

# INFLUÊNCIA DA CIPROFLOXACINA NA CONSOLIDAÇÃO ÓSSEA DE FRATURAS DE FÊMUR EM RATOS

## INFLUENCE OF CIPROFLOXACIN ON FEMORAL FRACTURES HEALING IN RATS

FABIANO KUPCZIK, LUIZ ROBERTO GOMES VIALLE, LEONARDO OLIVEIRA NOBRE, LUCAS DE ALMEIDA VIEIRA, ANDRÉ EUGÊNIO OMINE FERNANDES

### RESUMO

**Objetivo:** Apresentar um estudo experimental sobre o efeito da ciprofloxacina na resistência do calo ósseo de fraturas padronizadas de fêmures de ratos. **Métodos:** Os ratos foram separados em dois grupos de oito animais: o grupo estudo (cipro) e o grupo controle. Os animais foram submetidos à fixação dos fêmures esquerdos com fio metálico intramedular e à confecção de fraturas padronizadas no mesmo osso. O grupo estudo recebeu ciprofloxacina e o grupo controle soro fisiológico durante seis semanas. Após este período, realizou-se estudo radiográfico controle e ensaio biomecânico de três pontos para obtenção da força de flexão mensurada em Newtons. **Resultados:** As radiografias e a análise macroscópica demonstraram consolidação óssea em todas as fraturas. Foram comparados os resultados encontrados no estudo biomecânico entre os dois grupos, sendo que o grupo cipro apresentou resistência à força de flexão média 71,11 e o grupo controle, força de flexão média 74,78, não apresentando significância estatística ( $p = 0,601$ , test t). **Conclusão:** Não houve diferença estatística significativa na resistência do calo ósseo de fraturas padronizadas de fêmur de ratos após o uso de ciprofloxacina em relação ao grupo controle.

**Descritores:** Ciprofloxacino. Consolidação das fraturas. Consolidação da Fratura/efeitos de drogas. Ratos.

### ABSTRACT

**Objective:** To present an experimental study about the effects of ciprofloxacin on the bone callus strength on femoral fractures in rats. **Methods:** The animals were divided in two groups of 8 rats each: the group study (cipro) and the control group. The animals were fixed with an intramedullary nail and submitted to a standardized femoral fracture. The group study was treated with ciprofloxacin and the control group with saline solution for six weeks. After that period, the femurs were analyzed using X-ray images and biomechanical three-point test, which measured the flexion strength in Newtons. **Results:** The X-ray images and the macroscopic analysis showed that all fractures healed. The results found in the biomechanical study between the two groups were compared, and the cipro group presented a mean resistance to flexion force of 71.11 and the control group, mean flexion force of 74.78. There was no statistically significant difference ( $p = 0.601$ , t-test). **Conclusion:** The results from the biomechanical tests performed on femoral fractures in rats receiving ciprofloxacin revealed no statistical significance from measures of callus flexion strength when compared to the control group.

**Keywords:** Ciprofloxacin. Fracture healing. Fracture healing/drug effects. Rats.

**Citação:** Kupczik F, Vialle LRG, Nobre LO, Vieira LA, Fernandes AEO. Influência da ciprofloxacina na consolidação óssea de fraturas de fêmur em ratos. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2009; 17(4):228-31. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

**Citation:** Kupczik F, Vialle LRG, Nobre LO, Vieira LA, Fernandes AEO. Influence of ciprofloxacin on femoral fractures healing in rats. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2009; 17(4):228-31. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

### INTRODUÇÃO

As fraturas dos ossos longos dos membros inferiores são muito comuns no trauma ortopédico, sendo que as fraturas diafisárias do fêmur apresentam uma incidência anual de 1 a 4:10.000 pessoas.<sup>1</sup> Elas ocorrem principalmente em pacientes abaixo de 40 anos devido a traumas de alta energia.<sup>2</sup>

As fraturas do fêmur podem ser fechadas ou expostas e seu tratamento é predominantemente cirúrgico através da fixação interna ou externa que proporcionam a estabilidade necessária para a consolidação óssea.<sup>2,3</sup> As complicações dessas fraturas podem ser sistêmicas e/ou locais, sendo, a infecção uma das mais temíveis.<sup>2,4,5</sup> A ciprofloxacina é um dos antibióticos usados tanto de forma profilática quanto terapêutica nestes casos. Além disso, é usada con-

comitantemente no tratamento de infecções nos locais dos pinos de fixadores externos e infecções à distância. Sua utilização é cada vez mais frequente na prática diária.<sup>6-13</sup>

Efeitos adversos têm sido descritos com relação a esta droga no sistema músculo-esquelético. Nos tendões, ocorrem alterações degenerativas que podem evoluir com rupturas espontâneas, especialmente na população idosa. Nas cartilagens articular e de crescimento, alterações nos condrócitos como morte celular e degeneração da matriz com conseqüente alteração na produção de colágeno, foram demonstradas tanto *in vitro* quanto *in vivo* por vários estudos.<sup>14-20</sup>

A relevância clínica deste estudo se deve ao fato de poder alterar a rotina do uso da ciprofloxacina em pacientes com fraturas associadas a infecções tanto ósseas quanto à distância. Caso se confirme

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

Serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital Universitário Cajuru - PUCPR.  
Trabalho realizado no Centro de Pesquisas e Estudo Experimentais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR.

Endereço para Correspondência: Av. São José, 300, Cristo Rei, Curitiba, PR, BRASIL. CEP: 80050-350, E-mail: [fabianokupczik@yahoo.com.br](mailto:fabianokupczik@yahoo.com.br)

Trabalho recebido em 21/07/08 aprovado em 08/09/08

a hipótese de influência negativa na resistência do calo ósseo, a utilização deste antibiótico por períodos longos retardaria o processo de consolidação, prolongaria o internamento hospitalar, implicaria em novos procedimentos cirúrgicos, aumentaria os custos do tratamento e adiaria o retorno do paciente às atividades cotidianas.

## OBJETIVO

Avaliar a influência da ciprofloxacina na resistência do calo ósseo de fraturas padronizadas de fêmures de ratos por meio de análise radiográfica e estudo biomecânico da força de flexão de três pontos.

## MÉTODOS

Foram estudados 16 ratos da linhagem Wistar, machos, com idade de 100 a 120 dias, pesando em média 324g (variando entre 296g à 352g) e provenientes do Biotério Central da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR.

Os procedimentos realizados seguiram às normas do *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of International Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care* (1996) e à Lei Federal nº 6.638 de 8 de maio de 1979. Após a aprovação e liberação do Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da PUCPR sob o registro no CEUA/PUCPR nº 197, os ratos foram divididos em dois grupos: grupo estudo (cipro) e grupo controle (soro fisiológico). Todos os animais foram anestesiados com uma injeção intramuscular de cloridrato de cetamina na dose de 20 mg/kg e cloridrato de xilazina na dose de 50 mg/kg. Foi realizada tricotomia e assepsia no local do acesso cirúrgico com solução de iodo 1%.

O procedimento cirúrgico foi realizado em bancada cirúrgica, localizada no Laboratório da Disciplina de Técnica Operatória da PUCPR, e consistia de uma incisão mediana ao nível da articulação do fêmur com a tibia esquerda para exposição das fibras do quadríceps. Através de dissecação longitudinal das fibras do quadríceps e de luxação lateral da patela, os côndilos femorais foram expostos para confecção de um ponto de entrada com uma agulha 40 x 1,2 mm na região intercondiliana. Então, com o auxílio de um perfurador, foi introduzido no canal medular do fêmur um fio de aço (Kirschner) estéril de 1 mm de diâmetro o qual passou pela diáfise e grande trocânter retrogradamente até exteriorizá-lo na pele, neste local foi realizado uma outra incisão, por onde o fio foi tracionado cranialmente para dentro da diáfise femoral, retirando-o da articulação do joelho do animal. A extremidade cranial foi cortada e dobrada para evitar migração para dentro da articulação e sepultada abaixo da pele do animal. O fechamento das incisões foi realizado com fio mononylon 3-0.

Os ratos, ainda anestesiados, foram submetidos à fratura da diáfise do fêmur esquerdo em seu terço médio por um aparelho que mimetiza uma guilhotina romba e produz fraturas padronizadas, seguindo-se a metodologia dos estudos de Vialle *et al.*<sup>21</sup>, Pedroni<sup>22</sup> e Mussi Filho *et al.*<sup>23</sup> realizados também na linha de pesquisa de trauma do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da PUCPR.

Conferiu-se a posição do fio e a confirmação da fratura através de estudo radiográfico. (Figura 1)

Os ratos, em grupos de dois animais, foram alojados em gaiolas de polipropileno, de dimensões padronizadas para espécie, no Biotério Central da PUCPR. O ciclo de luz foi controlado (ciclo claro-escuro de 12 horas) à temperatura ambiente de 20±2°C. Umidade e nível de ruídos mantido estáveis. Todos os animais receberam água e ração adequada à vontade.

A dor no pós-operatório foi controlada com o uso de analgésico e antitérmico, Flunixinina meglumina, de nome comercial BANAMINE® (0,1 ml intramuscular uma vez ao dia), no período de dois dias (conforme orienta a Resolução nº 196/96, do Ministério da Saúde e Normas Internacionais de Proteção aos Animais).

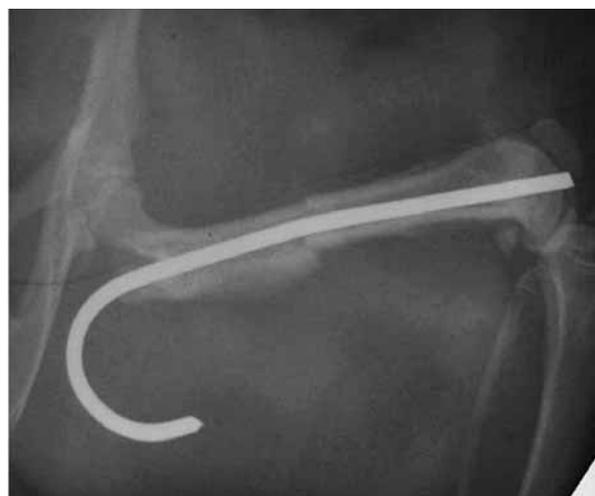


Figura 1 – Controle Radiográfico em perfil do fêmur confirmando a fratura diafisária fixada com fio metálico intramedular.

No grupo cipro, doze horas após a fratura, foi iniciada a administração de ciprofloxacina (Halexistar®), na dose de 50mg/kg, em intervalos de 12 horas, durante seis semanas. No grupo controle, foi aplicado soro fisiológico 0,9%, na dose de 2 ml, da mesma forma que o grupo estudo.

Após o período de seis semanas, os animais foram submetidos à eutanásia seguindo a Resolução 714/2002, utilizando-se dose letal de cloridrato de cetamina (148 mg/kg) por via intraperitoneal.

Os ossos fraturados e os não fraturados foram desarticulados, analisados, radiografados e armazenados em solução de formalina a 5%. Após uma semana, os fêmures preparados foram levados ao Laboratório de Ensaios Destrutivos da PUCPR, onde foi realizado o estudo biomecânico em aparelho de ensaio de força de flexão em três pontos (tensão/compressão), da marca EMIC®, modelo DL-500, conectado a um computador com *software* M-test de ensaio mecânico. Usou-se a célula de carga SV100, com valor de correção igual a 11,05769. Foram testados os fêmures fraturados (calo ósseo) e os sem fratura (fêmur normal) em ambos os grupos.

## Métodos Estatísticos

O cálculo do tamanho da amostra foi feito estatisticamente para um nível de significância de 5%, poder do teste de 90% e diferença mínima relevante a ser detectada igual a 15N da resistência observada no grupo controle.

Inicialmente, os grupos cipro e controle foram analisados em relação à força no calo ósseo e no fêmur normal. Após, comparou-se o calo ósseo com o fêmur normal dentro de cada grupo.

Os resultados do estudo foram expressos por médias, desvios padrões, medianas, valores mínimos e máximos.

Para a comparação dos grupos em relação à força, foi usado o teste t de Student para amostras independentes. Para comparação do calo ósseo com o fêmur normal dentro de cada grupo, foi usado o teste t de Student para amostras pareadas. A avaliação da condição de normalidade da variável foi feita usando-se o teste de Shapiro-Wilks. Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística.

## RESULTADOS

As avaliações macroscópicas e radiográficas dos fêmures fraturados dos ratos, após seis semanas dos procedimentos cirúrgicos, demonstraram fraturas consolidadas em todos os animais.

Os resultados dos estudos biomecânicos obtidos em cada grupo são apresentados na Tabela 1.

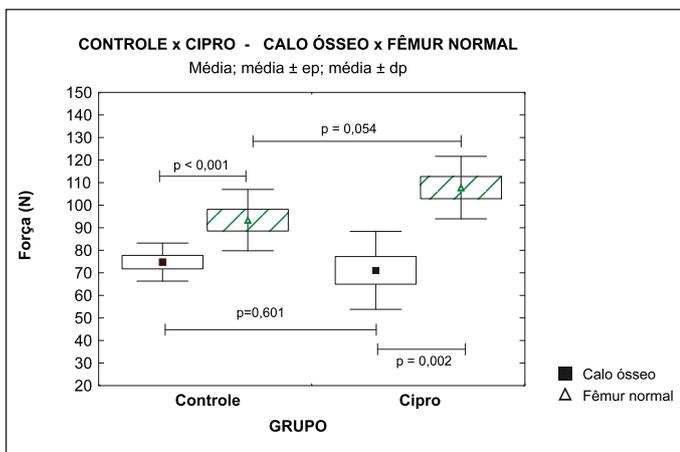
**Tabela 1** – Resultados da avaliação da resistência do calo ósseo e do fêmur normal às forças de flexão, em Newtons, do grupo cipro e do grupo controle

Grupo Cipro			
Rato	Calo Ósseo	Rato	Fêmur Normal
1	61,17	1	97,87
2	91,76	2	103,99
3	61,17	3	128,46
4	42,82	4	91,76
5	79,52	5	122,34
6	79,52	6	91,76
7	91,76	7	110,11
8	61,17	8	116,22
Grupo Controle			
Rato	Calo Ósseo	Rato	Fêmur Normal
9	65,39	9	79,40
10	68,69	10	83,37
11	63,25	11	76,16
12	76,71	12	93,47
13	82,09	13	115,31
14	77,50	14	99,52
15	76,71	15	92,98
16	87,90	16	106,93

Inicialmente, para o calo ósseo e o para fêmur normal, testou-se a hipótese nula de que a média de força é igual para os dois grupos, versus a hipótese alternativa de médias diferentes. Em seguida, para cada grupo, testou-se a hipótese nula de que a média para o calo ósseo é igual à média para o fêmur normal versus a hipótese alternativa de médias diferentes (Tabela 2 e Figura 2).

**Tabela 2** – Resultados (em Newtons) das médias, medianas, valores mínimos, máximos e desvios padrões da resistência do calo ósseo nos ensaios mecânicos nos grupos cipro e controle.

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Calo ósseo	Controle	8	74,78	76,71	63,25	87,90	8,44
	Cipro	8	71,11	70,35	42,82	91,76	17,28
Fêmur normal	Controle	8	93,39	93,23	76,16	115,31	13,60
	Cipro	8	107,81	107,05	91,76	128,46	13,85



**Figura 2** – Comparativo entre as médias e desvios padrões da resistência do calo ósseo e do fêmur normal nos grupos cipro e controle.

Para o calo ósseo, na comparação dos grupos cipro e controle não foi encontrada diferença significativa ( $p=0,601$ ).

Para o fêmur normal, na comparação dos grupos cipro e controle não foi encontrada diferença significativa ( $p=0,054$ ).

Para a diferença entre fêmur normal e calo ósseo, na comparação dos grupos cipro e controle foi encontrada diferença significativa ( $p=0,007$ ). Na tabela 2, observa-se que no grupo controle a diferença entre fêmur normal e calo ósseo é menor do que esta diferença para o grupo cipro.

Para o grupo controle, na comparação do calo ósseo com o fêmur normal foi encontrada diferença significativa ( $p<0,001$ ).

Para o grupo cipro, na comparação do calo ósseo com o fêmur normal foi encontrada diferença significativa ( $p=0,002$ ).

## DISCUSSÃO

Os antibióticos são utilizados com bastante frequência no tratamento das complicações de fraturas, seja de forma profilática ou terapêutica no controle de infecções. Dentre eles, a ciprofloxacina vem sendo indicada em vários casos.<sup>6-13</sup> É um antibiótico bactericida da classe das quinolonas de segunda geração, cujo mecanismo de ação é inibir a síntese do DNA bacteriano através de sua clivagem. Sua ação é mais eficiente quando sua concentração sérica é trinta vezes maior que a concentração inibitória mínima. Possui adequada absorção, tanto por via oral quanto endovenosa, apresenta penetração tecidual e celular maior que a concentração plasmática sendo sua eliminação efetuada principalmente por via renal. Tem atividade antibacteriana principalmente em germes Gram negativos, patógenos atípicos e *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>5,17</sup>

Os efeitos colaterais das quinolonas ocorrem principalmente no sistema gastrointestinal e no sistema nervoso central, acometendo entre 2 a 20% dos pacientes.<sup>24</sup> Entretanto, o sistema músculo-esquelético, tem sido frequentemente apontado na literatura como local de efeitos adversos desse antibiótico.<sup>15-20</sup> Nos tendões, ocorrem alterações degenerativas, podendo evoluir para rupturas espontâneas. Nos tecidos cartilagosos, principalmente nas superfícies articulares e placas de crescimento, ocorrem alterações nos condrocitos, levando a morte celular e degeneração na matriz, assim como, alterações na produção de colágeno.<sup>25</sup> Por isso, o uso das quinolonas é contra-indicado em crianças e gestantes.

A consolidação óssea é um processo contínuo que pode ser dividido em três fases: inflamação, reparação e remodelação. A fase inflamatória é caracterizada pelo hematoma fraturário, que propicia um meio para o qual as células inflamatórias migram e liberam mediadores inflamatórios e fatores de crescimento. Na fase de reparação, a qual é marcada pela neovascularização, migração de células mesenquimais e fibroblastos, origina-se o calo mole, formado por tecido cartilaginoso<sup>5</sup>, sendo neste momento que a ciprofloxacina influenciaria negativamente. O tecido ósseo gradualmente substitui o cartilaginoso através de ossificação endocondral, gerando o calo duro e a estabilidade dos fragmentos da fratura.<sup>5,26</sup> O osso do rato consiste de osso primário com uma estrutura lamelar não-Haversiana, diferenciando-o do osso humano neste sentido. Entretanto, a base fisiológica da remodelação é semelhante à do humano, o que o indica para a realização de estudos.<sup>27</sup>

Estudos biomecânicos em animais e em seres humanos sobre as forças atuantes tanto no fêmur como nos calos ósseos formados têm sido realizados.<sup>28</sup> A força de flexão, uma das forças desestabilizadoras das fraturas, foi avaliada sobre o calo ósseo após o uso de ciprofloxacina, mediante o ensaio mecânico de três pontos.<sup>29</sup> Este ensaio foi escolhido devido à confiabilidade do método que obtém valores numéricos, em Newtons, e que permite comparações e estudos estatísticos com uma especificidade segura.<sup>28</sup>

A escolha dos ratos como modelo experimental para análise biomecânica deve-se ao fato de serem animais de fácil manuseio e cuidados durante a pesquisa, e por possuírem características biomecânicas ósseas similares às dos humanos.<sup>30</sup>

Os estudos de Huddleston e Tuncay demonstraram através de análise histológica, radiográfica e biomecânica que houve retardo na consolidação óssea com o uso de concentrações terapêuticas de ciprofloxacina.<sup>31,32</sup>

No estudo de Huddleston, os autores realizaram análise histológica, radiológica, biomecânica e ultra-estrutural; concluíram que houve retardo na consolidação óssea com o uso de concentrações terapêuticas da ciprofloxacina.<sup>31</sup> Porém, as fraturas foram realizadas em ambos fêmures; não foi relatado se foram ou não fixadas; o grupo controle não recebeu nenhuma administração de substância; a administração do antibiótico ocorreu somente uma semana após a fratura; os ratos sofreram eutanásia com 4 semanas; o teste biomecânico foi realizado por meio da análise de força e rigidez com falha em torção e não foi relatada a avaliação macroscópica dos ossos após a desarticulação dos animais.

Com relação ao estudo de Tuncay, os autores também realizaram um trabalho experimental em ratos e avaliaram histologicamente a consolidação óssea após administração de quatro tipos de quinolonas (ofloxacina, norfloxacina, pefloxacina e ciprofloxacina). Concluíram que todas retardaram a formação do calo ósseo em ratos. Como no primeiro estudo, as fraturas foram realizadas em ambos os lados, a administração das quinolonas só foi realizada após sete dias da fratura, por três semanas e a eutanásia foi feita com quatro semanas.<sup>32</sup>

Diferentemente dos relatos prévios que demonstraram a influência negativa da ciprofloxacina na consolidação óssea em ratos<sup>31,32</sup>, este estudo experimental não confirmou a hipótese de que a ciprofloxacina altera a resistência do calo ósseo. Em relação àqueles trabalhos,

houve algumas diferenças no método. Primeiro, o prazo para início da administração da ciprofloxacina foi desde o primeiro dia neste estudo, pois, como já relatado, na segunda semana já há células cartilaginosas. O fêmur contralateral também foi avaliado, o que permitiu a análise do osso não fraturado como controle no próprio animal, sendo importante para afastar alterações ósseas. Optou-se pela fixação da fratura para evitar grandes desvios, diferentemente daqueles estudos nos quais não se realizou fixação da fratura, o que pode causar desvios maiores, com a consequente imprecisão dos resultados. A técnica de fixação intramedular, usada na presente pesquisa, já demonstrou que não altera o processo da consolidação óssea.<sup>22,23,28,33,34</sup> O estudo biomecânico foi feito com teste em flexão de três pontos que é mais seguro e confiável que o teste de torção, pois este é muito influenciado por desvios nas fraturas. Também, deve ser salientado que os testes biomecânicos foram realizados após 6 semanas das fraturas, pois nesta fase já se tem a completa consolidação óssea e uma maior resistência do calo ósseo, que em 4 semanas, época em que foram realizados os testes do primeiro estudo.<sup>33</sup> Apesar dos relatos de alterações histológicas nas células cartilaginosas observadas durante a consolidação óssea com o uso da ciprofloxacina<sup>31,32</sup>, a análise biomecânica deste estudo mostrou que não houve diferença estatística na resistência do calo ósseo em relação ao grupo controle após o período de seis semanas da fratura. Mais estudos devem ser realizados, inclusive com avaliações histopatológicas e imuno-histoquímicas, para comprovar a influência negativa desta droga em fraturas. Assim, poder-se-á concluir se a ciprofloxacina realmente altera ou não a consolidação óssea.

## CONCLUSÃO

Não houve diferença estatisticamente significativa na resistência do calo ósseo de fraturas padronizadas de fêmures de ratos com o uso da ciprofloxacina em relação ao grupo controle.

## REFERÊNCIAS

1. Singer BR, McLauchlan GJ, Robinson CM, Christie J. Epidemiology of fractures in 15000 adults: the influence of age and gender. *J Bone Joint Surg Br.* 1998;80:243-8.
2. Fernandes HJA, Reis FB. Fraturas da diáfise de fêmur. In: Franco SF, Lourenço PRB. *Traumatologia ortopédica.* Rio de Janeiro: Revinter; 2004. p. 19-30.
3. Muller ME, Allgower M, Schneider R, Willenegger H, eds. *Manual de Osteossíntese.* 3a. ed. São Paulo: Manole; 1993.
4. Campbell WC, editor. *Cirurgia ortopédica de Campbell.* 8a. ed. São Paulo: Manole; 1996.
5. Rockwood CA Jr, Green DP, Buchholz RW, editors. *Fraturas em adultos.* 3a. ed. São Paulo: Manole; 1993. p.179-91.
6. Hessen MT, Ingerman MJ, Kaufman DH, Weiner P, Santoro J, Korzeniowski OM, et al. Clinical efficacy of ciprofloxacin therapy for gram-negative bacillary osteomyelitis. *Am J Med.* 1987;82:262-5.
7. Waldvogel FA. Use of quinolones for the treatment of osteomyelitis and septic arthritis. *Rev Infect Dis.* 1989;11(Suppl 5):1259-63.
8. Lew DP, Waldvogel FA. Quinolones and osteomyelitis: state-of-the-art. *Drugs.* 1995;49(Suppl 2):100-11.
9. Suh B, Lorber B. Quinolones. *Med Clin North Am.* 1995;79:869-94.
10. Knapp TP, Patzakis MJ, Lee J, Seipel PR, Abdollahi K, Reisch RB. Comparison of intravenous and oral antibiotic therapy in the treatment of fractures caused by low-velocity gunshots. A prospective, randomized study of infection rates. *J Bone Joint Surg Am.* 1996;78:1167-71.
11. Lew DP, Waldvogel FA. Use of quinolones in osteomyelitis and infected orthopaedic prosthesis. *Drugs.* 1999;58(Suppl 2):85-91.
12. Patzakis MJ, Bains RS, Lee J, Shepherd L, Singer G, Ressler R et al. Prospective, randomized, double-blind study comparing single-agent antibiotic therapy, ciprofloxacin, to combination antibiotic therapy in open fracture wounds. *J Orthop Trauma.* 2000;14:529-33.
13. Pavoni GL, Falcone M, Baiocchi P, Tarasi A, Cassone M, Serra P et al. Conservative medical therapy of infections following osteosynthesis: a retrospective analysis of a six-year experience. *J Chemother.* 2002;14:378-83.
14. Ingham B, Brentnall DW, Dale EA, MacFadzean JA. Arthropathy induced by antibacterial fused N-alkyl-3-pyridone-carboxylic acids. *Toxicol Lett.* 1977;1:21-6.
15. Mont MA, Mathur SK, Frondoza CG, Hungerford DS. The effects of ciprofloxacin on human chondrocytes in cell culture. *Infection.* 1996;24:151-5.
16. Stahlmann R, Lode H. Toxicity of quinolones. *Drugs* 1999;58 Suppl 2:37-42.
17. Stahlmann R, Kuhner S, Shakibaei M, Schwabe R, Flores J, Evander SA et al. Chondrotoxicity of ciprofloxacin in immature beagle dogs: immunohistochemistry, electron microscopy and drug plasma concentrations. *Arch Toxicol.* 2000;73:564-72.
18. Mulhaupt HA, Alvarez JC, Rafferty PA, Warhol MJ, Lackman RD. Fluoroquinolone's effect on growth of human chondrocytes and chondrosarcomas. In vitro and in vivo correlation. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83 Suppl 2 (Pt 1):56-61.
19. Stahlmann R. Clinical toxicological aspects of quinolones. *Toxicol Lett.* 2002;127:269-77.
20. Li P, Cheng NN, Chen BY, Wang YM. In vivo and in vitro chondrotoxicity of ciprofloxacin in juvenile rats. *Acta Pharmacol Sin.* 2004;25:1262-6.
21. Mussi Filho S, Vidigal L, Canova RA, Cruz HA, Zaniolo FJ, Vialle LRG. Estudo experimental dos efeitos da heparina de baixo peso molecular (enoxaparina) na formação de calo ósseo em fêmur de ratos. *Acta Ortop Bras.* 2006;14:78-82.
22. Vialle E, Vialle LR, Boechat R, Bley JP, Scussiato R, Busato, T et al. Produção de fratura padronizada de fêmur em ratos. *Rev Bras Ortop.* 2004; 39:323-9.
23. Pedroni MA. Avaliação da força de flexão de três pontos sobre o calo ósseo nas fraturas diafisárias de fêmures de ratos fixadas com dois diâmetros de hastes diferentes (dissertação). Curitiba: Pontifícia Universidade Católica do Paraná; 2005.
24. Oliphant CM, Green GM. Quinolones: a comprehensive review. *Am Fam Physician.* 2002;65:455-64.
25. Menschik M, Neumüller J, Steiner CW, Erlacher L, Köller M, Ullrich R et al. Effects of ciprofloxacin and ofloxacin on adult human cartilage in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41:2562-5.
26. Miller MD, editor. *Review of orthopaedics.* 3rd ed. Philadelphia: Saunders Company; 2000.
27. Utvag SE, Reikeras O. Effects of nail rigidity on fracture healing, strength and mineralisation in rat femoral bone. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1998;118:7-13.
28. Probst A, Jansen H, Ladas A, Spiegel HU. Callus formation and fixation rigidity: a fracture model in rats. *J Orthop Res.* 1999;17: 256-60.
29. An YH., Draughn RA, editors. *Mechanical testing of bone and the bone-implant interface.* Boca Raton: CRC Press; 2000. p.3-16; 207-17.
30. Engesaerter LB, Ekeland A, Langeland N. Methods for testing the mechanical properties of the rat femur. *Acta Orthop Scand.* 1978;49:512-8.
31. Huddleston PM, Steckelberg JM, Hanssen AD, Rouse MS, Bolander ME, Patel R. Ciprofloxacin inhibition of experimental fracture-healing. *J Bone Joint Surg Am.* 2000; 82:161-73.
32. Tuncay I, Ozbek H, Kosem M, Unal O. A comparison of effects of fluoroquinolones on fracture healing (an experimental study in rats). *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2005;11:17-22.
33. Kaartinen E, Paavolainen P, Holmstrom T, Slati P. Loss of bone strength intramedullary nailing. *Acta Orthop Scand.* 1985;56:487-90.
34. Grundnes O, Reikeras O. Closed versus open medullary nailing of femoral fractures: Blood flow and healing studied in rats. *Acta Orthop Scand.* 1992;63:492-6