

Avaliação *ex vivo* das propriedades mecânicas em flexão de placas ósseas bovina na osteossíntese de tíbias de coelhos*

Manuela Aleluia Drago¹⁺, Mariana Drago², Hevila Dutra Barbosa de Cerqueira³, Markson Freitas Tiburcio³, Graziela Baroni Souza³, Dinamara Honorato Barbosa³, Christian Mariani Lucas dos Santos⁴, Rosana Vilarim da Silva⁵ e Patricia Maria Coletto Freitas^{1,6}

ABSTRACT. Drago M.A., Drago M., Cerqueira H.D.B., Tiburcio M.F., Souza G.B., Barbosa D.H., Santos C.M.L., Silva R.V. & Freitas P.M.C. [*Ex vivo flexural mechanical properties of bovine bone plates after tibiae osteosynthesis in rabbits.*] Avaliação *ex vivo* das propriedades mecânicas em flexão de placas ósseas bovina na osteossíntese de tíbias de coelhos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37(3):245-249, 2015. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alto Universitário, s/nº, Bairro Guararema, Alegre, ES 29500-000, Brasil. E-mail: manudrago@hotmail.com

The use of materials produced from bovine bone has been proposed in the manufacture of implants such as pins, plates and screws, due to their osteoinductive and osteoconductive properties or functions of bone graft. However, structural and mechanical aspects must be evaluated prior to the use, in vivo of bone implants. The aim of this study was to evaluate mechanical strength, through a mechanical bending test, of plates produced from bovine cortical bone, used to repair fractures of the tibia of rabbits *ex vivo*. Twenty six plates were manufactured from bovine cortical bone and stored in saturated salt solution. Three study groups were used: group GP (n = 10), made up of the bone plates; GTP group (n = 16), rabbit tibia osteotomized and stabilized with bone plates and four screws and Group GT (n = 10), intact tibia. A three-point bending biomechanical test was used to determine the maximum tension, maximum deflection, and stiffness. The results were submitted to Kruskal-Wallis test (p < 0.05) and the Dunn test. Comparing GT with the GTP, an 80% reduction was observed in maximum tension. Also noted was a reduction of 87% in maximum tension when comparing GP with GTP. Therefore, the bovine bone plate had a higher maximum tension than the intact rabbit tibia. There was a reduction of 52% in the rigidity of GTP to GT. No significant difference was observed between this force when GTP and GP were compared. There was significant difference among the three groups with respect to maximum deflection, which showed an increase of 100% and 30% in the GTP and GP groups, respectively, when compared to the GT. This study, therefore concluded, that bone plates used to repair fractures of the tibia of rabbits *ex vivo* presented inferior mechanical properties when compared to intact tibia.

KEY WORDS. Orthopedic implants, biocompatibility, bone-grafts, fractures-treatment, biomechanics.

*Recebido em 30 de abril de 2013.

Aceito para publicação em 5 de maio de 2014.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alto Universitário, s/nº, Bairro Guararema, Alegre, ES 29500-000, Brasil. *Autora para correspondência, E-mail: manudrago@hotmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFES, Av. Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, Vitória, ES 29075-910, Brasil.

³ Curso de Medicina Veterinária, UFES, Alto Universitário, s/nº, Bairro Guararema, Alegre, ES 29500-000.

⁴ Coordenadoria de Mecânica, Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Av. Rio Branco, 50, Santa Lúcia, Vitória, ES 29056-255, Brasil. E-mail: mariani@ifes.edu.br

⁵ Coordenadoria de Metalurgia e Materiais, IFES, Av. Rio Branco, 50, Santa Lúcia, Vitória, ES 29056-255.

⁶ Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brasil. E-mail: pcoletto@yahoo.com.br

RESUMO. O uso de materiais produzidos a partir de osso bovino tem sido proposto na confecção de implantes como pinos, placas e parafusos, por poderem promover as mesmas funções de um enxerto ósseo, ou seja, serem osteoindutores e osteocondutores. Entretanto, aspectos estruturais e mecânicos de implantes de osso devem ser estudados previamente ao uso *in vivo*. Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar o comportamento mecânico, por meio do ensaio de flexão, de placas produzidas a partir de osso cortical bovino. Os implantes foram aplicados no reparo de osteotomias de tíbias de coelhos *ex vivo*. Para tal, 26 placas foram confeccionadas a partir de osso cortical bovino e conservadas em solução saturada de sal a 150%. Foram utilizados três grupos para o estudo: grupo GP (n=10), composto pelas placas ósseas; grupo GTP (n=16), tíbias de coelhos osteotomizadas e estabilizadas com placas ósseas e quatro parafusos; grupo GT (n=10), tíbias intactas. No ensaio biomecânico de flexão em três pontos verificou-se a tensão máxima, deflexão máxima e rigidez. Os resultados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) e ao teste de Dunn. Comparando GT com o GTP, observou-se redução de 80% na tensão máxima. Também notou-se redução de 87% na tensão máxima ao comparar GP com o GTP. Verificou-se que a placa de osso bovino possuiu maior tensão máxima que a tibia do coelho. Houve redução a 52% na rigidez do GTP em relação ao GT. Não observou-se diferença significativa nesta propriedade entre GPT e GP. Observou-se diferença significativa entre os três grupos com relação à deflexão máxima, onde notou-se aumento de 100% e 30% nos grupos GTP e GP, respectivamente, em relação ao GT. Pode-se concluir que placas ósseas, no reparo de fratura de tibia de coelhos *ex vivo* obtiveram propriedades mecânicas inferiores, quando comparada às tíbias intactas.

PALAVRAS-CHAVE. Implantes ortopédicos, biocompatibilidade, ossos-enxerto, fraturas-tratamento, biomecânica.

INTRODUÇÃO

As placas e parafusos comumente utilizados na ortopedia veterinária são fabricados a partir de materiais como ligas metálicas de titânio e aço inoxidável (Carlo et al. 2009). No entanto, falhas de implantes permanentes podem causar a perda de massa óssea na interface implante-osso (Dingee 2005). Os implantes metálicos também estão relacionados à rejeição biológica e o desenvolvimento de tumores no osso adjacente (Boudrieau et al. 2005). Além disso, os mecanismos de desgaste e

corrosão promovem a liberação de íons metálicos citotóxicos ao organismo (Carlo et al. 2009). Outro aspecto a ser considerado é o índice de refratura após a remoção de uma placa de fixação interna, relacionado ao enfraquecimento do osso (Loffredo & Ferreira 2007, Ho et al. 2010).

Emprego de biomateriais tem importância na eliminação dos implantes metálicos que agem como corpo estranho, sendo compatíveis, de fácil aplicação e acondicionamento (Haje & Volpon 2006). Assim, o uso de materiais produzidos a partir de osso bovino tem sido proposto na confecção de implantes como pinos, placas e parafusos, por poderem promover as mesmas funções de um enxerto ósseo, ou seja, serem osteoindutores e osteocondutores (Melo Filho et al. 2011). Entretanto, segundo Haje & Volpon (2006), aspectos estruturais e mecânicos são importantes tópicos de pesquisa a serem abrangidos previamente ao uso *in vivo* de implantes de ossos. Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar o desempenho mecânico, por meio do ensaio de flexão em três-pontos, de placas produzidas a partir osso cortical bovino, no reparo de fratura de tibia de coelhos *ex vivo*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram confeccionadas 26 placas a partir de amostras de tíbias frescas de bovinos adultos, da porção cortical da face medial da diáfise (sentido longitudinal), coletadas em frigorífico comercial de forma não asséptica. As placas foram padronizadas com as seguintes dimensões: $6,2 \pm 0,07$ cm de comprimento, $0,6 \pm 0,02$ cm de largura e $0,3 \pm 0,02$ cm de espessura. Em seguida foram armazenadas em recipiente estéril contendo 600 mL de solução de sal a 150% para conservação (proporção de 1,5 g de sal^a para 1,0 mL de água destilada) (Brun et al. 2004) durante sete meses.

Para as coletas das tíbias, 16 coelhos com peso médio de $2,5 \pm 0,2$ kg foram submetidos a eutanásia com acepromazina^b (1,0 mg/kg) intramuscular, e sobredose de tiopental sódico^c e cloreto de potássio 19,1%^d intravenoso. Seus membros posteriores direito e esquerdo; pesando em média $185,6 \pm 17,8$ g e $188,4 \pm 22,6$ g; respectivamente, foram identificadas e armazenados em câmara fria a -70°C , por um período de 21 dias, como relatado por Penha (2004), que descreveu que o congelamento e descongelamento de ossos tibiais não influencia no comportamento mecânico.

Após o período de sete meses, as placas ósseas foram retiradas do meio conservante e reidratadas durante seis horas em solução de cloreto de sódio a 0,9%^e, na proporção 40 mL de solução para cada placa, conforme descrito por Melo Filho et al. (2011). Os membros foram retiradas da câmara fria, e depois de quatro horas foram posicionados medialmente, quando realizou-se incisão de pele com posterior dissecação do tecido muscular para acesso ósseo.

Removeu-se todo o tecido muscular adjacente e a fíbula. Ato contínuo, as tíbias (direitas ou esquerdas) (n=16) foram perfuradas com broca de 1.1^{mm} em ambas as corticais, realizando-se quatro orifícios equidistantes. Posteriormente, as placas ósseas foram perfuradas com broca ortopédica 1.1^{mm}, equivalentes às distâncias dos orifícios confeccionados na tíbia, de modo que o orifício da tíbia e da placa fossem sobrepostos. Osteotomia transversal completa foi realizada no osso tibial com uso de serra manual^g, entre o segundo e terceiro orifício. Após o rosqueamento das perfurações nas tíbias e placas com macho 1.5^{mm}, estas foram fixadas por quatro parafusos corticais^h de conformidade 1.5^{mm} por 14, 12, 14, 12 mm de comprimento, respectivamente (Figura 1). Devido à conformação irregular e ângulação da tíbia do coelho e da prévia confecção das placas ósseas, não foi possível moldar a placa ao osso. Assim, houve discreto espaço entre placa e tíbia no segmento distal (Figura 1). Após a osteossíntese, o conjunto tíbia e placa foi identificado e armazenado em freezer na temperatura de -2°C, por dois meses.

Para a avaliação biomecânica de flexão em três pontos, três grupos experimentais foram utilizados: grupo GTP (n=16), composto por tíbias osteotomizadas e estabilizadas por placas ósseas, conforme descrito acima; grupo GT (n=10), composto pelas tíbias intactas contralaterais às osteotomizadas; e grupo GP (n=10), composto por placas ósseas conservadas e reidratadas, conforme descrito para o grupo GTP.



Figura 1. Imagem radiográfica da tíbia de coelho na projeção ântero-posterior. Observar placa óssea bovina (seta maior) fixada na tíbia por meio de parafusos, no reparo de osteotomia transversal completa (seta branca).

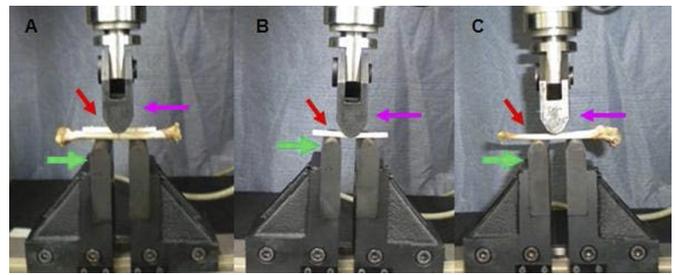


Figura 2 (A, B, C). Ensaio mecânico de flexão em três pontos. Observar a tíbia de coelho com placa óssea de bovino (GTP) (A), placa óssea (GP) (B), e tíbia intacta (GT) (C) (setas inclinadas), posicionadas sobre suporte de ferro acoplado aos apoios inferiores do equipamento (setas inferior) e o cutelo (setas direita) posicionado sobre a região central das amostras.

Os ensaios de flexão foram realizados em máquina universal de ensaios EMIC DL1000, com o programa TESC, no Laboratório de Ensaios Mecânicos Destrutivos do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES). Os ensaios mecânicos foram realizados à temperatura ambiente de 20°C, utilizando célula de carga de 100kgf. A partir de ensaio piloto, padronizou-se a velocidade de 0,5 mm/min e pré-carga de 4 N.

As tíbias dos grupos GTP e GT foram removidas do freezer, e após 4 horas foram dissecadas, retirando-se todo tecido muscular adjacente e a fíbula. Em seguida, os corpos de prova (tíbia e placa) do GTP foram colocados em plano horizontal na máquina universal, sendo apoiados em dois pontos sobre um suporte acoplado à porção inferior do equipamento. Padronizou-se a distância entre os pontos em 30 mm, definida em função da localização dos parafusos (não havendo coincidência entre os apoios e os parafusos). O terceiro ponto foi apoiado ao cutelo (barra superior) do equipamento. Nos grupos GP e GTP, a força de flexão foi realizada na região central das placas bi-apoiadas, por meio do cutelo (Figura 2). Os corpos de prova do grupo GT (Figura 2) foram posicionados de forma idêntica ao do grupo GTP, sendo a posição da aplicação da força definida a partir da mesma região da tíbia contralateral no grupo GTP.

Registraram-se os valores da Carga e Deflexão durante todos os momentos, os quais foram utilizados para determinar as seguintes propriedades: tensão de flexão, deflexão máxima e rigidez (Garcia et al. 2000). A tensão de flexão foi obtida a partir da seguinte equação:

$$T_f = \frac{F_{max} \cdot S \cdot h/2}{4 \cdot J}$$

Onde F_{max} é a força máxima, S é a distância entre os apoios, h é a espessura da amostra (no caso de corpos de prova cilíndricos h equivale à metade do diâmetro) e J é o momento de inércia, obtido pela seguinte equação:

$$J = \frac{\pi D^4}{64}, \text{ para seção circular e } J = \frac{b \cdot h^3}{12}, \text{ para seção retangular.}$$

Onde D é o diâmetro, b é a largura e h a espessura do corpo de prova.

A rigidez foi determinada pela inclinação da parte linear da curva Carga x Deflexão, e a deflexão máxima foi medida pelo deslocamento do ponto central da amostra onde ocorreu a ruptura do corpo de prova.

As amostras dos grupos GT e GTP foram consideradas como tendo seção circular. Realizou-se a medida do comprimento da circunferência das amostras, sendo esta medida na região central com o auxílio de um barbante (Silva et al. 2003), onde as médias no grupo GT equivaleu-se a $6,29 \pm 1,1$ mm e no grupo GTP a $10 \pm 0,7$ mm, este mensurado do conjunto placa e tibia.

Durante os ensaios, os problemas mais comuns foram a movimentação das amostras e fratura da tibia quando o esperado era a fratura da placa (Grupo GTP). Irregularidades do osso (Grupo GT) também causaram o descarte de algumas amostras.

Os dados obtidos foram analisados utilizando o programa Microsoft Excel® (2007). Os dados estatísticos foram compilados e submetidos à análise pelo método não paramétrico de Kruskal-Wallis, e ao apresentarem significância realizou-se o teste de Dunn. Adotou-se um nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$) em todos os testes estatísticos aplicados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, os testes foram realizados considerando as condições de testes normalizados, nos quais são utilizados corpos de prova de dimensões padronizadas, além do posicionamento idêntico de todas as amostras sobre a máquina universal, pois segundo Dingee (2005), propriedades mecânicas do osso são influenciadas por vários fatores, como densidade, orientação das fibras colágenas, tipo ou região do osso.

Os resultados do ensaio de flexão são apresentados na Tabela 1. Comparando o osso íntegro (GT) com o osso reparado pela placa óssea (GTP), observou-se redução de 80% na tensão máxima do GTP. Também notou-se redução de 87% na tensão máxima nas amostras do GTP com relação à placa óssea (GP). Resultado este não esperado, considerando que em ambos os grupos (GTP e GP), as placas ósseas se encontravam sobre o carregamento de flexão. Esperava-se valores semelhantes para a tensão

Tabela 1. Valores médios e desvios padrão das propriedades mecânicas tensão máxima, rigidez e deflexão máxima de tibia íntegra (GT) de coelhos, placa confeccionada de osso bovino (GP) e conjunto placa e tibia (GTP), submetidos ao ensaio mecânico de flexão.

	Tensão máxima (MPa)	Rigidez N/mm	Deflexão máxima (mm)
GP	$230.21 \pm 30,38^a$	$552.19 \pm 91,04^a$	$0.78 \pm 0,13^a$
GT	$150.01 \pm 62,82^b$	$942.50 \pm 324,53^b$	$0.6 \pm 0,08^b$
GTP	$30.21 \pm 7,31^c$	$487.69 \pm 101,21^a$	$1.2 \pm 0,24^c$

Médias e desvio padrão seguidos de letras minúsculas na mesma coluna não diferem entre si ($p < 0,05\%$) pelo teste de Dunn.

máxima. No entanto, estes resultados corroboram com o observado por Avery et al. (2011), após teste biomecânico em tíbias de ovelhas osteotomizadas e estabilizadas com placas de aço ou titânio, os quais observaram redução na resistência de flexão nas tíbias reparadas em comparação a tíbias intactas. Provavelmente, isto ocorreu devido aos orifícios confeccionados no conjunto tibia e placa, para colocação dos parafusos e fixação da placa, já que se observou que em 20% das amostras do GTP o ponto de ruptura ocorreu na região dos orifícios de inserção dos parafusos, ou seja, local não coincidente da aplicação da força pelo cutelo. Concordando com o descrito Ho et al. (2010) e Burnstein et al. (1972), relataram que perfurações promovidas no osso para colocação de parafusos agem como concentradores de tensões, enfraquecendo significativamente o local às tensões de flexão. Além disso, verificou-se que a placa de osso bovino (GP) apresentou maior tensão máxima que a tibia do coelho (65% superior). Resultado este decorrente da diferença entre as propriedades mecânicas do osso do bovino e do coelho, principalmente na composição por fibras colágenas, pois segundo Amendola et al. (2008), a flexibilidade óssea está relacionada e este componente. Outro fator que pode explicar a maior resistência da placa óssea em relação à tibia são as diferenças das superfícies testadas, considerando que as placas foram confeccionadas apenas pela superfície cortical da tibia do bovino, enquanto que o osso tibial do coelho foi testado em sua forma natural, ou seja, composto pela porção cortical e medular.

Houve redução de 52% na rigidez do GTP e de 59% na rigidez do GP em relação ao GT (Tabela 1). A rigidez óssea, segundo Garcia (2010) e Holanda (1999), é conferida pelos componentes minerais do osso. Em consequência disso, essa redução observada, nos grupos que contêm a placa óssea (GT e GTP) provavelmente foi decorrente do método de conservação destas (solução saturada de sal), já que estes meios conservantes atuam na fase mineral do osso, como descrito Melo Filho (2011).

Observou-se diferença significativa entre os três grupos com relação a deflexão máxima (Tabela 1), onde notou-se aumento de 100% e de 30% nos grupos GTP e GP, respectivamente, com relação ao GT. Essas diferenças observadas nos grupos GTP em relação a deflexão máxima, acompanharam as diferenças observadas na tensão máxima (Figura 1), ou seja, quando maior a tensão máxima da amostra, menor a deflexão máxima. Concordando com o relatado por Bento (2003), que afirma que

os ossos são materiais frágeis, que possuem alta deformação, com menor tensão máxima. Os valores mais elevados da deflexão máxima observados no grupo GTP foram resultado de uma provável movimentação entre o conjunto placa e osso durante o ensaio. Em decorrência da movimentação dos parafusos para ajuste do sistema ao se aplicar a carga; além, dos fatores envolvidos na tensão máxima, conforme descrito acima. Já os grupos GP e GT apresentaram valores próximos, embora diferentes estatisticamente, e nestes grupos não houve correlação da tensão máxima e deflexão máxima. Como a deflexão máxima está relacionada à viscoelasticidade do osso, conforme descrito por Garcia et al. (2010), o resultado apresentado acima foi potencialmente decorrente das diferenças de elasticidade do osso bovino em relação ao do coelho, ou seja, desta propriedade ser influenciada pela espécie animal, como relatado por Sedlin & Hirsch (1966).

CONCLUSÃO

Nas condições deste estudo, pode-se concluir que placas produzidas a partir do osso cortical bovino, no reparo de fratura de tíbia de coelhos *ex vivo* possuem comportamento mecânico inferiores quanto à tensão máxima, a rigidez e a deflexão máxima, quando comparadas à tíbia intacta.

Agradecimentos. Às empresas Refinaria Nacional S.A. (Sal Cisne), Vetnil Produtos Veterinários, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Isofarma Industrial Farmacêutica Ltda., Samtec Biotecnologia Ltda. e Brasmed, Produtos Veterinários, pela disponibilização dos materiais e produtos que possibilitaram o desenvolvimento do presente estudo.

Comitê de ética: protocolo 026/2010.

REFERÊNCIAS

- Amendola G.F., Raiser A.G., Soares J.M.D. & Beckmann D.V. Aspectos biomecânicos compressivos de diáfises femorais caninas conservadas em glicerina a 98% ou em mel. *Ciência Rural*, Santa Maria, 38:1341-1345, 2008.
- Avery C.M.E., Skidmore M., Peden A. & Pan J. Biomechanical study of a unilocking T-plate system for prophylactic internal fixation of the radial osteocutaneous donor site using the sheep tibia model. *Oral Oncology*, 47:268-273, 2011. Doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.02.004.
- Bento D.A. Análise de resistência mecânica em implantes de osso - um enfoque numérico e experimental. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003. 157f.
- Boudrieau R.J., McCarthy R.J. & Sisson Jr R.D. Sarcoma of the proximal portion of the tibia in a dog 5.5 years after tibial plateau leveling osteotomy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 227:1613-1617, 2005.
- Brun M.V., Pippi N.L., Driemeier D., Contesini E.A., Beck C.A.C., Cunha O., Pinto Filho S.T.L., Roehsig C. & Stedile R. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. *Ciência Rural*, Santa Maria, 34:147-153, 2004.
- Burstein A.H., Currey J., Frankel V.H., Heiple K.G., Lunseth P. & Vesely J.C. Bone strength: the effect of screw holes. *Journal of the Bone and Joint Surgery American*, 54:1143-1156, 1972.
- Carlo E.C., Borges A.P.B., Pompermayer L.G., Martinez M.M.M., Eleotério R.B., Nehme R.C. & Morato G.O. Compósito para fabricação de implantes reabsorvíveis para osteossíntese: avaliação da biocompatibilidade em coelhos. *Ciência Rural*, Santa Maria, 39:135-140, 2009.
- Dingee F. Análise da influência dos tratamentos de liofilização, esterilização e reidratação nas propriedades mecânicas do osso cortical bovino. Trabalho de Graduação (Engenharia de Materiais), Curso de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina, 2005. 53f.
- Garcia A., Spim J.A. & Santos C.A. Ensaio dos materiais. 1ª ed LTC, Rio de Janeiro, 2000. 247p.
- Garcia E.F.V. Análise biomecânica *ex vivo* de dois métodos de osteossíntese de pelve em cães. *Ciência Rural*, 40:1980-1986, 2010.
- Haje D.P. & Volpon J.B. Desenvolvimento de parafusos de osso bovino: Método de usinagem e estudo metrológico com projetor de perfil. *Acta Ortopédica Brasileira*, 14:2, 2006.
- Ho K.W.K., Gilbody J., Jameson T. & Miles A.W. The effect of 4 mm bicortical drill hole defect on bone strength in a pig femur model. *Archives of Orthopaedic Trauma Surgery*, 130:797-802, 2010.
- Holanda A.J., Volpon J.B. & Shimano A.C. Efeitos da orientação das fibras de colágeno nas propriedades mecânicas de flexão e impacto dos ossos. *Rev. Bras. Ortop.*, 34:579-594, 1999.
- Loffredo M.C.M. & Ferreira I. Resistência e tenacidade à fratura do osso cortical bovino. *Rev. Bras. Eng. Biomed.*, 23:159-168, 2007.
- Melo Filho E.V. de, Lúcia R.M.D., Salgado A.E.P., Miranda F.B., Drago M.A., Taffarel M.O., Vilela L.M., Mussi J.M.S., Santos W.G. dos, Zanini M.S. & Freitas P.M.C. Mecânica e microbiologia de placas produzidas a partir de osso cortical bovino, conservadas em diferentes meios. *Ciência Rural*, Santa Maria, 41:660-666, 2011.
- Penha V.T.B.B. Efeitos do congelamento e descongelamento sucessivos nas propriedades mecânicas em ossos corticais. Dissertação (Mestrado Interunidades, Engenharia), Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004. 117f.
- Sampaio R.L., Lacerda M.S., Oliveira P.C.L., Paneto J.C. do C., Bittar E.R., Borges G.A., Camacho G.M.M. & Braga E.M. Variação da força de resistência à micro-tração de fragmentos de ossos corticais preservados em diversos meios e a fresco: estudo experimental em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.*, 29:345-352, 2009.
- Sedlin E.D. & Hirsch C. Factors affecting the determination of the physical properties of femoral cortical bone. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 37:29-48, 1966.
- Silva A.M., Del Carlo R.J., Vilorio M.I.V., Silva A.S. & Filgueiras R.R. Matriz óssea homóloga desmineralizada na preparação de falhas ósseas segmentares produzidas no rádio de coelhos. *Ciência Rural*, Santa Maria, 33:539-545, 2003.