



ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA



Metalurgia e Ingeniería de los Materiales



Escuela politécnica superior



GRUPOTAR

APorosAs

Aplicaciones Porosas Avanzadas

www.aporosas.com

JÓVENES CON INVESTIGADORES 2015-2016 (Proyecto PIISA Sevilla)

Proyecto: *Detección de bacterias en portadores sanos e implantes de titanio poroso.*

Grupo de Metalurgia de Escuela de Ingenieros: Dr. Yadir Torres Hernández y Dr. José Antonio Rodríguez Ortíz

Grupo de tratamiento de Aguas de la Politécnica: Dra. Laura Pozo Morales y Dr. Julián Lebrato Martínez

Nº máximo alumnos/as que pueden participar en el proyecto: 6

Nivel educativo del alumnado: 1º Bachillerato

1. PROPUESTA CIENTÍFICA

El hueso es el tejido del sistema músculo-esquelético con una frecuencia de reemplazos mayor, como resultado de patologías asociadas al envejecimiento y traumas diversos (generalmente accidentes). Las prácticas clínicas más frecuentes para reparación ósea, son: **a)** la implantología dental, con una tasa de supervivencia reportada > 89% entre 10 y 15 años de seguimiento [1]; **b)** las artroplastias parciales y totales (hombro, codo, cadera, rodilla, columna, etc.) y **c)** fijación de fracturas y osteosíntesis. Además, la necesidad de prótesis por pacientes jóvenes es cada vez mayor, lo que implica que estarán sometidas a niveles de esfuerzo significativos durante más tiempo. Es reconocido, que el Titanio comercialmente puro (Ti c.p.) y la aleación $TiAl_6V_4$ son los mejores biomateriales metálicos, clínicamente utilizados, para el reemplazo de hueso. Sin embargo, a pesar de sus excelentes prestaciones, existen evidencias bien documentadas sobre la mejorable fiabilidad exhibida por los implantes y prótesis elaborados con dichos materiales. Estos fallos, clínicamente hablando, tienen orígenes de tipo biomecánico y biofuncional. Los fallos estrictamente de origen biomecánico se deben principalmente a: **i)** la marcada diferencia que existe entre el módulo de *Young* del implante y del tejido óseo. Este desajuste mecánico implica un apantallamiento de tensiones (“*stress-shielding*”), con la consecuente reabsorción ósea (“*induced bone resorption*”), disminución de la densidad del hueso adyacente y el incremento de la probabilidad de fractura; **ii)** la carga aplicada al implante es prematura o excesiva; y **iii)** fractura o daño estructural del implante por una mala selección del material o diseño del implante, frecuentemente asociados a fallos por fatiga debido a criterios de diseño no adecuados. Por su parte, los fallos denominados como biofuncionales están asociados principalmente a problemas que ocurren en la intercara implante-hueso: **1)** los micromovimientos relativos excesivos que ocurren en la intercara biomaterial-tejido, debido a la osteointegración deficiente y/o la sobre manipulación durante el acto quirúrgico, inhiben la formación del nuevo hueso; esto se ve reflejado en la formación de una capa fina de tejido fibroso y posterior encapsulación. A pesar que el Ti c.p. y sus aleaciones tienen una gran capacidad de osteointegración [2], todavía presentan limitaciones que hacen necesaria su optimización; y **2)** infecciones ocasionadas por la acumulación de placa dento-bacteriana: **a)** durante la cirugía o una deficiente cicatrización (fallos tempranos) y **b)** formación y acumulación de esta placa (después de un año de la implantación, fallo tardío) puede ocasionar una peri-implantitis. Estos fenómenos no son ajenos a otras aplicaciones en artroplastias y osteosíntesis. A todos los aspectos anteriores, se debe sumar la creciente necesidad de reducir las estadísticas de fallos en los implantes y las segundas cirugías, además de asegurar tiempos de recuperación y de carga más cortos (ej. implantes de carga inmediata).

1.1. Modos de solventar el problema del stress shielding

En la literatura se pueden encontrar numerosos trabajos relacionados con el desarrollo de **materiales con un módulo de Young cercano al del hueso cortical**. Entre éstos se encuentran: **1)** materiales compuestos de matriz polimérica [3], y de matriz cerámica [4], **2)** acero inoxidable 316L porosos [5], **3)** aleaciones cromo-cobalto, **4)** aleaciones de titanio-beta metaestable [6], **5)** magnesio y sus aleaciones [7], **6)** **materiales porosos** y espumas (materiales celulares) [8]. Entre los procesos de fabricación de materiales porosos más empleados se encuentran: **i)** técnicas de sinterización: **a)** convencional [23-25]; **b)** sin compactación previa [10], **c)** por reacción [11], **d)** utilizando un espaciador temporal [12] (*space holder* o material sólido fácilmente eliminable a bajas temperaturas [13,14] o por disolución [15,16]), **e)** empleando cables y/o fibras metálicas, **f)** empleando esferas metálicas huecas [17], **g)** por expansión de gas atrapado (argón) [18]; **ii) a)** procesos en los que se inyecta un gas directamente al metal líquido o que emplean agentes espumantes en estado

sólido [17], **b)** por formación de un sistema eutéctico con gas hidrogeno [18], **c)** autopropagación a alta temperatura (*SHS*) [9]; **iii)** moldeo por enfriamiento direccional (*directionally freeze-cast*) [20], y **iv)** técnicas para obtener metales porosos con función gradiente [21]: **a)** empleando diseño asistido por ordenador (*CAD*) e impresoras en tres dimensiones (*rapid prototyping*) [22], **b)** sinterización selectiva mediante fusión por láser (*SLS*) [23], **c)** *Spark plasma sintering* y consolidación por descarga eléctrica de condensadores (*E.D.C.*) [24], **d)** rutas PM convencionales [25], **e)** usando espaciadores de diferente naturaleza y **f)** combinando técnicas de moldeo por enfriamiento direccional y fusión por haz de electrones sobre estructuras de andamiaje [26]. La degradación de la resistencia mecánica y a fatiga [10,22] debida a: la presencia de poros y el efecto de la concentración de esfuerzos a su alrededor, así como la contaminación de la superficie producida por los cambios microestructurales durante los procesos de sinterización a alta temperatura.

Empleo de metales biodegradables en aplicaciones biomédicas

Las ventajas y los beneficios de implantes fabricados con metales biodegradables es la esperanza de muchos investigadores en el campo de la biomedicina [27]. En la actualidad, antes de hablar de los metales, cabe mencionar los materiales más comunes para la fabricación de andamios (*scaffolds*) reabsorbibles para ingeniería de tejidos como las biocerámicas porosas biodegradables de base fosfato y polímeros como el PLLA, PGA, polycaprolactona y la quitina (chitin). Sin embargo, la escasa resistencia mecánica de estos materiales comparada con el hueso humano proporciona una oportunidad a los metales reabsorbibles para ser un nuevo referente en la fabricación de *scaffolds*, tejidos óseos y cartilagosos [28]. Los primeros estudios en metales reabsorbibles comenzaron a finales del siglo XIX [27]. El empleo de metales biodegradables con una porosidad adecuada, permite la colonización de los osteoblastos al interior de su estructura, dando lugar al crecimiento de nuevo hueso. Estos materiales han despertado un gran interés, por su capacidad de biodegradarse y reabsorberse completamente después de un periodo apropiado en el cuerpo humano, una vez haya realizado su función clínica, evitando la necesidad de segundas cirugías, con el consecuente beneficio para el paciente [29-31]. Por otra parte, una estructura porosa interconectada permite el transporte de líquidos del cuerpo a los tejidos dañados o heridos y apoya la incorporación de nuevos tejidos en el implante. Además, en implantes ortopédicos ayuda al soporte inicial de la carga [32,33]. El uso de implantes de base Fe o Zn es mucho más limitado que en el caso de aleaciones de Mg. En este contexto, es importante destacar, que aunque el Fe, Mg y Zn son elementos esenciales para un cuerpo sano, para adultos la dosis de Mg diaria recomendada es de 240-420 mg/día, siendo la misma 52,5 veces superior a la del Fe (8-18 mg/día) y Zn (8-11 mg/día). Además, el módulo elástico del Mg (41-45 GPa) se asemeja más al del tejido óseo cortical, si lo comparamos con la rigidez del Zn y Fe (211,4 GPa y 90 GPa, respectivamente) [67]. Sin embargo, a pesar de las bondades del empleo de aleaciones biodegradables de base Mg, debe considerarse los efectos negativos como su pobre resistencia a fatiga, así como su alta tasa de degradación con la consecuente pérdida de propiedades mecánicas. El empleo de materiales compuestos de Ti/Mg, puede considerarse como una solución válida para abordar y mejorar el equilibrio biomecánico y biofuncional, la cual todavía no ha recibido la suficiente atención, en cuanto a los estudios que han utilizado esta hipótesis [33].

1.2. Alternativas para una mejor intercara implante/hueso

Los fallos que ocurren durante la intervención quirúrgica (sobrecarga y contaminación) están normalmente relacionados con la práctica médica. Sin embargo, los fallos tardíos están influenciados en gran medida por las propiedades superficiales de los biomateriales. En este contexto, se han implementado múltiples estrategias para

combatir este problema, que en su mayoría tienen la finalidad de favorecer tanto la osteointegración como la cicatrización del tejido circundante, disminuyendo la posibilidad de colonización por bacterias.

Formas de mejorar la capacidad de osteointegración del Ti

El éxito de la mayoría de los implantes de Ti, tanto dentales como ortopédicos, depende de una adecuada osteointegración [34]. Una optimización de la topografía y la química, así como la previa inmovilización de proteínas (ej. fibronectina o vitronectina) o moléculas que favorezcan la respuesta celular, han sido implementadas y estudiadas para facilitar la adhesión y diferenciación de las células formadoras de hueso [35]. A continuación, se presentan las rutas más representativas:

1) manipulación de la rugosidad y textura de la superficie del implante [36], destacando entre las metodologías más utilizadas: *i)* la proyección de partículas de titanio por plasma, *ii)* el granallado o arenado utilizando medios abrasivos de diferente naturaleza, encaminados a alcanzar los parámetros de rugosidad adecuados ($R_a = 4-5 \mu\text{m}$ y $P_c = 65-80/\text{cm}$) [37], *iii)* generación de recubrimientos y/o superficies porosas, y *iv)* tratamientos químicos y electroquímicos [38] mediante diferentes medios ácidos y básicos, han sido utilizados para la manipulación química y/o topográfica de las superficies de Ti. En un trabajo de Pavón y col. [40] se demuestra que la utilización de inhibidores orgánicos durante el ataque con HF, además de lograr parámetros deseados de rugosidad, permite obtener morfologías superficiales que favorecen la adhesión de los osteoblastos. Por otro lado, el equipo de Pavón y col., ha obtenido capas porosas de Ti c.p. por *spark anodizing*, mostrando el gran potencial para mejorar la adhesión celular, especialmente para pequeñas adiciones de fluoruro de sodio, NaF, a los electrolitos mezclas de H_2SO_4 y H_3PO_4 .

2) modificando la naturaleza química y estructural de la superficie de contacto entre el implante y el hueso para promover un enlace químico directo, entre las cuales las de mayor utilización y estudio han sido las que aportan y/o permiten: *i)* un recubrimiento bioactivo como la hidroxiapatita sintética (HA) o los vidrios bioactivos [41], *ii)* la conversión química del titanio, de bioinerte a bioactivo, a través de un tratamiento termoquímico [42], *iii)* la biofuncionalización con proteínas específicas y factores de crecimiento óseo, han demostrado favorecer considerablemente la adhesión celular y la mineralización del tejido neoformado. Los factores de crecimiento de mayor uso han sido [43]: BMPs (requiere una mención especial), IGF, TGF, FGF, VEGF, PDGF, KGF, y *iv)* la síntesis por irradiación dirigida ("*Directed Irradiation Synthesis*", DIS) presenta la capacidad de manipular superficies de materiales usando fuentes de modificación basadas en iones y bajo condiciones no térmicas. La radiación energética en la forma de partículas cargadas se puede utilizar para inducir estructuras patrón y de topografía única a escala nanométrica por medio de *sputtering* y otros procesos relacionados con la superficie [44]; esto permite crear biointercaras avanzadas y multifuncionales, así como para el diseño de superficies nanoestructuradas utilizadas en ingeniería y biología celular [45].

Formas de combatir la colonización de bacterias sobre superficies de Ti

El buen desempeño de los implantes dentales depende en gran parte que se evite la colonización y proliferación de bacterias [46-48]. En este sentido, es imprescindible promover la adhesión de fibroblastos y keratinocitos para mejorar la cicatrización y la formación del epitelio de unión (con su respectivo tejido conjuntivo de soporte) sobre el implante dental. A ésta estrecha interrelación se le conoce como "*sellado biológico*", la cual impide la entrada de bacterias y detritos alimenticios al medio interno desde la cavidad oral. Las superficies antibacterianas se pueden clasificar en dos grandes grupos: las superficies "*antibiofouling*" y las superficies bactericidas. Las superficies "*antibiofouling*" son aquellas que repelen las células bacterianas a partir de fijar

condiciones desfavorables sobre las superficies ya sea de manera física o química. Las superficies bactericidas son las que inactivan las células bacterianas a través de mecanismos o agentes químicos, es decir, interrumpen el contacto causando la muerte celular. En algunos casos se pueden dar ambos fenómenos.

La clasificación detallada de nanopartículas antibacterianas [49-53] se resumen en la figura 1. Las nanopartículas pueden ser sintetizadas por métodos químicos, físicos y biológicos. Sin embargo, los métodos de reducción química son los más comúnmente utilizados. Se ha demostrado que el efecto bactericida de las nanopartículas depende de su tamaño, forma, distribución de tamaño, morfología, funcionalización de la superficie, y estabilidad [33]. En los últimos años, las nanopartículas metálicas y óxidos metálicos de base plata [54, 55], oro [56], cobre [57], óxido de cobre [58] y óxido de zinc [59], se han aplicado en el sector médico, en odontología, farmacia y biología. Su actividad antibacteriana se centra generalmente en el grupo representativo de microorganismos patógenos, tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, y *Streptococcus mutans*. Estas bacterias son responsables de varias infecciones en los seres humanos, de la reducción de la inmunidad y representan una importante amenaza para la salud pública en el envasado de alimentos, textiles sintéticos, los productos sanitarios [60], odontología [61], el agua potable y tratamiento de aguas residuales.

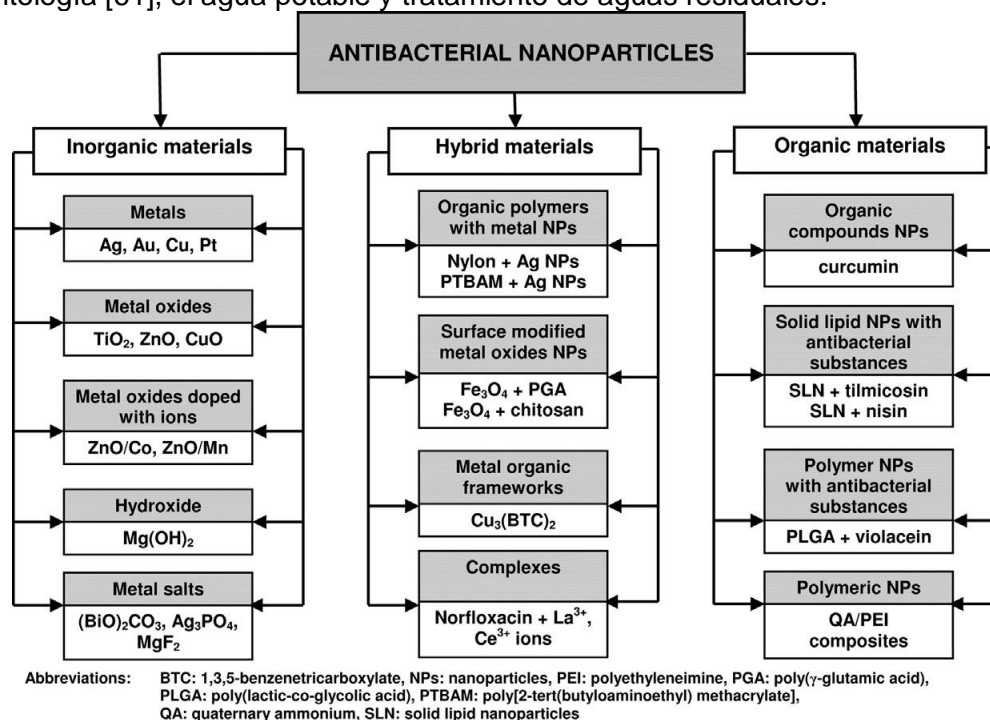


Figura 1. Clasificación de las nanopartículas antibacterianas en términos de su composición química [33].

Las nanopartículas de Ag exhiben propiedades antibacterianas y fungicidas. Son capaces de acumularse en la pared celular de las bacterias y liberar iones de Ag que penetran en las células gracias a su pequeño tamaño. Los mamíferos son capaces de tolerar concentraciones más altas que las propias bacterias. Se han probado muchas técnicas con la plata como protagonista, debido a su actividad antibacteriana cuando libera iones de Ag⁺. Algunos de los métodos probados utilizan: **1)** películas finas de nanocomposites de Ag-SiO₂ sintetizadas mediante un método sol-gel, **2)** materiales compuestos de Ag/TiO₂, **3)** nano partículas de Ag embebidas en matrices nanotubulares o porosas [62-64]. Particularmente interesante es el tratamiento de la superficie de implantes de titanio con NT-Ag. La plata se incorpora en nanotubos de óxido de titanio (TiO₂-NTs) sumergiéndolos en una solución de nitrato de plata e

irradiando con luz UV. La cantidad y adherencia de las nano partículas de Ag en los NTs se puede controlar con este procesamiento sencillo (modificando la concentración y el tiempo de inmersión en AgNO_3 , así como la potencia de la radiación UV). Los NT-Ag pueden matar todas las bacterias planctónicas en la suspensión durante los primeros días, evitan la adhesión bacteriana durante los siguientes 30 días, tiempo que normalmente resulta suficiente para prevenir la infección después de la operación en las etapas tempranas e intermedias. Aunque la estructura de NT-Ag muestra cierta citotoxicidad, se puede reducir mediante el control de la velocidad de liberación Ag. Otras rutas han sido empleadas, se ha demostrado que placas de titanio anodizadas en concentraciones de NaCl, NaF, y soluciones de KI adquirieron actividad antibacteriana, manteniéndola incluso después de 8 semanas de inmersión en agua destilada pura [65].

Bibliografía

1. Norwsky P. Bumgardner D., J. Biomedical Mat. Research, 2009.
2. Branemark, P. I., Journal of Prosthetic Dentistry, 1983. 50(3): pp. 399-410.
3. Niespodziana K., et al., Materials Chemistry and Physics, 2010. 123 pp. 160-165.
4. Jurczyk M.U. et al, Materials and Design, 2011. 32 pp. 4882-4889
5. Pareja A. et al. Revista Latino Americana de Metalurgia y Materiales, 2015. 35 pp. 1-149
6. Yuhua Li et al, Materials, 2014. 7: pp.1709-1800.
7. Carboneras M., et al., Revista de Metalurgia 2010. 46:pp. 86-92.
8. Betts, C. Materials Science and Technology, 2012. 28(2): pp.129-143.
9. Y. Torres, et al., Metallurgical and Materials Transactions B, 2011. 42: pp.. 891-900.
10. Y. Torres, et al., Materials Science and Engineering C, 2014. 37: pp. 148–155.
11. Barrabés, M., et al., Materials Science and Engineering C, 2008. 28(1): pp. 23-27.
12. Byounggab Lee et al, Materials and Design, 2014. 57: pp. 712–718
13. Li DS, et al., Journal of Alloys and Compounds, 2009. 474: L1-L5.
14. Y. Torres, et al., J. Mater. Sci., 2012. 47, 18: pp. 6565-6576
15. Torres Y, Pavón JJ, Rodríguez JA., Journal of Materials Processing Technology. 2012; 212(5): pp .1061-69.
16. Jiangang J. et al, Journal of The Mechanical Behavior Of Biomedical Materials, 2015. 48: pp. 229–240.
17. Reig L. et al, Journal of Materials Processing Technology, 2012. 212: pp. 3–7.
18. Singh R., et al., Materials Technology, 2010, 25, 3/4: pp. 127-136.
19. Mehmet K. et al., Current Opinion in Solid State and Materials Science, 2010.14 (1): pp. 21-25.
20. Chino Y. and Dunand, D. C., Acta Materialia, 2008. 56(1): pp. 105-113.
21. Miao X. y Sun D. Materials, 2010. 3(1): pp. 26-47.
22. Thieme, M., et al., Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2001. 12(3): pp. 225-231.
23. Louvis E., et al., Journal of Materials Processing Technology, 2011. 211(2): pp.275-284.
24. Lee, W. H. and Hyun, C. Y., Journal of Materials Processing Technology, 2007. 189(1-3): pp. 219-223.
25. Torres, Y., et al., Materials & Design, 2014. 63: pp. 316–324.
26. Xiang Li et al, Composites Science and Technology, 2015, 117: pp. 78–84.
27. Witte, F., Acta Biomaterialia, 2010, 6: pp.1680–1692.
29. Jiang, G., et al., Materials and Design, 2015, 67: pp 354–359.
30. Jiang, G., et al., Materials Science and Engineering C, 2014, 43: pp 317–320.
31. Chen, Y., et al., Acta Biomaterialia, 2014, 10: pp 4561–4573.
32. Čapek, J., Materials Science and Engineering C 2014, 35: pp 21–28.
33. Moritz, M., et al., Chemical Engineering Journal, 2013, 228: pp 596–613

34. Zhang H., et al., *Biomaterials*, 2003, 24: pp 2013-2020.
35. Zhu X., et al., *Biomaterials*, 2004, 25: pp 4087-4103.
36. Eisenbarth E., et al., *Biomaterials*, 1996, 17: pp 1399-1403.
37. Aparicio B., C. 2004, Universidad Politécnica de Barcelona.
38. Lausmaa, J., Ed. Brunette et al., 2001, Springer Verlag, Berlin, pp. 231-266.
40. Pavón J., Velásquez P., Velásquez S., 22nd European Conference on Biomaterials, 07-11th September, 2009, Lausanne, CH.
41. Hench, L. L. and Best, S., 2 ed, ed. P. D. Ratner, et al. 2004. California: Elsevier Academic Press. 154.
42. Kokubo, T., et al., *Journal of the American Ceramic Society*, 1996. 79(4): pp. 1127-1129.
43. Abarrategui A., Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, 2008.
44. Ziberi B., Frost F, Höche Th. and Rauschenbach B., *Physical Review B*, 2005, 72, 235310.
45. Dalby M. J., et al., *Nature Materials*, 2007, 6: pp 997-1003.
46. Geißler U., et al., *J Biomed Mater Res*, 2000, 51: pp 752-60.
47. Schuler Martin, et al., *Biomaterials*, 2006, 27: pp 4003-4015.
48. Groessner-Schreiber B., et al., *Journal of Biomedical Materials Research*, 2003, 64 A: pp 591-599.
49. Martins, D., et al., *J. Nanopart. Res.*, 2011, 13: pp 355-363.
50. Drelich, J. et al., *Appl. Surf. Sci.* , 2011, 257: pp 9435-9443.
51. Rajakumar, G. et al., *Spectrochim. Acta A* 2012, 91: pp 23-29.
52. Inbaraj, B.S., et al., *Nanotechnology*, 2012, 22: pp 075101.
53. Lellouche, J., et al., *Nanomedicine*, 2012, 8: pp 702-711.
54. Zhou, W., et al., *J. Nanomed.*, 2011, 6: pp 381-386.
55. Arunachalam, R., et al., *Colloid Surf.*, 2012, B 94: pp 226-230.
56. Luo, J., et al., *Anal. Chim. Acta*, 2012, 709: pp 47-53.
57. Giljohann, D. A., et al. *Chem. Int.*, 2010, Ed. 49: pp. 3280-3294.
58. Ping, J., et al. *Microchim. Acta*, 2010, 171: pp 117-123.
59. Zhao, X., et al., *Nanotechnology*, 2012, 23 : pp 125604
60. Zhao, L., et al., *Biomaterials*, 2011, 32: pp 5706-5716.
61. Cheng, L., et al. *Dent. Mater.*, 2012, 28: pp 561-572.
62. Virender, K., et al., *Advances in Colloid and Interface Science*, 2009, 145: pp 83-96
63. Bard, S., *Encyclopedia of Electrochemistry*, Vol 1 Thermodynamics and Electrified Interfaces, Wiley- VCH, NY, 2007
64. Niño-Martínez, N., et al., *Nanotechnology*, 2008, 19 065711.
65. Shibata Y., et al., *J. Prosthodontic research*, 2015, 59: pp 20 – 33
66. Civantos, A., et al., ESB 2013. 25th European Conference of Biomaterials, Madrid
67. Pavón, J.J., et al., 3rd Place poster award. 8th International Conference on Porous Metals and Metallic Foams (2013)
68. Torres, Y., et al, I International Seminar on Biomaterials, Biomechanics and Regenerative Medicine, Medellín, Colombia (2014); ISBN: 978-958-8848-77-8
69. Julio-Octubre 2013 (P. Trueba) en *Northwestern University*. Implementación de la técnica *Directional freeze casting*.
70. Muñoz, S., et al., IV Congreso Nacional de Pulvimetalurgia; Sevilla, España (2012); ISBN – 84-695-3724-5 y 978-84-695-3724-4.
71. Pavón, J.J., *Journal of Materials Science*, September 2015, Vol. 50, Issue 18, pp 6103-6112.
72. Arias, S.L., et al., Primer puesto en la categoría de Biomateriales e Ingeniería de Tejidos. IV Congreso Colombiano de Bioingeniería e Ingeniería Biomédica, (2011), Barranquilla
73. Trueba, P., et. al.; V Congreso Nacional de Pulvimetalurgia Girona 2015

74. Sevilla, M.J.; Diseño y fabricación de materiales con porosidad gradiente para aplicaciones biomédicas: influencia en el comportamiento mecánico; Primer Premio otorgado por el Colegio de Ingenieros de Sevilla al mejor PFC de 2012
75. Pérez, G.J.; Electrophoretically deposited polymer-ceramic (PEEK 704/Bioglass) coatings on porous titanium scaffolds; Accésit en la III Edición del Premio SOCIEMAT Caja de Ingenieros a los PFC de 2013
76. Lascano, S.c; Universidad del Norte, Colombia (2012). Primera Tesis Doctoral leída en Colombia, en la rama de Ingeniería Mecánica

2. Hipótesis de partida, objetivos generales y adecuación

2.1. Hipótesis de partida

La comunidad científica que trabaja en pulvimetalurgia (PM) aplicada en biomateriales, ha abordado y reconocido: **1)** la validez del empleo de la técnica de espaciadores para obtener compactos de titanio poroso (alternativa para el apantallamiento de tensiones y favorecer el *bone ingrowth*); **2)** la necesidad de modificar la intercara tejido/implante, para favorecer tanto la osteointegración, como la cicatrización del tejido circundante, y con ello disminuir la posibilidad de colonización y proliferación de bacterias; **3)** necesidad del “sellado biológico”, ya que la superficie de los implantes es susceptible de sufrir degradación por la presencia de placa bacteriana (contacto con un medio sucio: boca, estómago, nariz, etc.) y **4)** el 50% de las personas sanas albergan *Staphylococcus aureus*, en su nasofaringe y al menos un 20% pueden producir toxinas. Las personas que lo portan contaminan los alimentos mediante secreciones nasales, saliva, partículas de heridas infectadas o al tocar el alimento con la mano contaminada. En todo este contexto, también es un hecho que: **i)** la porosidad introducida en el implante (proporción, tamaño, morfología y distribución de los poros), debe garantizar los requisitos mecánicos (resistencia mecánica y rigidez) del tejido óseo que pretende sustituir, y **ii)** la complejidad intrínseca de la placa dento-bacteriana (gran variedad de bacterias, múltiples y complejas interacciones, etc.), dificulta el estudio de las interacciones específicas dadas entre las bacterias y las superficies de los implantes. En el amplio contexto abordado anteriormente, sigue siendo un reto la mejora del equilibrio biomecánico y biofuncional de los implantes y prótesis.

3. Objetivos

1. Fabricación de muestras de Ti densas y con distinta porosidad homogénea, obtenidas por la técnica de espaciadores. Muestras porosas que garanticen los requisitos mecánicos del tejido óseo (rigidez y resistencia mecánica) que pretende sustituir y a su vez, faciliten el crecimiento del hueso nuevo hacia su interior.
2. Detección de *Staphylococcus* en portadores sanos.
3. Evaluación de la capacidad de adherencia y el daño asociado en las diferentes tipos de muestras porosas estudiadas, cuando las mismas entran en contacto con una cepa bacteriana.

4. Metodología

A continuación, se detallan las diferentes tareas previstas en este Proyecto para alcanzar los objetivos específicos:

TAREA A. Fabricación de discos de titanio porosos y PM “macizos” de 12 mm de diámetro y 3mm de altura. Se prepararán mezclas de Ti-Bicarbonato de Amonio (50%volBi-50%volTi), se emplea una Turbula® T2C Shaker-Mixer durante $t \geq 40$ minutos. A continuación, se prensarán uniaxialmente hasta 800MPa y se eliminará el espaciador (12h a 60°C + 12h a 110°C, ambas en vacío de aprox. 10^{-2} mbar). Finalmente, se sinterizan a 1250°C durante 2h y en alto vacío (aprox. 10^{-5} mbar). Por su parte, para fabricar los discos PM “macizos”, no se emplea espaciador, en este caso se prensarán a 1300MPa y se usan las mismas condiciones de sinterización de los porosos.

TAREA B. Detección de *Staphylococcus aureus* en portadores sanos. Se toma un hisopo estéril y se pasa suavemente por la pared de la fosa nasal, con este mismo hisopo se hace una siembra en estría por agotamiento sobre la placa con medio Baird Parker y telurito de huevo. Se incuba a 37°C por 48 horas. ¿De qué color son las colonias que aparecen? ¿Qué microorganismo es? ¿Aparece un halo alrededor de la colonia? ¿Qué microorganismo es?

TAREA C. Evaluación de la acción bactericida. La cuantificación de la acción bactericida de la superficie de los compactos de Ti poroso al estar en contacto con algún tipo de bacteria, se medirá por el conteo de células de la bacteria en estudio después de ser incubada durante un tiempo en presencia de los compactos porosos. Para llevar a cabo este proceso, se toma un volumen de 100ml del medio de cultivo Agar Nutriente y se siembra la bacteria que se desee estudiar (se obtiene con una solución equilibrada, con 0.5 de la escala *McFarland*). A continuación, se introducen los compactos porosos; todo el sistema se irradia con luz ultravioleta y se agita, la incubación ocurre a la temperatura óptima de crecimiento de la bacteria bajo estudio (30-37°C). El conteo de bacterias se realizará a tiempos diferentes (24, 48 y 72h). Como controles, se realizarán experimentos sin introducir ningún compacto, así como introduciendo en este caso compactos de titanio denso. En este Proyecto se pretenden estudiar cepas bacterianas de las siguientes especies: *Escherichia coli* (Ec). La elección de este tipo de bacteria se debe a que es una de las más comunes en infecciones en nuestro cuerpo y además, presenta características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas ampliamente estudiadas en la literatura. **Nota:** somos conscientes de la importancia y la dificultad de evaluar el grado de mojabilidad y la energía superficial, para entender la relación superficie/comportamiento de las bacterias. Sin embargo, en este Proyecto se plantea un estudio sencillo que solo pretende discriminar las consecuencias (el efecto) y no se abordan los detalles de las causas.

TAREA D. Cuantificación del daño estructural y morfológico ocasionado a la superficie de los compactos, después que los mismos hayan estado en contacto con las bacterias. El primer estudio se realiza comparando las imágenes de microscopia electrónica de barrido (SEM) antes y después de haber estado en contacto con las bacterias.