

## UTILIZAÇÃO DE ENXERTO CORTICAL DE AVE (*Gallus gallus domesticus* - LINNAEUS, 1758) NA REPARAÇÃO DE OSTEOTOMIA DIAFISÁRIA FEMORAL EM GATOS.

(USE OF AVIAN CORTICAL XENOGRAFT (*Gallus gallus domesticus* - LINNAEUS, 1758) FOR THE REPAIRMENT OF FEMORAL DIAPHYSIS OSTEOTOMY IN THE CAT)

(UTILIZACIÓN DE INJERTO CORTICAL DE AVE (*Gallus gallus domesticus* - LINNAEUS, 1758) EN LA REPARACIÓN DE OSTEOTOMÍA DIAFISIARIA FEMORAL EN GATOS)

P. C. MORAES<sup>1</sup>, A. L. SELMI<sup>2</sup>, J. G. PADILHA FILHO<sup>3</sup>, J. C. CANOLA<sup>3</sup>

### RESUMO

Objetivou-se avaliar a eficácia do emprego de enxerto cortical de ave (*Gallus gallus domesticus*), conservado em glicerina a 98%, como método de substituição de falhas ósseas femorais, em gatos adultos, utilizando o sistema de placas e parafusos como fixação. Foram utilizados oito gatos adultos, de ambos os sexos, sem raça definida, que foram divididos em quatro grupos relativos aos tempos de pós-operatório. As avaliações destes animais consistiram em análise clínico-cirúrgica, radiográfica e macroscópica. As tomadas radiográficas foram realizadas semanalmente, e a análise macroscópica realizada de acordo com o momento da eutanásia de cada grupo de animais (GI: 30 dias; GII: 60 dias; GIII: 90 dias; GIV: 120 dias). A avaliação macroscópica e radiográfica realizada aos 120 dias de pós-operatório evidenciou absorção parcial do enxerto empregado e discreta formação de calo ósseo, algumas vezes acompanhada de instabilidade nas interfaces enxerto/hospedeiro. Devido ao retardo na remodelação e consolidação das linhas de osteotomia, pode-se concluir que a utilização de enxerto xenógeno de ave em gatos constitui-se método ineficaz para a rotina ortopédica de pequenos animais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Enxerto xenógeno. Substituição óssea. Ortopedia. Gatos.

### SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the use of avian cortical bone xenograft (*Gallus gallus domesticus*) preserved in 98% glycerol associated with bone plates as a fixation method for segmental femoral osteotomies. Eight adult cats of either sex were divided into four groups with two animals each. Clinical, surgical, radiographic and macroscopic examinations were performed. Radiographic evaluation was done weekly until time of euthanasia at 30, 60, 90 and 120 days after surgery for each group. Radiographic and macroscopic evaluations at 120 days revealed partial absorption of the bone graft and mild callus formation, followed by instability at the bone/graft interface. Due to the delay in bone union and remodeling, it was concluded that avian xenograft, as used in this experiment with cats, was not a satisfactory option for the orthopedic routine.

**KEY-WORDS:** Xenograft. Bone substitution, orthopedic, cats.

<sup>1</sup> Médica Veterinária. Aluna do Curso de Doutorado da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista. E-mail: paolacastro@bol.com.br - End. Correspondência: Av. Patriarca, 4700 - CEP 14031-580 - Parque Ribeirão - Ribeirão Preto - SP.

<sup>2</sup> Professor Doutor Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Anhembi-Morumbi.

<sup>3</sup> Professor Assistente Doutor - DCCV. FCAV - Unesp - Campus Jaboticabal.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia del empleo del injerto cortical de ave (*Gallus gallus domesticus*), conservado en glicerina al 98%, como método de reparación de fallas óseas femorales, en gatos adultos, utilizando el sistema de placas y tornillos para la fijación. Fueron utilizados ocho gatos adultos, machos o hembras, mestizos, distribuidos en cuatro grupos, de acuerdo al tiempo de postoperatorio. Las evaluaciones de estos animales consistían en análisis clínico-quirúrgico, radiográfico y macroscópico. Las radiografías fueron hechas semanalmente y el análisis macroscópico realizado de acuerdo con el momento de eutanasia de cada grupo de animales (GI: 30 días; GII: 60 días; GIII 90 días; GIV: 120 días). La evaluación macroscópica y radiográfica realizada a los 120 días de postoperatorio evidenció absorción parcial del injerto empleado y discreta formación de callo óseo, algunas veces acompañada de inestabilidad en las interfases injerto/hospedero. Debido al retardo en la remodelación y consolidación de las líneas de osteotomía, puede concluirse que la utilización del injerto xenogénico de ave en gatos es un método ineficaz para la rutina ortopédica de pequeños animales.

**PALABRAS-CLAVE:** injerto xenogénico, sustitución ósea, ortopedia, gatos.

## INTRODUÇÃO

As fraturas dos ossos longos são bastante frequentes no cão e no gato, sendo o fêmur o osso mais acometido (JOHNSON et al, 1987). Nos últimos 20 anos, muitos estudos foram realizados e grandes avanços obtidos em ortopedia. Atualmente, muitos profissionais que se dedicam a esta especialidade acreditam que o emprego do enxerto ósseo cortical alógeno consiste na melhor conduta para reconstrução de grandes falhas ósseas (BROWN e CRUESS, 1982, ALEXANDER, 1983, JOHNSON et al, 1986, JOHNSON et al, 1987, JOHNSON et al, 1988, PINTO JR, 1990, PINTO JR, 1995, CONORADO et al, 2000).

Enxertos xenógenos têm sido usados para reparação de fraturas (TULI e CHAUDHURI, 1979, BOSCH et al, 1980), no entanto, complicações associadas com este tipo de enxerto podem limitar seu uso (WADSWORTH e HENRY, 1976, TULI e CHAUDHURI, 1979, GUPTA et al, 1982, SALAMA, 1983, STEVENSON et al., 1983, SCHENA et al., 1984, PHILLIPS et al., 1988).

Dentre as formas de conservação de tecido ósseo, a utilização de glicerina a 98% tem se mostrado simples, econômica e, provavelmente, responsável pela baixa antigenicidade do material a ela submetido (PIGOSSI, 1964, COSTA, 1996, EIMANTAS, 1997). Entretanto, estudos recentes demonstraram que esse método de preservação não elimina a possibilidade de transmissão viral ao receptor (CONORADO et al., 2000).

O sucesso da enxertia óssea depende da adequada estabilização. Dentre os métodos de fixação, o uso de placas e parafusos proporciona excelente estabilidade no pós-operatório imediato (ALEXANDER, 1983, FRIEDLAENDER, 1987, COSTA, 1996), protegendo os enxertos das forças musculares e de compressão durante o processo de consolidação (BROWN e CRUESS, 1982, FRIEDLAENDER, 1987, COSTA, 1996) e permitindo apoio precoce, importante no processo de remodelação óssea (FRIEDLAENDER, 1982, ALEXANDER, 1983).

O presente trabalho almejou avaliar a eficácia de técnica original bastante simples e de baixo custo, tratando-se da utilização do osso de ave conservado em glicerina a 98% em temperatura ambiente no reparo de ostectomias diafisárias femorais em gatos adultos. A idéia de se testar a compatibilidade do osso de ave com o de gato se reforça pela facilidade de se obter um banco de ossos de baixo custo e sem a dependência da eutanásia de um outro animal da mesma espécie, além de diminuir as possibilidades de transmissão de doenças virais aos animais receptores.

Para averiguação da eficácia do novo método, avaliações clínico-cirúrgicas, radiográficas e macroscópicas foram etapas do mesmo trabalho, em que se pretendeu detectar possíveis alterações relacionadas ao enxerto xenógeno.

## MATERIAIS E MÉTODO

Foram utilizados oito gatos, de raça não definida, adultos, sendo quatro machos e quatro fêmeas, provenientes do biotério da Instituição. Esses animais foram previamente vacinados e desverminados, antes de serem submetidos ao experimento, mantidos em gaiolas individuais com ração balanceada e água *ad libitum*. Foram estudados quatro grupos, cada um formado por dois animais, correspondendo respectivamente aos tempos de avaliação do pós-operatório: 30, 60, 90 e 120 dias.

Os enxertos ósseos foram obtidos de ave adulta (*Gallus gallus domesticus*), macho, colhidos imediatamente após a eutanásia do animal, de forma limpa e não asséptica. Os enxertos foram acondicionados em frasco de vidro contendo glicerina a 98%, onde permaneceram em temperatura ambiente por no mínimo 30 dias antes de sua utilização.

Os animais foram submetidos à anestesia geral dissociativa, à base da associação tiletamina e zolazepan<sup>a</sup>, na dose de 0,2mg/kg, por via intramuscular. Ato contínuo

à anestesia, aplicou-se antibiótico profilático (amoxicilina e ácido clavulânico<sup>b</sup>, na dose de 1ml/10kg, via subcutânea). Após a anti-sepsia, realizou-se abordagem femoral preconizada por Piermattei (1993) seguida da ostectomia com auxílio do fio serra de Gigli e serra ortopédica manual, com remoção de aproximadamente dois centímetros da diáfise femoral (cerca de 20%), incluindo o periósteo. Essa falha óssea foi preenchida posteriormente com o enxerto cortical xenógeno de comprimento semelhante ao do segmento ósseo removido. O enxerto selecionado foi reidratado em solução de soro fisiológico acrescida de neomicina<sup>c</sup> na concentração aproximada de 1%, por no mínimo 10 minutos. Após reidratação, o enxerto foi fixado junto à placa, confeccionada artesanalmente com aço 304, utilizando dois parafusos. O conjunto placa/enxerto foi então implantado na falha óssea do fêmur receptor e fixado com três parafusos proximais e três distais (Figura 1). Importante salientar que a região foi freqüentemente irrigada com solução fisiológica estéril a 0,9% acrescida de neomicina, enquanto permaneceu exposta (COSTA, 1996, EIMANTAS, 1997).

O ketoprofeno<sup>d</sup> foi fornecido como analgésico na dose de 1mg/kg de peso, por via subcutânea, no pós-operatório imediato e a cada 24 horas, por dois dias.

Todos os animais foram examinados diariamente. Avaliou-se o estado geral, temperatura retal, aspecto clínico da ferida cirúrgica, momento de apoio do membro operado e de utilização durante deambulação. O controle radiográfico dos fêmures operados foi realizado nas posições látero-medial e crânio-caudal, no pós-operatório imediato e semanalmente, até o momento da eutanásia.

Seguindo-se os tempos de pós-operatório estabelecidos, os animais foram submetidos à eutanásia com sobredose barbitúrica e seus fêmures analisados macroscopicamente. Observou-se a reação dos tecidos



**Figura 1** - Imagem fotográfica transoperatória do conjunto placa óssea/parafusos/enxerto xenógeno aplicados na reparação de ostectomia da diáfise femoral de gato. Notar posicionamento de dois parafusos para fixação do enxerto à placa metálica confeccionada com aço 304.

moles, formação de calo ósseo e aspectos dos implantes metálicos e enxertos, procurando-se sinais de rejeição ou quaisquer outras alterações que lhes pudessem ser atribuídas.

## RESULTADOS

O procedimento cirúrgico transcorreu sem maiores problemas, exceto pelo fato de o enxerto ósseo possuir a cortical delgada, o que causou sua fratura durante a colocação dos parafusos, em quatro animais, elevando o tempo operatório. Além disso, havia disparidade entre os diâmetros hospedeiro/enxerto, dificultando a justaposição das interfaces.

Todos os animais apresentaram bom estado geral durante o período de observação, ausência de sinais de infecção ou quaisquer alterações que pudessem ser atribuídas ao enxerto ou implante utilizados. Caminharam com apoio parcial do membro operado no dia seguinte à cirurgia e após oito dias não apresentavam sinais de claudicação.

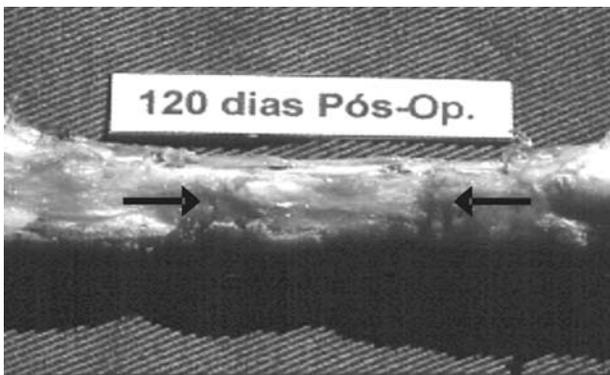
Radiograficamente, aos 30 dias de pós-operatório, havia presença de calo ósseo incompleto nas interfaces proximal e distal, sendo mais evidente na primeira. Em um dos animais, o implante metálico encontrava-se curvado lateralmente. Macroscopicamente, após remoção da placa e dos parafusos, não foi observada consolidação óssea.

Aos 60 dias pós-operatório, encontrou-se presença de calo ósseo exuberante com marcada reação periosteal, principalmente na interface proximal. Ao exame macroscópico, na face medial dos ossos, havia ainda tecido de aspecto fibroso na interface osso hospedeiro/enxerto. Já aos 90 dias após a cirurgia, em um dos animais houve incorporação do enxerto xenógeno e consolidação da área ostectomizada (Figura 2). À retirada da placa, o osso apresentava-se totalmente estável. Entretanto, no segundo animal deste grupo, não ocorreu formação de calo ósseo na interface distal, e, à retirada da placa observou-se óbvia instabilidade com formação de tecido fibroso unindo o enxerto empregado ao osso hospedeiro.

Completa formação de calo ósseo envolvendo as interfaces, com incorporação do enxerto e estabilidade total da osteossíntese foi observada radiograficamente aos 120 dias de pós-operatório em um dos animais. Observou-se também, reabsorção parcial do enxerto, cujos restos permaneceram no local apresentando coloração diferente do osso receptor e do calo ósseo formado (Figura 3). O outro animal do mesmo grupo apresentou presença de calo ósseo na interface proximal, não ocorrendo o mesmo na distal. O enxerto apresentava-se reabsorvido, o que causou evidente instabilidade na porção distal, com formação de tecido fibroso unindo o enxerto ao leito hospedeiro.



**Figura 2** - Avaliação radiográfica aos 90 dias de pós-operatório. Observa-se formação de calo ósseo na interface proximal (seta).



**Figura 3** - Imagem fotográfica do membro esquerdo de gato, 120 dias após osteossíntese com enxerto xenógeno conservado em glicerina a 98%. Observa-se incorporação do enxerto ósseo ao leito receptor em ambas interfaces. As setas indicam as interfaces hospedeiro/enxerto.

## DISCUSSÃO

No presente trabalho os enxertos ósseos foram conservados em glicerina a 98%, sendo o custo para manutenção de banco de ossos extremamente reduzido. Opinião comungada por outros autores (PINTO JR, 1990,

COSTA, 1996, EIMANTAS, 1997), ao empregarem enxerto ósseo conservado da mesma forma, contrariando citações que referiram facilidades em se obter doadores para enxertia a fresco e que a manutenção de banco de ossos proporcionaria gastos desnecessários (FRIEDLAENDER, 1982, ALEXANDER, 1983, FRIEDLAENDER, 1987).

A glicerina a 98%, em temperatura ambiente, mostrou-se eficiente para conservação de tecidos ósseos, não provocando reações de rejeição ou infecção no tecido hospedeiro estudado, aspectos encontrados também por outros autores (PIGOSSI, 1964, PINTO JR, 1990, PINTO JR, 1995, COSTA, 1996, EIMANTAS, 1997). No entanto, a transmissão de retrovírus por meio de enxertos alógenos conservados em glicerina a 98%, em gatos saudáveis, foi recentemente observada (CONORADO et al., 2000), contrariando os autores acima citados, de forma que a utilização de enxertos xenógenos poderia ser vista como alternativa ao uso de aloenxertos, se não fosse os problemas relatados neste estudo.

Quanto maior a diferença entre os códigos genéticos dos indivíduos, maior a chance de rejeição do tecido transplantado (PHILLIPS et al., 1988). Os indivíduos envolvidos neste experimento são de espécies diferentes, com códigos genéticos bem distintos. Assim, o resultado obtido corrobora tais afirmações, já que a consolidação não foi satisfatória, apesar dos relatos que demonstram a capacidade da glicerina em diminuir a antigenicidade. O processo desenvolveu-se de forma lenta e menos harmoniosa do que experimentos anteriores que empregaram enxerto alógeno, utilizando-se técnica idêntica de osteossíntese (COSTA, 1996). Enxertos xenógenos têm sido usados para reparação de fraturas (TULI e CHAUDHURI, 1979, BOSCH et al., 1980), no entanto, complicações associadas com esse tipo de enxerto podem limitar seu uso (WADSWORTH e HENRY, 1976, TULI e CHAUDHURI, 1979, GUPTA et al., 1982, SALAMA, 1983, STEVENSON et al., 1983, SCHENA et al., 1984).

No presente trabalho não foram realizados testes de resistência nos enxertos ósseos. Entretanto, fazendo-se comparação direta com o osso fresco, pode-se verificar que os enxertos xenógenos conservados em glicerina, utilizados neste estudo, ficaram menos resistentes e quebradiços (EIMANTAS, 1997). A diminuição da resistência mecânica dos enxertos ósseos não está relacionada somente à conservação em glicerina. Praticamente todos os métodos de conservação promovem diminuição na resistência. Ossos conservados em "freezer" especial (BROWN e CRUESS, 1982) e esterilizados por óxido de etileno (GUPTA et al., 1982) ficaram densos e quebradiços. A estocagem de enxertos ósseos esterilizados por óxido de etileno por período máximo de seis meses em freezer foi recomendada para se evitar desidratação e conseqüente diminuição da resistência mecânica (JOHNSON et al., 1987). Enxertos liofilizados tornaram-se densos e quebradiços e passíveis de fratura longitudinal,

apesar de reidratados por duas horas (SCHENA et al., 1984). O maior problema relacionado com as alterações mecânicas, foi a dificuldade de colocação dos parafusos de fixação nos enxertos, visto que a cortical do osso de ave é bastante delgada, dificultando o processo. Assim, houve fratura de enxertos no momento de sua colocação em quatro animais, sendo necessária a confecção de um segundo conjunto enxerto-placa, o que resultou em tempo operatório elevado. Apesar da diminuição da resistência, não foram observadas fraturas longitudinais dos enxertos durante o processo de consolidação (JOHNSON, 1988).

O sistema de placa e parafusos ofereceu excelente proteção aos enxertos durante o processo de consolidação (BROWN e CRUESS, 1982, FRIEDLAENDER, 1987, COSTA, 1996), conferindo estabilidade adequada, exceção a um dos animais avaliados por 30 dias, onde observou-se que a placa encontrava-se entortada, o que acarretou demora da consolidação. Adicionalmente, o emprego deste dispositivo permitiu deambulação precoce, o que é importante para o processo de consolidação.

Devido ao maior diâmetro do osso da ave não coincidir com o do gato e suas corticais serem extremamente distintas em relação à espessura, não foi possível obter perfeita justaposição das interfaces. Na maioria dos animais observou-se a formação de espaço entre o enxerto e o osso receptor, referente ao diâmetro ósseo, o que parece ser a causa mais provável do retardo da consolidação e da instabilidade encontrada. Não só a estabilidade, mas também a aposição entre o enxerto e o osso receptor é essencial para o sucesso da enxertia (ALEXANDER, 1983, JOHNSON, 1988, PHILLIPS et al., 1988, COSTA, 1996).

Coronado et al. (2000) compararam a evolução da incorporação óssea de aloenxertos conservados em glicerina a 98% e ossos esterilizados por óxido de etileno em gatos, e não observaram diferenças histológicas que contra-indicassem a utilização dos primeiros. Verificou-se neste trabalho, que a união óssea ocorreu mais precocemente na interface proximal que na distal, resultado também verificado em outros estudos (TULI e CHAUDHURI, 1979, SCHENA et al., 1984, COSTA, 1996), podendo ser resultante de maior massa muscular na região proximal do membro e conseqüentemente maior aporte vascular, ou por maior estabilidade, ou ainda associação desses fatores. O controle radiográfico semanal permitiu a identificação segura do momento de união óssea e do início da fase de remodelação, como sugerido por Costa (1996).

## CONCLUSÕES

As observações realizadas durante o desenvolvimento deste trabalho nos permitem inferir que, no período máximo de observação deste trabalho (120 dias), verificou-se tanto macroscópica quanto radiograficamente,

que os enxertos foram parcialmente absorvidos e substituídos por tecido ósseo. Porém, devido aos resultados clínicos, radiográficos e macroscópicos não terem sido alentadores, marcados pelo número reduzido de animais por grupo, demora intensa de remodelação e consolidação das linhas de ostectomia, podemos concluir que o método é ineficaz para a rotina ortopédica.

ARTIGO RECEBIDO: Outubro/2003

APROVADO: Fevereiro/2004

## REFERÊNCIAS

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, p. 671-678, 1983.

BOSCH, P., LINTNER, F., ARBES, H., BRAND, G. Experimental investigations of the effect of the fibrin adhesive on the keel heterologous bone graft. **Archives of Orthopaedics and Trauma Surgery**, v. 96, p. 177-185, 1980.

BROWN, K.L.B., CRUESS, R.L. Bone and cartilage transplantation in orthopedic surgery. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 64-A, p. 270-279, 1982.

CORONADO JR, G.S., SWENSON, C.L., MARTINEZ, S.A., BURKHARDT, K. S., ARNOCZKY, S. P. Effects of a 98% solution of glycerol or sterilization with ethylene oxide on FeLV in bone allografts and effects on bone incorporation of allografts in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 6, p. 665-671, 2000.

COSTA, L.O.C. **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*)**. Jaboticabal, SP. 1996. 100p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

EIMANTAS, G.C. **Reparação e estabilização de fraturas femorais distais em cães e gatos jovens com a utilização de fibula conservada em glicerina- Estudo experimental**. Jaboticabal, SP. 1997. 110p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

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

FRIEDLAENDER, G.E. Current concepts review. Bone banking. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 69-A, n. 5, p. 786-790, 1987.

GUPTA, D., KHANNA, S., TULI, S.M. Bridging large bone defects with a xenograft composited with autologous bone marrow: an experimental study. **International Orthopedics**, v. 6, p. 79-85, 1982.

JOHNSON, A.L., ROE, S.C., HARARI, J. Ethylene oxide esterilization of cortical bone banking. Techique and results in three dogs and one cat. **Veterinary Surgery**, v. 15, n. 1, p. 49-54, 1986.

JOHNSON, A.L., MOUTRAY, M., HOFFMAN, W.E. Effect of ethylene oxide esterilization and storage conditions on canine cortical bone harvested for bone grafting. **Veterinary Surgery**, v. 16, p. 418-422, 1987.

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

PHILLIPS, L., PARKER, R.B., BLOOMBERG, M.S. Cortical bone allografts. **Compedium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 10, n. 10, p. 1167-1176, 1988.

PIERMATTEI, D. L. **An atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat**. 3. ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. 324p.

PIGOSSI, N. **Implantação de dura-máter homóloga conservada em glicerina. Estudo experimental em cães**. São Paulo, SP. 1964. 37p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

PINTO JR, H.S. **Utilização de enxertos ósseos homólogos preservados na reparação de fraturas cominutivas de ossos longos de cães**. São Paulo, SP. 1990. 54p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

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**. São Paulo, SP. 1995. 75p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

SALAMA, R. Xenogeneic bone grafting in humans. **Clinical Orthopaedics**, v. 174, p. 113-121, 1983.

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

STEVENSON, S., HOHN, R.B., TEMPLETON, J.W. Effects of tissue antigen matching on the healing of fresh cancellous bone allografts in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, p. 201-206, 1983.

TULI, S.M., CHAUDHURI, R.H. Effect of preimplantation treatment on the bone forming potential of decalcified allogeneic and xenogeneic bone-matrix implants. **Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery**, v. 94, p. 167-173, 1979.

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