

Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados*

Canine bone allografts preserved by several methods

Ricardo Junqueira Del Carlo,** Simone Rezende Galvão,*** Marlene Isabel Vargas Vitoria,****
Tayse Domingues de Souza,*** Alfredo Maia Filho*****

Resumo

Foram comparados seis métodos de preservação de aloenxertos ósseos. A autoclavagem desnaturou proteínas e interferiu na incorporação após o implante. A glicerina 98% não foi efetiva na esterilização do osso e alterou suas propriedades biomecânicas. A refrigeração e o merthiolate não mantiveram o osso sem contaminantes e os enxertos falharam. O osso preservado sob congelamento em solução fisiológica e antibiótico permaneceu estéril, sua integridade física foi preservada e não falhou na enxertia.

Palavras-chave: transplante ósseo; banco de ossos; traumatologia.

Introdução

Em transplantes ósseos devem ser tomados cuidados para assegurar que o doador, vivo ou morto, esteja livre de doenças transmissíveis, que as amostras sejam estéreis, e que os dados relativos ao osso sejam devidamente registrados (Johnson, 1991 ; Kerwin et al., 1991 ; Chapman, Villar, 1992). Jonck (1981) detectou contaminação bacteriana, fúngica ou viral, durante a coleta. Exames microbiológicos de ossos homólogos liofilizados mostraram 3,6% de infecção (Tomford et al., 1983) e 3,9% em autoenxertos frescos (Cruse, 1975). Já Henry e Wadsworth (1981) afirmaram que durante a estocagem de ossos, sob congelamento e liofilização, permanecem os riscos de contaminação.

Costa (1996) realizou a coleta de ossos de forma limpa, sem cuidados assépticos e colocou o material em glicerina. Após a enxertia, não foram observadas manifestações clínicas, radiográficas e histopatológicas desfavoráveis e o resultado do exame microbiológico, para bactérias e fungos, foi negativo. A glicerina em altas concentrações tem efeito bactericida e fungicida (Pigossi, 1967).

Reynolds et al. (1951) concluíram que a preservação em solução aquosa de merthiolate 1:5000 foi um método simples, barato e asséptico e as soluções testadas a cada 14 dias apresentaram resultado positivo para bactérias em seis semanas. Nas cirurgias realizadas, foram necessárias imobilizações por longo período de tempo. Também para

Jonck (1981) a solução aquosa de merthiolate 1:1000 não foi efetiva contra certas bactérias e vírus.

Para Bloomberg et al. (1984), Stevenson e Horowitz (1992) aloenxertos congelados foram pouco antigênicos, e necessitaram fixação por longo período. No congelamento entre -70 a -80°C foi mínima a destruição enzimática, e a resistência tênsil e compressiva do osso foi diminuída em torno de 10% (Pelker et al., 1983 ; Conrad et al., 1993). Neste tipo de enxerto, Wilson et al. (1985) observaram que a vascularização e reparação óssea ocorreram de forma mais lenta, mas de maneira adequada. Já Friedlaender (1982) verificou que a função osteoindutora foi conservada. Hart et al. (1984) indicaram segurança e economia como vantagens de banco de ossos congelados a -70°C. Preservações nesta temperatura, ou mais baixas, diminuem a antigenicidade de enxertos homólogos (Bloomberg et al., 1984 ; Hart et al., 1984) porque induzem a criolofilização das proteínas ficando o osso congelado menos imunogênico do que aquele apenas resfriado (Bradford et al., 1987 ; Friedlaender, 1982 ; Tomford et al., 1983 ; Mankin et al., 1983). No experimento de lamaguti (1973), os ossos foram colhidos com as extremidades articulares, e mantidos em solução salina com penicilina benzatina, à temperatura de -16°C.

A fervura e autoclavagem foram ineficientes como métodos de preservação pois causaram desnaturação das proteínas ósseas (Jonck, 1981) e prejudicaram a remodelação após o implante (Hart et al., 1984).

*Apoio financeiro CNPq.

**Professor, pesquisador CNPq, Univ. Fed. de Viçosa. 36.570.000 Viçosa, MG. E-mail: ricarlo@mail.ufv.br

***Médica Veterinária, Departamento do Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

****Professora, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

*****Graduando, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

Costa (1996) e Melo (1997) usaram como medida adicional para reidratar, prevenir contaminações e remover o meio de conservação, a imersão do enxerto por 10 minutos em solução fisiológica estéril acrescida de neomicina. Verificou que a glicerina reduziu a resistência óssea, quando comparou-se com ossos frescos.

O presente trabalho teve por objetivo comparar seis métodos de preservação de aloenxertos ósseos em banco de estocagem e após aplicação clínica.

Material e métodos

Doadores: os ossos homólogos foram obtidos de cães sem sinais clínicos de doenças infecciosas, de ambos os sexos, sem raça definida, para os quais foi recomendado a eutanásia por apresentarem traumatismos irreversíveis.

Coleta: foi realizada em seguida ao sacrifício, após tricotomia e anti-sepsia com povidine tópico das regiões a serem abordadas. Foram colhidos os ossos metacarpos, metatarsos, fêmures, tíbias, úmeros, rádios e costelas, sem remoção de suas extremidades articulares. Antecedendo à preservação, procedeu-se a remoção do periósteo fibroso e restos musculares; lavagem com solução fisiológica corrente e acondicionamento em tubos de vidro previamente esterilizados, identificados quanto ao tipo, tamanho, diâmetro, forma do osso, tamanho e idade do doador e data de coleta.

Preservação: foram utilizados seis métodos de preservação, sendo cada osso submetido a cada teste.

- Método 1: colocou-se glicerina 98% (Glicerina 98%) em tubos de vidro, em volume suficiente para cobrir os ossos, que foram autoclavados a 127°C de temperatura e a 1,5 atmosfera de pressão, durante 15 minutos. Os tubos foram mantidos fechados, em temperatura ambiente, até o momento de sua utilização.
- Método 2: colocou-se glicerina 98% em volume suficiente para cobrir os ossos. Os tubos foram mantidos fechados, em temperatura ambiente, até o momento de sua utilização.
- Método 3: colocou-se solução aquosa de timerosal (Merthiolate, Eli Lilly) a 1:1.000, em volume suficiente para cobrir os ossos. Os tubos foram mantidos fechados, em temperatura ambiente, até o momento de sua utilização.
- Método 4: colocou-se solução de cefalosporina (Keflin, Eli Lilly) a 0,5%, diluída em soro fisiológico, em volume suficiente para cobrir os ossos. Os tubos foram mantidos em congelador a -16°C, até o momento de sua aplicação, quando eram retirados do refrigerador e deixados descongelar à temperatura ambiente por, no mínimo, uma hora, antes de serem utilizados.
- Método 5: Os ossos foram colocados em tubos de vidro e, sem estarem embebidos em solução alguma, foram autoclavados como descrito no método 1. Então, foram

mantidos em temperatura ambiente até sua utilização.

- Método 6: Os ossos foram colocados em tubos de vidro e, sem estarem embebidos em solução alguma, foram mantidos sob refrigeração a 4°C, até sua utilização.

No dia de utilização, sob condições de assepsia, os ossos eram retirados dos frascos e divididos até a forma final, necessária à adaptação no osso receptor, sendo então lavados e imersos em soro fisiológico, até o momento de sua aplicação.

Período de utilização: o tempo mínimo de preservação dos ossos foi de 15 dias e o máximo de seis meses após a coleta. Já as amostras para exame microbiológico foram colhidas mensalmente.

Grupos clínicos experimentais: cada grupo experimental foi constituído de seis cães adultos, com peso entre 5 e 18 kg, machos e fêmeas, sem raça definida, que foram mantidos em canis coletivos, recebendo ração comercial duas vezes ao dia e água a vontade.

Técnica de enxertia óssea: após anestesia geral dos animais, administração subcutânea de 20.000 UI/kg de penicilina benzatina (Benzetacil 600.000 UI, Fontoura Wyeth) e anti-sepsia da pele, foi realizado o acesso cirúrgico aos ossos fêmur e rádio, respectivamente, em metade dos animais de cada grupo experimental, segundo técnica descrita por Piermattei e Greeley (1988). Logo em seguida, e utilizando-se serra manual, procedeu-se a osteotomia e osteotomia de segmento nunca inferior 3cm de comprimento. Em todos os grupos estes segmentos foram removidos do foco de fratura. O enxerto cuja largura melhor se adaptasse ao diâmetro do osso fraturado tinha sido escolhido através de radiografias prévias, e já encontrava-se dividido, lavado e imerso em soro fisiológico. De acordo com os diâmetros do enxerto e do osso receptor, foram escolhidos métodos de fixação interna que melhor se adaptaram, como pinos de Steinmann, placas e parafusos ósseos, fios de cerclagem, mas que permitiram a justaposição e completa imobilização dos fragmentos. As massas musculares foram aproximadas como de rotina, e a pele suturada com fio de náilon 000, com pontos simples separados. Sobre a incisão cirúrgica foi colocada bandagem seca e esterilizada.

Exame clínico: foi realizado semanalmente durante o primeiro mês e mensalmente nos períodos seguintes à cirurgia, verificando-se: temperatura retal, estado geral do paciente, aspecto da área operada, apoio do membro operado e recuperação da função.

Exame radiográfico: a enxertia foi radiografada imediatamente após a cirurgia e mensalmente, nas incidências látero-medial para o fêmur, até o estabelecimento da consolidação. O critério de avaliação dos resultados foi a integração óssea. Assim, foi considerado como "bom" resultado a integração com preenchimento da função a que foi destinado e, como "mau", a ausência de integração com reabsorção e falha do tratamento.

Exame microbiológico: para pesquisar presença de bactérias no meio de preservação, o material foi cultivado em caldo infusão cérebro-coração (BHI ágar DIFCO) e ágar sangue infusão cérebro-coração (BHI Broth DIFCO), por 72 horas a 37°C de temperatura, em condições de aerobiose e anaerobiose. Para pesquisa de fungos utilizou-se ágar Sabouraud dextrose (Sabouraud dextrose ágar DIFCO), mantido por 30 dias em temperatura ambiente. O material para os exames foi colhido mensalmente, e imediatamente antes de cada cirurgia, e os ossos com resultados positivos foram descartados.

Exame histológico: em todos os animais, após sacrifício aos 180 dias, a região de enxertia foi colhida, descalcificada, preparada e corada pela hematoxilina-eosina, permitindo exames de microscopia óptica.

Resultados

Os resultados microbiológicos e clínicos estão sumarizados nas tabelas 1 e 2.

Resultados Histopatológicos

Método 1: todos os animais tiveram não união ou união fibrosa com pequena quantidade de formação de tecido ósseo na junção hospedeiro/receptor. No osso autoclavado não houve crescimento de capilares e nenhuma evidência de *creeping substitution*. Havia intensa atividade osteoclástica nas bordas do enxerto, caracterizando reabsorção óssea.

Método 2: em quatro animais (1, 2, 3 e 6) houve evidência de união óssea, principalmente na extremidade proximal, com formação de tecido ósseo, característico de calo ósseo. Não houve uma interface histológica visível entre o enxerto e o osso novo formado a partir do receptor. Houve o crescimento de capilares a partir do osso novo formado e se estendendo dentro do osso enxertado.

Nos outros dois animais do grupo (4 e 5) havia uma interface histológica entre o enxerto e o receptor preenchida por tecido fibroso. Não havia sinais de crescimento capilar para o interior do enxerto e apenas lacunas vazias

Tabela 1: Características gerais dos pacientes submetidos às enxertias ósseas, com emprego de aloenxerto sob diversos métodos de preservação, aos 180 dias de observação

Método	1. Glicerina autoclavada	Método	Resultado	Observações
Caso	Cirurgia			
1	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Fratura do enxerto
2	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Não união/reabsorção
3	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Não união/reabsorção
4	Osteossíntese rádio	Placa	insatisfatório	Não união/reabsorção
5	Osteossíntese rádio	Pino/cerclagem	insatisfatório	Não união/reabsorção
6	Osteossíntese rádio	Placa	insatisfatório	Fratura do enxerto
Método	2. Glicerina			
1	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	satisfatório	-
2	Osteossíntese fêmur	Placa	satisfatório	-
3	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	satisfatório	-
4	Osteossíntese rádio	Pino	insatisfatório	Não união/reabsorção
5	Osteossíntese rádio	Placa	insatisfatório	Fratura do enxerto
6	Osteossíntese rádio	Placa	satisfatório	-
Método	3. Merthiolate			
1	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	satisfatório	-
2	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Não união/reabsorção
3	Osteossíntese fêmur	Pino	insatisfatório	Não união/reabsorção
4	Osteossíntese rádio	Pino	insatisfatório	Não união/reabsorção
5	Osteossíntese rádio	Placa	satisfatório	-
6	Osteossíntese rádio	Placa	satisfatório	-
Método	4. Congelamento			
1	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	satisfatório	-
2	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	satisfatório	-
3	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	satisfatório	-
4	Osteossíntese rádio	Pino	satisfatório	-
5	Osteossíntese rádio	Placa	satisfatório	-
6	Osteossíntese rádio	Placa	satisfatório	-
Método	5. Autoclavagem			
1	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Não união/reabsorção
2	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Fratura do enxerto
3	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Não união/reabsorção
4	Osteossíntese rádio	Pino	insatisfatório	Não união/reabsorção
5	Osteossíntese rádio	Placa	insatisfatório	Fratura do enxerto
6	Osteossíntese rádio	Placa	insatisfatório	Seqüestro
Método	6. Refrigeração			
1	Osteossíntese fêmur	Pino	insatisfatório	Não união/reabsorção
2	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Seqüestro
3	Osteossíntese fêmur	Pino/cerclagem	insatisfatório	Não união/reabsorção
4	Osteossíntese rádio	Placa	insatisfatório	Não união/reabsorção
5	Osteossíntese rádio	Placa	insatisfatório	Fratura do enxerto
6	Osteossíntese rádio	Pino	insatisfatório	Seqüestro

Tabela 2: Resultados de exames microbiológicos dos ossos estocados nos diversos meios de preservação, realizados mensalmente e imediatamente antes das cirurgias

Métodos	Amostras					
	Contaminadas		Não-contaminadas		Contaminantes	
	n	%	n	%	SI	SA
Glicerina Autoclavada	0	0	12	100	0	0
Glicerina	2	17	10	83	1	1
Merthiolate	5	42	7	58	5	1
Congelamento	0	0	12	100	0	0
Autoclavagem	0	0	12	100	0	0
Refrigeração	6	50	6	50	7	1

n: número de animais

SI: *Staphylococcus intermedius*; SA: *Staphylococcus aureus*

as, caracterizando osso morto. Havia atividade osteoclástica nas bordas do enxerto caracterizando reabsorção óssea.

Método 3: em 50% dos animais (2,3 e 4) havia entre o enxerto e o receptor uma interface preenchida por tecido fibroso. Não havia sinais de crescimento capilar para o interior do enxerto e apenas presença de lacunas vazias, caracterizando osso morto. Havia atividade osteoclástica nas bordas do enxerto caracterizando reabsorção óssea.

Nos outros 50% (animais números 1, 5 e 6) estava caracterizada osteogênese a partir do endóstio e perióstio receptor. Havia proliferação de osteoblastos e osteoclastos a partir do endóstio receptor e neovascularização capilar invadindo o enxerto. Havia também discreta desorganização estrutural do novo perióstio formado, assim como formação de tecido ósseo na periferia do enxerto, característica de calo ósseo.

Método 4: osteogênese a partir do endóstio e perióstio receptor, mais intensamente a partir da porção proximal, junto com proliferação de osteoblastos e osteoclastos a partir do endóstio receptor e neovascularização capilar invadindo o enxerto. Havia uma desorganização estrutural do novo perióstio formado e formação de osso novo na periferia do enxerto característica de calo ósseo.

Método 5: histologicamente a região de enxertia dos animais de números 1 a 5 estava caracterizada por não união ou união fibrosa com pequena quantidade de formação de tecido ósseo na junção hospedeiro/receptor. No osso enxertado não havia crescimento de capilares e nenhuma evidência de *creeping substitution*. A presença de intensa atividade osteoclástica nas bordas do enxerto caracterizava reabsorção óssea.

No animal de número 6 havia absorção óssea na cortical do enxerto e tendência ao isolamento do fragmento pela presença de tecido fibroso ao seu redor.

Método 6: histologicamente, a região de enxertia dos animais de número 1 a 5 estava caracterizada por não-união ou união fibrosa com pequena quantidade de formação de tecido ósseo na junção hospedeiro/receptor. No osso enxertado não havia crescimento de capilares e nenhuma evidência de *creeping substitution*. Havia intensa atividade osteoclástica nas bordas do enxerto caracterizando reabsorção óssea.

Nos animais de números 2 e 6 havia absorção óssea na cortical do enxerto e tendência ao isolamento do fragmento pela presença de tecido fibroso ao seu redor.

Os aspectos do osso no meio de preservação e fora deste, à época da enxertia, estão sumarizados na tabela 3.

Tabela 3: Aspectos do meio de preservação, do osso dentro do mesmo e do osso fora do meio à época da enxertia, nos seis métodos avaliados.

Métodos	Aspectos do meio de preservação	Aspecto do osso dentro do meio	Aspecto do osso fora do meio, à enxertia
Glicerina Autoclavada	– Aspecto turvo e engordurado – Função de lente	– Cozimento – Enegrecimento da parte mole aderida	– Seco e quebradiço
Glicerina	– Função de lente – Transparente	– Fraturas longitudinais (50%)	– Seco e quebradiço
Merthiolate	– Transparente	– Normal	– Aspecto normal – Resistência normal
Congelamento	– Turvo (leitoso)	– Não visível	– Aspecto normal – Resistência normal
Autoclavagem	– Bolhas de gordura na parede e deposição no fundo do tubo	– Cozimento – Enegrecimento da parte mole aderida	– Seco e quebradiço
Refrigeração	– Tubo transparente	– Coloração avermelhada	– Aspecto normal – Resistência normal

Discussão

Na presente pesquisa a coleta dos ossos ocorreu imediatamente após o sacrifício do animal mas, segundo Tomford et al. (1983), eles podem ser colhidos de cadáveres mantidos sob refrigeração por um período de até 12 horas. Nenhum paciente com evidência de infecção pode ser doador (Jonck, 1981 ; Kerwin et al., 1991), assim como os portadores de doenças metabólicas que afetam o osso (Chapman e Villar, 1992).

Costa (1996) realizou a coleta de forma limpa e não-asséptica e, apesar de não ter encontrado manifestações de contaminação, cita que é consenso que somente deverá ser realizada quando o osso for submetido a um método de esterilização durante a estocagem. Nesta pesquisa, os ossos foram colhidos de maneira asséptica e nos trabalhos de Melo (1997), mesmo quando foram esterilizados posteriormente.

Os resultados microbiológicos sugerem que mesmo na coleta estéril, os ossos colhidos podem ter-se contaminado por agentes da pele. Mas não pode ser descartada a possibilidade de contaminação durante a estocagem (Henry e Wadsworth, 1981). Estes aspectos reforçam a coerência do procedimento utilizado nesta pesquisa, no qual em todas as culturas que apresentaram resultados positivos os ossos foram descartados, sendo este procedimento recomendado para futuros bancos.

É importante o controle periódico da qualidade do osso estocado. Entretanto, durante a coleta das amostras existe a possibilidade de contaminação do meio e a coleta de material, à época da implantação, para realização de exame microbiológico só demonstrará a contaminação após a cirurgia, como aconteceu com o animal 1, no método 2, que aparentemente não interferiu no processo de reparação, pois foi classificado como bom resultado (Tabela 1, animal 1). Além disso, deve-se considerar que fatores outros que a implantação do enxerto, tais como dissecação extensa, tempo operatório longo, instrumentos ou pessoal contaminado, podem produzir ou contribuir para a contaminação bacteriana.

Os maus resultados obtidos nos métodos 1 e 5 permitem concordar que a alta temperatura causou desnaturação das proteínas ósseas (Jonck, 1981) e prejudicou a remodelação após o implante (Hart et al., 1984). Segundo Jonck (1981), o osso fervido é o último a ser incorporado pelo receptor, porque a capacidade indutora de reparo é completamente destruída. Provavelmente, a autoclavagem com propósitos de esterilização leva à coagulação sanguínea e desnaturação das proteínas nos canais de Havers e desnaturação do colágeno ósseo. Então, enquanto a coagulação impede a revascularização, a desnaturação da matriz impede o processo biológico normal de reparo. Além disso, a proteína óssea morfogenética (BMP) é destruída por técnicas rotineiras de autoclavagem (Tomford et al., 1983).

Pode-se inferir que o osso autoclavado requer maior tempo para revascularização e incorporação, e nesta época o enxerto torna-se quebradiço (Tabela 3), sua resistência mecânica é pequena e normalmente acontecem fraturas. Além disso, é preciso reconhecer que é desvantajoso aos enxertos fervidos, autoclavados, ou conservados em merthiolate não conservarem a osteoindução (BMP) e possuírem baixa osteocondução segundo Tomford et al. (1983).

Apesar de Pigossi (1967) relatar os efeitos bactericida e fungicida da glicerina, no método 2 duas amostras (17%) estavam contaminadas. Tanto Pigossi (1967) quanto Costa (1996) reidrataram seus enxertos em solução fisiológica com antibiótico, enquanto que no método 2 a reidratação foi feita apenas com solução salina, o que pode justificar o achado.

A preservação em glicerina interferiu de alguma maneira na eficácia do enxerto. As propriedades biomecânicas foram alteradas devido à desidratação e apareceram fraturas e microfraturas no osso ainda dentro do meio (Tabela 3), concordando com Costa (1996), que verificou perda de resistência de enxertos preservados neste meio.

Os processos de desidratação e reidratação, no transoperatório, pelos quais o osso em glicerina é obrigado a passar, inter-

ferem na sua resistência mecânica e, a essa época, ele se apresentou ressequido e sem tenacidade, justificando, portanto, as complicações encontradas nos animais de números 4 e 5 do método.

Nos ossos tratados com merthiolate os resultados experimentais foram pobres. O enxerto desencadeou pouca osteogênese e proliferação, e quando o mesmo fraturou não houve evidência histológica de cura. Some-se a isso a toxicidade da solução para os tecidos, descrita por Jonck (1981).

Neste estudo, a metade dos enxertos não teve resultado clínico satisfatório. Já nas pesquisas de Reynolds et al. (1951), somente 30% dos enxertos conservados desta maneira falharam. Além disso, a baixa eficácia do merthiolate como esterilizante químico foi demonstrada pelo alto número (42%) de amostras contaminadas.

Nesta pesquisa e no trabalho de lamaguti (1973), o congelamento do osso foi realizado a -16°C , que é a temperatura dos congeladores residenciais. Achados clínicos e experimentais têm demonstrado que, nesta técnica, a imunogenicidade óssea foi parcialmente retida, mas não interferiu no processo de reparação (resultado bom, tabela 1), concordando com os achados de Pelker et al. (1983) e Bloomberg et al. (1984), Hart et al. (1984). Pode-se conjecturar que células intactas são necessárias para induzir a reação, e que o congelamento lesa estas células reduzindo sua imunogenicidade (Friedlaender, 1982; Tomford et al., 1983; Mankin et al., 1983; Bradford et al., 1987).

Estudos sugerem que o congelamento não afeta a resistência mecânica do enxerto ósseo (lamaguti, 1973). Já Pelker et al. (1983) relatam uma diminuição da resistência tênsil e compressiva em torno de 10%. Deve ser considerado que a -16°C as enzimas no tecido são ainda ativas e eventualmente diminuem a resistência biomecânica do osso. Nas circunstâncias deste trabalho, esta diminuição não foi clinicamente importante porque é sabido que, tanto a resistência tênsil quanto a compressiva, diminuem significativamente durante a incorporação (Bloomberg et al., 1984; Wilson et al., 1985).

Além dos bons resultados obtidos com o método 4 em termos de aspecto do osso e propriedades mecânicas, é preciso considerar que a BMP ativa tem sido demonstrada em enxertos congelados (Friedlaender, 1982).

Os resultados do método 6 foram desalentadores: nenhum foi bom e 50% das amostras se contaminaram. Entretanto, pode-se conjecturar que o osso pode também ser mantido em refrigeração, mas por um curto período de tempo, apesar de que temperatura em torno de 0°C não pára a destruição enzimática de proteínas, e que fungos e bactérias podem proliferar nesta temperatura.

Conclusão

Considerando o conceito: "os objetivos de qualquer banco de ossos envolvem preservar a integridade física do implante e a proteína osteoindutora, reduzir sua imunogenicidade, e preservar sua esterilidade", conclui-se que, dos métodos testados, o que apresenta melhores resultados é a preservação óssea em solução fisiológica com cefalosporina congelado a -16°C .

Abstract

Six methods of bone allografts preservation were compared. The bone proteins were denatured by autoclaving and this process interfered in the graft incorporation. The glycerin 98% solution were not effective in the sterilizing the bone and modified its biomechanics properties. The refrigeration and the merthiolate solution were not effectives in the sterilizing and the grafts failed. The bone preserved under freezing in physiologic solution plus antibiotic remained sterile, preserving its physical integrity and the graft did not fail.

Keywords: bone allografts; bone bank; traumatology.

Referências bibliográficas

- BLOOMBERG, N.S., CORING, R.L., BORN, F. Frozen diaphyseal bone allografts combined with external and internal pin splintage in small animal ortopedic surgery. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v. 20, p. 393-402, 1984.
- BRADFORD, D.S., LONSTEIN, J.E., MOE, J.H., OLGIVIE, J.W., WINTER, R.B. Moes textbook of scoliosis and other spinal deformities. *Bone transplantation, bone banking, and establishing a surgical bone bank*. 2nd ed. Philadelphia, Saunders, 1987.
- CHAPMAN, P.G., VILLAR, R.N. The bacteriology of bone allografts. *J. Bone Joint Surg.*, Boston, v. 74 B, p. 398-399, 1992.
- CONRAD, E.V., ERICKSEN, D.P., TENCER, A.F. The effects of freeze-drying and rehydration on bone. *Clin. Orthop.*, n. 290, p. 279-284, 1993.
- 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. 100 p. Dissertação (Mestrado) - Jaboticabal : UNESP.
- CRUSE, P.J.E. Incidence of wound infection on the surgical services. *Surg. Clin. North America*, v. 55, p. 1269-1275, 1975.
- FRIEDLAENDER, G.E. Current concepts review. Bone Banking. *J. Bone Joint Surg.*, v. 64A, p. 307-311, 1982.
- HART, M.M., CAMPBELL, E.D., KARTUB, M.G. Bone banking: a cost affective method for establishing community hospital bone bank. *Clin. Orthop.* v. 206, p. 295-300, 1984.
- HENRY, W.B., WADSWORTH, P.L. Diaphyseal allografts in the repair of long bones fractures. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* v. 17, p. 525-534, 1981.
- IAMAGUTI, P. *Tratamento das fraturas em cães (Canis familiaris) por implante ósseo homólogo preservado e associado ao pino intramedular de Steinmann*. 1973, 61 p Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.
- JOHNSON, A.L. Principles of bone grafting. *Seminars Veterinary Medicine Surgery – Small Animal*, v. 6, n.1, p. 90-91, 1991.
- JONCK, L.M. Allogenic bone transplantation: a review of the status of allogenic bone bank. *South African Med. J.*, v. 60, p. 428-433, 1981.
- KERWIN, S.C., LEWIS, D.D., ELKINS, A.D. Bone grafting and banking. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v. 13, n. 10, p. 1558-1563, 1991.
- MANKIN, H.J.; DOPPELT, S.; TOMFORD, W. Clinical experience with allograft implantation: the first ten years. *Clin. Orthop.*, v. 174, p. 69-86, 1983.
- MELO, E.G. *Glicerol como meio preservante de aloenxerto ósseo. Estudo experimental em cães (Canis familiaris)*. 1997. 65 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da UFMG.
- PELKER, R.; FRIEDLAENDER, G., MARKHAN, T. Biomechanical properties of bone allografts. *Clin. Orthop.*, v. 174, p. 54, 1983.
- PIERMATTEI, D.L., GREELEY, R.G. *Atlas de abordagem cirúrgicas aos ossos do cão e gato*. 2. ed. São Paulo, Manole, 1988, p. 87-179.
- PIGOSSI, N. *Glicerina na conservação de dura-mater. Estudo experimental*. 1967. Tese (Livre Docência). Faculdade de Medicina, USP.
- REYNOLDS, F.C., OLIVER, D.R., RAMSEY, R. Clinical evaluation of the merthiolate bone bank and homogenous bone graft. *J. Bone Joint Surg.*, v. 33, p. 873-877, 1951.
- STEVENSON, S., HOROWITZ, M. Currente concepts review the response to bone allografts. *J. Bone Joint Surg.*, v. 74 A n. 6, p. 939-950, 1992.
- TOMFORD, W.W., DOPPELT, S.H., MANKIN, H.J., FRIEDLAENDER, G.E. 1983 bone bank procedures. *Clin. Orthop.*, v. 174, p. 15-21, 1983.
- WILSON, J.W., RHINELANDER, F.W., STEWART, C.L. Vascularization of cancellous chip bone grafts. *Am. J. Vet. Res.*, v. 46, p. 1691-1699, 1985.