ANAIS XVI CICURV, 2022,P.X-Y
ISSN: 2179-0574

XVII CICURV
Congresso de Iniciação Científica da Universidade de Rio Verde

Enxerto de biomodelos produzidos em manufatura aditiva com acrilonitrila butadieno estireno em tíbias de coelhos

Taiane Santos Silva[1], Yasmin Souza Prates[2], Andressa dos Santos Honório[2], Maise Medeiros Gomes da Silva[2], Suzana Maira da Silva Caldas[3], Tales Dias do Prado[4]

[1] PIVIC/UniRV, graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde. ss.taiane@gmail.com
[2] Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde
[3] Docente da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde.
[4] Orientador, docente Dr. da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde. talesprado@unirv.edu.br.

Reitor:
Prof. Me. Alberto Barella Netto

Pró-Reitor de Pesquisa e Inovação:
Prof. Dr. Carlos César E. de Menezes

Editor Geral:
Prof. Dr. Fábio Henrique Baia

Editor de Seção:
Profa. Dra. Andrea Sayuri Silveira Dias Terada
Prof. Dr. Hidelberto Matos Silva

Correspondência:
Profa. Dra. Lidiane Bernardes Faria Vilela

Fomento:
Programa PIBIC/PIVIC UniRV/ CNPq 2021-2022

Resumo: A diversidade de objetos resultantes da manufatura aditiva tem ganhado cada vez mais espaço no mercado. Sua tecnologia consiste na produção de objetos tridimensionais, a partir da deposição de variados materiais em camadas e tem propriedades excelentes para a saúde animal. Por isso, este projeto de pesquisa visa a utilização desta tecnologia para o desenvolvimento de biomodelos de Acrilonitrila Butadieno Estireno (ABS) implantados em tíbias de coelhos, a fim de analisar os resultados visando a resistência biológica e uma possível rejeição do sistema imune do animal, para que futuramente estes materiais sejam de fácil obtenção para impressões de próteses e órteses. Foram utilizados seis coelhos (Oryctolagus cuniculus) da raça Nova Zelândia, que receberam implantes impressos em formato de parafusos de 7 mm de comprimento e inseridos nas tíbias com auxílio de uma parafusadeira cirúrgica. Os implantes das tíbias direitas foram esterilizados por autoclave e os implantes inseridos nas tíbias esquerdas foram esterilizados com glutaraldeído. Os animais foram avaliados clinicamente até o terceiro dia, e os membros pelvinos avaliados radiograficamente a cada 30 dias, contados a partir do dia da cirurgia, durante 60 dias. Após esse período foi realizada a eutanásia dos coelhos e o material implantado foi retirado para avaliação macroscópica. O ABS foi caracterizado como um material que provoca baixa ou nenhuma reação tecidual local, assim, pode ser indicado para a fabricação de futuros implantes ósseos, incluindo próteses e órteses.

Palavras-chave: ABS, lagomorfos, impressora 3D.

Biomodels graft produced in additive manufacturing with acrylonitrile butadiene styrene in rabbit tíbias

Abstract: The diversity of objects resulting from additive manufacturing has gained more and more space in the market. Its technology consists in the production of three-dimensional objects, from the deposition of various layered materials and has excellent properties for animal health. This research project aims to use additive manufacturing technology (3D printing) for

UniRV
Universidade de Rio Verde

the development of biomodels of Acrylonitrile Butadiene Styrene (ABS) implanted in rabbit tibias, with the objective of analyze its biological resistance and a possible rejection of the animal's immune system, so that in the future these materials are easy to obtain for impressions of prostheses and orthesis. Six New Zealand rabbits (Oryctolagus cuniculus) were used, which received implants printed in the shape of 7 mm length screws, inserted in its tibias with the aid of a surgical screwdriver. The implants of the right tibias were sterilized by autoclave and the implants inserted in the left tibias were sterilized with glutaraldehyde. The animals were clinically evaluated until the third day, and the pelvic limbs were radiographically evaluated every 30 days, counted from the day of surgery (D0), for 60 days. After this period, rabbits were euthanized, and the implanted material was removed for macroscopic evaluation. The ABS was characterized as a material that causes low or no local tissue reactio, thus it can be indicated for the manufacture of future bone implants, including prostheses and orthoses.

Key words: ABS, lagomorphs, 3D printer.

Introdução

A busca por novas tecnologias envolvendo diferentes materiais e processos de fabricação têm ganhado cada vez mais espaço em trabalhos científicos e no mercado, sejam eles com objetivo na indústria, na comunicação, na arte e, mais recentemente, na área da saúde em planejamento cirúrgico, na criação de próteses e em sala de aula, para o estudo em anatomia e produção de implantes (SILVA e KAMINSK, 2008). Entre diversas outras áreas que inovam seus produtos e buscam competitividade no mercado, além deste desenvolvimento, há uma busca constante por alternativas que tenham menor impacto ambiental, que vai de encontro a esta tecnologia (SALCHER et al., 2013).

Nesse contexto surge a manufatura aditiva (MA) ou prototipagem rápida, que são processos com grande potencial de desenvolvimento de peças com boa liberdade geométrica utilizando modelos computacionais (CAD) (VOLPATO e CARVALHO, 2007; SANTOS et al.,2018) ou de dados digitalizados por varrimento, conceito conhecido como Engenharia Reversa. Assim, as impressoras 3D podem gerar o protótipo sem a necessidade de moldes, até mesmo para a fixação, pois, a própria tecnologia cria o suporte do objeto (RAULINO, 2011).

A MA apresenta mais de 20 sistemas no mercado de produção por adição, todas elas se baseiam no mesmo princípio de fabricação por camadas planas a partir do biomodelo virtual através da adição sucessiva de camadas do material, seja ele metálico, polimérico ou cerâmico. Destaca-se que estes avanços tecnológicos, foram criados pela indústria com o propósito de diminuir o tempo, melhorando a qualidade e reduzindo o preço do produto para o consumidor, mas se expandiu também à área da medicina.

Nesse sentido, algumas pesquisas foram realizadas, com objetivo de desenvolver novas possibilidades para o planejamento cirúrgico, utilizando para isso imagens de tomografia computadorizada (CT) e ressonância magnética (MRI), possibilitando que os dados sejam transformados em imagens tridimensionais, proporcionando inúmeros benefícios na área biomédica e na medicina veterinária, sendo uma das aplicabilidades a criação de biomodelos de próteses e órteses (LIMA, 2009). Podendo ser organizado em categorias amplas, incluindo: fabricação de tecidos vivos e órgãos; criação e personalização de próteses, implantes e modelos anatômicos; e uso farmacêutico (MATOZINHOS et al., 2017).

Novas modalidades terapêuticas na área da ortopedia e traumatologia veterinária vem sendo desenvolvidas. Com o avanço tecnológico, o surgimento de impressoras 3D e a maior disponibilidade de materiais para a fabricação de dispositivos de suporte, houve um crescimento no campo da reabilitação animal, sendo possível oferecer novas opções de tratamento acometidos por lesões ortopédicas (OSORIO et al., 2018). Autores acreditam que em breve, todos os hospitais e clínicas terão uma impressora e irão reproduzir órgãos utilizando as células do paciente como matéria-prima (BARRETO et al., 2018).

Os polímeros formados durante o ciclo de crescimento de organismos vivos são denominados polímeros naturais (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006). Os humanos utilizaram polímeros naturais, como lã, couro e borracha natural para elaboração de materiais úteis ao cotidiano (BROWN et al., 2005). Os biopolímeros são polímeros ou copolímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, tais como: milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina e outras (BRITO et al., 2011). As fontes renováveis são assim conhecidas por possuírem um ciclo de vida mais curto, quando comparado com fontes fósseis como o petróleo, que leva milhares de anos para se formar.

A Acrilonitrila Butadieno Estireno, ou ABS, é um termoplástico com características excepcionais. As principais propriedades das resinas de ABS são: boa resistência ao impacto, boa resistência térmica, alta rigidez, alta dureza, excelente estabilidade dimensional, baixa contração de moldagem, baixa absorção de umidade, brilho superficial e boas propriedades dielétricas. O ABS é usado em partes automotivas, brinquedos, geladeiras, fornos de micro-ondas, cafeteiras, televisões, monitores, mouses e outros eletrodomésticos.

Este projeto de pesquisa visou a utilização da tecnologia de MA (Impressão 3D) para o desenvolvimento de biomodelos de ABS implantados em tíbias de coelhos, a fim de analisar os resultados visando a resistência biológica e uma possível rejeição do sistema imune do animal, para que futuramente estes materiais sejam de fácil obtenção para impressões de próteses e órteses.

Material e Métodos

O presente trabalho foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética de Animais (CEUA) da Universidade de Rio Verde (UniRV) e seguiu os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sob protocolo N° 09/21.

Animais: Foram utilizados seis coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia, pesando aproximadamente 3,5 quilogramas, com seis meses de vida, de ambos os sexos. Os animais foram adquiridos no Setor de Cunicultura da UniRV, submetidos há uma semana de adaptação ao novo local e observação do estado de saúde geral. Os animais ficaram em gaiolas individuais, com correntes penduradas para minimizar o estresse, sob condições adequadas de higiene, luz, temperatura e abrigo de chuva. Os animais receberam ração comercial, cenoura, feno, couve e água ad libitum, submetidos apenas ao jejum de 8 horas antes do procedimento cirúrgico. Após o procedimento foram mantidos por mais oito semanas sob as mesmas condições citadas anteriormente.

Impressão dos implantes: Utilizou-se a impressora 3D Zonestar DIY 802QR2, que possui dois bicos de extrusão com movimentação nos eixos X-Y e mesa de trabalho aquecida com movimentação no eixo Z. A técnica aplicada foi a de Modelagem por Fusão e Deposição (FDM), empregando o filamento de acrilonitrila butadieno estireno. Os implantes foram impressos em formato de parafusos de 7 mm de comprimento.

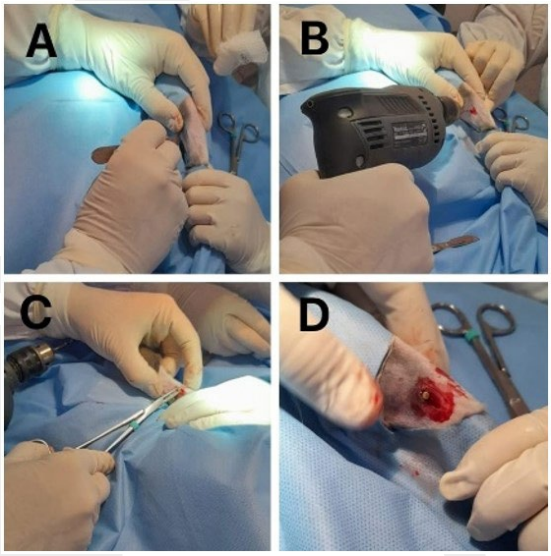
Esterilização dos implantes: Aplicou-se dois métodos de esterilização, sendo eles a autoclave e imersão em glutaraldeído. Para a técnica de esterilização pela autoclave, as peças foram separadas em papel grau cirúrgico, e esterilizadas em autoclave a 160° por 30 minutos. O segundo grupo dos implantes foram imersos em glutaraldeído por 8 horas e, antes de serem implantados nos animais, foram lavados com água destilada estéril, para evitar a toxicidade do material ao entrar em contado com o tecido.

Pré-operatório e protocolo anestésico: Após a constatação da higidez dos animais pelo exame clínico, foi realizada tricotomia ampla das regiões correspondentes metafisária medial das tíbias direita e esquerda, assim como na região da orelha para acesso à veia auricular caudal e foram pesados em balança digital com precisão de 1 grama, um dia antes do procedimento cirúrgico. Os animais foram encaminhados para o centro cirúrgico da Clínica Veterinária de Animais de Pequeno Porte da UniRV. Ato seguido, fez-se o uso do protocolo anestésico, por via intramuscular (IM), de acepromazina na dose de 0,05 ml/kg, cloridrato de tramadol na dose de 3 mg/kg, midazolam na dose de 0,2 mg/kg e cetamina na dose de 22 mg/kg, seguido de bloqueio anestésico local infiltrativo, com 0,4ml de lidocaína à 2,0%. Os animais foram monitorados durante todo o procedimento, receberam suporte de oxigênio à 100% através da máscara oronasal e manutenção anestésica realizada com isoflurano 100% na concentração inicial de 2,5%, com alterações conforme a necessidade.

Procedimento cirúrgico: O procedimento cirúrgico foi realizado no dia 03 de setembro de 2021. Após os animais estrarem em Plano de Guedel estágio III, plano 3 foi realizada a antissepsia prévia da área operada com duas aplicações de gluconato de clorexidina à 2% e uma de álcool à 70%, logo após, a antissepsia definitiva, feita pelo cirurgião, com três aplicações de álcool à 70% e proteção da área cirúrgica pano de campo fenestrado. Na sequência, realizou-se a incisão, de aproximadamente 3,0 cm, na pele com o auxílio de bisturi tamanho 21 (FIGURA 1 – A), seguida da divulsão do tecido subcutâneo com tesoura Metzenbaum, seguida da incisão longitudinal sobre o periósteo e exposição do córtex metafisário medial proximal da tíbia, com uso de afastadores. Com o tecido ósseo exposto, cada animal recebeu uma perfuração de 7 mm de profundidade e 2 mm de diâmetro executada com as brocas

(FIGURA 1 – B). A perfuração foi executada em alta velocidade, com irrigação profusa de solução fisiológico estéril. Cada parafuso foi instalado e estabilizado manualmente, com o auxílio de uma pinça Kocher (FIGURA 1 – C). Após inserção do parafuso (FIGURA 1 – D), as fáscias musculares foram suturadas com fio absorvivel vicryl 5-0, e a pele com fio de náilon 4-0. Terminada a sutura, a área foi limpa com gaze embebida em água oxigenada. Os implantes das tíbias direitas foram esterilizados por autoclave e os implantes inseridos nas tíbias esquerdas foram esterilizados com glutaraldeído.

Figura 1. Procedimento cirúrgico.



Legenda: A - Incisão na pele com o auxílio de bisturi. B - Perfuração executada com as brocas. C - Instalação e estabilizado manual do implante. D - Parafusão acondicionada em tecido ósseo. Fonte: acervo do autor.

Pós-cirúrgico: Os animais foram encaminhados para a sala de pós-operatório e monitorados até o restabelecimento completo da consciência, sendo encaminhados novamente para as suas respectivas baias. Administrou-se, por via subcutânea, Enrofloxacina 2,5% na dose de 5 mg/Kg, uma vez ao dia por 7 dias, Cloridrado de Tramadol na dose de 3 mg/Kg, três vezes ao dia por 3 dias e Meloxican na dose de 0,1mg/Kg, uma vez ao dia por 4 dias. As feridas foram limpas uma vez ao dia com solução fisiológica estéril e receberam spray de rifamicina. A partir do terceiro dia (D3), não houve mais nenhuma alteração (FIGURA 2) e a manipulação excessiva para averiguação dos sinais clínicos foi suspensa para não estressar os animais.

Figura 2. Local da incisão em D3.

Fonte: acervo do autor.

Avaliação clínica: As regiões das incisões que receberam os implantes foram avaliadas clinicamente até o terceiro dia após o procedimento cirúrgico (D3). A região das incisões foi avaliada considerando a ocorrência de edema, atribuindo-se nota 0 (zero) para as incisões com ausência de edema e nota 1 (um) para as incisões em que foi identificado ocorrência de edema.

Avaliação radiográfica: Os membros pelvinos que receberem os implantes foram avaliados radiograficamente na Clínica Veterinária de Animais de Pequeno Porte da UniRV a cada 30 dias, contados a partir do dia da cirurgia (D0), durante dois meses, totalizando três avaliações radiográficas de cada membro (D0, D30 e D60). Como o resultado das radiografias foram homogêneas para todos os tratamentos e repetições, não se fez necessário a submissão deste à análise estatística.

Eutanásia dos animais e avaliação do material implantado: Ao término do período de avaliação de 60 dias, os animais foram encaminhados para eutanásia. Para isto, realizou-se uma superdosagem anestésica de cetamina no volume de 66 ml/Kg, por via intravenosa, na veia auricular caudal, seguida da administração de cloreto de potássio. Na sequência foram avaliados os parâmetros vitais, como frequência cardíaca, frequência respiratória e pulso, realizando a confirmação do óbito dos animais. Após a confirmação, as tíbias foram retiradas e acondicionadas individualmente em frascos com formol a 10%, para posterior análise.

Análise estatística: Foi empregado delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram constituídos de esterilização dos implantes por autoclave e com glutaraldeído, já as repetições foram constituídas dos seis animais operados. Os dados obtidos na avaliação foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste de F ao nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

Foi possível observar que os implantes esterilizados através da autoclave apresentaram pequenas deformações em relação ao protótipo impresso. O que pode ser uma desvantagem, já que um dos pontos essenciais no potencial desta tecnologia é projetar próteses, órteses ou outro implante sob demanda e sob medida, fazendo com que o custo do tratamento seja reduzido. Contudo, no momento da implantação, não foi verificada dificuldade no processo de inserção do implante. Sehlinger et al. (2015) reforçam a importância da esterilização do biomaterial para determinar sua biocompatibilidade, já que estes materiais poliméricos são indispensáveis em embalagens e dispositivos médicos (GOMES JÚNIOR et al., 2016), além de garantir procedimentos cirúrgicos com maior segurança e precisão.
A Tabela 1 apresenta a análise de variância referente às observações de ocorrência de edema nos animais submetidos ao enxerto de biomodelos esterilizados por autoclave ou com glutaraldeído. Nota-se que, apesar de quatro dos seis enxertos esterilizados com glutaraldeído terem apresentado edema, não houve diferença significativa entre os tratamentos ao nível de significância de 5%, possibilitando aceitar a hipótese de nulidade, o que indica que a esterilização por glutaraldeído é tão eficiente quanto a esterilização padrão, feita em câmara de autoclavagem.

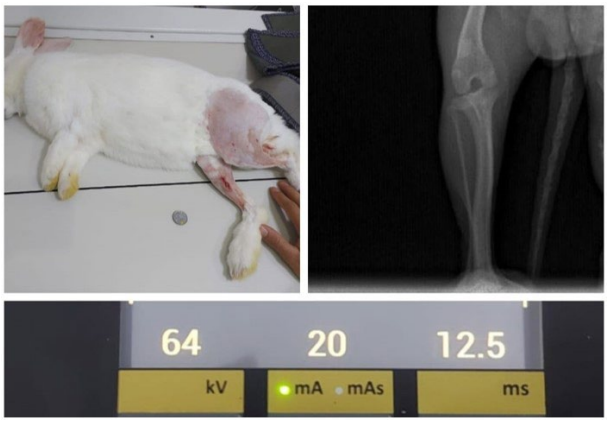
Tabela 1. Análise de variância para ocorrência de edema nas incisões feitas para enxerto de biomodelos esterilizados em autoclave e com glutaraldeído.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Ft (5%)
Tratamento	1	1,333	1,333	10,000	4,965
Erro	10	1,333	0,133	-	-
Total	11	2,666	-	-	-

Legenda: FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; QM: Quadrado médio; Fc: F calculado; Ft (5%): F tabelado para 5% de significância.

Na avaliação radiográfica dos animais após a cirurgia, após 30 dias e após 60 dias, observou-se correta osteointegração do implante às tíbias de todos os animais analisados (FIGURA 3). Silva et al. (2003), afirmam que a utilização do método de radiologia auxilia na verificação de desempenho dos substitutos ósseos no leito receptor, representando um método simples e eficaz.

Figura 3. Avaliação radiográfica dos animais.



Fonte: acervo do autor.

Durante a colheita das tíbias dos animais, observou-se que, macroscopicamente, não houve sinais de rejeição e o material apresentava sinais de osteointegração. Resultado que veem de encontro a outro estudo que indica a infiltração fibrovascular, sendo utilizados para correção de cavidades anoftálmicas por se mostrarem inertes, biocompatíveis e permitirem a infiltração tecidual (GOMES JÚNIOR et al., 2016).

Conclusão

Com relação ao material ABS, não houve qualquer contraindicação, apresentando-se com grande potencial de utilização em próteses e órteses. Sendo assim, acredita-se que estudos mais detalhados acerca da possibilidade de utilização deste material para próteses e órteses no campo da medicina veterinária são recomendados, visto o grande potencial acerca desta técnica e material. Além de mais estudos utilizando a esterilização por imersão em glutaraldeído, que se mostrou mais eficiente por não causar deformações à peça.

Agradecimentos

À Universidade de Rio Verde (UniRV) pela oportunidade de estudo através do Programa de Iniciação Científica Voluntária (PIVIC/UniRV).

Referências Bibliográficas

BARRETO, B.L.; BARBOSA, D.F.; FERREIRA, G.L.N.; VIEIRA, G.R.; NASCIMENTO, Y.L.F.; NETO, A.M.S. A importância das impressoras 3D na medicina. **Universo Recife**, v. 5, n. 2, p. 1, 2018.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E.M.; MÉLO, T.J.A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6.2, p. 127 –139, 2011.

FRANCHETTI, S.M.M.; MARCONATO, J.C. Polímeros biodegradáveis-uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GOMES JÚNIOR, D.C.; NASSAR, E.J.; DÓREA NETO, F.A.; LIMA, A.E.; MARTINS FILHO, E.F.; ORIÁ, A.P. Experimental acrylonitrile butadiene styrene and polyamide evisceration implant: a rabbit clinical and histopathology study. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.68, n.5, p.1168-1176, 2016.

LIMA, M.V.A. Modelo de fatiamento adaptativo para prototipagem rápida - implementação no processo de modelagem por fusão e deposição (FDM). 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) - **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, Curitiba, 2009.

MATOZINHOS, I.P.; MADUREIRA, A.A.C.; SILVA, G.F.; MADEIRA G.C.C.; OLIVEIRA, I.F.A.; CORRÊA, C.R. Impressão 3D: Inovações no campo da Medicina. **Revista Interdisciplinar Ciências Médicas** – MG, v. 1, n. 1, p. 143-162, 2017.

OSORIO, F.E.; COLORADO, S.J.; CORTEZE, A.A.; RUBIO, J.C.C; REZENDE, C.M.F. Desenvolvimento de dispositivos ortopédicos por manufatura aditiva para animais de companhia com deficiências na locomoção. **Investigação**, v. 17, n. 14, p. 19, 2018.

RAULINO, B.R. Manufatura Aditiva: Desenvolvimento de uma máquina de prototipagem rápida baseada na tecnologia FDM (modelagem por fusão e deposição). 2011. 105p. Trabalho de Graduação (Graduação em Engenharia de Controle e Automação) - **Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília**, Brasília, 2011.

SALCHER, A.; LEITE, J.L.; MOLINARI, E.J.; FOGGIATTO, J.A., Utilização de copolímero acrilonitrila-butadienoestireno (ABS) reciclado no processo de modelagem por fusão e deposição (FDM). **7º Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação**. Penedo, Itatiaia – RJ – Brasil. 2013.

SANTOS, M.A.R.; TOKIMATSU, R.C.; TREICHEL, T.L.E. Estudo de caso: a utilização de biomodelo no planejamento de órtese para tratamento de laminite bovina. **In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 23., Foz do Iguaçu. Anais. Foz do Iguaçu: IPEN, 2018. p. 8706-8717. 2018.

SEHLINGER, A.; OCHSENREITHER, K.; BARTNICK, N.; MEIER MAR. Potentially biocompatible polyacrylamides derived by the Ugi four-component reaction. **Eur. Polym**. J., v.65, p.313-324, 2015.

SILVA, A. M.; DEL CARLO, R. J.; VILORIA, 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**, v.33, p.539-545, 2003.

SILVA, G.C.; KAMINSKI, P.C. Prototipagem rápida aplicada às peças utilizadas em ensaios estáticos de embalagens para acondicionamento e transporte de peças automotivas. 2008. 174f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Automotiva) – **Escola Politécnica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2008.

SIMÕES JÚNIOR, J.; BRAMBRATTI JÚNIOR, N.; HEMKEMEIERI, M. Aspectos ambientais da substituição de componentes em fibra de vidro por componentes em ABS (acrilonitrila butadieno estireno) em uma indústria de produção de carrocerias de ônibus. **Ciência & Engenharia (Science & Engineering Journal)** ISSN 1983-4071 23 (2): 33 – 38, jul. – dez. 2014.

VOLPATO, N.; CARVALHO, J., “Capítulo 1 – Prototipagem Rápida como processo de Fabricação, in Volpato, N. (Ed.), 2007 “Prototipagem Rápida: Tecnologias e Aplicações”, **Ed. Edgard Blucher**, São Paulo, Brazil.