Evaluación experimental en ratas del comportamiento biológico y mecánico del Nylon 66 para cerclaje en ortopedia

Evaluation of biological and mechanical performance of Nylon 66 in rats for cerclage in orthopedic surgery

D Izquierdo¹, J H Zunino², G Semiglia^{3*}

^{1, 3*} Departamento de Pequeños Animales, Orientación Quirúrgica, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

² Banco de Tejidos, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay.

SUMMARY

Steel wires are currently being successfully used in stabilization and fixation of several kinds of fractures in both human and animal orthopedic surgery. In addition, new ceramic and plastic derivatives have become available for those purposes. In order to assess biocompatibility and to evaluate mechanical performance of sterilized Nylon 66 compared to the standard 316L steel wire, an experimental study in rat tibiae was carried out. Nylon 66 was looped extraperiosteally around the right tibiae and steel was placed around the left tibiae, in the same animal. Different procedures (autoclave, formalin and ethylene oxid), were used to sterilize Nylon 66. Mechanical properties (from deformation to rupture) of differently sterilized Nylon 66 were then quantitatively compared. Non-sterilized Nylon 66 served as control. To validate sterilizing procedures, microbiologic tests were performed on all sterilized Nylon 66. Results showed that both Nylon 66 and steel wires failed to induce cellular reaction (inflammation) at the implant sites. Mechanical testing of sterilized Nylon showed that formalin-exposed or autoclaved wires were quantitatively similar, and also similar to controls. Conversely, ethylene-oxid-sterilized material showed less resistance to deformation. Results were analyzed with a non-parametric statistical test (Kruskal-Wallis). All sterilized Nylon 66 samples failed to demonstrate microbiologic growth in cultures at 72 hours. Thus, Nylon 66 could be proposed as an acceptable alternative to steel for use in fracture fixation in small animal orthopedic surgery, since it shares the same biocompatibility and resistance to mechanical deformation properties with the standard (steel). Furthermore, it is an inexpensive material, widely available, and technically easy to handle. Further studies should be performed, however, to verify the results in long-term implanted material.

Palabras claves: cerclaje, Nylon 66, biocompatibilidad.

Key words: cerclage, Nylon 66, biocompatibility.

INTRODUCCION

El acero inoxidable es un material que desde hace décadas se utiliza en cirugía, por sus propiedades de biocompatibilidad, resistencia mecánica y fácil esterilización, entre otras. El uso del hilo o alambre de acero en forma de cerclaje como método de osteosíntesis comenzó con el advenimiento de las técnicas de reducción abierta y fijación interna de las fracturas (Liska 1989). En Cirugía Ortopédica resulta al presente de uso corriente en la estabilización y fijación de ciertos tipos de fracturas, solo o como complemento de otros métodos de osteosíntesis (Piermattei 1999, Denny 1982, Fossum y Col. 1999, Olmstead 1995, Liska 1989, Willer 1998, Roush y Col. 2000, San Román 1994, Schrader 1991).

El desarrollo de otros materiales biocompatibles derivados del polietileno, nylon, cerámicas, etc., adaptados para su empleo en cirugía, ha determinado la apari-

ción de un sinnúmero de elementos de osteosíntesis alternativos a los fabricados en acero.

Los polímeros PVC (policloruro de vinilo) y PPL (polipropileno) han sido utilizados profusamente en la fabricación de diferentes dispositivos (sondas nasogástricas, sondas uretrales, prótesis dentarias, catéteres intravasculares, contraceptivos intrauterinos, tubos para diálisis peritoneal, cánulas ruminales e intestinales, tapones esofágicos y hasta corazones artificiales) (Wheeler y col 1998).

Si bien existen a nivel mundial trabajos relacionados a la Medicina Veterinaria que evalúan el uso de polímeros en diferentes implantes como: precintos de polipropileno en la fijación de placas (Alberto y col 2001); placas de polipropileno para osteosíntesis (Alberto y col 2001, Amato 2000, Wheeler y col 1998, Wheeler y col 1995); placas de PVC en la inmovilización interna de columna vertebral (Tudury y col 1997); mallas de polipropileno en la corrección quirúrgica de hernia perineal y defectos auriculares (Matera y col 1989, Matera y col 1981); anillos de polipropileno en la corrección de colapso traqueal (White 1995); no es así para el polímero Nylon 66 donde solo hemos encontrado escasísima documentación bibliográfica. Citamos particularmente un experimento en que

Aceptado: 21.03.2006.

* Fax 5982-216 18 70, Juan Spikerman 2180, 11.600, Montevideo, Uruguay, gsemigli@adinet.com.uy

mediante estudio *in vitro* e *in vivo* se demostró que el nylon industrial resulta un material relativamente inerte cuando se lo utiliza como material ortopédico (Shivaprakash y col 1998).

Las condiciones particulares de nuestro medio, en que las razones económicas gravitan mucho al momento de valorar opciones en el uso de diferentes materiales, nos incentivó a la búsqueda de un material que fuera de fácil obtención, económico, maleable, resistente, esterilizable con métodos sencillos, cuya manipulación requiriera instrumental mínimo y que representara una adecuada alternativa al acero inoxidable.

Contando con algunas experiencias efectuadas en nuestro medio por dos de los autores en el uso empírico de precintos de poliamida (Nylon 66) en fracturas diafisarias oblicuas en perros, diseñamos un experimento que permitiera evaluar las propiedades de biocompatibilidad y resistencia mecánica de aquel material, en comparación con las del Acero 316L.

Los aspectos biológicos (biocompatibilidad) fueron estudiados en ratas, mediante el implante de precintos de Nylon 66 y Acero 316L. Los precintos de Nylon 66, esterilizados por diferentes métodos, fueron testados en su resistencia mecánica y comparados con material no sometido a esterilización. Los valores obtenidos fueron estadísticamente analizados con test de Kruskal-Wallis (Whimster 1997).

La validación de los procedimientos de esterilización empleados fue realizada por controles microbiológicos de los materiales.

MATERIAL Y METODOS

Estudio biológico in vivo. Se utilizaron 18 ratas de la cepa Sprague Dawley de ambos sexos de 200 a 350 g de peso. Las ratas se mantuvieron en cajas plásticas de 60 cm (centímetros) de largo por 40 de ancho, por 20 de altura con capacidad para 10 animales. Las cajas contaban con cama de cáscara de arroz, cuyo cambio fue de dos veces por semana. La alimentación fue balanceada (*pellets*), y administrada *ad libitum*, al igual que el agua.

Se mantuvieron a una temperatura promedio de 18 a 22°C con una humedad promedio de 55% y con una exposición a la luz de 12 a 16 horas al día, respetando el ritmo sueño-vigilia normal. Se mantuvieron, además, sin restricción de su movilidad. A los fines de nuestro trabajo los animales se separaron al azar en 3 grupos de 6 unidades cada uno.

Los materiales de implante (cerclaje) –Acero 316L y Nylon 66– fueron esterilizados mediante autoclave (modelo Scanlan Morris, Ohlo Chemical & Surgical Equipment Co, Madison, Wisconsin, U.S.A.), durante 20 minutos, a 121°C de temperatura y 1 atmósfera de presión.

Las ratas se operaron en condiciones de máxima asepsia en el quirófano del Departamento de Pequeños Animales de la Facultad de Veterinaria. Fueron anestesiados

por vía intraperitoneal con solución de Ketamina al 5% a dosis de 80 mg/kg PV (miligramos por kilo de peso vivo) y con Diazepam al 1% a dosis de 10mg/kg PV (Alvarez Gómez de Segura y col 2001).

Se realizó tricotomía en ambas tibias y luego se efectuó una incisión cráneo-medial de 2,5 cm de longitud, de proximal a distal con bisturí mango N° 3 y hoja N° 15. La tibia se expuso por divulsión subcutánea y muscular, supraparióstica. Una vez lograda la exposición ósea, se procedió a colocar en un mismo animal los cerclajes: en la tibia derecha el de Nylon 66 (CV-100 marca KSS) de 2,5 mm de ancho y 1 mm de espesor y en la tibia izquierda el de acero inoxidable 316L de 0,5 milímetros (mm) de diámetro. En ambos casos el cerclaje fue colocado a nivel del tercio medio de la tibia. La herida operatoria se suturó en dos planos con puntos separados de Vycril N° 4-0. Al final del tiempo operatorio, se administró penicilina a dosis de 1000 U/g PV (unidades por gramo de peso vivo) vía subcutánea (Alvarez Gómez de Segura y col 2001). Durante todo el postoperatorio los animales permanecieron alojados hasta la fecha de la eutanasia en las instalaciones del bioterio de la Facultad de Veterinaria.

Cada grupo de animales se sacrificó a las 6, 10 y 14 semanas del postoperatorio. Para la eutanasia se utilizó tiopental intracardíaco, previa anestesia con ketamina y diazepam; estas últimas, a las mismas dosis que las utilizadas en el procedimiento quirúrgico.

Inmediatamente luego de la eutanasia, se tomaron muestras en bloque de la porción central del área de la tibia (zona del cerclaje), las que fueron fijadas en formol tamponado al 10% con 4 gramos de fosfato monovalente y 6,5 gramos de fosfato divalente de sodio en 100 ml de solución de formol al 40%. Luego fueron descalcificadas con EDTA (ácido etilen-diamino-tetraacético) disódico durante 8 semanas (Linch 1969). Los implantes se retiraron cuidadosamente y concluida esta etapa las piezas se incluyeron en bloques de parafina. Ulteriormente fueron cortados longitudinalmente a un espesor de 6 micrómetros utilizando micrótopo manual (Reichert-Jung Biocut 2030, Wetzlar, Alemania).

Se obtuvieron 6 cortes no secuenciales representativos de la totalidad de cada pieza para su valoración histopatológica. Los cortes fueron coloreados con la técnica de Hematoxilina y Eosina (Romeis 1928), utilizando hematoxilina de Ehrlich.

El estudio histológico de las láminas para identificar, localizar y caracterizar áreas de reacción inflamatoria fue realizado en microscopio óptico liviano (National Shanghai, China).

Estudio mecánico. El estudio para obtener información sobre punto de rotura y deformación del Nylon 66 sometido a diferentes métodos de esterilización fue realizado en la Facultad de Ingeniería, en el Instituto de Ensayo de Materiales.

Para dicho fin se utilizó una Prensa Instron, Modelo 1011, U.S.A, calibrada por LATU y empleando escala de 50 kilogramos.

Se utilizaron 40 precintos plásticos, los cuales fueron separados en 4 grupos de 10 unidades cada uno: Grupo A, esterilizado mediante autoclave modelo Scanlan Morris, Ohlo Chemical & Surgical Equipment Co, Madison, Wisconsin, U.S.A, durante 20 min (minutos), a 121°C de temperatura y 1 atmósfera de presión; Grupo B, esterilizado mediante procedimiento uniforme con vapores de formalina al 10% (Droguería Paysandú) en cajas cerradas durante 24 hr a temperatura ambiente; Grupo C, esterilizado con C₂H₄O (gas de óxido de etileno), durante 180 min, a 45°C, a una concentración de 515 g/m³ y una humedad de 60%, con ulterior aireado (INDUPAR Ltda. Montevideo, Uruguay) y el Grupo D, fue el grupo testigo al cual no se le aplicó ningún método de esterilización.

De cada grupo se tomó una muestra al azar de tres unidades, las que fueron sometidas a la referida prueba.

Previo a comenzar la misma, se aplicó a cada precinto una carga inicial de 1 kg (que corresponde a deformación cero), y se continuó con 1 milímetro por minuto de velocidad inicial en el primer tramo y luego de 10 mm/min.

Estudio microbiológico. Diez precintos de Nylon 66 envasados en doble bolsa de polietileno fueron sometidos a esterilización mediante gas de óxido de etileno durante 180 min, a 45°C, a una concentración de 515 g/m³ y una humedad de 60% con ulterior aireado; diez envasados en doble envoltura de papel lo fueron autoclavados a 120°C y 1 atm de presión durante 20 min, y 10 sometidos a vapores de formalina en recipiente hermético durante 24 hr a temperatura ambiente.

Un precinto de cada grupo elegido al azar fue sometido a sembrado de placa estriada en cultivo de agar sangre (Laboratorio DIFCO). Posteriormente las placas se incubaron (estufa) a una temperatura de 37°C durante 72 horas.

Estudio estadístico. La valoración estadística de los resultados del estudio mecánico *in vitro* fue realizada por el test no paramétrico de Kruskal-Wallis el cual se utiliza para muestras pequeñas (como es el caso de nuestro estudio).

RESULTADOS Y DISCUSION

Estudio biológico *in vivo*. En nuestro diseño experimental encontramos que el implante suprapariosteico de Nylon 66 en la población de ratas estudiada en los lapsos de tiempo de 6, 10 y 14 semanas, no produjo reacción inflamatoria detectable tanto macro o microscópica.

En la observación macroscópica no se observaron signos de inflamación, tales como edema, hiperemia o tu-

mefacción, tanto para el Nylon 66 como para el acero inoxidable 316L.

A la observación microscópica no se encontró una reacción celular infiltrativa que indicara proceso infeccioso o inflamatorio figura 1 (macrófagos, polimorfonucleares, linfocitos, células gigantes o de cuerpo extraño), y no se observó diferencia alguna en el análisis de los tejidos que rodeaban los implantes de Nylon 66 y acero inoxidable 316L. Sin embargo, debe consignarse la presencia de algunos vasos de neoformación en la cortical ósea vecina al área de cerclaje con Nylon 66.

Asimismo, Shivaprakash y col concluyen luego de estudios *in vivo* e *in vitro* que el nylon se comporta en forma inerte.

En nuestro experimento, ninguno de los animales operados mostró signos de infección en las áreas de los implantes, lo que traduce un comportamiento inocuo del material de implante frente a los tejidos blandos circundantes.

El período de observación de la actividad biológica tisular en nuestro experimento no nos permite obtener conclusiones respecto a la eventual actividad inflamatoria o macrofágica tardía, como la que se observa en el caso de implantes de nylon o polietileno (Pollice y col 1995) sometidos a estrés mecánico continuado.

Las prótesis articulares totales (acero contra polietileno) en rodillas y particularmente en cadera son –como se sabe– pasibles de falla o aflojamiento debido a la reabsorción osteolítica a cargo de macrófagos estimulados en su actividad por la presencia de fragmentos nanométricos de polietileno desprendidos de los implantes protésicos. Este fenómeno –posible de ocurrir en caso

Figura 1. Microfotografía del sitio del implante del precinto de Nylon 66. Se aprecia discreta hipervascularización local a nivel del hueso en el área del implante, sin infiltración celular inflamatoria en partes blandas (Tinción hematoxilina-eosina, 300X).

Nylon 66-wire's implant site. Mild local hypervascularization can be observed within the bone at the implant area, without cellular infiltrate in soft tissues (Hematoxiline-eosine stain, 300X).

de implantes de polietileno sometidos a estrés— ocurre tardíamente en la evolución postoperatoria (años) (Schmalzried y col 1998). El punto constituye, pues, un desafío futuro para el estudio del comportamiento a largo plazo del Nylon 66 como material de osteosíntesis.

Estudio mecánico. Los valores (carga-deformación) obtenidos como resultado del testado de todos los precintos fueron analizados con el test de Kruskal-Wallis, obteniéndose los correspondientes valores registrados en el cuadro 1. Estos indican que los precintos esterilizados con gas de óxido de etileno soportan una mayor carga y presentan una menor deformación con respecto al grupo testigo. Los esterilizados por medio de autoclave y formalina se comportan de forma similar al grupo testigo no habiendo diferencia significativa entre ellos.

Estos resultados nos permiten concluir, dado el nivel de significancia, que la esterilización por medio de gas de oxido de etileno cambia las propiedades físicas del material haciéndolo menos elástico y más resistente.

Estudio microbiológico. El resultado del control de esterilidad de los precintos de Nylon 66 mediante estudio microbiológico no mostró a las 72 horas en el medio de cultivo sembrado formación alguna de colonias. Este resultado fue el mismo para todos los precintos esterilizados con los diferentes métodos referidos.

La ausencia de formación de colonias en las placas sembradas con los precintos denota la eficacia de los métodos de esterilización utilizados en nuestro estudio.

Cuadro 1. Promedio de valores de deformación (en mm) para cargas crecientes (expresadas en kg) para cada grupo de precintos de Nylon 66:

Mean values of deformation (in mm) for increasing loads (express in kg) for each group of Nylon 66 wires:

Grupo	Carga (kg)	Promedio (kg)	Deformación (mm)	Promedio (mm)
A	8,5	8,57	109,8	96,6
	8,5		95,3	
	8,7		84,8	
B	8,3	8,57	105,8	93,7
	8,7		87,7	
	8,7		87,6	
C	8,6	8,67	72,7	88,2
	8,6		92,5	
	8,8		99,4	
D	9,3	9,47	68,6	63,7
	9,4		63,2	
	9,7		59,3	

A = precintos no esterilizados (grupo control).

B = precintos esterilizados en autoclave.

C = precintos esterilizados en vapores de formalina.

D = precintos esterilizados en gas de oxido de etileno ($P < 0,05$).

A modo de conclusión, podemos reseñar que el comportamiento biológico del Nylon 66 resultó comparable al del acero inoxidable 316L, ya que no se observaron diferencias significativas macro o microscópicas. Por otra parte, en nuestro experimento no se encontró respuesta inflamatoria alguna en la zona de los implantes de Nylon 66.

El método de esterilización por medio de gas de óxido de etileno demostró afectar las propiedades físicas del material, a diferencia de los otros métodos empleados.

El uso clínico en cirugía veterinaria del Nylon 66 en la osteosíntesis de fracturas no ha sido documentado —en nuestro conocimiento— en la bibliografía disponible.

En nuestro medio se han realizado ensayos clínicos usando Nylon 66 en la fijación de fracturas diafisarias oblicuas en perros, con resultados favorables (trabajo de dos de los autores no publicado).

Acorde a esta experiencia, podemos considerar que es factible la utilización del Nylon 66 en cirugía ortopédica como material de cerclaje, en virtud de su biocompatibilidad, comparable al acero inoxidable 316L, de su resistencia mecánica adecuada, fácil esterilización, manipulación y obtención en nuestro mercado.

Se hacen necesarios, sin embargo, estudios futuros relativos a la biocompatibilidad a largo plazo del Nylon 66 cuando se lo implanta de forma permanente.

RESUMEN

A efectos de evaluar la biocompatibilidad y el comportamiento mecánico del Nylon 66 en comparación con el acero inoxidable para su utilización en cirugía ortopédica, diseñamos un experimento en ratas. El Nylon 66 fue usado como “cerclaje” suprapariético en la tibia derecha y el alambre de acero, en la tibia izquierda del mismo animal, en un grupo de 18 ratas. Para el estudio de sus propiedades mecánicas, el Nylon 66 fue esterilizado con diferentes métodos (autoclave, vapores de formalina y gas de óxido de etileno). Las referidas propiedades (deformación hasta ruptura) de los precintos de Nylon 66 esterilizados con distintos métodos fueron comparadas cuantitativamente. El Nylon 66 no esterilizado fue usado como control. A efectos de la validación de los diferentes métodos utilizados, se realizaron controles microbiológicos de todos los materiales esterilizados. Los resultados de nuestro experimento mostraron que ni el Nylon 66 ni el Acero 316L indujeron respuesta celular (inflamación) a nivel de sus sitios de implante. El testado mecánico del Nylon 66 demostró que el material esterilizado con formalina o autoclavado, tuvo un comportamiento cuantitativamente similar, así como también respecto al control. Sin embargo, el material esterilizado con gas de óxido de etileno mostró menor resistencia a la deformación. Estos resultados fueron analizados estadísticamente con el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. Los cultivos microbiológicos de 72 horas de las muestras de Nylon 66 esterilizadas con diferentes métodos resultaron negativos. El Nylon 66 podría, pues, proponerse como un material aceptable de alternativa para la fijación de fracturas en Cirugía Ortopédica de pequeños animales, en virtud de haber demostrado compartir con el estándar (acero), biocompatibilidad y resistencia a la deformación mecánica. Asimismo, se trata de un material económico, muy accesible en el mercado y técnicamente de muy sencilla manipulación. Ulteriores estudios se hacen necesarios sin embargo, para corroborar nuestros resultados en material implantado durante largos períodos de tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Histología y Microbiología de la Facultad de Veterinaria por haber colaborado activamente en el trabajo; al Dr. Alvaro Freyre por habernos cedido los animales al igual que las instalaciones de su bioterio; al Instituto de Ensayo de Materiales de la Facultad de Ingeniería por colaborar en el estudio mecánico.

REFERENCIAS

- Alberto G L, L G Grancelli, D E Veronesi, M A Villarroel. 2001. Utilización de precintos plásticos en la fijación de placas de polipropileno. *Sel Vet* 9, 174-186.
- Alvarez Gómez de Segura I, F J Tendillo Cortijo. 2001. Métodos de anestesia, analgesia y eutanasia. En: Zúñiga J M, J A Tur, N Milocco, R Piñeiro. *Ciencia y Tecnología en protección y experimentación animal*, McGraw-Hill/Interamericana, España, Pp 385-418.
- Amato A. 2000. Osteosíntesis mandibular utilizando placas de polipropileno. *Vet Arg* XVII, 632-637.
- Denny H R. 1982. Tratamiento de las fracturas. En: *Fundamentos Cirugía Ortopédica Canina*, Acribia, Zaragoza, España, Pp 24-49.
- Fossum T W, Ch S Hedlund, D A Hulse, A L Johnson. 1999. Alambres Ortopédicos. En: *Cirugía en pequeños animales*. (ed.) Inter-Médica, Buenos Aires, Argentina.
- Liska W D. 1989. Cerclajes para reparar las fracturas de huesos largos. En: Slatter D H. 1989. *Texto de cirugía de los pequeños animales*. Tomo II, Salvat, Barcelona, España, Pp 2087-2097.
- Lynch M J, S S Raphael, L D Mellor, P D Spare. 1969. Descalcificación y tinción del hueso. En: *Métodos de Laboratorio* (ed.). Interamericana, España, Pp 1171-1181.
- Matera A, P S De Moraes Barros, A J Stopiglia, R E Randi. 1981. Hérnia perineal no cão tratamento cirúrgico mediante utilização de malha de polipropileno. *Rev Fac Med Vet Zootec Univ S Paulo* 18, 37-41.
- Matera A, R E Randi, W Spicciati. 1989. Correção cirúrgica de defeitos do pavilhão auricular. Emprego de malha de polipropileno. *Rev Fac Med Vet Zootec Univ S Paulo* 26, 85-91.
- Olmstead M L, E L Egger, A L Johnson, L J Wallace. 1995. Principles of Fracture Repair. En: *Small animal orthopedics*, Pp 111-159.
- Piermattei D L, G L Flo. 1999. Fracturas: Clasificación, diagnóstico y tratamiento. *Manual de ortopedia y reparación de fracturas de pequeños animales*. 3ª ed. (eds.) McGraw-Hill Interamericana, España, Pp 25-148.
- Pollice P F, S F Silverton, S M Horowitz. 1995. Polymethylmethacrylate-Stimulated Macrophages Increase Rat Osteoclast Precursor Recruitment through Their Effect on Osteoblast *In vitro*. *J Orthop Res* 13, 325-334.
- Romeis B. 1928. *Guía Formulario de Técnica histológica*. (Ed.) Labor S.A.
- Roush K J, M R McLaughlin. 2000. Clavos y alambres. *Sel Vet* 8, 414-419.
- San Román F, J P Zaera. 1994. Tratamiento de las fracturas. En: *Cirugía veterinaria*, McGraw-Hill Interamericana, España, Pp 319-326.
- Schmalzried T P, F J Dorey, H Mc Kellop. 1998. The Multifactorial Nature of Polyethylene Wear in Vivo. *J Bone and Joint Surg* 80-A, 1234-1242.
- Schrader S C. 1991. Complications Associated with the use of Steinmann intramedullary pins and cerclage wires for fixation of long-bone fractures. En: Fracture complications. *Vet clin NA, Small Anim Pract* 21, 687-703.
- Shivaprakash B V, G R Singh, M L Mehrotra, N N Pandey. 1998. In vitro and in vivo biocompatibility testing of orthopaedic implants. *Indian Vet J* 75, 1117-1119.
- Tudury E A. 1997. Imobilização interna da coluna vertebral lombar com placas de cloreto de polivilina, em cães-parte II: Resultados anatomopatológicos. *Ciencia Rural* 27, 103-112.
- Wheeler J T, H González Quintana. 1998. Efectos locales de los implantes de polipropileno en el perro. Observaciones preliminares. *Sel Vet* 6, 436-439.
- Wheeler J T, E C Donadío, R L Rovere. 1995. Utilización de placas para osteosíntesis fabricadas en polipropileno. *Rev de Med Vet* 76, 382-392.
- Willer R. 1998. Cerclajes con alambres. En: Bojrab M J. 1993. *Técnicas Actuales en cirugía de animales pequeños*. 3ª ed. Inter-Médica, Buenos Aires, Argentina.
- Whimster W F. 1997. Data handling and interpretation. En: *Biomedical Research*. Springer, London, Pp 50-69.
- White R N. 1995. Unilateral arytenoid lateralisation and extraluminal polypropylene ring prostheses for correction of tracheal collapse in the dog. *J Small Anim Pract* 36, 151-158.