

ESTRATÉGIAS PARA A FABRICAÇÃO DE PLUGS PARA CHIPS APLICADOS EM ORGAN-ON-A-CHIP

Giuliana Russolo e Souza

Manoel de Jesus de Aquino Lima e Amanda Maciel Lima

Emanuel Carrilho

Universidade de São Paulo

giulianarussolo@usp.br

Objetivos

Desenvolver estratégias para confecção de conectores para entradas e saídas dos fluídos em *organ-on-a-chip* visando aumentar a velocidade de montagem dos dispositivos microfluídicos.

Métodos e Procedimentos

Foram utilizadas tampas do *luer lock* presentes em *scalps* comerciais e plugs feitos de ácido polilático (PLA) impressos em 3D (Creality, Ender-3D) (Figura 1).

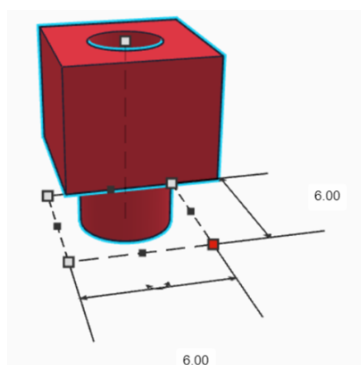


Figura 1. Imagem do plug feito no Tinkercad simulando uma tampa *luer-lock*

Inicialmente foi desenvolvido um chip que continha três camadas (Figura 2), a primeira de acrílico com os orifícios para entrada e saída

cortados a laser de CO₂ (Combat laser, Laser-600), a segunda contendo o canal cortado em uma transparência acoplada no adesivo biocompatível ARcare® e a terceira utilizou-se poliestireno, que foi obtido cortando-se a laser um frasco de cultura celular (Corning®). Posteriormente, a tampa do *luer lock* e o plug de PLA foram acoplados nas entradas e nas saídas do chip e empregou-se uma bomba de seringa (New Era Pump Systems Inc. Ne-1000 multi-phase) para verificar a possibilidade de vazamento. Fez-se o teste MTT com as células HUVEC para avaliar a citotoxicidade e biocompatibilidade do PLA antes e depois da extrusão, e posteriormente submeteu-se a placa a uma análise espectrofotométrica ($\lambda = 562 \text{ nm}$) em uma leitora de placas.

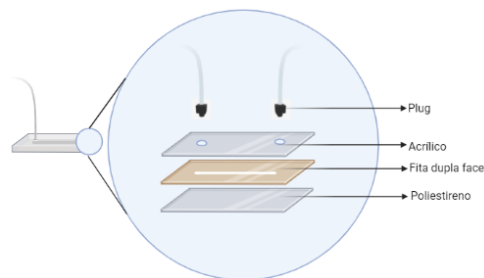


Figura 2. Chip microfluídico feito com auxílio de uma cortadora a laser e impressora 3D-FDM.

Resultados

Apesar do bom encaixe dos plugs, ao submeter o chip ao um teste de 10 dias sob regime de fluxo contínuo, foi observado vazamento nas entradas e saídas dos dois chips, fazendo-se necessário o uso de cola adesiva (Super Bonder®). Após a secagem, novamente empregou-se uma bomba de seringa para a passagem da solução de corante. Obteve-se sucesso uma vez que os chips ficaram 10 dias sob regime de fluxo contínuo (vazão 5,0 $\mu\text{L min}^{-1}$) e não apresentaram nenhum tipo de vazamento. O teste de citotoxicidade resultou que o filamento pós extrusão não apresentou toxicidade para as células, enquanto o filamento não extrusado apresentou. O percentual de sobrevivência das células é apresentado na Figura 3.

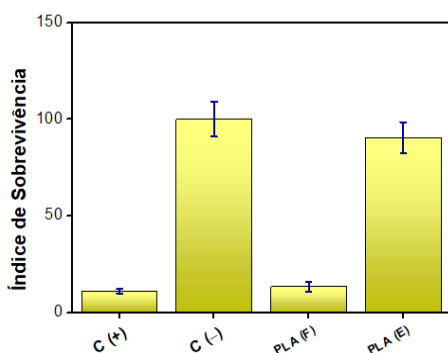


Figura 3. Índice de sobrevivência das células para cada amostra com seu desvio padrão (n = 6); C+: controle positivo; C-: controle negativo; PLA (F): antes da extrusão; PLA (E): após extrusão.

A Tabela 1 apresenta uma comparação de preços de plugs para dispositivos microfluídicos. Nela consta os materiais encontrados hoje no mercado da Darwin Microfluidics, ponteira de pipeta, plug de PLA e o Luer-lock de scalp.

Tabela 1. Comparação dos preços dos adaptadores para as entradas e saídas do chip.

Plug	Preço por unidade (R\$)
Plug de PLA	0,03

Luer-lock de scalp	-
Ponteira	0,28
Luer **	10*
Barbed Fittings **	5,7 - 9,4*

* preço convertido do euro para real (€ 1,00 = R\$ 5,25)

** mais informações em darwin-microfluidics.com

Conclusões

As entradas e saídas de plugs de PLA apresentaram-se como uma alternativa viável para emprego na construção de *organ-on-a-chip*, bem como o uso da fita dupla face ARcare®. Além disso, em relação ao modo mais econômico utilizado no laboratório de pesquisa, a ponta de pipeta, o plug de PLA foi 10 vezes mais barato e a tampa do luer-lock também apresentou uma possível alternativa para ser empregada no *organ-on-a-chip*, visto que é considerada material descartável e biocompatível, bem com o uso da dupla face ARcare®. Observou-se, no teste de biocompatibilidade e citotoxicidade, que o PLA utilizado nos plugs, o extrusado, não apresentou toxicidade no teste MTT, portanto não há problema em utilizar o material na confecção de chips para estudos em biologia celular.

Referências Bibliográficas

1. Temiz, Yuksel. **Lab-on-a-chip devices: How to close and plug the lab?** Microelectronic Engineering. Volume 132, 25 de Janeiro 2015, Página 156-175
2. Ling, Ma Hui. **Novas abordagens em terapia fotodinâmica: cultura tridimensional de células e órgão-em-chip com entrega de hipericina por sistemas de micro e nanoemulsão.** Tese de doutorado - Curso de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.
3. Gonçalves, Juan Carlos Ramos. **Cultivo de células, da teoria à bancada.** Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. EDITORA UFPB.