

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 15/07/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**TÉCNICA DA MEMBRANA INDUZIDA USANDO
CIMENTO ÓSSEO ORTOPÉDICO OU RESINA
ACRÍLICA ODONTOLÓGICA, ACRESCIDOS OU NÃO
DE ANTIBIÓTICO, EM DEFEITO SEGMENTAR NO
RÁDIO DE GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*)**

LUIZ DONIZETE CAMPEIRO JUNIOR

Botucatu – SP

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**TÉCNICA DA MEMBRANA INDUZIDA USANDO
CIMENTO ÓSSEO ORTOPÉDICO OU RESINA
ACRÍLICA ODONTOLÓGICA, ACRESCIDOS OU NÃO
DE ANTIBIÓTICO, EM DEFEITO SEGMENTAR NO
RÁDIO DE GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*)**

LUIZ DONIZETE CAMPEIRO JUNIOR

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof.^a Titular Sheila Canevese Rahal

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Campeiro Junior, Luiz Donizete.

Técnica da membrana induzida usando cimento ósseo ortopédico ou resina acrílica odontológica, acrescidos ou não de antibiótico, em defeito segmentar no rádio de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) / Luiz Donizete Campeiro Junior.
- Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Sheila Canevese Rahal

Capes: 50501003

1. Histologia. 2. Polimetil metacrilato. 3. Radiografia.
4. DNA intergênico.

Palavras-chave: Espaçador; Histologia;
Polimetilmetacrilato; Radiografia.

Nome do autor: Luiz Donizete Campeiro Junior

TÍTULO: TÉCNICA DA MEMBRANA INDUZIDA USANDO CIMENTO ÓSSEO ORTOPÉDICO OU RESINA ACRÍLICA ODONTOLÓGICA, ACRESCIDOS OU NÃO DE ANTIBIÓTICO, EM DEFEITO SEGMENTAR NO RÁDIO DE GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*)

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Titular Sheila Canevese Rahal
Presidente da banca e orientadora
Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal
FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Dra. Luciane dos Reis Mesquita
Membro interno
Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof^o. Dr. Marcos de Almeida Souza
Membro externo
Patologia Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária FAVET/UFMT – Cuiabá – MT

Prof^o. Dr. Roberto Lopes de Souza
Membro externo
Departamento de Cirurgia Veterinária/ Faculdade de Medicina Veterinária
FAVET/UFMT – Cuiabá - MT

Dr. Washington Takashi Kano
Membro externo
Médico Veterinário autônomo

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP (Botucatu) pela oportunidade.

Agradeço a Deus por ter me ajudado e me guiado na realização desse trabalho, agradeço a minha princesa linda esposa Alini, a qual sempre esteve comigo desde o início na realização e execução desse projeto, ao nosso lindo filho Luiz Gabriel que foi a melhor realização que tivemos, agradeço a minha linda filha Ana Luiza e minha família em especial meus pais, os quais mesmo de longe sempre acreditaram em meus sonhos.

Meu grande agradecimento a professora Dra. Sheila que me aceitou desde o início na orientação desse projeto, mesmo sem me conhecer pessoalmente abriu as portas da UNESP Botucatu para a realização dele, e em nenhum momento poupou esforços para a conclusão desse trabalho, meu eterno agradecimento!!! Agradeço ao grande Professor Dr. Roberto que também foi e sempre será meu orientador também nessa jornada acadêmica, se não fosse pelo senhor não estaria aqui nesse momento. Ao professor Dr. Marcos que sempre nos auxiliou para a realização da parte histológica das nossas pesquisas, e pelo aceite de estar presente nesse momento, agradeço a todos professores da UNESP Botucatu, pelos ensinamentos, agradeço pela parceria da UFMT em especial professor Roberto e Marcos, pela realização desse trabalho.

Agradeço a todos da equipe do Hospital Veterinário Duovet que também auxiliou na realização desse trabalho, Thauane, Henrique, Bruna, entre outros. Aos meus amigos de docência, Jomel, Tâmara e Paulo. Agradeço ao meu amigo de doutorado Ivaldo que me ajudou desde o início que entrei no programa de pós-graduação.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELA.....	ix
Resumo	xi
Abstract	xii
CAPÍTULO 1	1
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	2
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
3 REFERÊNCIAS	15
CAPÍTULO 2	20
Artigo científico 1	21
Artigo científico 2	54
ANEXO	83

Lista de Figuras

Capítulo 1

- Figura 1.** Sequência cirúrgica mostrando o afastamento muscular para identificação do rádio (a), defeito segmentar (b), aplicação do cimento ósseo ortopédico em forma de cilindro na falha segmentar (c)..... 25
- Figura 2.** Coleta da membrana induzida com 15 dias de pós-operatório (a) e armazenamento em formalina desta e das extremidades proximal e distal do rádio (b)..... 27
- Figura 3.** Exemplo de mensuração da membrana induzida em três locais distintos (linhas amarelas) em uma ave do Grupo 1 (cimento ósseo) aos 21 dias de pós-operatório, empregando o software QuPath-0.3.2. Aumento de 2,5X..... 28
- Figura 4.** Exemplo da marcação para contagem de vasos sanguíneos (pontos em amarelo) da membrana induzida em uma ave do Grupo 1 (cimento ósseo), aos 21 dias de pós-operatório, empregando o software QuPath-0.3.2. Aumento de 20X..... 29
- Figura 5.** Projeções radiográficas médio-laterais de aves dos Grupo 1 (cimento ósseo ortopédico) no pós-operatório imediato (a) e 21 dias após a cirurgia (b) e de aves do Grupo 2 (cimento ósseo ortopédico acrescido de cefazolina em pó) no pós-operatório imediato (c) e 21 dias após a cirurgia (d). Em ambos os grupos se visibiliza o cimento ósseo ocupando a falha óssea, como uma massa radiopaca bem delimitada, com densidade próxima ao tecido ósseo, com discretos sinais de proliferação óssea na extremidade proximal. No Grupo 1 nota-se o deslocamento do cimento ósseo com 21 dias de pós-operatório (b)..... 31
- Figura 6.** Aspecto microscópico da membrana induzida em galinhas com cimento ósseo ortopédico aos sete (a), 15 (b) e 21 (c) dias de pós-operatório. (a) Proliferação de tecido fibrovascular contendo fibroblastos e histiócitos, e fibra muscular necrótica (asteriscos). HE, 20x. (b) Proliferação acentuada de tecido fibroso, desorganizado e altamente vascularizado (seta preenchida) com área de metaplasia cartilaginosa (linha pontilhada). HE, 10x. (c) Proliferação de tecido fibroso moderada, desorganizada e levemente vascularizada (asterisco), tecido conjuntivo mais frouxo (estrela) próximo ao tecido muscular esquelético. HE, 10x..... 33
- Figura 7.** Aspecto microscópico da membrana induzida em galinhas com cimento ósseo ortopédico acrescido de antibiótico aos sete (a), 15 (b) e 21 (c) dias de pós-operatório. (a) Proliferação de tecido fibrovascular com presença de fibroblasto e histiócitos, bem como células de Langerhans (seta preta) e fibra muscular necrótica (seta branca). HE, 20x. (b) Proliferação de tecido fibroso denso (asterisco), estreita faixa de tecido conjuntivo frouxo (estrela). HE, 5x. (a). (c) Proliferação de tecido fibroso frouxo e leve (asterisco), extensa área de metaplasia cartilaginosa (linha pontilhada) e tecido muscular esquelético (estrela). HE, 10x..... 36

Figura 8. Aspecto microscópico das extremidades ósseas em galinhas com cimento ósseo ortopédico aos sete (a), 15 (b) e 21 (c) dias de pós-operatório. (a) Osso compacto diafisário (asterisco preto); osso trabecular (asterisco vermelho); proliferação de tecido cartilaginoso (linha tracejada) e tecido fibroso (cruz); fibras musculares hialinizadas (seta branca). HE, 20x. (b) Proliferação de tecido fibroso denso, desorganizado (asterisco), associado a uma extensa área de matriz óssea (seta preenchida) adjacente à diáfise (estrela). HE, 5x. (c) Proliferação de tecido fibroso denso, desorganizado. HE, 5x..... 38

Figura 9. Aspecto microscópico das extremidades ósseas em galinhas com cimento ósseo ortopédico acrescido de antibiótico aos sete (a), 15 (b) e 21 (c) dias de pós-operatório. (a) Osso compacto diafisário (cruz) com discreta proliferação de tecido fibroso (asterisco) adjacente; fibras musculares (seta preta). HE, 20x. (b) Proliferação de tecido fibroso denso, desorganizado (asterisco), adjacente à diáfise (estrela). HE, 5x. (c) Proliferação de tecido fibroso denso, desorganizado (asterisco) associado a matriz óssea (estrela). HE, 5x..... 41

Capítulo 2

Figura 1. Projeções radiográficas médio-laterais de aves dos Grupo 1 (resina acrílica odontológica) no pós-operatório imediato (a) e 21 dias após a cirurgia (b) e de aves do Grupo 2 (resina acrílica odontológica acrescida de cefazolina em pó) no pós-operatório imediato (c) e 21 dias após a cirurgia (d). Em ambos os grupos se visibiliza a falha óssea, porém a resina acrílica não poder ser delimitada, visto a densidade da mesma se aproximar ao dos tecidos moles. Note o início da proliferação óssea nas extremidades aos 21 dias de pós-operatório..... 60

Figura 2. Aspecto microscópico da membrana induzida em galinhas com resina acrílica aos sete (a), 15 (b) e 21 (c) dias de pós-operatório. (a) Observe duas zonas distintas: porção externa mais delgada e formada por um tecido conjuntivo frouxo e células exibindo prolongamentos citoplasmáticos (asterisco); porção mais interna e mais espessa, composta por tecido conjuntivo desorganizado, altamente vascularizado (seta vazada) e um leve infiltrado inflamatório mononuclear (seta preenchida). HE, 10x. (b) Verifique duas zonas distintas: porção externa mais delgada e formada por um tecido conjuntivo frouxo e células exibindo prolongamentos citoplasmáticos (asterisco); porção mais interna e mais espessa, composta por tecido conjuntivo desorganizado, moderadamente vascularizado (seta vazada) e um moderado infiltrado inflamatório mononuclear (seta preenchida). HE, 10x. (c) Note duas zonas distintas: porção externa mais espessa e formada por um tecido conjuntivo frouxo e células exibindo prolongamentos citoplasmáticos (asterisco); porção mais interna, composta por tecido conjuntivo desorganizado, levemente vascularizado (seta vazada). HE, 10x..... 62

Figura 3. Aspecto microscópico da membrana induzida em galinhas com resina acrílica acrescida com antibiótico aos sete (a), 15 (b) e 21 (c) dias de pós-operatório. (a) Proliferação intensa de tecido conjuntivo ósseo (asterisco) entremeando-se no tecido muscular esquelético (dois asteriscos). HE, 10x. (b) Observa-se duas zonas distintas: uma porção externa mais delgada e formada por um tecido conjuntivo frouxo (asterisco); uma porção mais interna e espessa, composta por tecido conjuntivo desorganizado, levemente vascularizado (estrela) e tecido muscular esquelético (seta preenchida). HE, 5x. (c) Verifica-se duas zonas distintas: uma porção externa mais delgada e formada por células achatadas e discreta quantidade de tecido conjuntivo (asterisco); uma porção mais interna e espessa, composta por tecido conjuntivo desorganizado, frouxo (estrela) e levemente vascularizado (seta preenchida). HE, 5x.....

65

Figura 4. Aspecto microscópico das extremidades ósseas em galinhas com resina acrílica aos sete (a) 15 (b) e 21 (b) dias de pós-operatório. (a) Matriz óssea acentuada (asterisco), matriz cartilaginosa leve (seta preenchida) e área de calcificação distrófica acentuada (seta vazada). HE, 5x. (b) Proliferação moderada de tecido fibroso (asterisco), área de fragmentos de tecido ósseo (osteólise) envolvidos por células multinucleadas (seta preenchida) adjacente ao osso da diáfise (seta vazada). HE, 5x. (c) Proliferação moderada de tecido fibroso (asterisco), matriz cartilaginosa leve (seta preenchida), matriz óssea moderada (seta vazada) e tecido muscular (estrela). HE, 5x.....

68

Figura 5. Aspecto microscópico das extremidades ósseas em galinhas com resina acrílica acrescida de antibiótico aos sete (a) 15 (b) e 21 (b) dias de pós-operatório. (a) Proliferação acentuada de tecido fibroso, formando um calo (asterisco), matriz cartilaginosa leve (seta vazada) e óssea moderada (seta preenchida). HE, 2,5x. (b) Proliferação moderada de tecido fibroso (asterisco), matriz cartilaginosa moderada (seta vazada) e óssea acentuada (seta preenchida). HE, 10x. (c) Proliferação acentuada de tecido fibroso (asterisco) e moderada de matriz óssea (seta preenchida). HE, 10x.

71

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1. Avaliação histológica quantitativa das membranas induzidas, com respeito à proliferação de tecido fibroso (PTF), tecido fibroso entremeando-se no tecido muscular esquelético (TFETME), presença de células multinucleadas multifocais (PCMM), área focal de metaplasia mixoide (AFMM), áreas multifocais de metaplasia cartilaginosa (AMMC), infiltrado inflamatório mononuclear (IIM), fibras musculares degeneradas (FMD), metaplasia cartilaginosa (MC), em defeitos ósseos do rádio de galinhas, preenchidos com cimento ósseo ortopédico (Grupo 1), aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	34
Tabela 2. Avaliação histológica quantitativa das membranas induzidas, com respeito à proliferação de tecido fibroso (PTF), tecido fibroso entremeando-se no tecido muscular esquelético (TFETME), presença de células multinucleadas multifocais (PCMM), área focal de metaplasia mixoide (AFMM), áreas multifocais de metaplasia cartilaginosa (AMMC), infiltrado inflamatório mononuclear (IIM), fibras musculares degeneradas (FMD), metaplasia cartilaginosa (MC), em defeitos ósseos do rádio de galinhas, preenchidos com cimento ósseo ortopédico acrescido de antibiótico (Grupo 2), aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	37
Tabela 3. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à proliferação fibrosa (PF), matriz óssea (MO), matriz cartilaginosa (MC), em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) aos sete, 15 e 21 dias da fase 1 da técnica da membrana induzida.....	39
Tabela 4. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à proliferação fibrosa (PF), matriz óssea (MO), matriz cartilaginosa (MC), em galinhas do Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias da fase 1 da técnica da membrana induzida.....	42
Tabela 5. Espessura média das membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	43
Tabela 6. Densidade de vasos sanguíneos nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	43
Tabela 7. Proliferação de tecido fibroso (PTF), tecido fibroso entremeando-se no tecido muscular esquelético (TFETME) e presença de células multinucleadas multifocais (PCMM) verificados nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	44

Tabela 8. Área focal de metaplasia mixoide (AFMM), áreas multifocais de metaplasia cartilaginosa (AMMC), infiltrado inflamatório mononuclear (IIM), verificados nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	45
Tabela 9. Fibras musculares degeneradas (FMD) e metaplasia cartilaginosa (MC) verificadas nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	45
Tabela 10. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à proliferação fibrosa (PF), em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	46
Tabela 11. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à matriz óssea (MO), em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	46
Tabela 12. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à matriz cartilaginosa (MC), em galinhas do Grupo 1 (cimento ósseo) e Grupo 2 (cimento ósseo acrescido de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	47

Capítulo 2

Tabela 1. Avaliação histológica quantitativa das membranas induzidas, com respeito à proliferação de tecido fibroso (PTF), tecido fibroso entremeando-se no tecido muscular esquelético (TFETME), presença de células multinucleadas multifocais (PCMM), área focal de metaplasia mixoide (AFMM), áreas multifocais de metaplasia cartilaginosa (AMMC), infiltrado inflamatório mononuclear (IIM), fibras musculares degeneradas (FMD), metaplasia cartilaginosa (MC), formação de matriz óssea (FMO), infiltrado inflamatório granulomatoso macrófagos, linfócitos e células gigantes (IIGMLCC), proliferação de tecido ósseo (PTO) em defeitos ósseos do rádio de galinhas, preenchidos com resina acrílica odontológica (Grupo 1), aos 7, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	63
Tabela 2. Avaliação histológica quantitativa das membranas induzidas, com respeito à proliferação de tecido fibroso (PTF), tecido fibroso entremeando-se no tecido muscular esquelético (TFETME), presença de células multinucleadas multifocais (PCMM), área focal de metaplasia mixoide (AFMM), áreas multifocais de metaplasia cartilaginosa (AMMC), infiltrado inflamatório mononuclear (IIM), fibras musculares degeneradas (FMD), metaplasia cartilaginosa (MC), formação de matriz óssea (FMO), infiltrado inflamatório granulomatoso macrófagos, linfócitos e células gigantes (IIGMLCC), proliferação de tecido ósseo (PTO), áreas de calcificação distrófica (ACD), metaplasia óssea (MO) em defeitos ósseos do rádio de galinhas, preenchidos com resina acrílica odontológica acrescida de antibiótico (Grupo 2), aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	66

Tabela 3. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à proliferação fibrosa (PF), matriz óssea (MO), matriz cartilaginosa (MC), em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica odontológica) aos sete, 15 e 21 dias da fase 1 da técnica da membrana induzida.....	69
Tabela 4. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à proliferação fibrosa (PF), matriz óssea (MO), matriz cartilaginosa (MC), em galinhas do Grupo 2 (resina acrílica odontológica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias da fase 1 da técnica da membrana induzida.....	72
Tabela 5. Espessura média das membranas induzidas em galinhas do Grupo (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	73
Tabela 6. Densidade de vasos nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	73
Tabela 7. Proliferação de tecido fibroso (PTF), tecido fibroso entremeando-se no tecido muscular esquelético (TFETME) e presença de células multinucleadas multifocais (PCMM) verificados nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	74
Tabela 8. Área focal de metaplasia mixoide (AFMM), áreas multifocais de metaplasia cartilaginosa (AMMC), infiltrado inflamatório mononuclear (IIM), verificados nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	74
Tabela 9. Fibras musculares degeneradas (FMD) e metaplasia cartilaginosa (MC) verificadas nas membranas induzidas em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	75
Tabela 10. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à proliferação fibrosa (PF), em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	75
Tabela 11. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à matriz óssea (MO), em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	76
Tabela 12. Avaliação histológica quantitativa das extremidades ósseas proximal e distal à falha óssea, relativo à matriz cartilaginosa (MC), em galinhas do Grupo 1 (resina acrílica) e Grupo 2 (resina acrílica acrescida de antibiótico) aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório.....	76

CAMPEIRO JUNIOR, L.D. Técnica da membrana induzida usando cimento ósseo ortopédico ou resina acrílica odontológica, acrescidos ou não de antibiótico, em defeito segmentar no rádio de galinhas (*Gallus gallus domesticus*). Botucatu, 2020. 83p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar membranas induzidas pela técnica de Masquelet com o emprego de cimento ósseo ortopédico ou resina acrílica odontológica, acrescidos ou não de antibiótico, em modelo de falha óssea segmentar induzida no rádio esquerdo de galinhas. Foram utilizadas 60 galinhas híbridas, as quais foram distribuídas em Experimento 1 (G1 – cimento ósseo ortopédico, G2 – cimento ósseo ortopédico acrescido de cefazolina em pó) e Experimento 2 (G1 – resina acrílica odontológica, G2 - resina acrílica odontológica acrescida de cefazolina em pó). Em ambos experimentos foram realizados exames radiográficos do antebraço esquerdo no pós-operatório imediato e aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório. Para a coleta da membrana induzida, procedeu-se em cada grupo a eutanásia de cinco aves aos sete, 15 e 21 dias de pós-operatório. No Experimento 1, radiograficamente o cimento ósseo foi identificado com uma massa radiopaca ocupando a falha óssea. Pela análise histológica não houve diferença na espessura média entre os grupos em todos os momentos. As células multinucleadas multifocais diferiram entre os grupos aos 7 (G1>G2) e 21 (G2>G1) dias após a cirurgia. O infiltrado inflamatório mononuclear diferiu entre os grupos apenas no dia 21 (G1>G2). A proliferação de tecido fibroso não diferiu entre os grupos em todos os momentos de avaliação. A densidade dos vasos sanguíneos diferiu apenas aos 21 dias de pós-operatório (G2<G1). As áreas multifocais da cartilagem diferiram entre os grupos em todos os momentos (G1>G2). No Experimento 2, a resina acrílica tinha radiograficamente densidade próxima aos dos tecidos moles. Não ocorreram diferenças da espessura média da membrana e na densidade de vasos sanguíneos, entre G1 e G2 aos 15 e 21 dias de pós-operatório. A área focal de metaplasia mixoide e áreas multifocais de metaplasia cartilaginosa não diferiram entre G1 e G2. A porcentagem de células multinucleadas multifocais foi mais evidente no G2. Conclui-se que é possível produzir membranas induzidas com produtos derivados do polimetilmetacrilato, com ou sem o uso de antibiótico; contudo, com diferenças histológicas.

Palavras-chave: Espaçador; Polimetilmetacrilato; Histologia; Radiografia.

CAMPEIRO JUNIOR, L.D. Induced membrane technique using orthopedic bone cement or dental acrylic resin, antibiotic-loaded or not, in a segmental radial defect in chickens (*Gallus gallus domesticus*). Botucatu, 2020. 83p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

SUMMARY

This study aimed to evaluate the induced membrane technique using orthopedic bone cement or dental acrylic resin, antibiotic-loaded or not, in a segmental radial defect in chickens. Sixty healthy chickens were distributed in Experiment 1 (G1 – orthopedic bone cement, G2 – orthopedic bone cement cefazolin-loaded) and Experiment 2 (G1 – dental acrylic resin, G2 - dental acrylic resin cefazolin-loaded). In both experiments, radiographic examinations of the left forearm were performed in the immediate postoperative period and at seven, 15, and 21 days after the surgery. In each group, five birds were euthanized at seven, 15, and 21 days after surgery to collect the induced membrane. In Experiment 1, the bone cement was identified as a radiopaque mass occupying the bone defect on x-rays. Histologically, there was no difference in mean thickness between groups at all time points. Multifocal multinucleated cells differed between groups at 7 (G1>G2) and 21 (G2>G1) days after surgery. Mononuclear inflammatory infiltrate differed between groups only on day 21 (G1>G2). Fibrous tissue proliferation did not differ between groups at all evaluation times. Blood vessel density differed only at 21 days postoperatively (G2<G1). Multifocal areas of cartilage differed between groups at all time points (G1>G2). In Experiment 2, the acrylic resin had a density close to that of soft tissues on x-rays. The average thickness of the membrane and blood vessel density did not differ between G1 and G2 at 15 and 21 days after surgery. The focal area of myxoid metaplasia and multifocal areas of cartilaginous metaplasia did not differ between G1 and G2. The percentage of multifocal multinucleated cells was more evident in G2. In conclusion, it was possible to produce membranes induced with products derived from polymethyl methacrylate, with or without antibiotics; however, histological differences were observed.

Key words: Spacer; Polymethylmethacrylate; Histology; Radiography.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

As estratégias para o tratamento de perdas ósseas e infecções, as quais induzem falhas ósseas extensas, têm sido constantemente melhoradas em pacientes humanos (HAN et al., 2017; ALT e GIANNOUDIS, 2019), e o mesmo pode ser estendido ao paciente veterinário. Existem várias possibilidades cirúrgicas, mas deve ser levado em consideração a complexidade do método, curva de aprendizado, tempo de uso do método de estabilização, número de procedimentos necessários, custo e a espécie animal a ser tratada. Se a área a ser tratada apresenta sinais de infecção, para que haja sucesso do tratamento a área comprometida deve ser removida e a infecção local controlada (RODNER et al., 2003; ALT e GIANNOUDIS, 2019).

A técnica da membrana induzida de Masquelet tem sido introduzida em medicina humana como uma opção a tratamentos como o transporte ósseo intercalado e o enxerto fibular vascularizado autólogo (GIANNOUDIS et al., 2011; MASQUELET, 2017). Em aves, a técnica da membrana induzida de Masquelet tem sido testada em sua primeira fase em galinhas, mostrando as características da membrana em diferentes tempos de permanência do cimento ósseo (CUEVA et al., 2021).

Outro fato a se destacar é que a produção da membrana induzida pode ser afetada por aditivos, tais como o sulfato de bário (MASQUELET, 2017) e antibióticos (NAU et al., 2016). Entretanto, existem controvérsias quanto a validade do emprego ou não de antibióticos, juntamente com o cimento ósseo, na produção da membrana induzida em pacientes humanos (SCHÖTTLE et al., 2005; GIANNOUDIS et al., 2011; MASQUELET, 2017). Por sua vez, em aves estas combinações, pelo conhecimento dos autores, ainda não foram avaliadas.

Desta forma, o presente estudo se justificou uma vez que visou avaliar membranas induzidas pela técnica de Masquelet com o emprego de duas formulações de polimetilmetacrilato, com ou sem o uso de antibiótico, utilizando

a galinha (*Gallus gallus domesticus*) como modelo experimental. Para o desenvolvimento do assunto foram estabelecidos dos capítulos: Capítulo 1 - Introdução e Revisão da Literatura; Capítulo 2 - Artigos Científicos 1 e 2.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Membranas induzidas*

A técnica de Masquelet é empregada, desde 1986, para o tratamento de falhas ósseas complexas em pacientes humanos, sendo desenvolvida por meio de dois estágios: no primeiro, com o osso estabilizado faz-se o debridamento da área comprometida e aplica-se no defeito ósseo o cimento de polimetilmetacrilato, o qual atua como um espaçador e como indutor de membrana; no segundo, o espaçador é removido com seis a oito semanas e o defeito é preenchido com enxerto autólogo, de forma que a membrana induzida auxilia na revascularização, previne a reabsorção do enxerto e favorece a corticalização (MASQUELET, 2003; MASQUELET e BEGUE, 2010; VIATEAU et al., 2010; GIANNOUDIS et al., 2011; MASQUELET, 2017; ALFORD et al., 2021).

Entretanto, segundo Alford et al. (2021), o tempo para a formação da membrana induzida tem ainda sido um ponto de debate em pacientes humanos, de forma que tem variado de quatro a 96 meses, visto que várias circunstâncias do paciente podem atrasar a realização do segundo estágio. Além disso, estes autores, afirmaram que aparentemente nenhum estudo demonstrou uma correlação clara entre a maturação da membrana e piores êxitos. O procedimento é considerado uma opção menos complexa, comparado aos métodos de transporte ósseo e autoenxerto de osso vascularizado (GIANNOUDIS et al., 2011; MASQUELET, 2017; ALFORD et al., 2021).

Geralmente o espaçador é moldado antes da solidificação; deve ser tão grande quanto possível, sem comprometer a aproximação dos tecidos moles e pele; devendo os tecidos moles serem irrigado e protegidos do aquecimento durante a polimerização (MASQUELET, 2017). Há sugestões que

o cimento deve ser colocado nas margens do osso para evitar a não união na área de acoplamento (HAN et al., 2017).

Tem sido recomendado a inserção de espaçador de cimento com antibiótico em casos de não-união infectada (SCHÖTTLE et al., 2005; GIANNOUDIS et al., 2011). Por outro lado, Masquelet (2017) afirmou que o antibiótico pode ser inativo para o micro-organismo; alguns antibióticos ativos podem afetar as características da membrana, mas não sabe se modifica as propriedades biológicas da membrana; a ausência de infecção recorrente com cimento sem antibióticos pode ser considerada um bom sinal; não se pode fazer um debridamento inadequado considerando a ação do antibiótico para tratar a infecção óssea. Além disso, afirmou a importância de cimento com sulfato de bário, por ser produto radiopaco irritativo.

A membrana de corpo estranho desenvolvida durante o primeiro estágio é uma resposta ao sistema imune ao cimento ósseo de polimetilmetacrilato (ALFORD et al., 2021). A membrana tem a capacidade de secretar vários fatores de crescimento (VEGF, TGF-beta 1, BMP-2, entre outros), além de ser muito vascularizada em todas as camadas, já visualizada com duas semanas, sendo a porção em contato com o cimento um epitélio como sinóvio com poucas células inflamatórias e a camada fibrosa externa composta de fibroblastos, miofibroblastos e feixes de colágeno, com fibras altamente alinhadas (MASQUELET, 2003; PELISSIER et al., 2004; MASQUELET e BEGUE, 2010; GIANNOUDIS et al., 2011; HAN et al., 2017; ALFORD et al., 2021). De acordo com Alford et al. (2021), pode também ser identificada uma terceira camada de fibras desorganizadas; contudo, algumas vezes é difícil de diferenciar as camadas, que podem mais facilmente serem observadas com a coloração de Picrosirius. Adicionalmente citaram que estudos têm relatado a formação de osso acima da membrana e espaçador, o qual se origina normalmente das extremidades ósseas. Desta forma, mais osteoblastos podem ser detectados se a amostra da membrana for avaliada das extremidades proximais ou distais do defeito e não do centro.

Seis pacientes humanos com não-união infectada da tíbia foram tratados, por Schöttle et al. (2005), por dois estágios. No primeiro estágio, os defeitos ósseos (5 a 8 cm) foram submetidos a cultura no debridamento e após

o resultado foram preenchidos com espaçador de cimento impregnado de gentamicina (Palacos gentamicina). Além disso, receberam antibiótico oral por três meses. Baseado no resultado de proteína C reativa se prosseguiu com antibiótico ou realizou-se o segundo estágio da técnica, com remoção do cimento e aplicação de enxerto autólogo corticoesponjoso. O antibiótico foi então mantido por mais seis semanas. A técnica foi considerada de baixo risco e resultou em alta taxa de consolidação óssea.

Henrich et al. (2013) empregaram modelo de falha óssea segmentar crítica no fêmur de ratos, para analisarem a produção da membrana induzida de Masquelet com duas, quatro e seis semanas de pós-operatório. Pela análise histológica foi observado um tecido vascularizado e rico em células, sendo que as adjacentes ao cimento de polimetilmetacrilato eram pequenas e redondas em formato e as distantes ao produto eram alongadas e paralelas ao mesmo. Foram também detectadas estruturas fibrosas orientadas paralelas ao polimetilmetacrilato. A espessura da membrana aumentou significativamente de duas para seis semanas da indução, o que foi atribuído ao aumento da proliferação celular. A atividades osteogênicas e neovasculares determinadas por imunohistoquímica e pelas mensurações dos conteúdos de BMP-2 e TGF β , entre outros, foram verificadas principalmente entre duas e quatro semanas, com diminuição após seis semanas.

As características histológicas das membranas induzidas nos ambientes ósseo (defeito em rádio), intramuscular e subcutâneo em coelhos, foram analisadas por Liu et al. (2013). Os exames histológicos (hematoxilina e eosina) foram examinados com duas, quatro e oito semanas de pós-operatório. Três medidas foram efetuadas em três campos separados, as quais incluíram espessamento da membrana, microvasos e espessamento do osso cortical, usando um sistema de análise de imagem. A maior densidade de microvasos foi verificada nas membranas dos defeitos ósseos.

Nau et al. (2016) avaliaram com duas, quatro e seis semanas o efeito de diferentes cimentos ósseos, com ou sem suplementação de antibióticos, no desenvolvimento da membrana induzida em defeito femoral crítico (10 mm) em ratos. Houve aumento significativo da membrana de duas para quatro semanas e um nível constante de quatro para seis semanas. A adição de clindamicina, carbonato de cálcio e, em menor extensão, vancomicina

resultou em alterações significativas na espessura da membrana. Foi verificado aumento significativo no Palacos R + Gentamicina de duas para seis semanas e uma significativa diminuição em Copal Gentamicina + Clindamicina de duas para seis semanas. Também ocorreram alterações na porcentagem de tecido fibroso dentro da membrana e leves alterações na vascularização, dependendo dos produtos usados.

Para avaliar a eficácia da clindamicina na redução da infecção e no desenvolvimento da membrana induzida, Shah et al. (2017) implantaram espaçadores de polimetilmetacrilato poroso, com ou sem clindamicina, em defeitos femorais de 8 mm em ratos, com ou sem inoculação de *Staphylococcus aureus*. A clindamicina foi eficaz na mitigação do desenvolvimento de infecção em defeitos ósseos inoculados e restaurou o perfil da expressão do fator de crescimento e inflamatório ao redor do espaçador de polimetilmetacrilato. Além disso, a clindamicina teve efeito independente e interativo sobre a membrana induzida. A histologia qualitativa mostrou a presença de colágeno denso em todas as membranas, porém células inflamatórias foram vistas infiltrando a membrana no grupo inoculado com bactéria e sem antibiótico, ao passo que as membranas dos outros grupos foram menos celulares

Cueva et al. (2021) avaliaram a produção da membrana induzida em defeitos segmentares do rádio de galinhas aos sete, 15, 21 e 30 dias de pós-operatório. Pela análise histológica foram detectadas três zonas distintas aos 15 dias de pós-operatório, sendo uma camada celular em contato com o cimento ósseo, uma camada de fibras colágenas e uma de tecido conjuntivo desorganizado, fibroblastos ativos e vasos sanguíneos em contato com a musculatura. Com 21 dias de pós-operatório as camadas foram menos definidas, com áreas de cartilagem e osso, ao passo que com 30 dias a membrana mostrava mineralização difusa. Segundo os autores, pelas características histológicas, o tempo de 15 dias seria o mais adequado para se proceder o segundo estágio da técnica de membrana induzida por Masquelet.

2.2 Cimento ósseo

O polimetilmetacrilato tem sido empregado tanto na odontologia como na ortopedia, sendo neste último denominado cimento ósseo acrílico (MAGNAN et al., 2013). O cimento ósseo de polimetilmetacrilato tem sido usado em pacientes humanos há anos para a fixação de próteses (WANG e DUNNE, 2008; MAGNAN et al., 2013; CAVALU, 2017), mas também para o remodelamento de áreas comprometidas por tumores, cranioplastia, vertebroplastia e cifoplastia (WEBB e SPENCER, 2007; MAGNAN et al., 2013), assim como um liberador de antibiótico (KUEHN et al., 2005; VUGT et al., 2019).

A composição geralmente inclui: pó de polímero, o qual pode ter em sua composição polimetilmetacrilato e/ou copolímeros de metacrilato, iniciador de peróxido de benzoíla, radiopacificador (sulfato de bário ou dióxido de zircônio), antibióticos (sulfato de gentamicina, hidrocloreto de clindamicina, tobramicina, eritromicina ou metansulfonato de colistina), além de aditivos; monômero líquido, que pode ter na composição metilmetacrilato ou butilmetacrilato, ativador (N,N-Dimetil-p-toluidina ou 2-[4-(dimetilamino)fenil]etanol), inibidor (hidroquinona) e aditivos (WEBB e SPENCER, 2007; WANG e DUNNE, 2008). Embora cimentos ósseos comerciais apresentem formulações similares, existem várias diferenças em composição (CAVALU, 2017).

A estrutura do monômero de metilmetacrilato permite a polimerização em temperatura de sala para produzir polimetilmetacrilato sólido (WEBB e SPENCER, 2007). Na reação de polimerização ocorre a produção de calor, o qual pode ser responsável pela osteonecrose, sendo que o tempo de endurecimento pode variar em torno de 10 a 20 minutos (MAGNAN et al., 2013). Uma camada de 4 mm do cimento entre o osso e o implante faz com que a quantidade de calor liberado permaneça abaixo do limite em que ocorre a desnaturação das proteínas (PASSUTI e GOUIN, 2003). A temperatura máxima pode ser influenciada pela composição química do cimento, pela proporção pó e líquido e o radiopacificador utilizado (KUEHN et al., 2005).

O radiopacificador é empregado para possibilitar a visibilidade do cimento ósseo nos exames radiográficos (KUEHN et al., 2005). Além disso,

vários fatores podem interferir na performance do cimento ósseo acrílico, incluindo composição química, radiopacificadores, antibióticos, forma de preparação, viscosidade, porosidade, forma de esterilização, entre outros (KUEHN et al., 2005; CAVALU, 2017). A radiação gama encurta as cadeias do polímero e provavelmente afeta as propriedades mecânica, mas isto não é observado com a esterilização com óxido de etileno (WEBB e SPENCER, 2007).

O cimento ósseo de polimetilmetacrilato é um bom carreador para a liberação de antibióticos ao local de infecção (MAGNAN et al., 2013; VUGT et al., 2019). Geralmente há uma liberação rápida após a implantação (minutos a horas) com alta concentração de antibióticos, seguida por uma liberação sustentada por vários dias, com concentração mais baixa (VUGT et al., 2019). Os potenciais efeitos negativos do emprego do cimento ósseo impregnado com antibiótico incluem o risco de toxicidade sistêmica e a geração de organismos resistentes, pela exposição prolongada às concentrações sub-terapêuticas de antibiótico (HAYES et al., 2013; VUGT et al., 2019). Os antibióticos são incluídos ao pó do polímero antes de acrescentar o monômero, sendo incorporados entre as cadeias de polimetilmetacrilato durante o processo de polimerização (VUGT et al., 2019).

Contudo, muitos produtos comerciais já incorporam o antibiótico em sua composição, sendo um dos mais frequentes a gentamicina (KUEHN et al., 2005). Isto se deve ao bom espectro de atividade bactericida dependente da concentração, estabilidade térmica e alta solubilidade em água (WEBB e SPENCER, 2007). Foi citado que doses de antibióticos de menos que 1 grama por 40 grama de pó de polímero não tem influência na força tensil ou compressiva e não muda as características térmicas ou viscosidades (WANG e DUNNE, 2008). Muitos antibióticos podem ser lábeis ao calor ou causar efeito deletério ao cimento, tais como flucloxacilina, penicilinas e cloranfenicol (CAVALU, 2017). Tem sido citado que o uso de antibiótico líquido em vez de pó não foi necessariamente associado com perda de eficácia (HAYES et al., 2013).

Quando polimetilmetacrilato é empregado como pérolas em áreas infectadas em pacientes humanos, em geral, emprega-se como antibiótico um aminoglicosídeo como a gentamicina ou vancomicina (RODNER et al., 2003). Ambos antibióticos são liberados localmente em concentrações eficazes após

três a seis meses, quando da remoção ao ser usado como espaçador (MAGNAN et al., 2013). A combinação de gentamicina e clindamicina é também conhecida por ter efeito bactericida sinérgico (KUEHN et al., 2005). De acordo com Pellegrini e Suardi (2020), o uso de espaçador de cimento em revisão séptica de próteses em pacientes humanos tem sido efetuado com altas doses de antibióticos, que muitas vezes excede 2 gramas por 40 gramas de pó de cimento. Embora seja citado como seguro, existem relatos de falência renal aguda nestes pacientes, as quais foram revertidas após a remoção do espaçador. Parece que o risco da falência renal e perda de audição estão relacionados principalmente ao uso da gentamicina no cimento e pela rota sistêmica (PASSUTI e GOUIN, 2003).

Os dados sobre a farmacocinética disponível para uso de antibiótico impregnados em cimento ósseo em pacientes veterinários é considerado limitado, de forma que é considerado prudente levar em consideração a dosagem parenteral simultânea (HAYES et al., 2013).

Frascos de 1 grama de cefazolina e gentamicina (em alta e baixa doses) esterilizados a vapor, esterilizados a gás e não esterilizados foram misturados ao polimetilmetacrilato para avaliação, por Weisman et al. (2000), da eluição dos antibióticos e teste mecânicos. Os blocos de polimetilmetacrilato contendo antibiótico inibiram o crescimento do *Staphylococcus aureus* por uma média de nove dias. A concentração de cefazolina e gentamicina diminuíram dramaticamente após as primeiras 24 horas, mas permaneceram acima da concentração inibitória mínima ao longo do experimento (até 9 dias) para todos os grupos, exceto gentamicina em baixas doses. A força compressiva foi afetada pela adição dos antibióticos.

Phillips et al. (2007) compararam a eluição *in vitro* de pérolas de polimetilmetacrilato com amicacina, cefazolina ou com os antibióticos combinados. Após liberação inicial nas primeiras 24 horas, as taxas de liberação diminuíram para ambos antibióticos isolados e também na combinação. A eluição das pérolas contendo somente amicacina ou cefazolina foram suficientemente maiores do que a concentração inibitória mínima para patógenos comuns em feridas, por no mínimo 30 dias, fato não verificado com os antibióticos combinados. Portanto, a combinação destes antibióticos não foi recomendada.

As características da eluição da cefazolina a partir de pérolas de polimetilmetacrilato de três diferentes marcas comerciais (SmartSet HV, Depuy I e Cemfix 3) e de pérolas de sulfato de cálcio foram avaliadas por Udomkusonsri et al. (2012). A proporção foi de 1 grama de cefazolina para 10 gramas do polimetilmetacrilato ou sulfato de cálcio, sendo as pérolas esterilizadas com óxido de etileno. Os dois tipos de pérolas apresentaram atividade antibacteriana. A eluição da cefazolina, analisada por 15 dias, foi considerada bifásica, com ótima eluição no período inicial e diminuição rápida depois disso. Foi detectada pouca diferença entre os três tipos de pérolas de polimetilmetacrilato, o que foi relacionado as porcentagens de polimetilmetacrilato nos produtos comerciais.

Por sua vez, em aves as pérolas de polimetilmetacrilato têm sido usadas, de acordo com Forbes (2000), no tratamento de “bumblefoot”, osteomielite e outras infecções localizadas. Existem citações de 1 a 2 gramas de pó de antibiótico incorporado com 40-60 gramas ou com 20 gramas de polimetilmetacrilato. O autor também chama a atenção para antibióticos lábeis ao calor tais como tetraciclina, cloranfenicol, polimixina B, eritromicina, bacitracina, ceftiazida. Entre os possíveis de utilização encontram-se a gentamicina, amicacina, neomicina, lincomicina e clindamicina,

2.3 Fraturas e defeitos ósseos em aves

As fraturas estão entre as condições ortopédicas mais comuns em aves (CARRASCO, 2019). Os ossos das aves têm uma série de particularidades quando comparados aos dos mamíferos, tais como ossos frágeis e com corticais mais finas, sendo alguns ossos pneumáticos, fatos que interferem nos métodos de tratamento (DONELEY, 2010; DARROW e BENNETT, 2022). O osso longo tem pouca ou nenhuma organização dentro dos sistemas Haversianos (COLES, 2007). Além disso, o êxito do tratamento da fratura está associado ao estilo de vida do pássaro e a demanda física requerida (PONDER e REDIG, 2016; CARRASCO, 2019). A estabilidade clínica de uma fratura ocorre entre duas e três semanas e geralmente precede a evidência radiográfica de consolidação em torno de três a seis semanas (DONELEY, 2010).

As fraturas expostas e contaminadas não são incomuns em aves e, quando desenvolvem osteomielite, o debridamento da área é crítico para o sucesso (SCOTT, 2016). Vários organismos têm sido isolados em casos de osteomielites, mas coliformes são comuns e algumas vezes se observa anaeróbicos (COLES, 2007). Fraturas cominutivas em que os fragmentos ósseos perderam a conexão com os tecidos moles frequentemente desenvolvem sequestro ósseo (PONDER e REDIG, 2016; GROSSO, 2019). Áreas com osso desvitalizado ou morto precisam ser removidas, porém se compreendem uma grande área ou circunferência inteira, a fratura pode não ser reparável (SCOTT, 2016). Se menos que 25% do comprimento do úmero for perdido, a ave pode se adaptar e aprender a voar (COLES, 2007).

Os sinais de osteomielite incluem drenagem sanguinolenta da incisão e achados radiográficos de áreas difusas e indistintas do periósteo, mas muitas vezes difíceis de diferenciar do processo normal de consolidação, além da presença de espículas ósseas (SCOTT, 2016). Como aves não geram muita reação periosteal durante a consolidação da fratura, o mesmo ocorre com a osteomielite, assim a osteólise junto com o edema de tecido mole são as anormalidades radiográficas predominantes (GROSSO, 2019). A ave pode também apresentar contagem elevada de leucócitos e sinais clínicos não específicos como anorexia ou queda da asa (PONDER e REDIG, 2016).

Em caso de infecção, o antibiótico deve ser baseado na cultura e antibiograma, porém em rapinantes tem sido indicada a clindamicina pela penetração no osso (SCOTT, 2016). Outros autores também indicam a clindamicina ou amoxicilina com ácido clavulânico em fraturas exposta, cominutivas e infectadas (DONELEY, 2010).

As cefalosporinas penetram o osso e seu uso profilático para cirurgia é recomendado, sendo a excreção efetuada pelos rins (TULLY, 2010). São consideradas relativamente não tóxicas e possuem capacidade de inibir a formação da parede celular bacteriana e são bactericidas no crescimento e divisão de organismos (FLAMMER, 1999). As primeiras gerações de cefalosporinas são mais efetivas contra bactérias Gram-positivas e algumas Gram-negativas, porém as gerações mais complexas (segunda e terceira) possuem atividade aumentada nas Gram-negativas, mas a atividade contra Gram-positivas é reduzida (FLAMMER, 1999). A cefazolina encontra-se na

primeira geração de cefalosporinas, cuja dosagem tem sido referida como de 25-75 mg/kg a cada 8-12 horas para a maioria das espécies aviárias e de 50-100 mg/kg para rapinantes (TULLY, 2010). As cefalosporinas são potencialmente sinérgicas com os aminoglicosídeos (FLAMMER, 1999).

De acordo com Darrow e Bennett (2022), nos casos de defeitos ósseos grandes têm sido usado enxerto autólogo, porém o volume é pequeno em aves, ou aloenxertos, os quais aparentemente possuem poucos benefícios devido às complicações. Outra opção promissora é a matriz óssea desmineralizada.

Fraturas transversais induzidas no úmero de pombos foram tratadas, por MacCoy e Haschek (1988), com xenoenxertos e aloenxertos corticais esterilizados com óxido de etileno. Nenhum dos enxertos contribuíram ou interferiram com a consolidação óssea; contudo, foi detectada aumento significativo do número de deiscência das feridas cirúrgicas e infecção local, sequestro do enxerto e reação de corpo estranho.

Por outro lado, Wander et al. (2000) investigaram o emprego de pinos ósseos corticais de xenoenxerto (avestruz ou cão), os quais foram comparados com o fio de Kirschner no reparo de fratura do úmero de pombos. Após a confecção das pontas dos pinos de xenoenxertos, estes foram esterilizados com plasma de gás de H₂O₂ e novamente conservados a -70°C. Os pinos de xenoenxertos induziram reação inflamatória mononuclear que não prejudicou a consolidação óssea, além de apresentarem mais calo periosteal e inflamação no local da fratura do que os ossos estabilizados com fio de Kirschner.

A distração osteogênica com o uso de fixador esquelético externo circular foi aplicada, por Bueno et al. (2019), para o restabelecimento do comprimento do membro pélvico em dois rapinantes (falcão peregrino e corujão-orelhudo), os quais apresentavam encurtamento ósseo decorrentes de complicações no tratamento de fratura do tibiotarso. Após a recuperação, ambas as aves foram soltas.

Por sua vez, a osteogênese com transporte ósseo foi utilizada por Johnston et al. (2008), com emprego de um fixador circular, em um papagaio-de-nuca-amarela, com perda óssea consequente à falha no tratamento de fratura

tibiotarso. Após sete semanas houve formação óssea na falha, mas a área de acoplamento não consolidou, sendo necessárias mais duas cirurgias para debridamento das extremidades ósseas e estimular a consolidação, sendo a fratura mantida com fixador esquelético tipo I.

3 REFERÊNCIAS

- ALFORD, A.I., NICOLAOU, D., HAKE, M., MCBRIDE-GAGYI, S. Masquelet's induced membrane technique: Review of current concepts and future directions. *J. Orthop. Res.*, v.39, n.4, p.707-718, 2021.
- ALT, V.; GIANNOUDIS, P.V. Musculoskeletal infections - A global burden and a new subsection in Injury. *Injury*, v.50, n.12, p.2152-2153, 2019.
- BUENO, I., ANDERSON, G., WILLETTE, M., REDIG, P.T., PONDER, J. Distraction osteogenesis in two wild raptors. *J. Avian Med. Surg.*, v.33, n.4, p.427-436, 2019.
- CARRASCO, D.C. Fracture management in avian species. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.*, v.22, n.2, p.223-238, 2019.
- CAVALU, S. Acrylic bone cements: new insight and future perspective. *Key Eng. Mater.*, v.745, p.39-49, 2017.
- COLES, B.H. Surgery. In:__. *Essentials of avian medicine and surgery*. 3rd ed. Blackwell Publishing, 2007. p.142-182.
- CUEVA, L.; RAHAL, S.C.; FONSECA-ALVES, C.E.; BONATELLI, S.P.; MAMPRIM, M.J.; FRANCA, C.; BURINI, C.; MESQUITA, L.R. Masquelet-induced membrane characteristics in chicken radii bone defects. *J. Avian Med. Surg.*, v.35, n.1, p.51-59, 2021.
- DARROW, B.; BENNETT, A. Avian orthopedics. In: BENNETT, R.A.; PYE, G.W. *Surgery of exotic animals*. Hoboken: Wiley Blackwell, 2022. p.112-153.
- DONELEY, B. Surgery. In:__. *Avian medicine and surgery in practice*. London: Manson Publishing Ltda., 2010. p.255-284.
- FLAMMER, K. Antimicrobial therapy. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. *Avian medicine: principles and application*. Lake Worth: Wingers Publishing, 1999. p.434-656.

- FORBES, N.A. antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate beads in the treatment of bumblefoot, osteomyelitis and other localized infections in birds. *Echuca*, p.81-87, 2000.
- GIANNOUDIS, P.V.; FAOUR, O.; GOFF, T.; KANAKARIS, N.; DIMITRIOU, R. Masquelet technique for the treatment of bone defects: tips-tricks and future directions. *Injury*, v.42, n.6, p.591–598, 2011.
- GROSSO, F.V. Orthopedic diagnostic imaging in exotic pets. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.*, v.22, n.2, p.149-173, 2019.
- HAN, W.; SHEN, J.; WU, H.; YU, S.; FU, J.; XIE, Z. Induced membrane technique: advances in the management of bone defects. *Int. J. Surg.*, v.42, p.110-116, 2017.
- HAYES, G.; MOENS, N.; GIBSON, T. A review of local antibiotic implants and applications to veterinary orthopaedic surgery. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, v.26, n.4, p.251-259, 2013.
- HENRICH, D.; SEEBACH, C.; NAU, C.; BASAN, S.; RELJA, B.; WILHELM, K.; SCHAIBLE, A.; FRANK, J.; BARKER, J.; MARZI, I. Establishment and characterization of the Masquelet induced membrane technique in a rat femur critical-sized defect model. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, v.10, n.10, p.382-396, 2016.
- JOHNSTON, M.S.; THODE, H.O.; EHRHART, N.P. Bone transport osteogenesis for reconstruction of a bone defect in the tibiotarsus of a yellow-naped Amazon parrot (*Amazona ochrocephala auropalliata*). *J. Avian Med. Surg.*, v.22, n.1, p.47–56, 2008.
- KUEHN, K.D.; EGE, W.; GOPP, U. (2005). Acrylic bone cements: composition and properties. *Orthop. Clin. North Am.*, v.36, n.1, p.17-28, 2005.
- LIU, H.; HU, G.; SHANG, P.; SHEN, Y.; NIE, P.; PENG, L.; XU, H. Histological characteristics of induced membranes in subcutaneous, intramuscular sites and bone defect. *Orthop. Traumatol. Surg. Res.*, v.99, n.8, p.959-964, 2013.
- MacCOY, D.M.; HASCHEK, W.M. Healing of transverse humeral fractures in pigeons treated with ethylene oxide-sterilized, dry-stored, onlay cortical xenografts and allografts. *Am. J. Vet. Res.*, v.49, n.1, p.106-111, 1988.

- MAGNAN, B.; BONDI, M.; MALUTA, T.; SAMAILA, E.; SCHIRRU, L.; DALL'OCA, C. Acrylic bone cement: current concept review. *Musculoskelet. Surg.*, v.97, n.2, p.93-10, 2013.
- MASQUELET, A.C. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction. *Langenbecks Arch. Surg.*, v.388, p.344–6, 2003.
- MASQUELET, A.C.; BEGUE, T. The concept of induced membrane for reconstruction of long bone defects. *Orthop. Clin. N. Am.*, v.41, p.27–37, 2010.
- MASQUELET, A.C. Induced membrane technique: pearls and pitfalls. *J. Orthop. Trauma*, v.31, n.Suppl 5, p.S36-S38, 2017.
- NAU, C.; SEEBACH, C.; TRUMM, A.; SCHAIBLE, A.; KONTRADOWITZ, K.; MEIER, S.; BUECHNER, H.; MARZI, I.; HENRICH, D. Alteration of Masquelet's induced membrane characteristics by different kinds of antibiotic enriched bone cement in a critical size defect model in the rat's femur. *Injury*, v.47, n.2, p.325-334, 2016.
- PASSUTI, N.; GOUIN, F. Antibiotic-loaded bone cement in orthopedic surgery. *Joint Bone Spine*, v.70, n.3, p.169-174, 2003.
- PELLEGRINI, A.V.; SUARDI, V. Antibiotics and cement: what I need to know?. *Hip Int.*, v.30, n.1_suppl, p.48-53, 2020.
- PELISSIER, P.; MASQUELET, A.C.; BAREILLE, R.; PELISSIER, S.M.; AMEDEE, J. Induced membranes secrete growth factors including vascular and osteoinductive factors and could stimulate bone regeneration. *J. Orthop. Res.*, v.22, n.1, p.73–79, 2004.
- PHILLIPS, H.; BOOTHE, D.M.; SHOFER, F.; DAVIDSON, J.S.; BENNETT, R.A. *In vitro* elution studies of amikacin and cefazolin from polymethylmethacrylate. *Vet. Surg.*, v.36, n.3, p.272-278, 2007.
- PONDER, J.B.; REDIG, P. Orthopedics. In: SPEER, B.L. Current therapy in avian medicine and surgery. St. Louis: Elsevier, 2016. p.657-667.
- RODNER, C.M; BROWNER, B.D.; PESANTI, E. Chronic osteomyelitis. In: BROWNER, B.D.; JUPITER, J.B.; LEVINE, A.M.; TRAFTON, P.G. *Skeletal trauma: basic science, management, and reconstruction*. 3rd. Philadelphia: Saunders, 2003. p.483-506.

- SCHÖTTLE, P.B.; WERNER, C.M.; DUMONT, C.E. Two-stage reconstruction with free vascularized soft tissue transfer and conventional bone graft for infected nonunions of the tibia: 6 patients followed for 1.5 to 5 years. *Acta Orthop.*, v.76, n.6, p.878–883, 2005.
- SCOTT, D.E. Orthopedics. In: _____. *Raptor medicine, surgery, and rehabilitation*. 2nd. Oxfordshire: CABI, 2016. p.165-208.
- SHAH, S.R.; SMITH, B.T.; TATARA, A.M.; MOLINA, E.R.; LEE, E.J.; PIEPERGERDES, T.C.; UHRIG, B.A.; GULDBERG, R.E.; BENNETT, G.N.; WENKE, J.C.; MIKOS, A.G. Effects of local antibiotic delivery from porous space maintainers on infection clearance and induction of an osteogenic membrane in an infected bone defect. *Tissue Eng. Part A*, v.23, n.3-4, p.91–100, 2017.
- TULLY, T.N. Appendices. In: COLES, B.H. *Essentials of avian medicine and surgery*. 3rd ed. Blackwell Publishing, 2007. p.219-265.
- UDOMKUSONSRI, P., KAEWMOKUL, S., ARTHITVONG, S., PHAOCHOOSAK, N. Elution profiles of cefazolin from PMMA and calcium sulfate beads prepared from commercial cefazolin formulations. *J. Vet. Med. Sci.*, v.74, n.3, p.301-305, 2012.
- VUGT, T.A.G.; ARTS, J.J.; GEURTS, J.A.P. Antibiotic-Loaded Polymethylmethacrylate beads and spacers in treatment of orthopedic infections and the role of biofilm formation. *Front. Microbiol.*, v.10, n.1626, p.1-11, 2019.
- VIATEAU, V.; BENSIDHOUM, M.; GUILLEMIN, G.; PETITE, H.; HANNOUCHE, D.; ANAGNOSTOU, F.; PÉLISSIER, P. Use of the induced membrane technique for bone tissue engineering purposes: animal studies. *Orthop. Clin. North. Am.*, v.41, n.1, p.49-56, 2010.
- WANDER, K.W.; SCHWARZ, P.D.; JAMES, S.P.; POWERS, B.E.; TAYLOR, B., WIMSATT, J.H. Fracture healing after stabilization with intramedullary xenograft cortical bone pins: a study in pigeons. *Vet. Surg.*, v.29, n.3, p.237-244, 2000.
- WANG, J-S.; DUNNE, N. Bone cement fixation: acrylic cements. In: REVELL, P.A. *Joint replacement technology*. United Kingdom: Woodhead Publishing, 2008. p.212-251.
- WEBB, J.C.; SPENCER, R.F. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *J. Bone Joint Surg. Br.*, v.89, n.7, p.851-857, 2007.

WEISMAN, D.L.; OLMSTEAD, M.L.; KOWALSKI, J.J. *In vitro* evaluation of antibiotic elution from polymethylmethacrylate (PMMA) and mechanical assessment of antibiotic-PMMA composites. *Vet. Surg.*, v.29, n.3, p.245-251, 2000.

CAPÍTULO 2