

TESTE DE BIOCAMPATIBILIDADE DO ADESIVO A BASE DE EPÓXI EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Ingrid Solange Sepúlveda Muñoz¹, Carlos José de Lima¹, Daniela Mardegan², André L. Paschoal²

¹Laboratório de Optobiomedica - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento-IP&D, Universidade do Vale do Paraíba UNIVAP - Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos – SP - CEP 12244-000, São José dos Campos (SP), Brasil. E-mail: ingrid@univap.br

²Laboratório de Síntese de Materiais Refratários, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento-IP&D, Universidade do Vale do Paraíba UNIVAP - Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos – SP - CEP 12244-000, São José dos Campos (SP), Brasil.

Resumo: Os biomateriais devem ser em resumo, biocompatíveis com organismos, anatomicamente funcionais, de alta resistência mecânica e química, possuir boa durabilidade, viabilidade de fabricação e relativo baixo custo. A toxicidade dos materiais e dispositivos depende basicamente de sua capacidade de sofrer lixiviação e das características de solubilidade de seus componentes. Geralmente, os meios de extração mais utilizados para a realização dos testes podem ser resumidos em salina fisiológica, a partir de óleos vegetais. As normas ISO 10993-10, 10993-12, ASTM F719-81 e ASTM F749-87 relatam sobre os experimentos usados para a observação de sensibilização e irritação do sistema biológico, os quais podem ser caracterizados pela dermatite de contato, que é a uma reação cutânea e imediata do sistema imunológico. Essa reação cutânea é causada pelo efeito direto de uma substância sobre a pele. Nos animais de laboratório são observadas reações que vão desde a vermelhidão à inflamação. Esses resultados de sensibilização podem fornecer indicativos importantes. Características de irritabilidade podem ser também avaliadas através de testes de irritação ocular, e intracutâneo. Neste último caso, o teste consiste na preparação de extratos de materiais, que são injetados por via intracutânea, em pequenos volumes do dorso de animais de laboratório, devidamente tricotomizados. Nos testes, os extratos que apresentarem resposta irritante maior que os controles são considerados tóxicos.

Palavras-chave: Testes de Biocompatibilidade, Extratos, Irritabilidade, Esterilização.

Introdução

Os biomateriais devem ser em resumo, biocompatíveis com organismos, anatomicamente funcionais, de alta resistência mecânica e química, possuírem boa durabilidade (o necessário para cada tipo de aplicação), certa facilidade de fabricação e relativo baixo custo (Paschoal,2002).

As normas ASTM F719-81, ASTM F749-87 e ISO 10993, relatam sobre a seleção e a preparação de amostras e extratos.

O potencial de toxicidade dos materiais depende basicamente de sua capacidade de sofrer corrosão e da toxicidade de seus componentes solúveis. Por isso normalmente se utilizam extratos confeccionados desses materiais para a realização dos testes. Contudo, pode ser necessária a utilização do material em condições normais de uso, na forma de fragmentos ou mesmo o próprio dispositivo dentro do teste, no caso de certas aplicações.

Os meios de extração devem ser constituídos por líquidos com graus de polaridade diferentes, para que possam atingir diferentes graus de solubilidade dos componentes de um determinado material. Geralmente, os meios de extração mais utilizados nos testes são salina fisiológica, e óleos vegetais (óleo de coco, sementes de algodão, sésamo,

girassol, dentre outros). Quanto à temperatura, várias são as possibilidades para a confecção dos extratos; porém, altas temperaturas podem alterar propriedades, físicas, mecânicas ou químicas de certos compostos. É recomendável, portanto, na maioria das vezes, que a temperatura do trabalho seja similar a do corpo humano (em torno de 36,5°C), seguindo o tempo especificado pela norma para esta temperatura (para a norma ISO, 72 horas). Outro fator importante é a relação estabelecida entre a espessura da amostra, a área superficial que entrará em contato com a solução e quantidade de material a ser extraído. As normas técnicas ditam procedimentos particulares para cada tipo ou condição de amostra.

As normas ISO 10993-10, 10993-12, ASTM F719-81 e ASTM F749-87 relatam sobre os testes para a observação de sensibilização e irritação do sistema biológico, as quais podem ser caracterizadas pela dermatite de contato, que é uma reação cutânea provocada pelo sistema imunológico. Essa reação cutânea é causada pelo efeito direto de uma substância sobre a pele. Nos animais de laboratório são observadas reações que vão desde a vermelhidão (eritema) à inflamação (edema). Esses resultados de sensibilização podem fornecer indicativos importantes. Por exemplo, para reação positiva, a substância pode ser caracterizada como

lesiva e para reação negativa, pode-se concluir que o material apresenta características de biocompatibilidade relativas, para as condições analisadas.

A irritação pode ser avaliada através de testes de irritação ocular, de pele (primário) e intracutâneo, sendo este último utilizado a mais de trinta anos para testes de polímeros utilizados como recipientes farmacêuticos. O teste consiste na preparação de extratos de materiais, que são injetados por via intracutânea, em pequenos volumes do dorso de animais de laboratório devidamente tricotomizados. Nos testes, os extratos que apresentarem resposta irritante maior que os controles são considerados tóxicos.

Os veículos de extração mais utilizados são solução salina, solução salina/álcool e óleo vegetal oficial (geralmente óleo de semente de algodão ou de gergelim). A solução fisiológica e o óleo vegetal são importantes veículos de extração, pois eles determinam a propriedade do material em ser hidrossolúvel ou lipossolúvel (o que determina a liberação de íons ou detritos), ou nem um, nem outro, que é um dos indícios que se deseja para o material em teste ser considerado biocompatível (logicamente existem níveis de dissolução que são mínimos e, portanto, aceitáveis).

Os locais sítios de aplicação dos extratos são normalmente observados durante 72 horas e classificados em função da formação de edemas ou eritemas (Paschoal,2002).

O teste de toxicidade sistêmica aguda, determinado pelas normas ISSO 10993-11 e ASTM F750-87, consiste em analisar o efeito adverso, causado em um curto espaço de tempo, causado por uma substância administrada em uma única dose. A toxicidade sistêmica está relacionada com os efeitos da liberação de componentes químicos liberados por um material sobre certos órgãos vitais (fígado, cérebro, coração, rins), geralmente distantes do local de contato. Os animais são normalmente observados pelo seu comportamento e características da epiderme em intervalos pré-estabelecidos pela norma ISO, que separa os efeitos adversos em agudo, subagudo, sub-crônico e crônico. Os resultados do teste são baseados na observação do comportamento dos animais a intervalos pré-determinados durante três dias após o extrato administrado. A interpretação desses resultados baseia-se nas diferenças entre os grupos de testes e os controles.

Para esta técnica foi utilizado o adesivo óptico (Epo-Tek 320) à base de epóxi. Este adesivo, apresenta boa inércia química, características mecânicas adequadas para a lapidação e polimento, baixa reflexão e geração de fluorescência, além da biocompatibilidade [1, 2, 3]. Este adesivo pode ser utilizado para colar as fibras ópticas, tornando-as um filamento único, tendo aplicações diversas.

Em todo procedimento médico, é muito importante a etapa de esterilização na qual o material é submetido, para a segurança de que o paciente não seja infectado por microorganismos

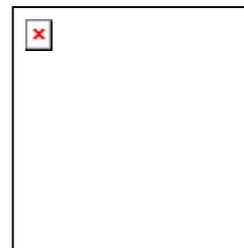
patogênicos. Deve-se também conhecer algumas propriedades mecânicas do material em questão, pois dependendo do tipo de esterilização, esta pode causar algumas mudanças estruturais ou químicas no material a ser utilizado. Esterilização, consiste na destruição total de microorganismos, de um material ou ambiente, quaisquer que sejam eles, e desinfetar, trata-se de um caso particular de esterilização, significando apenas eliminar os microorganismos patogênicos, sem que haja necessidade da destruição total dos germes, uma vez que os microorganismos patogênicos são menos resistentes que os saprófitas.

Sant'Anna [4] em 2002 realizou um estudo com protótipos dos cateteres, no qual foi utilizado o adesivo óptico para montagem dos protótipos, verificando o processo referente a limpeza e esterilização química da extremidade distal do dispositivo, utilizando inóculos bacterianos (*Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*), fazendo a limpeza com detergente enzimático (LIFEZIME®) e ácido peracético 0,2% (STERILIFE®).

A extremidade distal do cateter pode ser montada de várias formas, onde uma delas é a técnica que permite a montagem de cateteres ópticos utilizando um tubo de quartzo que envolve as sete fibras, mantendo a geometria "6 em torno de 1", onde é utilizado o adesivo óptico para unir as fibras. Neste trabalho pretende-se utilizar o adesivo à base de epóxi, para testes de biocompatibilidade: o de sensibilidade cutânea e toxicidade sistêmica, em animais.

Materiais e Métodos

- Veículos de extração polar (EP) – soro fisiológico (estéril);
- Veículo de extração não-polar (EM) – óleo vegetal de semente de sésamo (gergelim), submetido a sistema de filtragem (filtro de 0,45 µm estéril);
- Veículo de extração intermediário (EI) – etanol:soro fisiológico (1:20) (etanol P.A.)
- Balança analítica (25% de catalisador para o



total de resina utilizada) (fig. 1);

Fig. 1 : Balança Analítica

- 2 amostras de 4 gramas do adesivo a base de epóxi, em recipientes de vidro com tampa, onde foram autoclavadas;
- Logo após, Banho Maria (37°C) por 72 horas com o óleo de gergelin em uma das amostras, com agitação constante.;

- 4 Ratos Wistar, peso entre 200 e 300 g, idade 2 meses e meio;
- 4 coelhos;
- 25 camundongos;
- Tricotomia na região dorsal (lâmina nº15);

Um dia antes, realizou-se a tricotomia nos animais, seguindo uma área suficiente dos dois lados da coluna para que as injeções de extratos

CP

pudessem ser realizadas (fig.2). Os animais receberam identificações A1, A2, A3, A4.



Fig.2 : Tricotomia dos coelhos

Injetou-se, forma intracutânea, 0,2 ml de Extrato Polar (EP) em 5 locais (em coelhos), em apenas um dos lados do rato e similarmente, injetou-se 0,2 mL de Controle Polar (CP) em 5 locais (em coelhos), situados abaixo e no mesmo lado do quadrante anterior para cada um dos animais (fig. 3).

Repetiu-se o procedimento para o Extrato Não-Polar (ENP) e para o Controle Não-Polar (CNP) no outro lado da coluna para cada animal. Usaram-se, para as injeções intradérmicas, agulhas de tamanhos e calibres apropriados para a viscosidade dos extratos em teste.

Cloridrato de Quetamina (Dopalen), Dose:100 mg/Kg, Via:IM (1 vez);

Cloridrato de Xilazina (Calmun), Dose:0,03mg/kg, Via: IM (1 vez);

Obs.: O projeto foi submetido ao comitê de Ética.

1. Extrato Polar
2. Controle polar
3. Extrato Não-Polar



4. Controle Não-Polar

Fig. 3: Extratos (EP, CP, ENP, CNP)

Extrato de Adesivo a base de epóxi
0,2mL/aplic.

Via: intracutânea

A/B = Dose:

5x extrato polar

5x extrato não polar

C/D = Dose:

5x controle polar 5x controle não polar.

Determinar o potencial do polímero em teste de produzir irritação após a inoculação intradérmica dos extratos e dos controles na pele dorsal de coelhos.

O material foi preparado e realizado com o tempo de cura normal da resina.

Resultados e Discussão

A resina epóxi quando preparada necessita de um tempo de cura para ser utilizada no dispositivo,. Neste trabalho, foi usada uma resina com tempos de cura superiores, onde não houve reação adversa.

A contenção anestésica mostrou-se segura, apresentando tempo suficiente para a realização da tricotomia e da cirurgia.

Os animais tiveram reações satisfatórias, sem reações agravantes, mostrando-se um material biocompatível, tanto os coelhos como os camundongos.

Conclusão

O materiais são recomendados para o tipo de aplicação que necessite a utilização deste adesivo a base de epóxi, devido as características de biocompatibilidade e por não sofrerem ação dos materiais empregados no método de limpeza e esterilização química.

No procedimento realizado com os coelhos e camundongos onde o tempo de cura foi de 72 horas, o resultado foi positivo, assim podendo afirmar o seu uso e não tendo maiores conseqüências, e possuindo uma segurança na sua manipulação definida, afirmando a sua biocompatibilidade.

Referências

- [1] Paschoal, André, Tese de Mestrado- Estudo da Utilização de Polímeros Piezelétricos em Materiais para Implantes Ortopédicos. Escola de Engenharia de São Carlos, Instituto de Física de São Carlos, Instituto de Química de São Carlos
- [2] Lima, C.J. Cateteres a Fibras Ópticas para Técnicas Espectroscópicas Ópticas, Tese de Mestrado, UNIVAP, São José dos Campos, 1998
- [3] Catálogo Geral Informativo Epo Tek.
- [4] Manual Informativo Epo Tek 301
- [5] Sant'Anna, A.L.G.G. Limpeza e esterilização química da extremidade distal de um cateter de fibras ópticas, Tese de Mestrado, UNIVAP, São José dos Campos, 2002.
- [6] BAFFI, S.L.; LACERDA, R.A. A busca de qualidade no processamento e na reutilização de

cateteres de hemodinâmica. Rev. SOBECC, São Paulo, v.5, n.6, p. 23-30, abr./jun., 2001.

[7] Aorn. Reutilização de artigos de uso único. Rev. SOBECC, São Paulo, v.6, n.4, p.13-16, out./dez., 2001b.