

Tabela 1 – Média e desvio padrão do comprimento do fêmur direito e do implante ósseo conservado em mel, bem como da porcentagem entre eles. Valores obtidos através de exames radiográficos pós-operatórios imediatos.

Comprimento e Porcentagem	Média	Desvio Padrão
Comprimento do fêmur direito (cm)	17,16	0,99
Comprimento do implante ósseo (cm)	5,03	0,15
Porcentagem implante/fêmur (%)	29,39	1,36

5 DISCUSSÃO

Apesar do comentário de Alexander (1983) no sentido de que, em Medicina Veterinária, existiria grande facilidade para obtenção de enxertos ósseos corticais alógenos frescos, tornando desnecessária a formação de um banco de ossos, neste experimento buscou-se um meio de conservação de implantes ósseos que permitisse a formação desse banco, para eliminar a dificuldade de obtenção de um doador disponível e apropriado para o fornecimento emergencial de implantes (KERVIN et al., 1991), além de diminuir os resultados insatisfatórios obtidos pelos enxertos alógenos frescos devido à sua intensa resposta imunogênica e à lenta incorporação (GOLDBERG & STEVENSON, 1987).

Embora o mel seja utilizado no tratamento de enfermidades em seres vivos desde 2000 a.C., como relatam evidências encontradas no Egito (GREENWOOD, 1993), e tenha como principal indicação medicinal o tratamento de feridas, já que promove absorção de edema, crescimento de tecido e diminuição de contaminação bacteriana, além de reduzir odores desagradáveis (POSTMES et al., 1993), a sua escolha como meio para a preservação de implantes ósseos não foi baseada somente nessas características, mas também nos resultados satisfatórios obtidos em pesquisas nas quais foi utilizado para a conservação de tecidos como pele (GUPTA, 1977; SUBRAHMANYAM, 1993a), córnea (ABRAMOV & MARKICHEVA, 1983) e ossos (MSCHVIDOBADSE, 1978; AMENDOLA, 2001; GAIGA, 2002), para posterior implantação.

As propriedades antimicrobianas do mel decorrentes da sua alta osmolaridade (COOPER et al., 1999; MOLAN, 1992), da produção do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela ação de enzimas (MOLAN, 1992), de seu baixo pH (BERGMAN et al., 1983) e da presença de substâncias derivadas de plantas (MOLAN, 1992) também foram levadas em conta na sua escolha como meio de conservação do implante ósseo.

Assim como preconizado por Mathews & Binnington (2002), o mel utilizado neste experimento não foi submetido a processo de pasteurização nem aquecimento, pois, segundo esses autores, tais procedimentos poderiam afetar-lhe a atividade.

A colheita dos ossos foi realizada respeitando-se os princípios de assepsia, ou seja, em sala cirúrgica, com material especializado e esterilizado, depois de adequada paramentação da equipe cirúrgica e preparação do campo operatório. Apesar de Costa (1996) indicar que tais providências tornariam o procedimento dispendioso, trabalhoso e especializado, sabe-se que diminuem os riscos de contaminação do implante ósseo. A comprovação vem do fato de que

não ocorreu crescimento bacteriano nas culturas realizadas imediatamente após a obtenção dos implantes. Além dos cuidados de assepsia e da seleção criteriosa dos doadores, o pequeno número de integrantes da equipe de colheita (DEJKERS et al., 1997; SEGUR et al., 2000) também foi fundamental para evitar a contaminação do implante ósseo.

Conforme Johnson et al. (1985), somente quando o implante é submetido a processo de esterilização, química ou física, a colheita pode realizar-se sem seguir os princípios de assepsia. Mesmo que as propriedades antibacterianas do mel já tenham sido amplamente estudadas, tanto *in vitro* (EFEM et al., 1992; COOPER et al., 1999) como *in vivo* (EFEM, 1988; SUBRAHMANYAM, 1991; VARDI et al., 1998; SUBRAHMANYAM, 1993b) e confirmadas em implantes ósseos experimentalmente contaminados com *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (ALIEVI et al., 2005, dados não publicados), optou-se pela realização de uma colheita baseada nos princípios de assepsia, para minimizar as chances de complicações infecciosas.

Mesmo utilizando todos os princípios indicados pelos bancos de tecidos para a colheita óssea, foi muito importante submetê-los à cultura bacteriana, pois mesmo assim é comum a presença de contaminação, como mostram os trabalhos de Chapman & Villar (1992), Barrios et al. (1994), Segur et al. (2000) e Ibrahim et al. (2004), com 22,9%, 6,6%, 8,1% e 27% de contaminação, respectivamente. Apesar de existirem na literatura relatos sobre falhas de detecção de microorganismos contaminantes nas culturas obtidas por *swab*, e com alguns autores sugerindo outras técnicas, como a imersão dos implantes ósseos em solução estéril e após incubação desta (VEEN et al., 1994), e a cultura sanguínea e de medula óssea como um indicador de contaminação de implantes ósseos (VEHMEYER et al., 1999; MARTINEZ et al., 2003), sabe-se que a técnica utilizando *swab* ainda é a de mais fácil execução e com melhores resultados, sendo as demais complementares (MARTINEZ et al., 2003).

Assim como indicado por Kervin et al. (1991) e Melo et al. (1998), a colheita de material para a cultura bacteriana foi realizada tanto no momento da obtenção como no da utilização do implante. Tal procedimento permite identificar precisamente em que etapa do processo deu-se a contaminação, sendo possível instituir medidas para a correção de eventuais falhas. A identificação dos implantes contaminados no momento de sua obtenção permite que sejam substituídos ou submetidos à esterilização, com, por exemplo, a radiação gama (CHAPMAN & VILLAR, 1992; IBRAHIM et al., 2004).

Como relataram Amendola (2001) e Postmes et al. (1993), identificou-se o crescimento de *Bacillus* spp. em três amostras (37,5%) do mel utilizado para a conservação do

implante e não foram verificados indícios de infecção óssea nos animais receptores dos implantes oriundos das amostras contaminadas, talvez porque os *Bacillus* encontrados no mel sejam não-patogênicos (POSTMES et al., 1993; Tysset et al. *apud* MOLAN & ALLEN, 1996). Cabe salientar que, conforme Postmes et al. (1993), o mel utilizado com propósitos medicinais deve sempre ser submetido à análise microbiológica antes de sua utilização, pois pode conter esporos clostridiais e causar botulismo e/ou gangrena. Uma alternativa seria submeter o mel a processo de esterilização pela radiação gama (CHAPMAN & VILLAR, 1992; MOLAN & ALLEN, 1996), o que não afeta sua atividade antimicrobiana (POSTMES et al., 1993; MOLAN & ALLEN, 1996). Neste experimento, porém, optou-se por não esterilizá-lo, para afastar o risco de tornar inativa alguma substância essencial à sua qualidade de conservante. Entende-se necessária a realização de estudos para analisar a conservação de tecido ósseo em mel submetido à esterilização via radiação gama.

Apesar das propriedades antimicrobianas do mel, Mschvidobadse (1978) submeteu os implantes ósseos à esterilização com 1% de formaldeído antes da sua conservação em solução com 50% de mel. Tal projeto, todavia, foi realizado há mais de 25 anos, quando as bases científicas acerca das propriedades do mel ainda eram frágeis e, como os implantes haviam sido obtidos em condições não-estéreis e eram aplicados em seres humanos, exigiam-se cuidados minimamente confiáveis para não submeter os receptores a riscos, à época.

Apesar de Henry & Wadsworth (1981a) comentarem sobre a possibilidade de colheita dos segmentos ósseos com o cão em plano profundo de anestesia, no atual experimento optou-se pela colheita com os cães recém submetidos à eutanásia, o que facilitou a manipulação e diminuiu os custos, além de propiciar a redução da equipe e dos equipamentos na sala cirúrgica, já que não se fez necessária a manutenção anestésica. A rapidez no procedimento de colheita do implante e o pequeno número de pessoas na sala cirúrgica ajudaram a evitar a contaminação bacteriana do implante, pois, segundo Vehmeyer et al. (2002), quanto maior o intervalo entre o óbito e a colheita, maiores os riscos de contaminação. Cada integrante a mais na equipe cirúrgica, por outro lado, aumenta em 1,9 vez o risco de contaminação do implante ósseo segundo Vehmeyer et al. (2002), e em 1,6 vez conforme Deijkers et al. (1997). Já Segur et al. (2000) referem que equipes com quatro ou mais componentes aumentam significativamente os riscos de contaminação de implantes ósseos se comparadas a equipes com menos componentes.

Como apenas os dois primeiros animais doadores foram submetidos à eutanásia, os outros espécimes ósseos foram obtidos dos próprios animais receptores, ou seja, o segmento diafisário do fêmur removido para a confecção do defeito ósseo foi utilizado posteriormente

como implante. Tal procedimento facilitou a obtenção do implante, além de reduzir o número de animais doadores, procedimento preconizado em todos os regimentos ou protocolos de utilização de animais em pesquisa. Um problema decorrente, porém, foi o do intervalo relativamente longo entre cada procedimento cirúrgico: 28 dias, tempo estabelecido como mínimo para a permanência do implante na solução conservante.

Apesar de alguns protocolos de conservação indicarem tempo mínimo e máximo para a manutenção do implante ósseo no meio de conservação, as únicas citações na literatura em relação ao mel provêm de dois estudos que utilizaram implantes ósseos preservados entre um e oito meses (AMENDOLA, 2001), e entre um e seis meses (GAIGA, 2002). Neste experimento, optou-se pela utilização dos implantes ósseos após 28 dias no mínimo, não sendo observada relação entre as complicações ocorridas e o período de preservação. Recomenda-se, no entanto, estudos para definir qual o tempo mínimo e máximo para a manutenção de implantes ósseos no mel.

No presente estudo foi utilizado antimicrobiano de maneira profilática, pois, conforme Smith (1998), em todos os procedimentos ortopédicos onde há a implantação de material estranho deve-se ministrar tal medicação. A cefalexina foi escolhida para este fim por possuir amplo espectro, rápida concentração tecidual máxima e boa penetração no tecido ósseo, características importantes segundo o autor. Além dessas, também foi considerada a sua cômoda via de administração, o longo intervalo entre cada administração e o baixo custo.

Como relatado por Amendola (2001), os implantes preservados em mel apresentavam coloração amarelada, o que, segundo o autor, deve-se à impregnação do meio de preservação em todos os diminutos orifícios do implante. Após a permanência na solução hidratante e as diversas lavagens sob pressão, a tonalidade do implante se tornou mais clara, o que revela que o mel se despreendeu desses orifícios.

Como citado, no caso da glicerina 98%, por Pinto Jr. et al. (1995) e Costa (1996), e por Pinto Jr. (1995) no caso da tintura de iodo a 2%, o mel foi eficiente meio de preservação óssea à temperatura ambiente, sendo de baixo custo, fácil obtenção e dispensando equipamentos especiais para colheita e estocagem. Exige-se, porém, controle rigoroso na sua aquisição, pois, segundo Postmes et al. (1993), o uso de defensivos agrícolas próximo às florações e de antimicrobianos em colméias pode levar à contaminação do mel, o que poderá comprometer os resultados. Sendo assim, é importante a aquisição do mel de apicultores de reconhecida idoneidade.

Em estudos experimentais, a glicerina mostrou-se meio adequado de conservação de implantes ósseos, obtendo-se altas taxas de incorporação (PINTO JR. et al., 1995; COSTA,

1996; MELO et al., 1998). Ela acarreta, todavia, problemas quanto às propriedades biomecânicas dos implantes, tornando-os quebradiços e exigindo longo tempo de hidratação (MELO et al., 1998), além de não promover uma esterilização efetiva dos mesmos (MELO et al., 1998; DEL CARLO et al., 1999). Já o mel, além de adequado meio de conservação, não causou fragilidade aos implantes ósseos quando estes foram perfurados e fixados à placa. Cabe salientar que, assim como os resultados relatados por Melo et al. (1998) para glicerina, tal conclusão está baseada em critérios subjetivos, sendo necessária uma avaliação biomecânica dos implantes ósseos conservados em mel, para confirmação definitiva dessa propriedade. Outros métodos que também acarretam problemas biomecânicos aos implantes são a esterilização por óxido de metileno (JOHNSON & STEIN, 1988; WAGNER et al., 1994) e a liofilização (SCHENA et al., 1984; SCHENA et al., 1995), que também exigem equipamento especializado e implicam alto custo.

Apesar do risco da permanência de alguns agentes infecciosos viáveis quando se utiliza o congelamento (KERVIN et al., 1991), ele é um meio de conservação óssea amplamente utilizado em Medicina Veterinária (HENRY & WADSWORTH, 1981a; SINIBALDI, 1989; DUELAND et al., 1989, LaRUE et al., 1989; MORELLO et al., 2001). Os resultados obtidos têm sido satisfatórios, mas o método exige equipamento especializado, energia elétrica e ampla área para a manutenção dos refrigeradores, o que dificulta sua utilização em algumas clínicas e hospitais. Por outro lado, a formação de um banco de ossos utilizando o mel como meio de conservação dispensa tais necessidades, viabilizando assim a sua ampla utilização. Recomenda-se, porém, que haja um bloqueio de luz nos frascos contendo os implantes ósseos e que eles sejam mantidos em local com temperatura amena, pois tanto a luz como as altas temperaturas podem afetar as propriedades conservantes do mel (MATHEWS & BINNINGTON, 2002).

O fêmur foi escolhido para implantação do segmento ósseo conservado em mel por tratar-se de um osso freqüentemente acometido por fraturas cominutivas decorrentes de acidentes automobilísticos e por não-uniões ou uniões viciosas devidas à falha nos métodos de osteossíntese (HENRY & WADSWORTH, 1981a; SCHENA & McCURNIN, 1983; DUELAND et al., 1989; SINIBALDI, 1989). Caso o objetivo do experimento fosse a substituição de um segmento ósseo em virtude de neoplasia óssea (*limb sparing*), preferencialmente o osso a ser utilizado seria o rádio, por ser mais freqüentemente afetado por esta enfermidade (LaRUE et al., 1989; MORELLO et al., 2001). É importante salientar que os resultados obtidos quando da utilização de implantes ósseos nas regiões distais dos membros,

ou seja, áreas com menor cobertura muscular, podem ser diferentes, pois conforme Stevenson et al. (1996), o ambiente adjacente ao implante pode influenciar na sua taxa de incorporação.

Como relatou Pinto Jr. (1995), o acesso à região diafisária do fêmur, descrito por Piermattei & Johnson (2004) e realizado neste experimento, foi adequado tanto para a colheita quanto para a implantação do segmento ósseo.

As dimensões do defeito utilizado no experimento foram estabelecidas para reproduzir uma situação real, em que não seria possível a reconstrução completa com a aplicação de enxerto autógeno, biologicamente mais adequado (GOLDBERG & STEVENSON, 1987). O defeito foi maior do que o estabelecido por Costa (1996), de 4cm, e igual ao desenvolvido por Schena et al. (1984), implicando requerimento biomecânico intenso ao implante, principalmente frente à força de compressão que atuará sobre ele. Tal modelo não invalida os experimentos que utilizaram pequenos fragmentos ósseos, mas possibilita, por outro lado, uma extrapolação direta dos resultados obtidos experimentalmente para os casos clínicos. Conforme Sinibaldi (1989), o tamanho do implante é histologicamente importante para o processo de incorporação, pois pequenos implantes podem ser reabsorvidos por gradual substituição, enquanto que a reabsorção de implantes maiores exige longo tempo ou nem chega a dar-se por completo.

Apesar de Stevenson et al. (1997) e Sinibaldi (1989) referirem que o comprimento do implante não é o fator mais importante para a sua incorporação, buscou-se homogeneizar a proporção implante/osso receptor neste experimento, selecionando-se cães de porte semelhante, ainda que de peso diferente. Assim, o comprimento aproximado do implante representou em média 30% do comprimento do fêmur, com pequeno desvio padrão, formando um grupo homogêneo quanto à proporção do comprimento do implante e do osso receptor.

O tempo de hidratação do implante em solução salina morna foi menor do que o efetuado por Schena et al. (1984) e por Melo et al. (1998), mas suficiente para a remoção dos restos do meio conservante e a parcial hidratação do implante, minimizando o risco de fissuras ou fraturas quando de sua perfuração com a broca. Além disso, diferentemente de Costa (1996), não se acresceram antimicrobianos ao meio de hidratação, evitando reações alérgicas ou teciduais no receptor, observando-se as reações tissulares específicas do implante mantido no mel (TOMFORD et al., 1981; MELO et al., 1998). Deijkers et al. (1997) referem ainda que o enxágüe de um implante em solução contendo antimicrobianos não é método efetivo de descontaminação.

Como aduzem Amendola (2001) e Gaiga (2002), notou-se grande rigidez nos implantes durante a perfuração para a inserção dos parafusos, mas os mesmos não se

apresentaram quebradiços ou com fissuras longitudinais. A área foi constantemente irrigada com solução salina durante as manobras de ostectomia e perfuração, quer no implante quer no osso receptor, visando refrigerar a região e evitar eventual necrose térmica no osso receptor e alterações nas propriedades biomecânicas do implante ósseo, o que poderia prejudicar a sua incorporação ou mesmo causar afrouxamento precoce de parafusos ou da placa metálica.

Apesar de Alexander (1983), Schena & McCurnin (1983), Dueland et al. (1989), LaRue et al. (1989), Sinibaldi (1989) e Morello et al. (2001), indicarem o uso de enxerto esponjoso autógeno na área de contato entre o implante e o osso receptor, devido à contribuição deste no que se refere a elementos osteogênicos, optou-se por não utilizá-lo, já que poderia afetar ou mascarar a ação do implante ósseo. Quando da utilização de implantes ósseos em casos clínicos, no entanto, o enxerto esponjoso autógeno deve sempre ser utilizado, pois acelera o processo de incorporação sem risco de rejeição (ALEXANDER, 1983), e, apesar de não prover suporte estrutural para a área, ele contribui para a estabilização precoce do local da fratura por estimular a neoformação óssea (STEVENSON, 1998b).

Dentre as várias opções para fixar o implante, como fixação esquelética externa associada a um pino intramedular (BLOOMBERG et al., 1984), haste intramedular bloqueada ou não (VANDER GRIEND, 1994; MUIR & JOHNSON, 1995) e pinos metálicos intramedulares (PINTO JR., 1995), foi escolhido o método consagrado: placa metálica compressiva e parafusos. A vantagem é exatamente a estabilidade e a compressão que este método proporciona nas interfaces implante/receptor, fatores fundamentais para incorporação do implante (HENRY & WADSWORTH, 1981a; STEVENSON et al., 1991). Além disso, a placa e os parafusos oferecem adequada proteção mecânica ao implante durante o processo de incorporação (SCHENA & McCURNIN, 1983; COSTA, 1996), possibilitando precoce revascularização (HENRY & WADSWORTH, 1981a; ALEXANDER, 1983; COSTA, 1996). Tal método de imobilização permitiu ainda o uso funcional do membro operado imediatamente após a cirurgia, evitando o surgimento das complicações advindas de sua não-utilização (BRADEN & BRINKER, 1973).

Conforme recomendação de Henry & Wadsworth (1981a) e Sinibaldi (1989), foram utilizados dois parafusos para fixar o implante ósseo à placa e três em cada segmento ósseo receptor, totalizando oito. Preferiu-se inserir os dois parafusos no centro do implante, deixando as extremidades deste livres, pois, como a incorporação óssea acontece principalmente do osso receptor na direção do implante e inicialmente requer reabsorção para que após ocorra formação óssea (BURCHARDT, 1983; STEVENSON & HOROWITZ, 1992;

BAUER & MUSCHLER, 2000), a inserção dos parafusos nas extremidades do implante poderia fragilizá-lo e favorecer a ocorrência de falhas mecânicas.

A manutenção dos cães nos primeiros sete dias de pós-operatório em canis individuais e os passeios controlados, nesse período, objetivou facilitar o manejo e evitar que o contato entre os animais causasse complicações na cicatrização da ferida cirúrgica. Já a transferência para canis coletivos, na segunda semana, objetivou a movimentação adequada e sem restrições dos animais, buscando a manutenção do tônus, da massa muscular e da amplitude articular, fatores que afetam positivamente o processo de consolidação óssea, além de evitar a doença da fratura (BRADEN & BRINKER, 1973).

Apesar da conclusão de Amendola (2001) de que o período de 60 dias de pós-operatório seria suficiente para a verificação dos fenômenos ocorridos em um implante ósseo cortical, os resultados do presente estudo indicam que há necessidade de avaliação mais prolongada, que permita identificar, além do tempo suficiente para a incorporação do implante as complicações tardias. Tal fato corrobora os achados de Ortiz-Cruz et al. (1997), Mankin et al. (1983) e Thompson Jr. et al. (2000), que demonstraram alta taxa de complicações tardias em pacientes humanos submetidos a reconstruções de falhas ósseas com aloenxertos.

Como citado por Pinto Jr. (1995), o exame radiográfico foi fundamental para a avaliação do processo de incorporação do implante, pois, além de não-invasivo, revelou de modo fidedigno o que acontecia com o implante. É importante, porém, que o exame seja realizado em duas incidências ortogonais, a fim de se obter uma visualização completa da área.

Os exames radiográficos foram realizados quinzenalmente nos primeiros três meses de pós-operatório e mensalmente até os 12 meses, como realizado por Schena et al. (1984). Apesar de Costa (1996) sugerir que tal exame deveria ser realizado semanal ou, no máximo, quinzenalmente, o protocolo radiográfico instituído neste experimento mostrou-se adequado, pois permitiu definir o tempo aproximado para a incorporação do implante, que ocorreu até o 90º dia, período em que o intervalo de cada exame foi menor, e verificar as complicações em médio e longo prazo, quando este foi maior.

Assim como o encontrado por Amendola (2001), observou-se radiograficamente uma diminuição da densidade dos implantes iniciada aos 30 dias e que se manteve até os 75 dias em média, sendo o maior grau de reabsorção verificado nas interfaces implante/receptor. Tal evento pode ser explicado pelo fato de que a atividade osteoclástica focal das superfícies do implante precede a atividade osteoblástica (PHILLIPS et al., 1988; STEVENSON &

HOROWITZ, 1992; BAUER & MUSCHLER, 2000), e que esta é iniciada na periferia e prossegue em direção ao centro, ocorrendo nesse processo uma mescla de osso viável com osso necrosado, numa proporção de 60% e 40%, respectivamente (WEIGEL, 1993).

Um implante ósseo é considerado incorporado com sucesso quando a união das interfaces receptor/implante é capaz de tolerar as forças fisiológicas de apoio do peso sem fratura ou dor (STEVENSON & HOROWITZ, 1992). Isso ocorreu na maioria dos casos do experimento em tela, comprovando que o mel manteve as características do segmento ósseo e não afetou sensivelmente a incorporação. Deve-se levar em conta, todavia, que a incorporação é um processo complexo e multifacetado, afetado por variáveis que influem em sua velocidade, padrão e grau de perfeição, considerando também que, apesar do implante e do ambiente adjacente influírem isoladamente, é sua soma e interação que determina o sucesso de um implante (STEVENSON et al., 1996).

Como recomendado por Vander Griend (1994), a distância entre o aloimplante e o osso receptor foi inferior a 2mm; segundo o autor, intervalos maiores estão associados a maior tempo para a consolidação e contribuem para a não-união, quando há problemas de fixação. Assim como citado por Fitch et al. (1997), buscou-se o maior contato possível entre o osso receptor e o implante. Porém, mesmo nos casos em que houve contato menor, não se observaram complicações, corroborando a afirmação de Schena & McCurnin (1983), de que a disparidade de tamanho entre o implante e o osso receptor não afeta o processo de incorporação.

O tempo médio para a incorporação do implante foi similar ao encontrado por Costa (1996), que utilizou implantes ósseos conservados em glicerina 98%, e por Pinto Jr. (1995), que os conservou em tintura de iodo a 2%. O reparo, conforme classificação de Burchardt (1983), foi o do tipo 1 - isto é, reparo normal, em que a união com o leito receptor se dá em até 16 semanas, o que, segundo o autor, sugere mínima ou insignificante diferença imunológica entre o doador e o receptor.

Nos dois cães em que foi observada inicialmente reabsorção precoce do implante com envergamento e fratura da placa ou afrouxamento dos parafusos e migração da placa, sugere-se possível processo de rejeição do implante, pois, conforme Stevenson & Horowitz (1992), historicamente, infere-se rejeição quando ocorre reabsorção do implante ósseo ou há falha mecânica prematura. Outro fato importante verificado nestes episódios é que além da função biológica, os implantes provêm suporte estrutural para o tecido receptor sustentar o peso (GOLDBERG & STEVENSON, 1987). No terceiro animal, que inicialmente apresentou migração parcial de um parafuso inserido no segmento distal do osso receptor, com

conseqüente deslocamento medial do implante ósseo, seguido de afrouxamento de outros dois parafusos e da quebra de um deles, observou-se ambiente mecânico inadequado, ocorrendo posteriormente intensa reabsorção do implante ósseo, o que ratifica as afirmações de Sinibaldi (1989), Stevenson et al. (1991), Stevenson & Horowitz (1992) e Bauer & Muschler (2000), de que a incorporação é um processo complexo dependente não apenas das propriedades biológicas do implante e da resposta do leito receptor, mas também da estabilidade da fixação e da resistência mecânica do próprio implante. Tal complicação pode justificar-se pelo temperamento inquieto do referido cão, implicando em intensa e constante exigência mecânica ao método de imobilização, mesmo na fase pós-operatória precoce.

A fissura verificada em um implante ósseo após 120 dias da cirurgia pode ter sido originada pela fragilização decorrente das perfurações para a fixação dos parafusos, conforme citado por Vander Griend (1994) e por Thompson Jr. et al. (2000). Os mesmos autores comentaram que o problema se reduz significativamente quando se utiliza a haste intramedular bloqueada, caso em que o implante não é perfurado. Outro método que dispensa perfurações é o da inserção do implante no canal medular dos fragmentos proximal e distal, com a passagem de um pino intramedular (PINTO JR., 1995; PINTO JR. et al., 1995). Este método, contudo, é biomecanicamente mais frágil que os demais e pode comprometer a incorporação do implante.

A taxa de 20,83% de não-união encontrada no experimento pode ser considerada aceitável, já que, conforme Mankin et al. (1983), espera-se um valor próximo aos 11% e, segundo Ortiz-Cruz (1997), o valor pode chegar a 30%. Uma opção para reduzir essa taxa seria a aplicação de enxerto esponjoso autógeno nas interfaces implante/osso receptor (ALEXANDER, 1983; SCHENA & McCURNIN, 1983; DUELAND et al., 1989; LaRUE et al., 1989; SINIBALDI, 1989; MORELLO et al., 2001), pois, segundo Stevenson (1998b), o osso esponjoso, com sua superfície de contato composta por células primordiais ou osteoblastos ativos tem obviamente um potencial muito maior de formação de osso novo do que o osso cortical.

Quando se considera a taxa de 33% de reabsorção intensa dos implantes ósseos conservados em mel, obtida por Amendola (2001), e a de 25% deste experimento, considera-se que o autor enfrentou problemas relacionados à imobilização do implante, à sua migração ou à fratura na região de fixação, além da idade avançada de alguns animais, o que dificultou uma resposta adequada do leito receptor. Neste experimento, buscou-se formar um grupo homogêneo de cães adultos jovens, para evitar a possibilidade de confundirem-se os resultados.

Mesmo com a intensa atividade osteoblástica e osteoclástica verificada na avaliação histológica do experimento, e apesar da alta taxa de incorporação dos implantes conservados em mel, não foi possível confirmar a propriedade osteoindutora do implante. Inobstante, sua propriedade osteocondutora foi confirmada pelos achados radiográficos e histológicos. A partir de tais observações, estudo deve verificar se o implante ósseo conservado em mel apresenta também propriedades osteoindutoras, com a manutenção da proteína morfogenética óssea (BMP), através da implantação do segmento ósseo conservado em mel em região extra-óssea como musculatura e subcutâneo, verificando-se a formação óssea nestes leitos, o que confirmaria a sua propriedade osteoindutora.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos com o desenvolvimento do presente experimento é possível concluir que:

- o implante ósseo cortical alógeno conservado em mel utilizado no reparo de uma falha óssea de 30% do comprimento do fêmur em cães apresenta uma taxa de incorporação de 79,17%, estando sujeito a complicações como não-união, reabsorção e fratura;

- o mel não é uma substrato estéril, podendo estar contaminado com *Bacillus* spp., porém, mantém os implantes ósseos nele conservados livres de contaminação;

Apesar dos resultados obtidos serem promissores, existe a necessidade do desenvolvimento de novas pesquisas avaliando:

- a ação dos métodos de esterilização do mel sobre as suas propriedades conservantes de tecido ósseo;

- as propriedades biomecânicas e a capacidade osteoindutora dos implantes conservados no mel;

- o tempo mínimo e máximo de permanência dos implantes no mel;

- o efeito da interposição de enxerto esponjoso autógeno na área de contato entre o implante e o osso receptor sobre a taxa de incorporação dos implantes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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.

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

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

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

BAUER, T. W.; MUSCHLER, 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, B. H. et al. Fractures of allografts. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, 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. O. 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.

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

BUCK, B. E.; MALININ, T. I. Human bone and tissue allografts. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 303, p. 8-17, 1994.

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

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

CHAPMAN, P. G.; VILLAR, R. N. The bacteriology of bone allografts. **Journal of Bone and Joint Surgery (Br)**, v. 74B, n. 3, p. 398-399, 1992.

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.

CORNELL, C. N.; LANE, J. M. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 355S, p. S267-S273, 1998.

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 em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

DEJKERS, R. L. et al. Contamination of bone allografts: analysis of incidence and predisposing factors. **Journal Bone and Joint Surgery (Br)**, v. 79, n. 1, p. 161-166, 1997.

DEL CARLO, R. J. et al. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 6, n. 3, p. 121-126, 1999.

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. Clinical observations on the wound healing properties of honey. **The British Journal of Surgery**, v. 75, n. 7, p. 679-681, 1988.

EFEM, S. E. E.; UDOH, K. T.; 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.

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, Porto Alegre, 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.

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 em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.

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

GREENWOOD, D. Honey for superficial wounds and ulcers. **The 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.

HENRY, 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.

_____. 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.

HOFMANN, G. O. et al. Infections and immunological hazards of allogeneic bone transplantation. **Archives of Orthopaedic and Traumatic Surgery**, v. 114, n. 3, p. 159-166, 1995.

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

JOHNSON, A. L.; SHOKRY, M. M.; STEIN, L. E. Preliminary study of ethylene oxide sterilization of full-thickness cortical allografts used in segmental femoral fracture repair. **American Journal Veterinary Research**, v. 46, n. 5, p. 1050-1056, 1985.

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

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. 1558-1563, 1991.

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

MANKIN, H. J. et al. Massive resection and allograft transplantation in the treatment of malignant bone tumors. **The New England Journal of Medicine**, v. 294, n. 23, p. 1247-1255, 1976.

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

MARTINEZ, O. V. et al. Blood and marrow cultures as indicators of bone contamination in cadaver donors. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 409, p. 317-324, 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.

MELO, E. G. et al. Aloenxerto ósseo cortical: avaliação do seu emprego em tibia de cão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 4, p. 385-394, 1998.

MILLIS, D. L.; MARTINEZ, S. A. Bone grafts. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 3 ed. Saunders: Philadelphia, 2003, 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.

MOLAN, P. C.; ALLEN, K. L. The effect of gamma-irradiation on the antibacterial activity of honey. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 48, p. 1206-1209, 1996.

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.

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

OTTOLENGHI, C. E. Massive osteo and osteo-articular bone grafts: technic and results of 62 cases. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 87, p. 156-164, 1972.

PARRISH, F. F. Treatment of bone tumors by total excision and replacement with massive autologous and homologous grafts. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, v. 48A, n. 5, p. 968-990, 1966.

_____. Allograft replacement of all or part of the end of a long bone following excision of a tumor: report of twenty-one cases. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, v. 55A, n. 1, p. 1-22, 1973.

PHILLIPS, L. et al. Cortical bone allografts. **Compendium Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 10, n. 10, p. 1167-1176, 1988.

PIERMATTEI, D. L.; JOHNSON, K. A. The hindlimb. In:_____. **An atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat**. 4 ed. Philadelphia: Saunders, 2004. Section VII, p. 329-391.

PINTO JR., 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, São Paulo, 1995.

PINTO JR., 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, 1990.

POOYA, H. A. et al. Short-term evaluation of dorsal acetabular augmentation in 10 canine total hip replacements. **Veterinary Surgery**, v. 32, n. 2, p. 142-152, 2003.

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.

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 Animal 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 Animal Hospital Association**, v. 20, n 6, p. 911-922, 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 Animal Hospital Association**, v. 21, n. 2, p. 193-205, 1985.

SEGUR, J. M. et al. The procurement team as a factor of bone allograft contamination. **Cell and Tissue Banking**, v. 1, n. 2, p. 117-119, 2000.

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

SMITH, M. M. Infecções ortopédicas. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 2, cap. 126, p. 1996-2005.

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.

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

STEVENSON, S.; EMERY, S. E.; GOLDBERG, V. M. Factors affecting bone graft incorporation. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 323, p. 66-74, 1996.

STEVENSON, S.; HOROWITZ, M. Current concepts review the response to bone allografts. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, 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. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, v. 79A, n. 1, p. 1-16, 1997.

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. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, v. 73A, n. 8, p. 1143-1156, 1991.

STRAW, R. C. et al. The effect of intramedullary polymethylmethacrylate on healing of intercalary cortical allografts in a canine model. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 10, n. 3, p. 434-439, 1992.

SUBRAHMANYAM, M. Topical application of honey in treatment of burns. **The British Journal of Surgery**, v. 78, n. 4, p. 497-498, 1991.

_____. Storage of skin grafts in honey. **The Lancet**, v. 341, n. 8836, p. 63-64, 1993a.

_____. Honey impregnated gauze versus polyurethane filme (OpSite) in the treatment of burns – a prospective randomised study. **British Journal of Plastic Surgery**, v. 46, n. 4, p. 322-323, 1993b.

THOMPSON JR., R. C.; PICKVANCE, E. A.; GARRY, D. Fractures in large-segment allografts. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, 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. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, v. 63A, n. 2, p. 244-248, 1981.

VANDER GRIEND, R. A. The effect of internal fixation on the healing of large allografts. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, 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.

VEEN, M. R.; BLOEM, R. M.; PETIT, P. L. Sensitivity and negative predictive value of swab cultures in musculoskeletal allograft procurement. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 300, p. 259-263, 1994.

VEHMEYER, S. B. W. et al. A comparative study of blood and bone marrow cultures in cadaveric bone donation. **Journal of Hospital Infection**, v. 43, n. 4, p. 305-308, 1999.

VEHMEYER, S. et al. Bacterial contamination in postmortem bone donors. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 73, n. 6, p. 678-683, 2002.

VOLKOV, M. Allotransplantation of joints. **Journal of Bone and Joint Surgery (Br)**, v. 52B, n. 1, p. 49-53, 1970.

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

WAGNER, S. D. et al. Failure of ethylene oxide-sterilized cortical allografts in two dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 30, n. 2, p. 181-189, 1994.

WANG, J. W.; WENG, L. H. Treatment of distal femoral nonunion with internal fixation, cortical allograft struts, and autogenous bone-grafting. **Journal of Bone and Joint Surgery (Am)**, v. 85A, n. 3, p. 436-440, 2003.

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.