

Impresión 3D: biocompatibilidad y bioseguridad

Dr. Rafael Peña Miller, Centro de Ciencias Genómicas, UNAM Campus Morelos.

Antecedentes

Acerca del uso de impresión 3D para la fabricación de dispositivos médicos

Los avances tecnológicos en impresión 3D proveen nuevas capacidades para la fabricación a bajo costo de productos y equipos médicos personalizados como prótesis e implantes, así como accesorios y herramientas quirúrgicas [Culmone et al., 2019]. Otro beneficio de la impresión 3D es la capacidad de distribuir y democratizar la producción de consumibles y componentes desechables de equipo médico. Esto ha resultado fundamental para subsanar la escasez de equipo de protección personal (máscaras, etc) y fabricar partes para respiradores en hospitales (válvulas, respiradores, etc) necesarias durante una crisis de salud pública como la que representa COVID-19 [Baden et al., 2020; Livingston et al., 2020].

Sin embargo, las piezas fabricadas mediante impresión 3D también tienen limitaciones intrínsecas; debido al proceso de fabricación tienden a ser porosas, por lo que, en principio, microorganismos podrían acumularse en los poros microscópicos y comprometer la bioseguridad de los dispositivos. En cambio, los instrumentos médicos fabricados con métodos convencionales son elaborados en salas limpias bajo normas estrictas para garantizar que no se contaminen durante el proceso de producción.

Por otro lado, la porosidad y la resistencia a lo largo del eje Z de las piezas impresas pueden provocar fatiga y una resistencia reducida en las piezas impresas en 3D, por lo que pueden no durar tanto o ser capaces de soportar el mismo uso riguroso que las piezas fabricadas industrialmente. Para subsanar estas limitaciones, la U.S. Food and Drug Administration ha emitido una serie de recomendaciones y consideraciones técnicas para la fabricación de instrumentos médicos, así como un FAQ para impresión 3D en el contexto de la pandemia por coronavirus. Por otro lado, el National Health Institute de E.U.A. ofrece una plataforma con modelos, recursos de aprendizaje y tutoriales para crear y compartir modelos imprimibles en 3D relacionados con la ciencia biomédica, con el objetivo de facilitar la aplicación de la impresión 3D en las biociencias.

En los últimos años se han desarrollado termoplásticos biocompatibles que combinan elevado rendimiento mecánico, con alta temperatura y resistencia química, lo cual permite esterilización por calor, químicos, plasma y radiación: PPSF/PPSU, PEEK, PC-ISO y Nylon PA por mencionar algunos. Sin embargo, estos materiales son caros, difíciles de conseguir y pueden requerir impresoras 3D especiales. En cambio, el ácido poliláctico (PLA) es biocompatible, fácil de manipular y tiene un costo reducido. Por esta razón, ha sido utilizado ampliamente para la fabricación de dispositivos médicos [Rankin et al., 2014], así como para la fabricación de dispositivos de cultivo para experimentos microbiológicos en condiciones de laboratorio [Fuentes-Hernandez et al., 2019].

Estamos proponiendo realizar la válvula de venturi en **PLA** por las siguientes razones: 1) es biocompatible, 2) el proceso de impresión es inherentemente estéril, además de que se puede descontaminar mediante métodos físicos y químicos, 3) es económico y de fácil adquisición.

Acerca de la descontaminación de piezas elaboradas mediante impresión 3D

La impresión 3D por deposición de material fundido es un proceso inherentemente estéril [Neches et al. 2016] puesto que, para realizar la deposición de plástico, el extrusor se calienta a 185-220 C y el material se extruye a alta presión y con una alta superficie de contacto con el extrusor, el cual se encuentra muy por encima de los 121C recomendados para la esterilización por alta temperatura. Sin embargo, durante el proceso de manufactura y transporte de las piezas, las válvulas son susceptibles a sufrir contaminación, por lo que es indispensable esterilizar la pieza previamente a su uso clínico.

Para determinar el mecanismo de descontaminación mas adecuado, necesitamos considerar dos puntos: 1) el proceso de esterilización inactiva SARS-CoV-2 y otros potenciales microorganismos patógenos, y 2) el proceso no compromete la integridad mecánica de la pieza, ni modifica sus propiedades físico-químicas.

Para el punto 1) se han evaluado las siguientes estrategias:

RECOMMENDED METHODS		
METHOD	CONDITIONS	EFFECTIVE AGAINST
Autoclave (cold)	56-60° C (133-140° F), 60 mins	bacteria, viruses
Isopropyl alcohol	70-75%, 5+ minutes	bacteria, viruses
Ethanol	> 70%, 5+ minutes	bacteria, viruses
Sodium Hypochlorite (Savo)	0.01-0.5%, 5+ minutes	bacteria, viruses
IPA steam (70 %, 30 % water)	45-65° C (113-149°F), 30-90 minutes, patent info	bacteria, viruses
PVP-I (iodine disinfection)	4%, 5+ minutes	bacteria, viruses
Hydrogen Peroxide	6-25%, 5+ minutes	bacteria, viruses
Soap water	repeated washing, 5+ minutes	bacteria, viruses
Ozone	strong oxidating effects, depends on the chamber	bacteria, viruses
Gamma radiation	strong ionizing radiation, depends on the chamber	bacteria, viruses
UV-C*	radiation, wavelength below 280 nm	bacteria, viruses

Tabla reproducida de https://help.prusa3d.com/en/article/prusa-face-shield-disinfection_125457/

El problema con los materiales plásticos utilizados en impresión 3D es que pueden ser deformados durante la esterilización por vapor térmico, por lo que no es recomendable esterilizarlos usando autoclaves convencionales. Es decir, las propiedades térmicas y mecánicas de PLA dependen de la relación y distribución de L- y D-LA en las cadenas de polímeros, por lo que las temperaturas de fusión y la temperatura del vidrio de transición podrían variar de una marca a otra y producir resultados diferentes. Por esta razón, aunque existen reportes argumentando que es posible esterilizar piezas

fabricadas mediante impresión 3D utilizando autoclaves [Boursier et al., 2018], también se ha reportado que los termoplásticos pueden sufrir cambios volumétricos y morfológicos al ser expuesto a altos niveles de humedad y temperaturas elevadas (121C durante 15-20 minutos) [Rozema et al., 1991; Shaheen et al., 2018]. La esterilización térmica por calor seco contribuiría a no modificar la masa de la pieza resultado del aumento de la humedad, pero se encuentra prohibida en los hospitales de la Unión Europea debido a su inactividad sobre los priones.

Por otro lado, el óxido de etileno no es recomendable porque es altamente inflamable y puede producir cambios en las estructuras del polímero, provocando pérdida de peso molecular y generando un depósito tóxico en la superficie del objeto [Modjarrad et al., 2013]. La esterilización por radiación gamma se usa ampliamente en la industria de alimentos y dispositivos médicos, pero requiere de equipo altamente especializado, por lo que su uso no es adecuado para hospitales, además de haberse reportado que puede producir cambios en las propiedades bioquímicas del material [Gilding and Reed, 1979].

En [Wady et al., 2020] evaluaron la eficiencia de radiación ionizante como estrategia de descontaminación. Al utilizar rayos gamma con dosis de 5.3 Mgy, encontraron que diversos termoplásticos (incluyendo PLA) aumentaron su volumen y presentaron daño estructural. Las muestras de PLA también mostraron pérdida de peso, lo que indica la formación de compuestos orgánicos volátiles potencialmente tóxicos, por lo que no se sugiere como estrategia para descontaminación de dispositivos médicos. Similarmente, la luz UV es eficiente para inactivar bacterias y virus a longitudes de onda 240-280 nm, pero se ha reportado que puede modificar las propiedades químicas de los polímeros, además de que no es recomendable para descontaminar superficies porosas.

La descontaminación con **vapor de peróxido de hidrógeno (VPH)** es un proceso estándar en industrias farmacéuticas y médicas [McCreanor et al., 2017]. El beneficio de la esterilización mediante vapor de H₂O₂ es que se realiza en ambientes de baja humedad, sin superar temperaturas mayores a 50C. Por esta razón, ha sido propuesto para descontaminar piezas realizadas mediante impresión 3D.

Por ejemplo, a pesar de que en [Sosnowski et al., 2017] se identificaron algunos termoplásticos (e.g. policarbonato y polilacrona) que sufren modificaciones en sus dimensiones y propiedades físico-químicas durante el proceso de esterilización por vapor de H₂O₂, las piezas impresas en PLA no presentaron cambios significativos en su masa ni grosor, observando modificaciones únicamente en su coloración. Estos resultados son consistentes con otro estudio [Oth et al., 2019], que compara las propiedades morfológicas de piezas producidas en ácido poliláctico (PLA) y en polietileno tereftalato modificado con glicol (PET-G), antes y después de esterilizar mediante VPH. El estudio reporta que las deformaciones de la pieza producida en PLA fue menor a 0.2mm y no se generaron residuos tóxicos. Similarmente, en [Shaheen et al., 2018] expusieron una pieza dental producida con PLA a VPH durante 50 minutos a 55C, reportando que la pieza sufrió una deformación submilimétrica (0.014mm), lo cual se encuentra dentro del rango aceptable de variabilidad en el grosor de la válvula.

Acerca de la descontaminación de COVID-19

La crisis de salud global que representa el COVID-19 ha promovido un esfuerzo de la comunidad médica y científica por desarrollar protocolos de esterilización y descontaminación que permitan reutilizar equipos de protección personal [Bauchner et al., 2020].

Un estudio sobre la presencia de SARS-CoV-2 en distintas superficies y temperaturas demostró que el virus es estable en algunas condiciones ambientales durante múltiples días [Chin et al., 2020]. Sin embargo, el virus se inactiva rápidamente a altas temperaturas (mientras que a 4C el virus aún se encuentra en superficies lisas hasta 14 días después, a 56C no persiste mas de 10 minutos). Esto sugiere que es posible utilizar métodos convencionales de esterilización para inactivar SARS-CoV-2.

En particular, se han evaluado los siguientes métodos de descontaminación [Livingston et al., 2020]: altas temperaturas (autoclaves), UV, ozono, óxido de etileno, peróxido de hidrógeno, alcohol isopropílico, radiación gamma o de haz electrónico, microondas, sulfato de cobre, azul de metileno con luz, yodo y cloro de sodio. Todos estos mecanismos son eficaces inactivando SARS-CoV-2 pero, como se discutió en la sección anterior, no todos son pertinentes para esterilizar dispositivos fabricados en PLA debido a que pueden dañar el material.

Probablemente el mejor mecanismo de descontaminación es el vapor de peróxido de hidrógeno (VPH), el cual no deja residuos tóxicos y se realiza a baja temperatura y, por consiguiente, puede ser utilizado para esterilizar PLA. El uso de VPH en hospitales es muy amplio, y se ha asociado con una reducción tasas de infección en bacterias nosocomiales [Jeanes et al., 2005], así como un mejor control de brotes epidémicos [Otter et al., 2010; Boyce et al., 2008]. El departamento de protección al medio ambiente estadounidense (EPA, por sus siglas en inglés) recomienda utilizar VPH como estrategia de biorremediación por esporas de *Bacillus anthracis* (anthrax), y también se ha demostrado su eficiencia para combatir la influenza aviar y otros virus exóticos [Heckert et al., 1997].

En respuesta a la contingencia de salud y a la limitación de equipo médico y de protección personal, la *Food and Drug Administration* (FDA) recomendó usar VPH para descontaminar máscara N95, debido a que se obtiene una descontaminación satisfactoria y se mantiene la integridad de la máscara durante 20-50 ciclos. En el protocolo de bioseguridad publicado se recomienda utilizar ciclos de descontaminación de 10 minutos, lo cual resulta en la inactivación completa de organismos (definido como una disminución 6-log en abundancia microbiana). Similarmente, la Universidad de Duke ha validado estos resultados y demostrado que VPH se puede utilizar para descontaminar SARS-CoV-2 en ambientes clínicos [Schwartz et al. 2020]. A partir de estos estudios, la FDA emitió una autorización de emergencia para utilizar VPH para descontaminar equipo de protección personal y hacer frente a la emergencia sanitaria.

Finalmente, es importante resaltar que la vida media de SARS-CoV-2 en superficies de plástico es <4 días [Chin et al., 2020], así que un el mecanismo eficiente de inactivación del virus podría ser simplemente dejar la pieza a temperatura ambiente durante varios días.

Referencias

Culmone C, Smit G, Breedveld P. Additive manufacturing of medical instruments: A state-of-the-art review. *Additive Manufacturing*. 2019.

Rankin TM, Giovinco NA, Cucher DJ, Watts G, Hurwitz B, Armstrong DG. Three-dimensional printing surgical instruments: are we there yet?. *Journal of Surgical Research*. 2014 Jun 15;189(2):193-7.

Baden T, Chagas AM, Molloy J, Godino LP. Leveraging Open Hardware to alleviate the burden of COVID-19 on global health systems. Preprint.

Livingston E, Desai A, Berkwits M. Sourcing Personal Protective Equipment During the COVID-19 Pandemic. *JAMA*. 2020.

Heckert RA, Best M, Jordan LT, Dulac GC, Eddington DL, Sterritt WG. Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses. *Appl. Environ. Microbiol.*. 1997 Oct 1;63(10):3916-8.

Bauchner H, Fontanarosa PB, Livingston EH. Conserving Supply of Personal Protective Equipment—A Call for Ideas. *JAMA*. 2020 Mar 20.

Jeanes A, Rao G, Osman M, Merrick P. Eradication of persistent environmental MRSA. *J Hosp Infect* 2005;61(1):85-6.

Otter JA, Yezli S, Schouten MA, et al. Hydrogen peroxide vapor decontamination of an intensive care unit to remove environmental reservoirs of multidrug-resistant gram-negative rods during an outbreak. *Am J Infect Control* 2010;38(9):754-6.

Boyce JM, Havill NL, Otter JA, et al. Impact of hydrogen peroxide vapor room decontamination on *Clostridium difficile* environmental contamination and transmission in a healthcare setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29(8):723-9.

Schwartz et al., Decontamination and Reuse of N95 Respirators with Hydrogen Peroxide Vapor to Address Worldwide Personal Protective Equipment Shortages During the SARS-CoV-2 (COVID-19) Pandemic. Aceptado para publicación en *Applied Biosafety*.
https://absa.org/wp-content/uploads/2020/03/ABJ-200326_N-95_VHP_Decon_Re-Use.pdf

Neches RY, Flynn KJ, Zaman L, Tung E, Pudlo N. On the intrinsic sterility of 3D printing. *PeerJ*. 2016 Dec 1;4:e2661.

Fuentes-Hernández A, Hernández-Koutoucheva A, Muñoz AF, Domínguez Palestino R, Peña-Miller R. Diffusion-driven enhancement of the antibiotic resistance selection window. *Journal of the Royal Society Interface*. 2019 Sep 27;16(158):20190363.

Mickelsen et al., Low-Concentration Hydrogen Peroxide (LCHP) Vapor for Bioremediation. Assessment and Evaluation Report. Environmental Protection Agency, 2017.
https://www.epa.gov/sites/production/files/2019-04/documents/low_conc_h2o2_for_bioremediation_f_wa_1-150_final_version.pdf

Oth O, Dauchot C, Orellana M, Glineur R. How to Sterilize 3D Printed Objects for Surgical Use? An Evaluation of the Volumetric Deformation of 3D-Printed Genioplasty Guide in PLA and PETG after Sterilization by Low-Temperature Hydrogen Peroxide Gas Plasma. *The Open Dentistry Journal*. 2019 Dec 5;13(1).

Modjarrad K, Ebnesajjad S, editors. *Handbook of polymer applications in medicine and medical devices*. Elsevier; 2013.

Boursier J-F, Fournet A, Bassanino J, Manassero M, Bedu A-S, Leperlier D. Reproducibility, accuracy and effect of autoclave sterilization on a thermoplastic three-dimensional model printed by a desktop fused deposition modelling three-dimensional printer. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2018; 31(6): 422-30.

Shaheen E, Alhelwani A, Van De Castele E, Politis C, Jacobs R. Suppl-1, M3: evaluation of dimensional changes of 3D printed models after sterilization: a pilot study. *The open dentistry journal*. 2018;12:72.

Gilding & Reed (1979) Gilding DK, Reed AM. Biodegradable polymers for use in surgery— polyglycolic/poly(lactic acid) homo- and copolymers: 1. *Polymer*. 1979;20(12):1459–1464. doi: 10.1016/0032-3861(79)90009-0

Rozema FR, Bos RR, Boering G, Van Asten JA, Nijenhuis AJ, Pennings AJ. The effects of different steam-sterilization programs on material properties of poly (L-lactide). *Journal of applied biomaterials*. 1991 Mar;2(1):23-8.

Sosnowski EP, Morrison J. Sterilization of medical 3D printed plastics: Is H₂O₂ vapour suitable?. *CMBES Proceedings*. 2017 May 23;40.

McCreanor V, Graves N. An economic analysis of the benefits of sterilizing medical instruments in low-temperature systems instead of steam. *American journal of infection control*. 2017 Jul 1;45(7):756-60.

Chin A, Chu J, Perera M, Hui K, Yen HL, Chan M, Peiris M, Poon L. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *medRxiv*. 2020.

Wady P, Wasilewski A, Brock L, Edge R, Baidak A, McBride C, Leay L, Griffiths A, Vallés C. Effect of ionising radiation on the mechanical and structural properties of 3D printed plastics. *Additive Manufacturing*. 2020 Jan 1;31:100907.