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 poliácido lático em tíbias de coelhos

Yasmin Souza Prates[1], Taiane Santos Silva[2], Andressa dos Santos Honório[3], Ana Júlia Alves Lima[3], Suzana Maria da Silva Caldas[4], Tales Dias do Prado[5]

[1] Pivic/UniRV, graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde. ysp172017@outlook.com.
[2] Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde
[3] Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde
[4] Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde.
[5] Orientador, Prof. 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 manufatura aditiva é um processo que comercialmente está no mercado desde a década de 1980, o uso médico da impressão em 3D, tanto real quanto potencial, pode ser organizado em várias categorias amplas, incluindo: fabricação de tecidos vivos e órgãos; criação e personalização de próteses, implantes e modelos anatômicos; e uso farmacêutico. Este projeto de pesquisa visou a utilização da tecnologia de Manufatura Aditiva (Impressão 3D) para o desenvolvimento de biomodelos de Poliácido Lático que foram implantados em tíbias de coelhos, a fim de analisar os resultados visando a resistência microbiológica e uma possível rejeição pelo sistema imune dos animais, além de verificar clinicamente se houve diferença no método de esterilização utilizado. O método de esterilização foi realizado por autoclavagem (grupo 1) ou por esterilização em glutaraldeído (grupo 2). Os materiais foram implantados na tíbia de 12 coelhos da espécie (Oryctolagus cuniculus), de ambos os sexos, sendo 6 para cada tratamento. Os resultados demonstraram presença de edema em 66,67% do grupo 2 por meio do método análise estatística pelo teste de Mann-Whitney, e ocorreu, também, o explante de um implante de cada grupo. Concluiu-se que o Poliácido Láticco, quando implantado em tíbias de coelhos, demostrou baixo potencial de reação tecidual, embora dois implantes tenham explantado. Acredita-se que a análise histopatológica do material implantado, assim como do osso, pode elucidar sobre a qualidade de osteointegração do material.

Palavras-chave: Impressão 3D, lagomorfos, PLA.

Graft of biomodels produced in additive manufacturing with latic polyacide in rabbit tibia

Abstract: Additive manufacturing is a process that has been commercially on the market since the 1980, the medical use of 3D printing, both actual and potential, can be organized into several broad categories, including: fabrication of living tissue and organs; creation and customization of prostheses, implants and anatomical models; and pharmaceutical use. This research project

UniRV
Universidade de Rio Verde

aimed at the use of Additive Manufacturing technology (3D Printing) for the development of Polylactic Acid biomodels that were implanted in rabbit tibias, in order to analyze the results aiming at microbiological resistance and a possible rejection by the immune system of the animals. animals, in addition to clinically verifying whether there was a difference in the sterilization method used. The sterilization method was performed by autoclaving (group 1) or by sterilization in glutaraldehyde (group 2). The materials were implanted in the tibia of 12 rabbits of the species (Oryctolagus cuniculus), of both sexes, 6 for each treatment. The results showed the presence of edema in 66.67% of group 2 and there was also the explantation of an implant from each group. It was concluded that Polylactic Acid, when implanted in rabbit tibias, showed a low potential for tissue reaction, although two implants were explanted. It is believed that the histopathological analysis of the implanted material, as well as the bone, can elucidate the quality of osseointegration of the material.

Key words: 3D printing, lagomorphs, PLA.

Introdução

A manufatura aditiva é um processo que comercialmente está no mercado desde a década de 1980 e sua tecnologia consiste na produção de objetos tridimensionais, a partir da deposição de variados materiais em camadas. Proveniente das áreas de arquitetura e engenharia, cuja finalidade inicial era a criação de maquetes, presentes personalizados e protótipos industriais, a impressão 3D, consiste na construção de objetos físicos a partir de modelos digitais feitos no computador em softwares de desenho técnico, modelagem digital tridimensional ou escaneamento digital. Dependendo da qualidade e capacidade da impressora, o resultado se torna muito preciso e rico em detalhes (SANTOS, 2018).

Com o passar dos anos, a prototipagem rápida está se tornando uma descoberta ímpar para a evolução de diversas áreas, como na indústria, comunicação, arte, projetos e também, 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).

O princípio dessa tecnologia baseia-se na modelagem de objetos a partir de desenhos gerados em CAD 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 impressão 3D tem alcançados áreas na indústria automobilística, aeroespacial entre outras. A tecnologia tem se expandido nos últimos anos e espera-se que ela também revolucione a área da saúde. O uso médico da impressão em 3D, tanto real quanto potencial, pode ser organizado em várias 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).

Segundo Osorio et al. (2018), 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.

As tecnologias de Prototipagem Rápida permitem a produção de próteses a baixo custo, com maior rapidez e conforme a demanda, sendo inclusive capazes de criar peças altamente complexas e personalizadas. Existe uma vasta gama de materiais que podem ser utilizados na impressão desses modelos e, conforme o ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno) e o PLA (Poliácido Lático) são os polímeros mais utilizados em tecnologias FDM (MAIA, 2016).

Este projeto de pesquisa visou a utilização da tecnologia de Manufatura Aditiva (Impressão 3D) para o desenvolvimento de biomodelos de PLA que foram implantados em tíbias de coelhos, a fim de analisar os resultados visando a resistência microbiológica e uma possível rejeição pelo sistema imune dos animais, além de verificar clinicamente se houve diferença no método de esterilização utilizado.

Material e Métodos

O presente trabalho foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade de Rio Verde (UniRV), sob protocolo N° 02/2021.

Animais

Para realização deste estudo, foram utilizados seis coelhos (Oryctolagus cuniculus) da raça Nova Zelândia Branco, de ambos os sexos, de aproximada-

mente seis meses de vida e massa corporal aproximada de 4,5 quilogramas, oriundos do Setor de Cunicultura da Universidade de Rio Verde.
Os animais permaneceram no Setor de Cunicultura da Universidade de Rio Verde, em gaiolas individuais, com correntes penduradas para minimizar o estresse, por um período de oito semanas. Durante todo o experimento, os animais permaneceram nas gaiolas individuais, receberam ração e água ad libitum e limpeza das baias diariamente.

Escolha dos materiais
Para a confecção dos biomodelos foi utilizada a Impressora 3D ZONESTAR DIY 802QR2, que possui dois bicos de extrusão com movimentação nos eixos X-Z e mesa de trabalho aquecida com movimentação no eixo Y, com a técnica de Modelagem por Fusão de Deposição – FDM. Foi utilizado o filamento Poliácido Lático.

Distribuição dos implantes
Os implantes (Figura 1) foram impressos em formato de parafusos de 5 mm de comprimento e inseriu-se nas tíbias dos coelhos com auxílio de uma parafusadeira cirúrgica. Os implantes das tíbias direitas foram esterilizados por autoclave e os implantes inseridos nas tíbias esquerdas foi esterilizado com glutaraldeído. A distribuição dos grupos foi da seguinte forma:
Grupo 1, tíbia direita: implante de PLA esterilizado pela autoclave
Grupo 2, tíbia esquerda: implante de PLA esterilizado com glutaraldeído

Implantes de PLA prontos para inserção cirúrgica.

Método de esterilização
Para o preparo da técnica esterilização pela autoclave, as 16 peças (sendo 2 reservas para cada grupo, totalizando 4 extras) foram separadas em papel grau cirúrgico, e esterilizadas em autoclave a 160° por 30 minutos. Os 16 implantes do grupo glutaraldeído 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 vivo.

Fase pré-operatória e protocolo anestésico
Após a constatação da higidez dos animais pelo exame físico completo, foi realizada tricotomia ampla das regiões correspondentes às tíbias direita e esquerda, assim como na região da orelha para acesso à veia auricular caudal. Os animais foram encaminhados para o centro cirúrgico da Clínica Veterinária de Animais de Pequeno Porte da UniRV. Após isso utilizou-se o protocolo anestésico de acepromazina (na dose de 0,04 ml/kg), cloridrato de tramadol, (na dose de 4 mg/kg), midazolam (na dose de 0,4 mg/kg) e cetamina (na dose de 22 mg/kg), por via IM, seguido de bloqueio anestésico local infiltrativo, com 0,4ml de lidocaína à 2,0%. Os animais foram monitorados durante todo o procedimento e a manutenção anestésica foi realizada com cetamina (na dose de 11 mg/kg, por via endovenosa).

Procedimento cirúrgico
Após tricotomia da região metafisária medial das tíbias, foi realizada a antissepsia com gluconato de clorexidina a 2% e álcool a 70% e proteção da área cirúrgica com panos de campo. Na sequência, realizou-se uma incisão na pele de aproximadamente 3,0cm com o auxílio de bisturi, 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 lança. A perfuração foi executada em alta velocidade, com irrigação profusa de solução fisiológico estéril. Cada parafuso foi instalado e estabilizado manualmente. Após inserção do parafuso, as fáscias musculares foram suturadas com fio reabsorvivel 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.

Cuidados pós-cirúrgico
Os animais foram monitorados até o restabelecimento completo da consciência, quando foram encaminhados novamente suas respectivas gaiolas. Foram administrados Enrofloxacina 2,5% (3 mg/Kg, via intramuscular, uma vez ao dia por 7 dias), Cloridrado de Tramadol (3 mg/Kg, via subcutânea,

três vezes ao dia por 3 dias) e Cetoprofeno (1mg/Kg, via intramuscular, uma vez ao dia por 4 dias). As feridas foram limpas duas vezes ao dia com solução fisiológica estéril receberão spray de rifamicina, durante 7 dias, para auxiliar a cicatrização completa.

Avaliação clínica

Diariamente, os animais foram monitorados e avaliados quanto aos parâmetros fisiológicos (frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura e capacidade de urinar e defecar). As feridas foram avaliadas quanto à presença de secreção, tipo de secreção e dia final da cicatrização. Possíveis processos infecciosos foram identificados e tratados e os pontos retirados aos 10 dias, quando as avaliações clínicas diárias cessaram.

Avaliação radiográfica

Os membros pélvicos que receberam os implantes foram avaliados radiograficamente 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).

Eutanásia dos animais

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, assim realizou-se a confirmação do óbito dos animais.

Resultados e Discussão

Foram realizadas as avaliações macroscópicas das feridas, sendo que os parâmetros utilizados para avaliação foram sinais de hiperemia, secreção e edema. Além disso, como foi empregado mais de um método de esterilização, avaliou-se também as diferentes reações que cada incisão cirúrgica apresentou com base no tipo de esterilização do implante.

Durante as avaliações diárias não foram observados sinais de hiperemia. Dois animais (33,33%) do grupo glutaraldeído apresentaram presença de secreção serosa na ferida cirúrgica, somente no primeiro dia. Neste caso, a análise estatística pelo teste de Mann-Whitney revelou p=0,17, indicando que não houve diferença significativa entre os grupos.

Segundo Furtado et al. (2019), a fase inflamatória inclui os fenômenos vasculares, hemostase e coagulação e o por mecanismos predominantemente celulares. O início da lesão nos tecidos causa danos vascular com sangramento local, e a resposta inflamatória aguda compreendida clinicamente pelos sinais cardinais da inflamação, tendo como tempo de duração de 24 a 48 horas e caso se estenda a mais de 6 dias seguindo corretamente os cuidados orientados já passa ser uma ferida crônica. Assim, observa-se que a presença de secreção seroas na ferida cirúrgica constituiu-se em um evento esporádico e já esperado para o início do processo cicatricial.

Quanto à presença de edema, 4 animais do grupo glutaraldeído apresentaram tal alteração entre os dias 1 e 4, conforme expresso na Tabela 1.

TABELA 1 – Percentual de animais que apresentaram edema nas feridas cirúrgicas. UniRV, 2021.

	EDEMA			
GRUPOS	**Dia 1**	**Dia 2**	**Dia 3**	**Dia 4**
Grupo 1 (**autoclave**)	0% [a]	0% [a]	0% [a]	0% [a]
Grupo 2 (**glutaraldeído**)	66,67%[b]	66,67%[b]	66,67%[b]	66,67%[b]

As porcentagens de ocorrência de edema e secreção marcadas nas colunas indicam que, mediante aplicação do teste Mann-Whitney, houve diferença significativa entre os grupos, com $p < 0,05$.

Observou-se diferença significativa entre os grupos evidenciando que o método de esterilização pode ter influenciado na formação de edema. Segundo o protocolo da ANVISA (2007), o glutaraldeído é esterilizante (8 a 10 h) e desinfetante de alto nível (30 min), sendo indicado para a esterilização de artigos críticos e semicríticos termossensíveis, desinfecção de alto nível e descontaminação. É eficaz contra *Mycobacterium tuberculosis*, alguns fungos e vírus, incluindo os da hepatite B e HIV (SHIH, 2011). É classificado como um desinfetante de alto nível, o que significa que ele tem uma ação letal contra todos os tipos de micro-organismo, exceto para altas concentrações de esporos bacterianos (RUTALA, 1996). Contudo, por se tartar de um composto alergênico (ANVISA, 2007) pode causar reações locais, como observado nos animais do experiment.

Também foram realizados exames radiográficos para avaliar a evolução cicatrização óssea nos dias 0, 30 e 60. Todas as radiografias encontraram-se dentro do esperado. O período pós-operatório dos animais influenciou sobremaneira a recuperação dos mesmos, uma vez que o repouso foi mantido e

os animais passaram somente pelo mínimo estresse possível. A esse respeito Cassanego et al. (2022) relatam que como auxilio para a recuperação de pós cirúrgicos ortopédicos em lagomorfos, recomenda-se o mínimo de manejo possível visando minimizar estresse e esforço que possa atrasar a cicatrização ou ainda fraturar o osso em recuperação dos mesmos, o tratamento de feridas nesses mamíferos em especifico é um desafio em potencial, visto que a espécie possui muita fragilidade óssea em comparação com outras espécies e que fraturas em ossos longos para eles são comuns.

A avaliação macroscópica das tíbias após a eutanásia evidenciou que não houve infecção tecidual local, contudo 33,33% (um animal do grupo 1 e um animal do grupo 2) apresentaram explante do material implantado, o que sugere potencial dificuldade na biocompatibilidade do material. Diversos materiais já foram empregados como substitutos biológicos, entretanto, poucos apresentaram resultados satisfatórios porque a maioria incita, em maior ou menor grau, resposta imunológica (FITCH et al., 1997).

Conclusão

O poliácido lático (PLA), quando implantado em tíbias de coelhos, demostrou baixo potencial de reação tecidual, embora dois implantes tenham explantado. Acredita-se que a análise histopatológica do material implantado, assim como do osso, pode elucidar sobre a qualidade de osteointegração do material.

Agradecimentos

À Universidade de Rio Verde (UniRV), pela oportunidade de realizar a pesquisa e ao meu orientador, professor Dr. Tales Dias do Prado pelo convite pela ajuda em todo o processo.

Referências Bibliográficas

BRASIL. Ministério da Saúde. Informe Técnico nº 04/07 de março de 2007. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Brasília, DF, 2007.

FITCH R, KERWIN SC, NEWMAN-GAGE H, SINIBALDI KR. Bone autografts and allografts in dogs. Continuing Educcation Art, v.19, p. 559-75, 1997.

FURTADO, R. A. A.; NOLÊTO, M. L.P.; PESSOA, D. R.; ALMEIDA, V. S.; MAIA FILHO, A. L. M.; UCHOA, V. T.; ALVES, W. S. Ação do gel Anacardium Occidentale L. associado ao ultrassom terapêutico no processo de cicatrização em camundongos. Revista Saúde (Sta Maria). 2019;45(2).

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

MAIA, B. A. Parametrização Dimensional, por Modelo de Regressão, de Próteses de Mão para Crianças, Confeccionadas por Manufatura Aditiva. 2016. 75p. Dissertação (Mestrado em Modelagem e Otimização) - Universidade Federal de Goiás, Catalão, 2016.

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.

RUTALA, W. A. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology – APIC. Guideline for selection and use of disinfectants. American Journal of Infection Control, v. 24, p. 313-342, 1996.

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., 2018, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: IPEN, 2018. p. 8.706-8.

SHIH, H. Y.; WU, D. C.; HUANG, W. T.; CHANG, Y. Y.; YU, F. J. Glutaraldehyde-induced colitis: Case reports and literature review. Kaohsiung Journal of Medical Sciences. v.27, p. 577-580, 2011.

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.

CASSANEGRO, G.R.; et al. Opção para tratamento de fratura em Coelho: Relato de caso. Universidade Regional do estado do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2022.

SILVA, S.F. da.; Bem estar de coelhos de corte: efeito do enriquecimento de piso em gaiolas “flat-deck” sobre indicadores comportamentais e fisiológicos de estresse no período de verão. Faculdade de ciências agrárias e veterinárias da Universidade Estadual Paulista. São Paulo, 2022.

ZAMARIAN, T. P.; Avaliação histológica do processo de reparo em falhas ósseas induzidas em tibias de coelhos tratados com decanoato de nandrolona. Universidade federal do paraná, Paraná 2014.