



ENXERTO DE BIOMODELOS PRODUZIDOS EM MANUFATURA ADITIVA COM TEREFTALATO DE ETILENOMODIFICADO COM GLYCOL EM TÍBIAS DE COELHOS

ANDRESSA DOS SANTOS HONÓRIO¹, FABRICIA DOS SANTOS DIAS², TAIANE SANTOS SILVA², YASMIN SOUZA PRATES², SUZANA MARIA DA SILVA CALDAS³, TALES DIAS DO PRADO⁴

¹ Pivic/UniRV, graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde. andressasantoshonorio@gmail.com

² GRADUANDA DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA - UNIVERSIDADE DE RIO VERDE.

³ MÉDICA VETERINÁRIA.

⁴ 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:

Prof. Dr. Guilherme Braz

Correspondência:

Andressa dos Santos Honório

Fomento:

Programa PIBIC/PIVIC UniRV/
CNPq 2021-2022

Resumo: A manufatura aditiva é uma alternativa que busca um tratamento na área de medicina veterinária de forma prática e com um baixo custo. Esse experimento objetivou avaliar a reação tecidual e a resistência de biomodelos de PET-G Poli (Tereftalato de etileno) modificado com Glycol, elaborados através da manufatura aditiva. O método de esterilização foi realizado por autoclavagem (grupo 1) ou por esterilização em glutaraldeído (grupo 2). Os materiais foram implantados na tíbia de 6 coelhos da espécie (*Oryctolagus cuniculus*), de ambos os sexos. Os resultados demonstraram presença de edema leve e secreção no sítio de incisão da cirurgia dos membros direito durante 5 dias, com redução progressiva, fato não observado nos animais que receberam implantes nos membros pélvicos esquerdos. Observou-se, macroscopicamente, adequada osteointegração do implante às tíbias de todos os animais analisados. Conclui-se que o material de PET-G, quando esterilizado em glutaraldeído, não produziu reações inflamatórias locais suficientes para interferir no processo de cicatrização óssea em tíbias de coelhos que o receberam como implante.

Palavras-chave: PET-G, autoclave, glutaraldeído.

Graft of biomodels produced in additive manufacturing with Glycol-modified Ethylene Terephthalate in rabbits tibia

Abstract: Additive manufacturing is an alternative that seeks a treatment in the area of veterinary medicine in a practical way and with a low cost. This experiment aimed to evaluate the tissue reaction and resistance of biomodels of PET-G Poly (Ethylene Terephthalate) modified with Glycol, elaborated through additive manufacturing. The sterilization method was performed by autoclaving (group 1) or by sterilization in glutaraldehyde (group 2). The materials were implanted in the tibia of 65 rabbits of the species (*Oryctolagus cuniculus*), of both sexes. The results showed the presence of mild edema and secretion at the incision site of the surgery of the right limbs for 5 days, with progressive reduction, a fact not observed in animals that received implants in the left pelvic limbs. Macroscopically, adequate osseointegration of the implant to the tibias of all animals analyzed was observed. It is concluded

that the PET-G material, when sterilized in glutaraldehyde, did not produce enough local inflammatory reactions to interfere with the bone healing process in tibias of rabbits that received it as an implant.

Key words: PET-G, autoclave, glutaraldehyde.

Introdução

As técnicas de prototipagem rápida (da sigla rp em inglês, “rapid prototyping”) consistem em um processo de fabricação baseado na adição de material em camadas planas que surgiu no final dos anos 1980, devido à crescente necessidade da indústria em reduzir custos no processo de desenvolvimento de produto, inspirado no conceito “mais rápido é melhor”. (kusiak, 1993).

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.

O poli (tereftalato de etileno) modificado com gly-

col, mais conhecido pela sigla petg, é um polímero termoplástico, com estrutura parcialmente alifática e aromática, semicristalino e membro comercialmente mais importante da família dos poliésteres (karagiannids et al., 2003).

Este projeto de pesquisa visou a utilização da tecnologia de manufatura aditiva (impressão 3d) para o desenvolvimento de biomodelos de pet-g poli (tereftalato de etileno) modificado com glycol que foram implantados em tíbias de coelhos, a fim de analisar 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

Comissão de ética no uso de animais

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 aproximadamente 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 utilizado 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 PET-G Poli (tereftalato de etileno) modificado com Glycol.

Distribuição dos implantes

Os implantes 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 foram esterilizados com glutaraldeído. A distribuição dos grupos foi da seguinte forma:

Grupo 1, tíbia direita: implante de PET-G esterilizado pela autoclave

Grupo 2, tíbia esquerda: implante de PET-G esterilizado com glutaraldeído

Método de esterilização

Para o preparo da técnica esterilização pela autoclave, as 16 peças 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 contato com o tecido vivo.

Fase pré-operatória e protocolo anestésico

Após a constatação da higidez dos animais pelo exame clínico, 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. Ato seguido, 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 e subcutânea, 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 realizada com cetamina (na dose de 11 mg/kg, por via endovenosa).

Procedimento cirúrgico

Após tricotomia da região metafisária medial das tíbias, foi realizado a antisepsia 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 próximo de 2,0 cm 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 5 mm de profundidade e 2 mm de diâmetro executada com brocas lanças. A perfuração foi executada em alta velocidade, com irrigação profusa de solução fisiológico estéril. Cada parafuso foi instalado e es-

tabilizado manualmente, por meio de chave própria para a ocasião. Após inserção do parafuso, as fâscias musculares foram suturadas com fio Poliglactina 910 5-0 e a pele com fio de náilon 4-0. Terminada a sutura, a área foi limpa com gaze embebida em solução fisiológica.

Cuidados pós-cirúrgico

Os animais foram monitorados até o restabelecimento completo da consciência, quando foram encaminhados novamente às suas respectivas baias. Foi administrado Enrofloxacina 2,5% (3 mg/Kg, via intramuscular, uma vez ao dia por 7 dias), Cloridrato 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 aplicação de 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 10 dias após a cirurgia, 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 isso, 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.

Análise estatística

As porcentagens de ocorrência de edema e secreção foram avaliadas e aplicou-se o teste Mann-Whitney para a análise estatística.

Resultados e Discussão

No decorrer do experimento, observou-se que a esterilização utilizada pela autoclave promoveu a modificação do formato inicial das peças, que apresentaram configuração curvada (Figura 1), enquanto a esterilização por de Glutaraldeído não acarretou nenhuma alteração do seu formato primário.



FIGURA 1: Material PET-G com configuração curvada após o processo de esterilização por calor úmido (autoclave). UniRV, 2021.

FOGAÇA et al. (2011) pontuam que a técnica de esterilização utilizada pode causar deformidades no material escolhido, assim como observado com o PET-G, que sofreu modificações visíveis a partir do formato inicial. Contudo, no momento da implantação, não foi verificada dificuldade no processo de inserção do implante.

Ao longo do pós operatório avaliou-se os a presença de hiperemia, secreção e/ou edema. Observou-se edema leve e secreção (Tabela 1) no sítio de incisão da cirurgia dos membros direito durante 5 dias, com redução progressiva, fato não observado nos animais que receberam implantes nos membros pélvicos esquerdos.

TABELA 1 - Percentual de animais que apresentaram edema e secreção nas feridas cirúrgicas. UniRV, 2021

Grupos	Edema e secreção						
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
PET-G esterilizado pela autoclave	83,33% ^A	83,33% ^A	66,67% ^A	66,67% ^A	66,67% ^A	0%	0%
PET-G esterilizado por glutaraldeído	0 % ^B	0% ^B	0% ^B	0% ^B	0% ^B	0%	0%

Houve diferença significativa entre os grupos, com $p < 0,05$.

Houve diferença significativa entre os grupos durante os dias D1 a D5, contudo, após esse período cessou a ocorrência das alterações observadas. Vasconcelos (2006) discorre que através do uso de pesquisas, buscam-se minimizar o processo infla-

matório com a associação de materiais sintéticos ou naturais, porém essa reação dependerá de vários fatores como: composição química, porosidade, tamanho, forma, e também do tamanho e tipo de lesão criada para a implantação deste. No entanto, por menor que seja a antigenicidade do material implantado, o processo inflamatório sempre estará presente seja em consequência da baixa intensidade ou pela cicatrização tecidual.

Perez-Sanchez, et al. (2010), afirmaram que a simples confecção de um defeito ósseo para colocação de um biomaterial induz um trauma local e um processo inflamatório, o que vai determinar a intensidade e duração deste processo inflamatório são as características físicas e químicas do material. Outro dado relevante refere-se à deiscência de sutura. Observou-se que 5 (83,33%) animais do grupo 1 (esterilização por autoclave) apresentaram deiscência de sutura, enquanto nenhum animal do grupo 2 (esterilização por glutaraldeído) apresentou tal alteração (Figura 2).

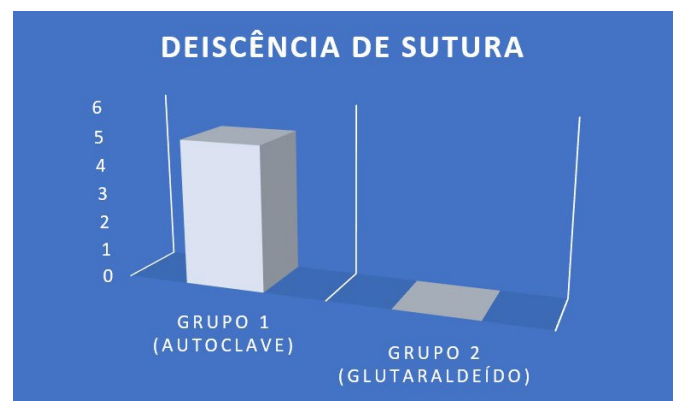


FIGURA 1: Material PET-G com configuração curvada após o processo de esterilização por calor úmido (autoclave). UniRV, 2021.

Segundo GOMES et al. (2020), a deiscência, é definida como a separação das margens de uma ferida fechada depois de um procedimento cirúrgico. Esta intercorrência pode sobrevir em até 30 dias, sendo mais comum nos primeiros 10 dias do pós-operatório. Quando presente, esta complicação causa interferência no processo de cicatrização prejudicando o fechamento da ferida, tornando-o mais demorado devido a maior duração das fases do processo de cicatrização. Desta forma, acredita-se que a técnica de esterilização associada ao comportamento dos animais no pós-operatório possa ter interferido no processo de cicatrização da ferida cirúrgica, que levou à deiscência da sutura.

Avaliou-se radiograficamente os animais logo após a cirurgia (D0) e depois de 30 e 60 dias, observou-se correta osteointegração do implante às tíbias de todos os animais analisados. 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.

Durante a colheita das tíbias dos animais, observou-se que, macroscopicamente, não houve sinais de rejeição e o material apresentava sinais de osteointegração, contudo recomenda-se análise histopatológica para confirmação.

Conclusão

Conclui-se que o material de PET-G, quando esterilizado em glutaraldeído, não produziu reações inflamatórias locais suficientes para interferir no processo de cicatrização óssea em tíbias de coelhos que o receberam como implante. Assim, infere-se que o material pode ser utilizado como implante ósseo em coelhos uma vez que não houve rejeição ao mesmo.

Agradecimentos

À Universidade de Rio Verde (UniRV), ao Programa de Iniciação Científica (PIVIC/UniRV) e ao professor Dr. Tales Dias do Prado, por realizar este trabalho.

Referências Bibliográficas

FOGAÇA, A. C. M. Análise de biomodelos após autoclavagem. Revista de Odontologia da Academia Tiradentes de Odontologia, v. 11, n. ju 2011, p. 412\2013420, 2011Tradução. Disponível em: http://www.actiradentes.com.br/revista/2011/textos/21RevistaATO-Analise_biomodelos-2011.pdf. Acesso em: 27 out. 2022.

GOMES, T. G.; POVEDA, T. de B.; PÜSCHEL, V. A. de A. **Ações de enfermagem podem prevenir deiscência em fverda operatória**. Rev. Sobecc, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 114-119, abr./jun. 2020. Disponível em: . Acesso em: set. 2022.

Karayannidis, G. P.; Roupakias, C. P.; Bikiaris, D. N. & Achilias, D. S. - **Polymer** 44, p.931 (2003).

KUSIAK, A. **Concurrent engineering: automation, tools and techniques**. New York: John Wiley & Sons, 1993. 608 p.

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.

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.

Perez-Sanches M.J., Ramire-Glindon E. & Lledo-Gil, M.2008. **Biomateriais or bone regeneration**. Materials Today .1(5): 18-25.

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.

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.

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.

VASCONCELOS A.C. 2006. Processo inflamatório relacionado com a presença de biomateriais, p.279-280. In: Órefice R.L., Pereira M.M. & Mansur H.S. Biomateriais – **Fundamentos e aplicações**, 1ed.Cultura Médica Rio de Janeiro.