras dos enxertos submetidos às diferentes formas de conservação, buscando avaliar a incorporação do tecido enxertado ao receptor.

### 5.8.1 Grupo controle

No grupo controle, pôde ser observada a remodelação tecidual através da formação de discretos focos de cartilagem na interface proximal da gata quatro, havendo dificuldade na diferenciação histológica entre o implante e o osso do receptor. Na interface proximal da gata um, evidenciou-se presença de fibrose e ativação do perióstio, entretanto, na interface distal, não foi identificada a incorporação do enxerto, o que possibilitou a diferenciação entre o tecido ósseo implantado e o receptor através da visualização de áreas de necrose, fibrose e tecido cartilagenoso (Figura 69).

### 5.8.2 Grupo mel

Submetidas à conservação em mel, as amostras de dois animais demonstraram a boa incorporação do implante onde, em muitos casos, não foi possível observar a transição entre osso normal e implantado após o período experimental. Foi observada ativação do perióstio na extremidade proximal da gata 16 e áreas de formação de cartilagem na interface distal do implante ósseo, no mesmo animal. As interfaces correspondentes à gata 19 apresentaram boa incorporação, havendo união completa entre implante ósseo e receptor, que estava em fase de remodelamento (Figura 70).

### 5.8.3 Grupo congelado

No grupo em que os implantes permaneceram congelados, observaram-se áreas de formação de tecido cartilagenoso e ativação do perióstio, na interface proximal da gata 14, ocorrendo completa incorporação do implante. Na interface distal, pôde ser vista uma extensa área em que ocorreu reabsorção do implante ósseo e do osso receptor, com substituição por tecido fibroso e cartilagenoso. A gata sete demonstrou boa

incorporação do implante, com dificuldade na diferenciação entre tecido receptor e implantado, estando este em fase de remodelamento (Figura 71).

#### 5.8.4 Grupo liofilizado

Quando a forma de armazenamento dos implante ósseos foi liofilização, na gata 24 houve extensa área de tecido fibroso envolvendo o implante, associado à presença de processo inflamatório purulento, nas interfaces proximal e distal. Foi verificado que o tecido ósseo implantado encontrava-se necrótico, caracterizando uma reação do tipo corpo estranho. Pôde ser observada ainda, na interface distal, a presença de osteoclastos. Com relação à gata 21, a imagem histológica das duas interfaces revelou que o tecido ósseo implantado havia necrosado e estava associado à presença de tecido fibroso e cartilaginoso numa tentativa de formação de calo ósseo com ausência de reação inflamatória (Figura 72).

### 5.9 Avaliação bacteriológica

Nas análises bacteriológicas realizadas no grupo controle, no momento da implantação, não foi encontrada contaminação, da mesma forma, nos grupos congelado e liofilizado todas as colheitas apresentaram resultado negativo, tanto na obtenção do implante quanto no momento da implantação. No grupo mel apenas uma das colheitas, realizada no momento da implantação no felino nº 19, foi positiva para a bactéria gram positiva *Brevibacterium* sp.

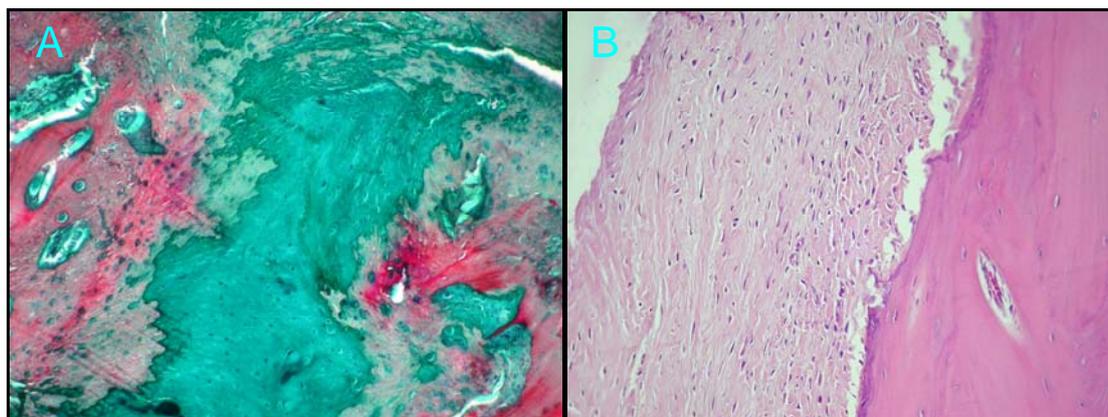


Figura 69 – Avaliação histológica da implantação óssea cortical autógena na diáfise femoral de gatos domésticos após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata um, interface distal, com coloração de Tricômio de Masson, revelando área de transição entre o enxerto e o osso receptor. B) Fotomicrografia da gata um, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina, revelando presença de fibrose com ativação do periósteo.

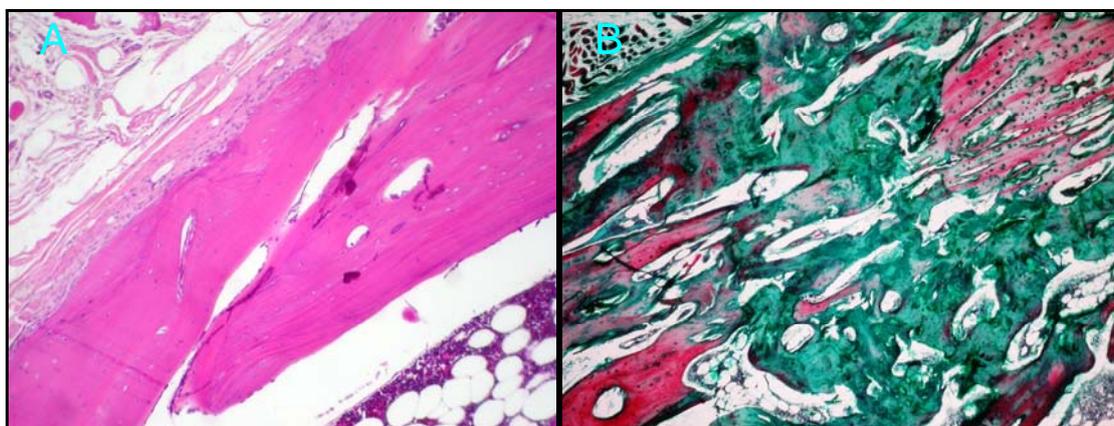


Figura 70 – Avaliação histológica da implantação na diáfise femoral felina de segmento ósseo conservado em mel após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata 19, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina, revelando área de união entre o implante ósseo e o osso receptor, em fase de remodelamento. B) Fotomicrografia da gata 16, interface distal, com coloração de Tricômio de Masson evidenciando a área de transição entre o implante ósseo e o osso receptor, com presença de cartilagem.

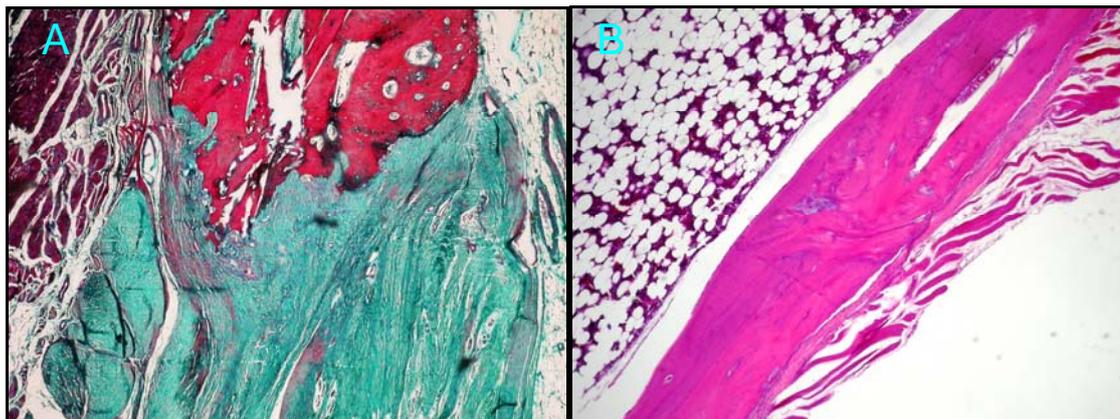


Figura 71 – Avaliação histológica da implantação na diáfise femoral felina de segmento ósseo conservado em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata 14, interface distal, com coloração de Tricômio de Masson, revelando substituição do tecido ósseo por tecido fibroso e cartilaginoso B) Fotomicrografia da gata 14, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina evidenciando áreas com focos de cartilagem e periósteo ativado.

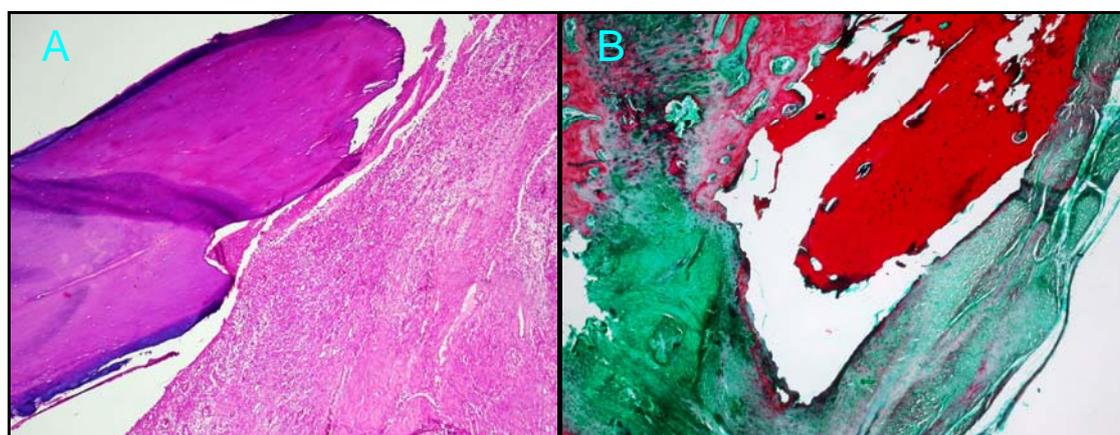


Figura 72 – Avaliação histológica da implantação na diáfise femoral felina de segmento ósseo liofilizado após 180 dias de pós-operatório. A) Fotomicrografia da gata 24, interface proximal, com coloração de Hematoxilina e Eosina, revelando extensa área de fibrose associado a processo inflamatório purulento. B) Fotomicrografia da gata 21, interface proximal, com coloração de Tricômio de Masson evidenciando área com tecido ósseo implantado morto (área avermelhada), associado à fibrose e cartilagem, sem reação inflamatória.

## 6 DISCUSSÃO

A utilização do segmento ósseo removido de um animal submetido à implantação óssea cortical alógena em outro animal do experimento permitiu diminuir o número de animais submetidos à eutanásia para a formação do banco de ossos. Neste experimento foram utilizados 20 implantes ósseos corticais alógenos e somente dois animais foram sacrificados para obtenção dos quatro primeiros implantes, tal como utilizado por Toombs e Wallace (1985), Nather et al. (1990a), Nather et al. (1990b), Nather e Goh (2000), Nather (2001), Nather et al. (2004) e Alievi et al. (2007). Estes podem também ser obtidos a partir de animais encaminhados para eutanásia por apresentarem afecção intratável (COSTA, 1996).

A coleta dos ossos pode ser feita com o animal sob efeito de anestesia geral (TOOMBS; WALLACE, 1985) ou logo após a eutanásia, não afetando a qualidade do implante (HENRY JR.; WADSWORTH, 1981a). Neste trabalho, a coleta foi realizada das duas formas e isso não influenciou nos resultados, pois não houve diferença em relação à consolidação entre os quatro primeiros animais (dois gatos domésticos do grupo mel e dois do congelado) que receberam implantes coletados dos animais submetidos à eutanásia, e os que receberam implantes dos gatos submetidos à implantação óssea cortical e, portanto, estavam sob efeito da anestesia inalatória no momento da remoção do segmento ósseo para conservação.

A coleta dos ossos imediatamente após a eutanásia evitou o sofrimento dos animais, diminuiu o gasto com anestésico, possibilitou um menor número de pessoas envolvidas no procedimento e evitou o desconforto destas pessoas em realizar o procedimento com o animal vivo. Segundo Feofiloff e Jesus-Garcia (1996), com a coleta sendo feita desta forma, não há tempo suficiente para ocorrer crescimento bacteriano no doador.

Embora Costa (1996), Amendola et al. (2003) e Gaiga e Schossler (2003) tenham concluído em seus experimentos não ser necessária coleta asséptica dos implantes ósseos conservados em glicerina ou mel, devido à ação bactericida destas soluções, optou-se pela coleta dos ossos seguindo rígidos princípios de assepsia, diminuindo dessa forma o risco de contaminação dos implantes e possível interferência nos resultados, como recomendaram Melo (1997), Del Carlo et al., (1999), Julián e Valentí (2006) e Amendola (2007).

A formação de um banco de ossos é onerosa e necessita de uma equipe multidisciplinar para sua manutenção (FUJIKI et al., 2005). A utilização do mel como conservante em um banco de ossos tem como vantagens o baixo custo de manutenção quando comparado ao congelamento e não necessita de equipamento especializado quando comparado com a liofilização. Pinto Júnior (1995) comentou ainda que o alto custo dos equipamentos para refrigeração e estabilização da energia elétrica muitas vezes inviabilizam a manutenção de um banco de ossos congelados.

Diferente do implante ósseo liofilizado que pode ser estocado por tempo indefinido, o implante ósseo conservado em mel ainda precisa de estudos que identifiquem os tempos máximo e mínimo de estocagem (ALIEVI, 2006). No presente estudo, para evitar qualquer tipo de influência do tempo de manutenção no mel, optou-se por conservar os implantes por um período de 30-35 dias, existindo, entretanto, citações da utilização bem sucedida entre um e oito meses de conservação no mel (AMENDOLA, 2001 e GAIGA, 2002).

Silva et al. (2000) citaram como vantagens da liofilização a possibilidade de armazenagem em temperatura ambiente e a facilidade de envio dos implantes para hospitais ou clínicas em diferentes localidades. Vantagens estas que também se aplicam aos implantes conservados em mel.

O mel foi escolhido como conservante neste estudo por apresentar resultados favoráveis em pesquisas onde este foi utilizado para conservação de implantes ósseos em cães (AMENDOLA, 2001, ALIEVI, 2006), aves (GAIGA, 2003) e humanos (MSCHVIDOBDASE, 1978), sendo utilizado também para conservação de pele (GUPTA, 1977; SUBRAHMANYAN, 1993) e córnea (ABRAMOV; MARKICHEVA, 1983).

A escolha do fêmur como local de implantação óssea cortical foi baseada no fato desta região ser frequentemente acometida por fraturas cominutivas em gatos domésticos (SCOTT; McLAUGHLIN, 2007), já tendo sido estudado por Wadsworth e Henry (1976) e Henry e Wadsworth (1981a).

A capacidade de regeneração óssea já foi estudada em diversas espécies como cães (HARRIS et al., 1977), ratos (PAPPAS, 1968) e coelhos (CRIGUEL; BALLIGAND, 2002). Sabe-se que um defeito cortical segmentar com 1,5 vezes o diâmetro diafisário ultrapassa a capacidade regenerativa do osso em cães (KEY, 1934). Em gatos domésticos, Toombs et al. (1985) estabeleceram que defeitos ósseos segmentares com 1,25 a 1,52 vezes o diâmetro diafisário de tíbias produziram em cinco

animais quatro não-uniões e uma união retardada. Baseado nisto, acreditou-se que o modelo utilizado neste experimento representa de maneira fidedigna uma falha com necessidade de implantação óssea, pois o menor defeito representou quase três vezes o diâmetro diafisário do fêmur. O defeito criado representou aproximadamente 30% do comprimento do osso e objetivou recriar uma situação hipotética da rotina de atendimentos ortopédicos, onde dificilmente seria possível preencher este defeito com osso autógeno, submetendo tanto o implante ósseo quanto o método de estabilização ao estresse biomecânico, principalmente compressivo.

Este mesmo padrão de defeito ósseo foi utilizado por Alievi et al. (2007) em fêmur de cães. Estes autores comentaram que tal modelo não invalida os experimentos que utilizaram pequenos fragmentos ósseos, mas possibilita, por outro lado, uma extrapolação dos resultados obtidos experimentalmente para os casos clínicos. Os implantes do grupo controle representaram em média 29,38% do fêmur, sendo estatisticamente menor do que no grupo congelado com média de 30,82%, porém não foi observado diferença estatística em relação à consolidação nas interfaces. Estes achados corroboram com (STEVENSON et al., 1997 e SINIBALDI, 1989) que afirmaram não ser o comprimento do implante o fator mais importante na sua incorporação.

Nather et al. (1990a) observaram que enxertos corticais autógenos utilizados em tíbia de gatos domésticos incorporaram mais rapidamente quando não era removido o perióstio. Conforme Henry Jr. e Wadsworth (1981) e Julián e Valentí (2006), a remoção do perióstio se justifica pela diminuição da imunogenicidade do implante, não sendo necessária em enxertos autógenos. Porém, neste estudo, foi feita a remoção do perióstio, endóstio e medula óssea também no grupo controle, como forma de manter uma metodologia uniforme em todos os grupos.

A utilização de implante alógeno evita possíveis complicações decorrentes da coleta de enxerto autógeno, pois isto poderia provocar dor, edema e claudicação, como visto por Atalar et al. (2007) em pacientes humanos com fratura proximal de úmero por impactação, tratados com enxerto autógeno oriundo da crista íliaca. Além disso, o volume de osso cortical autógeno que poderia ser coletado de um gato doméstico, muito provavelmente seria insuficiente para preencher uma falha óssea de três centímetros no fêmur, sendo neste caso necessário recorrer ao enxerto alógeno, como recomendado por Dórea et al. (2005).

Foram utilizados no mínimo 45 minutos de reidratação em todos os implantes ósseos como forma de padronização para o experimento. Fujiki et al. (2005) utilizaram pelo menos 60 minutos e Burchardt et al. (1978) duas horas de reidratação em ossos liofilizados. Embora esses tempos tenham sido um pouco maiores do que o utilizado nos implantes ósseos do presente estudo, é improvável que isso tenha influenciado nas complicações observadas nos animais deste experimento, pois mesmo que o tempo tenha sido insuficiente para a completa reidratação do implante, Conrad et al. (1993) afirmaram que o processo de reidratação se completa com os fluídos corporais após implantação.

Embora existam outros métodos para estabilização de implantes ósseos como pino intramedular associado à aparelho de Kirshner tipo I (BLOOMBERG et al., 1984), pino intramedular (NATHER, 2001), haste intramedular bloqueada (JULIÁN e VALENTÍ, 2006), haste intramedular não bloqueada (VANDER GRIEND, 1994) e imobilização externa (NATHER et al., 1990), neste estudo foi utilizado placa e parafusos, sendo essa uma forma de estabilização rígida, permitindo aos animais retorno precoce à deambulação, tal como observado por Alievi (2006) em cães e por Teixeira et al. (2007) em ovinos. Julián e Valentí (2006) consideraram que, em humanos, houve recuperação deambulatoria mais rápida quando os implantes foram fixados com haste intramedular bloqueada. A precoce utilização do membro operado é importante, pois mantém a força, a massa muscular, a agilidade e a coordenação (HOULTON; DUNNING, 2005), evitando a doença da fratura, caracterizada por atrofia e retardo na consolidação (REIS et al., 2002).

Tanto Henry Jr. e Wadsworth (1981a e b) como Bloomberg et al. (1984) consideraram a fixação com placa e parafusos o método de escolha para estabilização de implantes ósseos corticais alógenos, ressaltando a necessidade de um longo período para que o implante adquira a mesma resistência que o osso receptor. Este método de estabilização possibilita, segundo Alievi et al. (2007), compressão entre as interfaces implante ósseo/osso receptor, sendo este fator fundamental para que ocorra adequada incorporação (HENRY JR.; WADSWORTH, 1981a, STEVENSON et al., 1991). Neste experimento o método permaneceu estável, mesmo naqueles animais que apresentaram não-união, e só ocorreu falha importante da técnica nos animais em que houve complicações como quebra do implante ósseo ou infecção. Segundo Schena e McCurnin (1983) e Costa (1996), a fixação do implante ósseo com placa e parafusos protege biomecanicamente o implante, possibilitando, segundo Henry e Wadsworth

(1981a), Alexander (1983) e Costa (1996), precoce vascularização do mesmo, já tendo esta técnica sido utilizada por diversos autores (TOOMBS e WALLACE, 1985, COSTA 1996, FUJIKI et al., 2005 e ALIEVI et al., 2007).

A fixação da placa em quatro córtices do implante e em seis córtices proximais e seis distais no osso receptor proporcionou rígida estabilização, sendo a forma de fixação utilizada por Sininbaldi (1989), Kerwin et al. (1991) e Alievi et al. (2007), em cães e por Teixeira et al. (2007) em ovinos. Neste estudo, o posicionamento e a modelagem da placa foram os procedimentos mais demorados, como observaram também Ziliotto et al. (2003) e Alievi et al. (2007).

A osteotomia com serra oscilatória elétrica, na confecção dos defeitos ósseos, foi utilizada por diversos autores em experimentos semelhantes (NATHER et al., 2004, ALIEVI, 2006, TEIXEIRA et al., 2007) e na ressecção de bordos em fraturas cominutivas em cães (BLOOMBERG et al., 1984), sem que fossem observadas complicações como quebra do implante ósseo ou do osso receptor. As complicações observadas com essa técnica neste trabalho, provavelmente decorreram da pressão manual durante a osteotomia, que favorece a fratura principalmente na fase final do corte, onde o osso encontra-se mais fino e frágil. Gaiga (2002) também observou fraturas durante a osteotomia com serra oscilatória e creditou estas complicações ao osso fino e quebradiço das aves. Apesar de Teixeira et al. (2007) citarem que esta técnica pode causar necrose óssea na região da osteotomia, mesmo utilizando resfriamento com solução fisiológica, acreditou-se que isto não tenha interferido na incorporação dos implantes neste experimento.

Apesar de Henry Jr. e Wadsworth (1981a) afirmarem ser mais fácil obter 360° de contato entre as interfaces implante ósseo/osso receptor nos gatos domésticos do que em cães, neste trabalho isso não foi obtido em todos os casos, pois pequenas angulações durante a osteotomia já impediam o perfeito posicionamento das interfaces, permanendo, porém, a compressão e o contato entre as extremidades.

Embora não tenha sido estimada a dor pós-operatória, acreditou-se que a terapia analgésica com associação de antiinflamatório não esteroidal (AINE - cetoprofeno) e analgésico opióide (tramadol) tenha sido eficaz ao evitar a dor no pós-operatório, pois os animais mantiveram o mesmo comportamento que tinham antes da cirurgia. Brondani (2007) avaliou a associação de AINE (vedaprofeno) e tramadol no tratamento de dor após ovariosalpingohisterectomia em gatos domésticos e observou que a associação destes dois medicamentos foi mais eficiente que o uso deles isoladamente.

A escolha do cetoprofeno foi baseada na facilidade de aplicação, baixo custo e pelo fato deste medicamento provavelmente não interferir no processo de consolidação óssea, como observado por Pelissoni et al. (2003), ao acompanhar a cicatrização óssea de ulnas submetidas à osteotomia, de coelhos que receberam cetoprofeno no pós-operatório.

Ehrhart et al. (2005) em um experimento que avaliou a influência da radiação terapêutica na incorporação de implantes corticais alógenos no rádio de 24 cães, utilizaram uma tabela de pontuação na avaliação dos exames radiográficos feitos a cada duas semanas e, através dela, puderam afirmar que os animais submetidos à 50-Gy apresentaram resultados piores do que aqueles não expostos à radiação. Esta mesma tabela de pontuação foi adaptada e utilizada no presente experimento, quantificando e padronizando as variáveis avaliadas nos diferentes grupos e períodos de avaliação, facilitando, com isso, a comparação entre eles.

O exame radiográfico quinzenal permitiu avaliação periódica das alterações tanto nos implantes ósseos, como no osso receptor e nos implantes metálicos, sendo possível verificar pequenas alterações na implantação óssea cortical. No entanto, houve necessidade de sedação para a realização dos exames radiográficos, submetendo o animal ao desconforto da recuperação anestésica a cada 15 dias. Costa (1996) recomendou que os exames radiográficos fossem feitos semanalmente ou a cada 15 dias, porém, Alievi et al. (2007), estudando cães, realizaram exames quinzenais até o 90º dia de pós-operatório e depois mensais até 360 dias e não acreditaram que isso tenha prejudicado a observação da incorporação nas interfaces ou da ocorrência de complicações. Entretanto, no estudo atual, alguns animais apresentaram incorporação óssea mais tardia, com até 150 dias de pós-operatório, sendo que nesse caso o exame mensal prejudicaria a precisão na observação do momento da incorporação. Na realização de exames radiográficos em duas incidências ortogonais, foi constatado que na incidência médio-lateral a placa encobria quase que a totalidade do implante ósseo e do osso receptor, dificultando, e por vezes impedindo, a visualização completa da área. Isso ocorreu em virtude da largura da placa utilizada e do pequeno diâmetro femoral dos gatos domésticos deste experimento.

Embora existam outros métodos de avaliação de incorporação de implantes ósseos como a tomografia computadorizada e a cintilografia óssea (MENDES et al., 1984, TRANCIK et al., 1986, GALIA, 2004), a avaliação radiográfica quinzenal e a

histológica por amostragem possibilitaram satisfatório acompanhamento da incorporação e complicações ocorridas neste trabalho.

A avaliação deambulatória pós-operatória dos animais deste experimento não foi adequada para avaliar o sucesso ou o insucesso da implantação óssea, uma vez que, mesmo nos casos em que houve não-união, reabsorção, falha dos implantes metálicos ou infecção, os animais não apresentaram um decréscimo importante no apoio do membro. Gonçalves et al. (2003) ao analisarem métodos de avaliação da incorporação de enxertos ósseos em revisões de artroplastia total do quadril em humanos também consideraram possível ter pacientes assintomáticos mesmo com mobilidade nos implantes metálicos e reabsorção óssea, podendo isso permanecer por longos períodos. Estes mesmos autores avaliaram ser o exame radiográfico a forma mais adequada para o acompanhamento destes casos e consideraram a avaliação histológica o padrão ouro para determinar incorporação dos enxertos ósseos, porém com dilema ético e de morbidade, impedindo o uso em todos os casos.

Amendola (2001) e Gaiga e Schossler (2003) relataram que ao retirarem do mel o implante ósseo, este apresentava-se com aspecto físico viável, não sendo observado fissuras ou rachaduras. Isso também foi verificado neste trabalho nos implantes conservados no mel, porém, ressaltando que o osso estava amarelado mesmo após a reidratação, tal como encontraram Amendola (2001) e Alievi et al. (2007), levando a crer que uma parte do mel possa ter ficado impregnada nele.

A coleta dos implantes para conservação no mel foi feita seguindo rígidos princípios de assepsia como recomendaram Alievi (2006) e Amendola (2007). Amendola (2001), porém, utilizou implantes ósseos conservados em mel, coletados de forma não asséptica, na diáfise femoral de cães e não observou infecções, corroborando com os resultados encontrados por Gaiga e Schossler (2003), que também utilizaram implantes ossos conservados em mel, coletados sem assepsia, porém implantados em aves. Por tratar-se de um método simples, barato e de fácil execução, a coleta asséptica torna-se uma prática recomendável, diminuindo o risco de futuras infecções após implantação do osso, sendo importante utilizá-la tanto na coleta de osso para conservação em mel quanto para conservação em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ . A exceção seria a liofilização, pois por não ser um processo estéril, torna a esterilização necessária.

Em nenhum dos animais deste experimento foram observados sinais de rejeição ao implante conservado no mel, tanto na avaliação radiográfica como na histológica (dois animais), obtendo-se incorporação em nove de 12 interfaces (75%), valor esse

semelhante ao encontrado por Alievi et al. (2007) em cães (79,17%), sendo com isso possível inferir que o mel pode reduzir a antigenicidade dos implantes ósseos alógenos.

Os resultados deste experimento permitem recomendar o mel como conservante de implantes ósseos alógenos em gatos domésticos, da mesma forma que Gaiga e Schossler (2003) recomendaram-no como conservante de implantes ósseos xenógenos para uso em aves e Amendola et al. (2003) e Alievi et al. (2007) para uso como conservante de implantes ósseos alógenos de cães. Mschvidobadse (1978) analisou implantes ósseos conservados em uma solução com 50% de mel e recomendou este tipo de conservante para uso em humanos.

A decisão de submeter o mel à análise microbiológica a fim de encontrar uma amostra estéril, como fez Subrahmanyam (1993), foi baseada nos estudos de Postmes et al. (1993) que comentaram não ser o mel uma substância estéril e nos achados de Alievi (2006) e Amendola (2001) que encontraram a bactéria *Bacillus* spp em méis comerciais. Tal procedimento foi importante, pois, de três méis comerciais analisados, apenas um apresentava-se estéril.

Greenwood (1993), Postmes et al. (1993) e Estrada et al. (2005) consideraram ser de grande importância a florada que deu origem ao mel em sua escolha como conservante, citando que diferentes floradas produzem diferentes substâncias antimicrobianas. Postmes et al. (1993) citaram ainda, que a florada de limeira mostrou-se a que apresenta maior atividade bactericida. A escolha do mel originário de flores de angico para conservação dos implantes ósseos deste experimento, baseou-se no fato deste mel ter se apresentado estéril, não sendo encontrados estudos que avaliassem a atividade antibacteriana do mel originário de flores de angico.

Como observado por Amendola (2001), os implantes conservados no mel mantiveram a rigidez semelhante à encontrada no osso receptor. Alievi (2006) observou, durante a perfuração, que os implantes ósseos conservados no mel apresentavam maior resistência do que o osso do leito receptor. Amendola (2007), ao comparar biomecanicamente implantes ósseos conservados no mel e em glicerina 98% com osso à fresco, encontrou que o implante ósseo conservado no mel foi mais resistente que o osso à fresco, porém, menos resistente que o osso conservado em glicerina 98%, indo de encontro com os resultados de Del Carlo et al. (1999), onde os implantes ósseos conservados em glicerina perderam resistência. Neste experimento, mesmo que avaliada de forma subjetiva, a resistência diminuiu somente nos ossos liofilizados que tornaram-se mais macios e quebradiços quando comparados com o osso

receptor. Del Carlo et al. (1999) citaram ser a manutenção da rigidez do implante ósseo um desafio e aparentemente esta é uma característica positiva importante que se mantém nos implantes conservados no mel.

Apesar de ter apresentado resultados estatisticamente iguais ao mel, os implantes conservados congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$ , que obtiveram uma interface a mais com incorporação, requerem material específico e caro na sua manutenção, como observado por Alievi et al. (2007). Já a conservação de implantes ósseos no mel apresenta custo praticamente inexistente para sua manutenção, sendo necessário apenas evitar a exposição à luz e a altas temperaturas, situações que podem comprometer suas propriedades antimicrobianas (MATHEWS; BINNINGTON, 2002).

Nather e Goh (2000), testando implantes ósseos conservados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , encontraram que, com seis semanas de pós-operatório, alguns gatos domésticos apresentaram interfaces sem mobilidade apesar do exame radiográfico não identificar calo ósseo. Isso foi observado em um animal do grupo liofilizado (interface proximal e distal) e um animal do grupo controle (interface distal), que apresentaram estabilidade no exame macroscópico aos seis meses, entretanto, sem união radiográfica. Provavelmente os calos fibroso e cartilaginoso tenham promovido estabilidade na região de implantação, não sendo possível observá-los no exame radiográfico, como relataram Tudury e Raiser (1985) em fraturas de fêmur distais de cães. Segundo Aron (2000), a cicatrização óssea indireta ocorre em três fases distintas: inflamatória, reparadora e de remodelamento, sendo que na fase reparadora há formação de calo fibroso e cartilaginoso ao redor da fratura que aos poucos vai sendo mineralizado, e ganhando rigidez. Esta afirmação, porém, não pode ser confirmada no presente estudo, pois os animais foram avaliados apenas até os seis meses de pós-operatório.

A resistência de implantes ósseos corticais alógenos conservados à  $-80^{\circ}\text{C}$  e implantados em tíbias de gatos domésticos foi avaliada por Nather e Goh (2000) quanto à torque, torção e absorção de energia. Esses autores encontraram que, mesmo após a incorporação, o osso congelado é significativamente mais fraco do que o osso do animal. Tal afirmação justifica a utilização e a manutenção de fixação rígida mesmo após a consolidação ou união radiográfica. Entretanto, Sinibaldi (1989) concluiu que a placa poderá ser removida em estágios durante o segundo ou terceiro ano após a cirurgia. Já Dueland et al. (1989) indicaram que a remoção da placa e dos parafusos é opcional, dando preferência a não remoção.

Toombs e Wallace (1985) consideraram que tanto o osso cortical autógeno quanto o osso conservado a  $-70^{\circ}\text{C}$  foram radiograficamente e histologicamente efetivos na osteocondução em defeitos segmentares de tíbia com um centímetro e ainda consideraram a osteocondução como o principal mecanismo para promover consolidação óssea nesses casos. No presente estudo, também não houve diferença estatística entre o implante cortical alógeno congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$  e o enxerto autógeno no que se refere à consolidação das interfaces, ficando evidente a viabilidade e a eficiência da utilização de implantes corticais alógenos conservados a  $-70^{\circ}\text{C}$  em fêmur de gatos domésticos.

A liofilização foi escolhida como um dos métodos de conservação neste estudo por ser muito difundida em Medicina Humana (UHLENHAUT et al., 2005), tendo sido utilizada na conservação de tendões (MAGNAGHI et al., 1994), ossos de bovinos (GALIA, 2004), ossos de gatos domésticos (NATHER et al. 2004), ossos de coelhos (FRIEDLAENDER et al., 1976) e ossos de ratos (GALIA et al., 2005). A técnica de liofilização utilizada neste trabalho foi a mesma utilizada por Galia et al. (2005) e consistia basicamente na retirada de umidade do osso congelado por sublimação após este ser desengordurado.

A liofilização, nesse estudo, mostrou ser o método de conservação menos eficaz no que se refere à manipulação e à frequência de consolidações, quando comparado com o osso congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$ , o conservado em mel ou o autógeno. Nather et al. (2004) também consideraram a liofilização um método de conservação inferior ao congelamento a  $-80^{\circ}\text{C}$ , pois, apesar de apresentar incorporação, os implantes liofilizados levaram um tempo maior para incorporarem em tíbias de gatos domésticos. Webster e Werner (1983) não encontraram diferenças em relação à resistência de implantes tendinosos liofilizados e congelados quando implantados em cães.

Os implantes liofilizados utilizados neste procedimento foram esterilizados em autoclave à temperatura de  $132^{\circ}\text{C}$ , pois o processado de liofilização não é asséptico, e, segundo Uhlénhaut et al. (2005), a liofilização não tem capacidade de eliminar cepas virais por completo. O fato de submeter o osso a altas temperaturas não inviabiliza a utilização destes como substitutos ósseos, pois, segundo Oliveira et al. (2003), mesmo ossos corticais de bovinos submetidos a temperaturas de até  $1000^{\circ}\text{C}$ , permanecem como potenciais carreadores de proteínas morfogenéticas ósseas.

A esterilização dos implantes ósseos em autoclave com temperatura de  $132^{\circ}\text{C}$  por quatro minutos foi utilizada neste experimento por ser o método padrão do Banco

de Tecidos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, mostrando ser efetiva ao evitar contaminação bacteriológica. Segundo Viceconti et al. (1996), a autoclavagem a 132°C por uma hora pode diminuir em até 70% a resistência à compressão de implantes ósseos liofilizados. Entretanto, conforme Zhang et al. (1997), outras formas de esterilização como óxido de etileno ou radiação gama estão relacionadas com a diminuição da capacidade osteoindutora do implante. Dessa forma, a esterilização de implantes ósseos ainda é considerada um tema controverso e que necessita de estudos mais aprofundados no que diz respeito à manutenção das propriedades mecânicas e biológicas (URIST; HERNANDEZ, 1974, ZHANG et al., 1997).

A liofilização de implantes ósseos pode ser precedida da descalcificação do osso, aumentando a atividade das proteínas morfogenéticas ósseas (BUCHARDT, 1987). Entretanto, segundo Silva et al. (2000), o implante ósseo ficará amolecido, perdendo a sua função biomecânica. No presente experimento não foi realizada descalcificação, pois era requerida resistência biomecânica.

Galia et al. (2005) encontraram resultados semelhantes ao analisarem enxertos ósseos liofilizados e congelados a -80°C quanto à reação inflamatória e à osteointegração, diferente deste trabalho, onde os implantes liofilizados foram significativamente inferiores ao congelado à -70°C no que diz respeito à incorporação. Uma provável justificativa desta diferença é que no estudo de Galia et al. (2005) os implantes não foram submetidos à estresse biomecânico, sendo que em nosso trabalho os implantes foram submetidos a este tipo de carga.

Atalar et al. (2007) utilizaram implantes ósseos liofilizados com um centímetro de comprimento na correção da angulação proximal de úmero em humanos e obtiveram consolidação em todos os (sete) pacientes. Tal resultado vai de encontro aos obtidos no atual trabalho, onde o grupo liofilizado não apresentou boa taxa de consolidação (3/12 interfaces). Muito provavelmente, a diferença encontrada nos resultados tenha sido causada pela variação de tamanho e requerimento biomecânico entre os experimentos.

Friedlaender et al. (1976) encontraram que enxertos ósseos corticais liofilizados têm menos capacidade antigênica do que implantes congelados, apesar de o congelamento também diminuir esta propriedade. Estes dados vão ao encontro dos resultados deste experimento, em que o grupo congelado apresentou menor taxa de reabsorção que o liofilizado, sendo a reabsorção intensa um dos sinais de rejeição (STEVENSON; HOROWITZ, 1992), neste experimento tanto o congelamento a -70°C

quanto a preservação em mel provavelmente diminuíram a antigenicidade do implante ósseo com maior eficiência que a liofilização.

Apesar de Toombs e Wallace (1985) e Weiland et al. (1984) terem excluídos de seus experimentos os animais que apresentaram reabsorção ao redor da placa e dos parafusos que fixavam o implante ósseo cortical, isto não foi realizado no presente experimento, pois a falha dos implantes metálicos pode estar relacionada a complicações com o implante ósseo (ALIEVI et al., 2007).

Mesmo que o implante liofilizado tenha sido esterilizado em autoclave e com exame microbiológico negativo antes da implantação, um gato doméstico apresentou infecção com não-união do implante ósseo, o que leva a crer que esta infecção pós-operatória provavelmente tenha ocorrido devido à falha na assepsia durante o procedimento cirúrgico, como observado por Del Carlo et al. (1999). Fica evidente a necessidade de máxima preocupação com assepsia durante a implantação óssea, pois como afirmaram Bloomberg et al. (1984), a ocorrência de infecção certamente levará ao insucesso da consolidação ou incorporação.

Feofiloff e Jesus-Garcia (1996) citaram a fratura como uma das complicações possíveis de ocorrer com implantes ósseos congelados à  $-70^{\circ}\text{C}$ , porém, isso não foi observado durante o período de avaliação em nenhum dos animais do grupo congelado, sendo inclusive destacado que durante a perfuração com broca, tanto o osso receptor como o implante ósseo congelado apresentaram a mesma resistência.

Feofiloff e Jesus-Garcia (1996) relacionaram a ocorrência de fratura do implante às perfurações com diâmetro proporcionalmente grande. Nas perfurações de dois milímetros em ossos de sete a 10 mm de diâmetro, feitas no presente experimento, não foram identificadas complicações nos grupos controle, mel e congelado, porém, no grupo liofilizado, ocorreu fragmentação do osso no orifício de saída, sendo talvez esse orifício demasiadamente grande para esse tipo de conservação ou o osso tenha sido fragilizado pelo processo de liofilização. Pode-se aventar ainda como causa da fragilidade do implante liofilizado a esterilização em autoclave, pois esse procedimento pode diminuir em até 70% a resistência do implante ósseo (VICECONTI et al., 1996).

Berrey Jr. et al. (1990) encontraram 16% de incidência de fraturas em implantação óssea alógena, sendo a maioria no segundo ano após a implantação. Estes autores consideraram esta a principal complicação neste tipo de procedimento, da mesma maneira que Thompson Jr. et al. (1993), que em 35 casos analisados encontraram 16 (45,7%) implantes ósseos fraturados, e Thompson et al. (2000), que

avaliaram durante 26 meses pacientes humanos submetidos à implantação óssea alógena e encontraram que de 43 implantes fixados com placa e parafusos 27 (69%) apresentaram fraturas do implante ósseo. Segundo Julián e Valentí (2006), esta é a forma de fixação mais propensa a este tipo de complicação. Como as duas quebras de implante ósseo deste trabalho ocorreram logo após a implantação, provavelmente elas tenham maior relação com o tipo de conservação (liofilização) do que com o método de fixação, embora não possa ser descartado que em uma avaliação em longo prazo pudesse ocorrer fratura do implante ósseo em outros animais.

Thompson Jr. et al. (1993) acreditam que fraturas em implantes ósseos ocorrem principalmente devido a defeitos criados no momento da implantação, e não pela rápida revascularização no osso subcondral, como supõe Gebhardt et al. (1990), que afirmaram que isso poderia levar à reabsorção e ao enfraquecimento do implante ósseo. A teoria de Thompson Jr. et al. (1993) é mais coerente com os resultados deste estudo, pois as duas fraturas ocorreram pouco tempo após a cirurgia, não havendo tempo hábil para revascularização e reabsorção do implante ósseo. Em um dos animais em que ocorreu fratura do implante, houve consolidação na interface distal, portanto, assim como observado por Alievi et al. (2007), a quebra do implante pode não ser fator determinante para falha na incorporação.

As principais complicações associadas com a utilização de implantes ósseos corticais segundo Julián e Valentí (2006) são: infecção, pseudoartrose (não-união) e fratura do implante ósseo. Todas estas complicações foram observadas neste trabalho, principalmente no grupo liofilizado, com duas fraturas, uma infecção e duas não-uniões, sendo que nos demais grupos ocorreram somente não-uniões. A taxa de não-uniões deste estudo, com 31,25%, está próxima aos 30% que, segundo Ortiz-Cruz et al. (1997), pode ser esperada neste tipo de cirurgia. Esta taxa de não-uniões poderia ter sido minimizada se fosse utilizado enxerto esponjoso nas interfaces implante ósseo/osso receptor, como recomendado por Alexander (1983), Schena e McCurnin (1983), La Rue et al. (1989) e Morello et al. (2001), pois o osso esponjoso tem alto potencial para formação de novo osso (STEVENSON, 1998b).

Em todos os grupos, houve animais que apresentaram algum grau de reabsorção do implante, sendo mais frequente e intenso no grupo liofilizado. Isso pode ser explicado pelo fato de que no processo de incorporação de um implante ósseo inicialmente ocorre atividade osteoclástica e reabsorção, para depois iniciar atividade

osteoblástica com formação de novo osso, sendo que a reabsorção pode perdurar por até um ano após a cirurgia (WEIGEL, 1993).

As brevibactérias são catalase positivas, não esporuladas, sem motilidade, aeróbias e gram-positivas, podendo ser encontradas em leite cru, na superfície de queijos envelhecidos, bem como na pele humana e de animais, sendo consideradas não patogênicas (BRAZZOLA et al., 2000). Entretanto, estas bactérias já foram diagnosticadas como causadoras de sepse em pacientes infectados por HIV (BRAZZOLA et al., 2000, JANDA et al., 2003) e com câncer sob efeito de quimioterapia (CASTAGNOLA et al., 1997). Neumeister et al. (1993) relataram também a ocorrência de osteomielite em um neonato humano provocada por esta bactéria. Visto que a coleta foi asséptica e o mel era estéril, provavelmente a contaminação do implante ósseo utilizado na gata 19 do grupo mel, por *Brevibacterium* sp., foi proveniente da pele humana (equipe cirúrgica) ou do animal. Alievi (2006) e Amendola (2007) também encontraram uma espécie bacteriana não patogênica em implantes ósseos conservados no mel (*Bacillus* spp.) e Amendola (2007) identificou ainda *Coccus* spp. e *Proteus* spp., porém com coleta dos ossos não-asséptica. Assim como relatado por Alievi (2006), ao implantar osso contaminado por *Bacillus* spp. em um cão, o gato doméstico deste estudo, não apresentou infecção, havendo consolidação nas duas interfaces. Muito provavelmente os fatores que auxiliaram no sucesso da incorporação foram a ausência de imunodepressão e a profilaxia antimicrobiana com enrofloxacina.

Barrios et al. (1994) relataram contaminação de 6,6% dos implantes ósseos coletados de forma asséptica, corroborando com os resultados deste experimento, onde mesmo utilizando rígidos princípios de assepsia, ocorreu contaminação de um implante (2,7%), sendo a pele provável fonte de contaminação (DEL CARLO et al., 1999).

Os agentes microbianos encontrados por Barrios et al. (1994), Alievi (2006) e neste experimento demonstram a necessidade do teste microbiológico, mesmo que a coleta tenha sido realizada de forma asséptica. Segundo Alievi (2006), tal procedimento permite identificar precisamente em que etapa do processo deu-se a contaminação, sendo possível instituir medidas de correção para eventuais falhas. Chapman e Villar (1992) e Ibrahim et al. (2004) ressaltaram ainda a possibilidade de substituição ou esterilização dos implantes ósseos contaminados.

Rahal et al. (2005) propuseram a utilização de transporte ósseo como forma de preencher grandes defeitos em ossos longos, tendo este método sido utilizado com sucesso por Lesser (1994) e Degna et al. (2000) em cães e gatos. Mesmo sendo um método comprovadamente eficaz, a necessidade de utilização do aparelho de Ilizarov, o tempo prolongado de pós-operatório e o custo elevado fazem com que a utilização de implante ósseo cortical alógeno seja uma alternativa menos onerosa.

## 7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir:

- Implantes ósseos corticais alógenos conservados por 30-35 dias em mel ou em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  são eficientes para preenchimento de falha óssea segmentar com aproximadamente 30% da diáfise femoral de gatos domésticos, podendo apresentar complicações como não-união e reabsorção.
- Implantes ósseos corticais alógenos liofilizados não são eficientes para preenchimento de falha óssea segmentar com aproximadamente 30% da diáfise femoral de gatos domésticos, podendo apresentar complicações como não-união e reabsorção, fratura e infecção.
- A deambulação não é um método eficiente de avaliação pós-operatória de gatos submetidos à implantação óssea cortical autógena ou alógena, visto que mesmo àqueles animais que apresentaram não-união, reabsorção, fratura, falha dos implantes metálicos ou infecção continuaram com apoio freqüente do membro.

## REFERÊNCIAS

ABRAMOV, V.G.; MARKICHEVA, N.A. Therapeutic lamellar keratoplasty with honey preserved material. **Ophthalmology**, v.38, n.2, p.81-83, 1983.

AGBAJE, E.O.; OGUNSANYA, T.; AIWERIOBA, O.I.R. Conventional use of honey as antibacterial agent. **Annals of African Medicine**, v.5, n.2, p.78-81, 2006.

ALEXANDER, J.W. Use of a combination of cortical bone allografts and cancellous bone autografts to replace massive bone loss in fresh fractures and selected nonunions. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.19, n.5, p.671-678, 1983.

ALIEVI, M.M. **Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel na reconstrução de falha óssea diafisária em fêmur de cães**. 2006. 85f. Tese (doutorado) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

ALIEVI, M.M. et al. Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel na reconstrução de falha óssea diafisária em fêmur de cães: avaliação clínica e radiográfica. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.450-457, 2007.

AMENDOLA, G.F. **Correção de defeito ósseo femoral em cães utilizando implante ósseo cortical homólogo conservado em mel**. Santa Maria, 2001. 46f. Dissertação (mestrado) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

AMENDOLA, G.F. et al. Correção de defeito ósseo femoral em cães utilizando implante cortical homólogo conservado em mel. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n.4, p.302-307, 2003.

AMENDOLA, G.F. **Aspectos biomecânicos, bacteriológicos e micológicos de diáfises femorais caninas conservadas em glicerina 98% ou mel**. 2007. 100f. Tese (doutorado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

ARO, H.T.; AHO, A.J. Clinical use of allografts. **Annals of Medicine**. v.25, n.4, p.403 – 412, 1993.

ARON, D.N. Estadios de la cicatrización ósea. In: BOJRAB, M.J.; ELLISON, G.W.; SLOCUM, B. **Técnicas actuales en cirugía de pequeños animales**. 4. ed. Buenos Aires: Intermédica, 2000. cap.48, p.814-815.

ATALAR, A.C. et al. Treatment of Neer type 4 impacted valgus fractures of the proximal humerus with open reduction, elevation, and grafting. **Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica**, v.41, n.2, p.113-119, 2007.

BARRIOS, R.H. et al. Bacterial contamination of allografts. **Acta Orthopaedica Belgica**, v.60, n.2, p.152-154, 1994.

BAUER, T.W.; MUSCHELER, G.F. Bone grafts materials: an overview of the basic science. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.371, p.10-27, 2000.

BERGMAN, A. et al. Acceleration of wound healing by topical application of honey. **The American Journal of Surgery**, v.145, n.3, p.374-376, 1983.

BERREY JR., B.H. et al. Fractures of allografts: frequency, treatment and end-results. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.72A, n.6, p.825-833, 1990.

BLOOMBERG, M.S.; GORING, R.L.; BORN, F. Frozen diaphyseal bone allografts combined with external and internal pin splintage in small animal orthopedic surgery. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.20, n.3, p.393-402, 1984.

BRADEN, T.D.; BRINKER, W.C. Effect of certain internal fixation devices on functional limb usage in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.162, n.8, p.642-646, 1973.

BRAZZOLA, P. et al. Brevibacterium casei sepsis in an 18-year-old female with AIDS. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.9, p.3513-3514, 2000.

BRONDANI, J.T. **Efeitos analgésico, hemostático, renal e digestório na administração perioperatória de vedaprofeno, tramadol ou de sua associação em felinos submetidos à ovariosalpingohisterectomia**. 2007. 257f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

BROWN, K.L.; CRUESS, R.L. Bone and cartilage transplantation in orthopaedic surgery. A review. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.64A, n.2, p.270-279, 1982.

BURCHARDT, H. et al. Freeze-dried allogeneic segmental cortical-bone graft in dogs. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.60A, n.8, p.1082-1090, 1978.

BURCHARDT, H. The biology of bone graft repair. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.174, p.28-42, 1983.

BURCHARDT, H. Biology of bone transplantation. **Orthopedic Clinics of North America**, v.18, n.2, p.187-196, 1987.

CASTAGNOLA, E. et al. Broviac catheter-related bacteraemias due to unusual pathogens in children with cancer: case reports with literature review. **Journal of Infection**, v.34, n.3, p.215-218, 1997.

CAVASSANI, M.M.; MORAES, J.R.E.; PADILHA FILHO, J.G. Função osteoindutora de fragmentos ósseos conservados em glicerina 98%. Estudo experimental em ratos. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.445-448, 2001.

CHAPMAN, P.G.; VILLAR, R.N. The bacteriology of bone allografts. **Journal of Bone and Joint Surgery**, v.74B, n.3, p.389-399, 1992.

CONRAD, E.U. et al. The effects of freeze-drying and rehydration on cancellous bone. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.290, p.279-284, 1993.

COOPER, R.A.; MOLAN, P.C.; HARDING, K.G. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v.92, n.6, p.283-285, 1999.

COSTA, J.L.O. **Reconstrução de grande falha óssea com enxerto cortical alógeno conservado em glicerina, fixado com placa e parafusos de aço inoxidável da série 304. Estudo experimental em cães (*Canis familiaris*)**. 1996. 100f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista.

CRENSHAW, A.H. Bone Grafting. In: **Campbell's operative orthopaedics**. Missouri: Mosby Year Book, 1991, cap.1, p.12-22.

CRIGUEL, M.H.; BALLIGAND, M. Critical size defect model on the femur in rabbits. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v.15, n. p.158-163, 2002.

CZITROM, A.A.; AXELROD, T.; FERNANDES, B. Antigen presenting cells and bone allotransplantation. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.197, p.27-31, 1985.

DEGNA, M.T. et al. Bone transport osteogenesis for limb salvage: following resection of primary bone tumors: experience with six cases (1991-1996). **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v.13, n.1, p.18-22, 2000.

DEL CARLO, R.J. et al. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.6, n.3, p.121-125, 1999.

DELLOYE, C. et al. The osteoinductive capacity of differently HCL-decalcified bone alloimplants. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v.56, n.4, p.318-322, 1985.

DOREA, H.C. et al. Evaluation of healing in feline femoral defects filled with cancellous autograft, cancellous allograft or bioglass. **Veterinary and Comparative Orthopaedics Traumatology**, v.18, n.3, p.157-168, 2005.

DUELAND, R.T. et al. Cryopreserved intercalary bone allografts: early experience (1975-1980) in eight canine cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.25, n.3, p.305-316, 1989.

EFEM, S.E.E.; IWARA, C.I. The antimicrobial spectrum of honey and its clinical significance. **Infection**, v.20, n.4, p.227-229, 1992.

EHRHART, N.P. et al. The effect of host tissue irradiation on large-segment allograft incorporation. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.435, p.43-51, 2005.

ESTRADA, H. et al. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*,

*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus Níger*. Evaluación de su carga microbiológica. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.55, n.2, p.167-171, 2005.

FEOFILOFF, E.T.; JESUS-GARCIA, R. Técnicas de obtenção, processamento, armazenamento e utilização de homoenxertos ósseos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.31, n.11, p. 895-903, 1996.

FERREIRA, M.P. **Acetabuloplastia extracapsular para o tratamento da displasia coxofemoral em cães**. 2003. 37f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

FERREIRA, M.P. et al. Acetabuloplastia extracapsular para o tratamento de displasia coxofemoral em cão – relato de caso. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.1, p.101-104, 2007.

FERRIGNO, C.R.A. et al. Treatment of radius, ulna and humerus fractures with the aid of a bone morphogenetic protein in a giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v.16, n.3, p.196-199, 2003.

FITCH, R. et al. Bone autografts and allografts in dogs. **Compendium Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.19, n.5, p.558-575, 1997.

FOSSUM, T.W. Preparation of the operative site. In: FOSSUM, T.W. **Small animal surgery**. 3<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007, chap. 6, p.32-37.

FRIEDLAENDER, G.E.; STRONG, D.M.; SELL, K.W. Studies on the antigenicity of bone. I. Freeze-dried and deep-frozen bone allografts in rabbits. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.58A, n.6, p.854-858, 1976.

FRIEDLAENDER, G.E. Bone Banking. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.64A, n.2, p.307-311, 1982.

FRIEDLAENDER, G.E. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.69A, n.5, p.786-790, 1987.

FUJIKI, E.N. et al. Enxerto liofilizado homólogo em artroplastias de revisão em quadril. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.40, n.5, p.280-287, 2005.

GAIGA, L.H. **Osteossíntese de úmero por xenoenxerto ósseo preservado em glicerina a 98% ou mel em pombos domésticos (*Columba livia*)**. 2002. 45f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

GAIGA, L.H.; SCHOSSLER, J.E.W. Osteossíntese de úmero por xenoenxerto ósseo preservado em mel em pombos domésticos (*Columba livia*). **Ciência Rural**, v.33, n.4, p.709-715, 2003.

GALIA, C.R. **Enxertos ósseos liofilizados impactados humanos e bovinos em revisão de artroplastia total de quadril**. 2004. 107f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GALIA, C.R. et al. Uso de enxerto ósseo homólogo e heterólogo em diáfise femoral de ratos: comparação entre enxerto ósseo congelado e liofilizado. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.40, n.3, p.141-146, 2005.

GEBHARDT, M.C.; ROTH, Y.F.; MANKIN, H.J. Osteoarticular allografts for reconstruction in the proximal part of the humerus after excision of a musculoskeletal tumor. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.72A, n.3, p.334-345, 1990.

GIORDANO, P.P.; ALMEIDA, A.J.P. Enxertos ósseos. Revisão de literature. **Doxo**, v.1, n.1, 2006.

GODWIN, L. Tissue banking and allograft transplantation. Jun. 2000. Disponível em: <<http://www.iscpubs.com/articles/abl/b0006god.pdf>>. Acesso em: 15 jan 2008.

GOLDBERG, V.; STEVENSON, S. Natural history of autografts and allografts. **Clinical Orthopaedics an Related Research**, v.225, p.7-16, 1987.

GOLDBERG, V.M.; STEVENSON, S.; SHAFFER, J.W. Biology of autografts and allografts. In: FRIEDLAENDER, G.E., GOLDBERG, V.M. **Bone**, American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1991.

GOMES, C. **Avaliação da cicatrização óssea em falha mandibular utilizando auto-enxerto ósseo associado à suspensão celular de medula óssea autógena: estudo experimental**. 2008. 76f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GOMES, K. et al. Osso bovino inorgânico liofilizado em bloco no reparo de fístula oronasal induzida em cães. **Ciência Rural**, v.37, n.1, p.159-164, 2007.

GONÇALVES, H.R.; HONDA, E.K.; ONO, N.K. Análise da incorporação do enxerto ósseo acetabular. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.38, n.4, p.149-160, 2003.

GREENWOOD, D. Honey for superficial wounds and ulcers. **Lancet**, v.341, n.8837 p.90-91, 1993.

GUPTA, M. Preservation of split skin grafts in honey: a preliminary study. **Indian Journal of Surgery**, v.11, p.591-598, 1977.

HARRIS, W.H. et al. Differential response to electrical stimulation: a distinction between induced osteogenesis in intact tibiae and the effect on fresh fracture defects in radii. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.124, p.31-40, 1977.

HENRY JR., W.B.; WADSWORTH, P.L. Diaphyseal allografts in the repair of long bones fractures. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.17, n.4, p.525-534, 1981a.

HENRY JR., W.B., WADSWORTH, P.L. Retrospective analysis of failures in the repair of severely comminuted long bone fractures using large diaphyseal allografts. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.17, n.4, p.535-546, 1981b.

HOLT, J.G et al. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 9<sup>th</sup>. Baltimore: Williams e Wilkins, 816p., 2003.

HOULTON, J.E.F.; DUNNING, D. Perioperative patient management. In: **AO principles of fracture management in the dog and cat**. Stuttgart: Thieme, 2005. chap.1, p.1-25.

HULSE, D., HYMAN, D. Fracture biology and biomechanics. In: SALATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. Philadelphia: Saunders, 1993, p. 2035-2049.

IBRAHIM, T. et al. Cadaveric allograft microbiology. **International Orthopaedics**, v.28, n.5, p.315-318, 2004.

ITOMAN, M.; NAKAMURA, S. Experimental study on allogenic bone grafts. **International Orthopaedics**, v.15, n.2, p.161-165, 1991.

JANDA, W.M.; TIPIRNENI, P.; NOVAK, M. *Brevibacterium casei* bacteremia and line sepsis in a patient with AIDS. **Journal of Infection**, v.46, n.1, p.61-64, 2003.

JOHNSON, A.L.; MOUTRAY, M.; HOFFMANN, W.E. Effect of ethylene oxide sterilization and storage conditions on canine cortical bone harvested for banking. **Veterinary Surgery**, v.16, n.6, p.418-422, 1987.

JOHNSON, A.L. Principles and practical application of cortical-bone grafting techniques. **Compendium Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.10, n.8, p.906-913, 1988.

JOHNSON, A.L.; STEIN, L.E. Morphologic comparison of healing patterns in ethylene oxide-sterilized cortical allografts and untreated cortical allografts in the dog. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, n.1, p.101-105, 1988.

JOHNSON, A.L. Principles of bone grafting. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v.6, n.1, p.90-99, 1991.

JOHNSON, A.L. Fundamentals of orthopedic surgery and fracture management. In: FOSSUM, T.W. **Small animal surgery**. 3<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. chap. 31, p.930-1014.

JULIÁN, M.S.; VALENTÍ, A. Trasplante óseo. **Anales del Sistema Sanitario de Navarra**, v.29, s.2, p.125-136, 2006.

KAKIUCHI, M. et al. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 1: experimental evaluation of its efficacy and safety. **International Orthopaedics**, v.20, n.3, p. 142-146, 1996.

KAKIUCHI, M.; ONO, K. Defatted, gas-sterilised cortical bone allograft for posterior lumbar interbody vertebral fusion. **International Orthopaedics**, v.22, n.2, p.69-76, 1998.

KERWIN, S.C.; LEWIS, D.D.; ELKINS, A.D. Bone grafting and banking. **Compendium Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.13, n.10, p.1558-1566, 1991.

KEY, J.A. The effects of a local calcium depot on osteogenesis and healing of fractures. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.16A, p.176-184, 1934.

LaRUE, S.M. et al. Limb-sparing treatment for osteosarcoma in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.12, n.195, p.1734-1744, 1989.

LESSER, A.S. Segmental bone transport for the treatment of bone deficits. **Journal of American Animal Hospital Association**, v.30, p.322-330, 1994.

LÓPEZ, J.L.A. et al. Invasive potential of bacterial isolates associated with subclinical bovine mastitis. **Research in Veterinary Science**, v.81, n.3, p.358-361, 2006.

LUCHESE, A.C.; DECHECHI, E.D. Desenvolvimento tecnológico do processo de liofilização [abstract]. In: XI Seminário de Iniciação Científica, V Mostra de Pesquisa e Jornada de Bioética. 2003 (20-22 out.), Porto Alegre, RS.

MACEDO, C.A.S. et al. Comparação da resistência à compressão do osso bovino congelado e liofilizado. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.34, n.9/10, p.529-534, 1999.

MAGNAGHI, A. et al. Estudo experimental sobre as propriedades histológicas dos enxertos de tendões liofilizados. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.29, n.4, p.205-210, 1994.

MANKIN, H.J., DOPPELT, S., TOMFORD, W. Clinical experience with allograft implantation. The first ten years. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.174, p.69-86, 1983.

MARTINEZ, S.A.; WALKER, T. Bone grafts. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.29, n.5, p.1207-1219, 1999.

MARTINS, H.M.; MARTINS, M.L.; BERNARDO, F.M.A. Esporos de *Bacillaceae*, fungos e aflatoxinas em mel. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.98, n.546, p.85-88, 2003.

MATHEWS, K.A.; BINNINGTON, A.G. Wound management using honey. **Compendium Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.24, n.1, p.53-60, 2002.

MAXERAS, G.A. et al. Bone grafts and substitutes in orthopaedic surgery. **Journal of the Hellenic Association of Orthopaedic and Traumatology**, v.53, n.4, 2002.

McFADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. 3<sup>th</sup>. Washington: Lippincott Williams e Wilkins, 912p., 2000.

MELO, E.G. **Glicerol como meio preservante de aloenxerto ósseo. Estudo experimental em cães (Canis familiaris)**. 1997. 65f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

MENDES, B.A.; COELHO, E.M. Considerações sobre características do mel de abelhas – análises e critérios de inspeção. **Informe Agropecuário**, v.9, n.106, p.56-57, 1983.

MENDES, D.G.; ROFFMAN, M.D.; SILBERMANN, M. Reconstruction of the acetabular wall with bone graft in arthroplasty of the hip. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.186, p.29-37, 1984.

MILLIS, D.L., MARTINEZ, S.A. Bone grafts. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 3<sup>th</sup> ed. Saunders: Philadelphia, 2003, v.2, chap.133, p.1875-1891.

MILLIS, D.L., MARTINEZ, S.A. Enxertos ósseos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. Manole: São Paulo, 2007, v.2, cap. 133, p. 1875-1891.

MOLAN, P.C. The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. **Bee World**, v.73, p. 5-28, 1992.

MOREAU, M.F. et al. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. **Biomaterials**, v.21, n.4, p.369-376, 2000.

MORELLO, E. et al. Bone allografts and adjuvant cisplatin for the treatment of canine appendicular osteosarcoma in 18 dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v.42, n.2, p.61-66, 2001.

MSCHVIDOBADSE, V.M. Allotransplantation sterilisierter Knochen und Halbgelenke bei Knochendefekten. **Zentralblatt für Chirurgie**, v.103, n.17, p.1138-1148, 1978.

MUIR, P.; JOHNSON, K.A. Tibial Intercalary allograft incorporation: comparison of fixation with locked intramedullary nail and dynamic compression plate. **Journal of Orthopaedic Research**, v.13, n.1, p.132-137, 1995.

NATHER, A.; BALASUBRAMANIAM, P.; BOSE, K. Healing of non-vascularised diaphyseal bone transplants. An experimental study. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.72B, n.5, p.830-834, 1990a.

NATHER, A.; GOH, J.C.H.; LEE, J.J. Biomechanical strength of non-vascularised and vascularised diaphyseal bone transplants. An experimental study. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.72B, n.6, p.1031-1035, 1990b.

NATHER, A.; GOH, J.C.H. Biomechanical strength of large diaphyseal deep-frozen allografts. An experimental study. **Cell and Tissue Banking**, v.1, n.3, p.201-206, 2000.

NATHER, A. Biological healing of large diaphyseal deep-frozen allograft transplants. **Cell and Tissue Banking**, v.2, n.1, p.3-7, 2001.

NATHER, A.; THAMBYAH, A.; GOH, J.C.H. Biomechanical strength of deep-frozen versus lyophilized large cortical allografts. **Clinical Biomechanics**, v.19, n.5, p.526-533, 2004.

NATHER, A. Healing of large diaphyseal deep-frozen cortical allografts. In: NATHER, A. **Bone grafts and grafts substitutes**. Singapore: World Scientific Publishing, 2005. chap. 13, p. 227-241.

NEUMEISTER, B. et al. Brevibacterium species as a cause of osteomyelitis in a neonate. **Infection**, v.21, n.3, p.177-178, 1993.

NEWMAN-GAGE, L. Princípios y técnicas de injertacion osea. In: BOJRAB, M.J. **Tecnicas actuales en cirugía de pequeños animales**. 4.ed. Buenos Aires: Inter-médica, 2001, cap. 49, p.837-850.

NOGAMI, H.; URIST, M.R. Explants, transplants and implants of a cartilage and bone morphogenetic matriz. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.103, p. 235-251, 1974.

NUNAMAKER, D.M.; RHINELAENDER, F.W. Bone grafting. In: NEWTON, C.D.; NUNAMAKER, D.M. **Textbook of small animal orthopaedics**. 1985. Disponível em: <<http://www.fracture-research.de/deutsch/aktuelles/Britt%20Habil/pdfs/bone%20grafting%20book.pdf>> Acessado em: 20 fev 2008.

OLIVEIRA, R.C. et al. Efeito da temperatura de desproteinização no preparo de osso cortical bovino microgranular. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular em subcutâneo de ratos. **Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru**, v.7, n.3/4, p.85-93, 1999.

OLIVEIRA, R.C. et al. Avaliação histológica e bioquímica da resposta celular ao enxerto de osso cortical bovino previamente submetido a altas temperaturas. Efeito da temperatura no preparo de enxerto xenógeno. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.38, n.9, p.551-560, 2003.

ORTIZ-CRUZ, E. et al. The results of transplantation of intercalary allografts after resection of tumors. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.79A, n.1, p.97-106, 1997.

PAPPAS, M.A. Current methods of bone storage by freezing and freeze-drying. **Cryobiology**, v.4, n.6, p.358-375, 1968.

PELISSONI, L.G.R. et al. Influência do cetoprofeno na consolidação óssea de ulnas osteotomizadas de coelhos. Estudo qualitativo e quantitativo através de programas computacionais. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n.5, p.452-457, 2003.

- PEREIRA, P.C.M. et al. Use of honey as nutritional and therapeutic supplement in the treatment of infections diseases. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v.1, n.2, 1995.
- PIERMATTEI, D.L.; FLO, G.L. **Manual de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1999. cap. 3, p. 139-145.
- PIERMATTEI, D.L.; JOHNSON, K.A. **An atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat**. 4 ed. Philadelphia: Saunders, 2004, p.336-338.
- PINTO JÚNIOR, H.S. **Utilização de enxerto ósseo cortical homólogo preservado em tintura de iodo a 2% na reparação de fraturas cominutivas de ossos longos de cães**. 1995. 75f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de São Paulo.
- PINTO JÚNIOR, H.S.; ALVARENGA, J.; IWASAKI, M. Banco de ossos: coleta, preservação e implante em cães. **A Hora Veterinária**, v.15, n.87, p.33-37, 1995.
- POSTMES, T.; VAN DEN BOGAARD, A.E.; HAZEN, M. Honey for wounds, ulcers and skin graft preservation. **The Lancet**, v.341, n.8847, p.756-757, 1993.
- RAHAL, S.C.; VOLPI, R.S.; VULCANO, L.C. Uso do transporte ósseo no tratamento de perda óssea segmentar extensa da tíbia. Estudo experimental em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.1, p.35-42, 2005.
- RAPPETI, J.C.S. et al. Homoimplante de costela conservada em solução supersaturada de açúcar 300% ou em açúcar *in natura* na reconstituição experimental de costelas em gatos. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1712-1718, 2007.
- REDDI, A.H.; CUNNINGHAM, N.S. Initiation and promotion of bone differentiation by bone morphogenetic proteins (abstract). **Journal of bone and Mineral Research**, v.8, s.2, p.S499-502, 1993.
- REIS, F.B.; ISHIDA, A.; LAREDO FILHO, J. Iatrogenia em traumatologia. **Acta Ortopédica Brasileira**, v.10, n.1, p.58-61, 2002.
- ROE, S.C.; PIJANOWSKI, G.J.; JOHNSON, A.L. Biomechanical properties of canine cortical bone allografts: effects of preparation and storage. **American Journal Veterinary Research**, v.49, n.6, p.873-877, 1988.
- ROSSO, R. et al. Functional and morphological outcome of knee joint transplantation in dogs depends on control of rejection. **Transplantation**, v.63, n.12, p.1723-1733, 1997.
- SABATIER, S. et al. Identification of flavonoids in sunflower honey. **Journal of Food Science**, v.57, n.3, p.773-774, 1992.
- SCHENA, C.J.; McCURNIN, D.M. The use of Fresh cortical and cancellous allografts in the repair of a fractured femur in a dog: a case report. **Journal of the American Hospital Association**, v.19, n.3, p.352-358, 1983.

SCHENA, C.J.; MITTEN, R.W.; HOEFLE, W.D. Segmental freeze-dried and fresh cortical allografts in the canine femur. I. A sequential radiographic comparison over a one-year time interval. **Journal of the American Hospital Association**, v.20, n.6, p. 911-925, 1984.

SCHENA, C.J.; GRAHAM, D.L.; HOEFLE, W.D. Segmental freeze-dried and fresh cortical allografts in the canine femur. II. A sequential histological comparison over a one-year time interval. **Journal of the American Hospital Association**, v.21, n.2, p. 193-205, 1985.

SCOTT, H.W.; McLAUGHLIN, R. Introduction to feline orthopedic surgery. In: SCOTT, H.W.; McLAUGHLIN, R. **Feline orthopedics**. London: Manson Publishing, 2007. chap.1, p.9-16.

SINIBALDI, K. et al. Tumors associated with metallic implantes in animals. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.118, p.257-266, 1976.

SINIBALDI, K.R. Evaluation of full cortical allografts in 25 dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.194, n.11, p.1570-1577, 1989.

SINIBALDI, K.R. Princípios y técnicas de injertacion osea. In: BOJRAB, M.J. **Tecnicas actuales en cirugía de pequeños animales**. 4.ed. Buenos Aires: Inter-médica, 2001, cap. 49, p.837-850.

SILVA, A.B.D. et al. Alterações histológicas em enxerto de osso homogêneo preparado e armazenado com duas técnicas diferentes. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.15, s.3, p.74-77, 2000.

STEVENSON, S.; LI, X.Q.; MARTIN, B. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.73A, n.8, p.1143-1156, 1991.

STEVENSON, S.; HOROWITZ, M. Current concepts review the response to bone allografts. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.74A, n.6, p. 939-950, 1992.

STEVENSON, S., LI, X.Q., DAVY, D.T. Critical biological determinants of incorporation of non-vascularized cortical bone grafts. Quantification of a complex process and structure. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.79A, n.1, p.1-16, 1997.

STEVENSON, S. Enxertos ósseos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998a, v.2, cap.127, p.2006-2017.

STEVENSON, S. Enhancement of fracture healing with autogenous and allogeneic bone grafts. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.355S, p.S239-S246, 1998b.

SUBRAHMANYAN, M. Storage of skin grafts in honey. **Lancet**, v.341, n.8836, p.63-64, 1993.

TEIXEIRA, C.R. et al. Tibial segmental bone defect treated with bone plate and cage filled with either xenogenic composite or autologous cortical bone graft. An experimental study in sheep. **Veterinary and Comparative Orthopaedics Traumatology**, v.20, n.4, p.269-276, 2007.

THOMPSON JR, R.C.; PICKVANCE, E.A.; GARRY, D. Fractures in large-segment allografts. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.75A, n.11, p.1663-1673, 1993.

THOMPSON JR, R.C. et al. Fractures in large segment allografts. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.370, p.227-235, 2000.

TOMFORD, W.W.; STARKWEATHER, R.J.; GOLDMAN, M.H. A study of the clinical incidence of infection in the use of banked allograft bone. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.63A, n.2, p.244-248, 1981.

TOOMBS, J.P. et al. Evaluation of Key's hypothesis in the feline tibia: an experimental model for augmented bone healing studies. **American Journal Veterinary Research**, v.46, n.2, p.513-518, 1985.

TOOMBS, J.P.; WALLACE, L.J. Evaluation of autogenic and allogenic cortical chip grafting in a feline tibial nonunion model. **American Journal Veterinary Research**, v.46, n.2, p.519-528, 1985.

TRANCIK, T.M. et al. Allograft reconstruction of the acetabulum during revision total hip arthroplasty. Clinical, radiographic, and scintigraphic assessment of the results. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.68A, n.4, p.527-533, 1986.

TUDURY, E.A.; RAISER, A.G. Redução de fraturas distais de fêmur de cães, empregando dois pinos de Steinmann em substituição aos de Rush. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v.15, n.2, p.141-155, 1985.

UHLENHAUT, C. et al. Effects of lyophilization on the infectivity of enveloped and non-enveloped viruses in bone tissue. **Biomaterials**, v.26, n.33, p.6558-6564, 2005.

URIST, M.R.; HERNANDEZ, A. Excitation transfer in bone. Deleterious effects of cobalt 60 radiation-sterilization of bank bone. **Archives of Surgery**, v.109, n.4, p.586-593, 1974.

VAJARADUL, Y. Bone banking in Thailand. A 10-year experience (1984-1994). **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.323, p.173-180, 1996.

VANDER GRIEND, R.A. The effect of internal fixation on the healing of large allografts. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.76A, n.5, p.657-663, 1994.

VARDI, A. et al. Local Application of honey for treatment of neonatal postoperative wound infection. **Acta Paediatrica**, v.87, n.4, p.429-432, 1998.

VICECONTI, M. et al. The effect of autoclaving on the mechanical properties of bank bovine bone. **Chirurgia degli Organi di Movimento**, v.81, n.1, p. 63-68, 1996.

WADSWORTH, P.L.; HENRY JR., W.B. Entire segment cortical bone transplant. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.12, n.6, p.741-745, 1976.

WEBSTER, D.A.; WERNER, F.W. Mechanical and functional properties of implanted freeze-dried flexor tendons. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.180, p.301-309, 1983.

WEIGEL, P.J. Bone grafting. In: BOJRAB, J.M. **Disease mechanisms in small animal surgery**. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger. 1993. Cap. 98, p.678-685.

WEILAND, A.J.; PHILLIPS, T.W.; RANDOLPH, M.A. Bone grafts: a radiologic, histologic, and biomechanical model comparing autografts, allografts, and free vascularized bone grafts. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.74, n.3, p.368-379, 1984.

ZASACKI, W. The efficacy of application of lyophilized, radiation-sterilized bone graft in orthopaedic surgery. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.272, p.82-87, 1991.

ZILIOOTTO, L. et al. Utilização de implante cortical alógeno conservado em glicerina para preservação de membro torácico. Estudo experimental em cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n.2, p.107-115, 2003.

ZHANG, Q.; CORNU, O.; DELLOYE, C. Ethylene oxide does not extinguish the osteoinductive capacity of demineralized bone. A reappraisal in rats. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v.68, n.2, p.104-108, 1997.