



ASOCIACION ARGENTINA  
DE MATERIALES

# Revista SAM

## Foto de tapa

**Ataque químico de Silicio (100)**

María Patricia Suárez  
Mónica Oppedisano  
Celso Manuel Aldao  
UNMDP-CONICET

[www.materiales-sam.org.ar](http://www.materiales-sam.org.ar)

Registro N° ISSN 1668-4788

N°1 Abril 2013

**COMISIÓN DIRECTIVA DE LA SAM****Presidente:**

Dra. Iris Alvarez (IFIR, Rosario)

**Vice Presidente:**

Dra. Elena Brandaleze (UTN, San Nicolás)

**Secretaria:**

Dra. Silvina Hereñu (IFIR, Rosario)

**Pro Secretaria:**

Dra. Alicia Ares (UNaM, Misiones)

**Tesorera:**

Dra. Gabriela Moscato (IFIR, Rosario)

**Pro Tesorero:**

Dr. Mario Rosenberger (UNaM, Misiones)

**Vocales Titulares:**

Dra. Sonia Brühl (UTN, C. del Uruguay)

Dra. Paula Alonso (CNEA-CAC, Bs. As)

Dra. Lilian Moro (UNS, Bahía Blanca)

**Vocales Suplentes:**

Dra. Adela Cuniberti (UNCPBA, Tandil)

Dr. Nicolás Nieva (UNT, Tucumán)

Dra. Ada Ghilarducci (CNEA-CAB, Bariloche)

**Revisor de Cuentas:**

Dr. Hernán Svóboda (UBA, Bs. As.)

**Revisor de Cuentas Suplente:**

Dr. Jorge Pelegrina (CNEA-CAB, Bariloche)

**Editorial:**

**El reto de fabricar piezas de nanocompuestos de organoarcilla y polipropileno a nivel industrial mediante moldeo por inyección**

P. Frontini

**Página 03**

**Foto de Tapa**

**Morfología de la superficie (100) de silicio bajo ataque químico húmedo**

M.P. Suárez, M. Oppedisano, C.M. Aldao

**Página 07**

**Diseño de un reactivo de inmunoaglutinación para diagnosticar la enfermedad de Chagas utilizando partículas de látex funcionalizadas**

V. S. Garcia, V. D. G. Gonzalez, L. M. Gugliotta

**Página 10**

**Additive manufacturing: challenges for new materials development for biomedical applications**

J. V. Lopes da Silva; R. Alvarenga Rezende

**Página 28**

**Programas de Materiales en Argentina: UTN**

N. Quaranta, R. Varoli

**Página 42**

**REVISTA SAM****Editora:**

**Silvia Simison**

**Co-Editora:**

Patricia Frontini

**Comité Editorial:**

Mirco Chapetti, Roberto Boeri, Adrián Cisilino,  
Mirta Aranguren, Andrea Camerucci.

## EL RETO DE FABRICAR PIEZAS DE NANOCOMPUESTOS DE ORGANOARCILLA Y POLIPROPILENO A NIVEL INDUSTRIAL MEDIANTE MOLDEO POR INYECCIÓN.

**Dra. Patricia Frontini**

*Co-Editora de la Revista SAM*

La síntesis de nanocompuestos poliméricos constituye una de las líneas más populares de la nanotecnología aplicada a la Ciencia de Materiales. La posibilidad de fabricar nanocompuestos por vías económicamente rentables con propiedades específicas resulta muy atractiva. De hecho, la investigación sobre estos materiales data ya de más de dos décadas.

En teoría, la inserción de sustancias inorgánicas nanométricas en un polímero mejorarán ampliamente su desempeño hasta convertirlo en materiales útiles para una gran cantidad de aplicaciones. En este entorno, la preparación de compuestos de nanoarcillas con matrices termoplásticas de poliolefinas no polares, tal como el polipropileno (PP) ha generado especial interés.

Los trabajos científicos anuncian como posibles áreas de utilidad práctica, aplicaciones que involucran mejores prestaciones mecánicas como resistencia y tenacidad, endurecimiento superficial, resistencia a la llama y a los disolventes, reducción de la permeabilidad, etc. Las potenciales mejoras inducidas por el agregado de los nanocompuestos de arcilla / PP pueden hacer de este polímero termoplástico comercial un material más adecuado para aplicaciones en automoción, construcción y embalaje [1,2].

Imaginemos entonces, a un industrial y su equipo de diseño, advertidos de la evolución de la investigación con nanocargas, preguntarse: ¿Qué podemos hacer con nanocompuestos para obtener un beneficio neto en virtud de las supuestas "promesas" ofrecidas por esta técnica? [3].

Sin embargo, es de esperar que se enfrenten al problema de cómo configurar su instalación industrial para incorporar la nanoarcilla en los materiales a fin de garantizar una adecuada dispersión. Hay que tener en cuenta que a nivel industrial preparar los nanocompuestos implica la utilización de equipos convencionales que conforman la línea de mezcla de resinas vírgenes y concentrados (masterbatches) de nanoarcillas.

Los costosos Masterbatches con los que contamos actualmente se basan principalmente en poliolefinas termoplásticas, funcionalizadas con anhídrido que actúa como un compatibilizante ([www.nanocor.com](http://www.nanocor.com)). En principio, bastaría un nivel bajo de nanoarcilla (típicamente menos de 5%), para lograr una modificación que convierta al PP en un material adecuado para aplicaciones con los requisitos de ingeniería. Sin embargo, los resultados mostraron sólo mejoras mínimas en rigidez y en las propiedades tribológicas, mientras

que la dureza se reduce en particular en las regiones de soldadura de la línea [5,6].

Se supone que, por lo general, el grado adecuado de dispersión y exfoliación de las nanopartículas deba alcanzarse durante el "Masterbatching". Las pruebas realizadas a escala industrial utilizando instalaciones de procesamiento típicas que parten de PP y masterbatches de nanoarcillas mostraron sólo pequeñas mejoras en la rigidez [4]. Por el contrario, la tenacidad se vio afectada especialmente en las regiones de la línea de soldadura, y las propiedades tribológicas prácticamente no mejoraron. En todos los casos se evidencia un grado de exfoliación pobre en las piezas moldeadas usando condiciones de procesamiento alcanzables por la industria [5,6].

Aunque existe un gran interés para trasladar los beneficios obtenidos en la síntesis de nanocompuestos a escala de laboratorio a productos industriales competitivos, los primeros intentos dejan una gran cantidad de desafíos abiertos para la investigación específica, como por ejemplo:

¿Qué nivel de exfoliación es posible alcanzar mediante el uso de masterbatches comerciales? ¿Hay alguna posibilidad para las composiciones híbridas, es decir, partículas de nanoarcillas con refuerzos de fibra? ¿Existen sólo unos pocos nichos para la aplicación de nanocompuestos? Tienen las nanocargas alguna posibilidad de estar verdaderamente exfoliadas en matrices no polares? ¿Estos nanocompuestos no requerirán rutas alternativas de procesamiento? ¿No será necesario desarrollar nuevos compatibilizadores con el fin de evitar la inevitable re-aglomeración durante el moldeo por inyección?

La fabricación de Nanocompuestos de polipropileno constituye todavía un reto debido a la falta de afinidad entre el PP hidrófugo y la arcilla hidrófila. Reforzar polipropileno y otros termoplásticos con partículas inorgánicas tales como talco y vidrio es un método muy difundido para mejorar los materiales. El refuerzo del polímero con nanoarcilla amplía esta estrategia hacia la escala nanométrica. La forma anisométrica de aproximadamente 1 nm de ancho de las laminillas de arcilla puede aumentar dramáticamente la cantidad de contacto interfacial entre la arcilla y la matriz de polímero. Así, la superficie de la arcilla puede promover cambios de conformación en la matriz de polímero, de estructura cristalina y morfología cristalina a través de mecanismos interfaciales que están ausentes en los materiales compuestos tradicionales. Por estas razones, se cree que los materiales nanocompuestos con las plaquetas de arcilla dispersa en forma de plaquetas exfoliadas aisladas son óptimos para las propiedades finales, aunque en relación con otros nanocompuestos termoplásticos, tales como nylon 6, la mejora en las propiedades finales para nanocompuestos de polipropileno ha sido modesta.

De lo anterior surge que es necesario llevar a cabo trabajo de investigación adicional en las áreas de síntesis y, sobre todo, combinación, con el objetivo de disminuir esta brecha de rendimiento.

Si se acepta que el desempeño de nanocompuestos de polímero está íntimamente relacionado con el grado de dispersión de la nanocarga: buena dispersión y exfoliación pueden conducir a la mejora esperada de propiedades. El grado de dispersión depende de factores como la afinidad y compatibilidad de la arcilla con la matriz, la viscosidad de la matriz, o el nivel de

solicitud termomecánica que es función de las condiciones de procesamiento.

Los materiales compuestos de PP / nanoarcilla producidos mediante moldeo por inyección convencional (CIM) por lo general muestran una mala dispersión.

Alentadores estudios recientes demostraron que combinaciones de alta presión posterior y velocidad de rotación del tornillo puede mejorar la dispersión de la nanoarcilla y contribuir a un mejor desempeño mecánico [4]. En esta dirección, el proceso alternativo no convencional llamado SCORIM (Shear Control Orientation in Injection Moulding) aparece como candidato para mejorar las propiedades de las partes moldeadas mediante el control de la microestructura. Se han registrado mejoras significativas de rendimiento mecánico, en la alineación del refuerzo y orientación macromolecular, o eliminación de líneas de soldadura internas en el caso de polímeros semicristalinos. Las alteraciones son resultado de la acción del flujo intenso de cizalla que conduce a una mejor dispersión en proceso y la orientación de las cargas en el material compuesto. Por lo tanto, se podría especular que altos niveles de cizallamiento aplicados mediante SCORIM conducirían a una mejor dispersión durante el proceso mismo. Descubrimientos prometedores relacionados con el uso de SCORIM para fabricar materiales compuestos PP nanoclay han animado al sector científico-técnico a avanzar en esta dirección [7].

Dentro de la misma línea, Fu y col. han estudiado la estructura y las propiedades de PP moldeadas por inyección mediante el uso de un método de moldeo por inyección llamado de embalaje dinámico (DPIM).

DPIM opera sobre un principio similar al moldeo por inyección orientación controlada por cizalla (SCORIM). Para esto, una resina fundida se inyecta en una cavidad de molde y después se enfría y solidifica bajo un flujo vibratorio de vaivén [8]. Una barra de nanocompuesto preparada via DPIM mostró una estructura de tres capas compuesta de una capa de superficie de la piel, una capa intermedia orientada, y una capa de núcleo interior [9].

El concepto moldeo por inyección mezclador (Injection Molding Compounder, IMC) fue presentado en primer lugar por Krauss Maffei en el K1998 para producir termoplásticos reforzados con fibra de vidrio. Su rasgo característico es un extrusor de doble tornillo, que se integra directamente en un sistema de moldeo por inyección. El proceso de composición de moldeo por inyección combina dos etapas de procesamiento, la composición material que normalmente se lleva a cabo en el fabricante de la materia prima y el proceso de moldeo por inyección que normalmente se realiza en la máquina de moldeo por inyección. La parte final se procesa directamente "por un solo proceso de calentamiento" y el material utilizado no ha de ser granulado y plastificado de nuevo después de la etapa de combinación en la unidad de plastificación de una máquina de moldeo por inyección. Una variante de máquina, única en el mundo (Polymeric Nanocomposite Injection Molding Compounder, PNC-IMC) -que incorpora algunos dispositivos especialmente adaptados para la producción de nanocompuestos poliméricos están actualmente en desarrollo por MG Battisti y W. Friesenbichler (10).

Para concluir podríamos decir que, a pesar de las difi-

cultades inherentes al sistema PP/organoarcilla, se vislumbra que las tecnologías no convencionales de moldeo por inyección que aplican esfuerzos de corte superiores a los estándares pueden contribuir a resolver el desafío si paralelamente se mejoran los “masterbatches y los agentes compatibilizantes.

## :: REFERENCIAS

[1] Morphology Development in Polyolefin Nano-composites Chapter 4. by Mitsuyoshi Fujiyama in Optimization of Polymer Nanocomposite Properties. Edited by Vikas Mittal Copyright© 2010 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ISBN: 978-3-527-32521-4. pp. 63-97

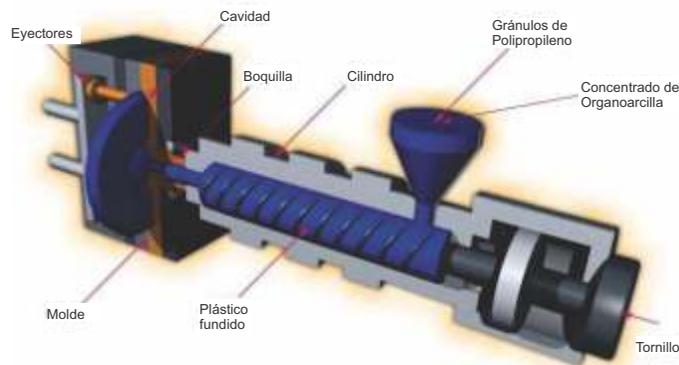
[2] Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials Michael Alexandre, Philippe Dubois.

[3] Editorial corner -a personal view Is there any chance for polypropylene/clay nanocomposites in injection molding? P. M. Frontini, A. S. Pouzada. eXPRESS Polymer Letters Vol.5, No.8 (2011) 661.

[4] Effect of injection molding parameters on nanofillers dispersion in masterbatch based PP-clay nanocomposites J. J. Rajes, J. Soulestin, M. F. Lacrampe, P. Krawczak, eXPRESS Polymer Letters Vol.6, No.3 (2012) 237–248.

[5] Toughness distribution in complex PP/nanoclay injected mouldings. Valeria Pettarin, Florencia Brun, Julio C. Viana, Antonio S. Pouzada, Patricia M. Frontini. Composites Science and Technology 74 (2013) 28–36

[6] Uni- and biaxial impact behaviour of double-gated nanoclay-reinforced polypropylene injection mouldings. Valeria Pettarin, Gastón Viau, Laura Fasce, Julio C. Viana, Antonio J. Pontes, Patricia M. Frontini, Antonio S. Pouzada. Polymer Engineering & Science. Manuscript ID: PES-11-0686. 2012. En Prensa.



[7] Morphology-performance relationship of PP-nanoclay composites processed by shear controlled injection moulding. Alejandra Costantino, Valeria Pettarina, Julio Viana, Antonio Pontes, Antonio Pouzada, Patricia Frontini. Polymer International in press.

[8] Unique clay orientation in the injection-molded bar of isotactic polypropylene/clay nanocomposite. Ke Wang, Ping Zhao, Hong Yang, Si Liang, Qin Zhang, Rongni Du, Qiang Fu, Zhenqiang Yu, Erqiang Chen Polymer 47 (2006) 7103e7110.

[9] Shear-induced change of exfoliation and orientation in polypropylene/montmorillonite nanocomposites Qin Zhang, Yong Wang, Qiang Fu, Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics Volume 41, Issue 1, pages 1–10, 1 January 2003.

[10] Injection molding compounding of PP polymer nanocomposites. G. Battisti, W. Friesenbichler. Strojniški vestnik - Journal of Mechanical Engineering. In press.

# MORFOLOGÍA DE LA SUPERFICIE (100) DE SILICIO BAJO ATAQUE QUÍMICO HÚMEDO

M.P. Suárez<sup>1</sup>, M. Oppedisano<sup>2</sup>, C.M. Aldao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA), UNMDP-CONICET

<sup>2</sup>Laboratorio de Microscopía Electrónica, UNMDP

El silicio es el semiconductor más ampliamente difundido y utilizado industrialmente. Constituye el material sobre el que se basa la industria electrónica. Especialmente, la superficie (100), utilizada en los circuitos integrados, ha sido la más estudiada.

Gracias a nuevas técnicas de observación, se dispone hoy de información sobre los diversos procesos que tienen lugar durante la deposición a nivel atómico y el rol que estos desempeñan en la micro- y nano-tecnología. Se ha prestado mucha menor atención a los procesos a nivel atómico que tienen lugar durante el ataque químico y la remoción de material en general, aunque estos procesos son tecnológicamente de gran relevancia. El ataque químico es básicamente

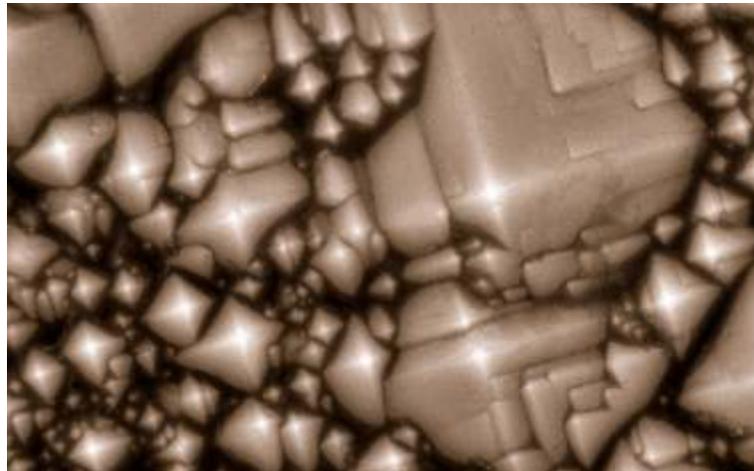


Fig.1: Imágenes de una superficie de Si(100) de 25 mm x 16 mm obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (JEOL JSM-6460 LV) luego de un ataque químico húmedo a 60 °C en estado estacionario que muestra el efecto de la concentración del reactivo.

co en la tecnología de microsistemas (MST). En particular, el ataque químico anisótropo húmedo es una de las técnicas más empleadas en la fabricación de sistemas micro- y nano-electromecánicos (MEMS y NEMS)[1]. Lo promisorio de la MST radica en que se funda en la tecnología de circuitos integrados, ampliamente desarrollada. El silicio presenta propiedades mecánicas que lo hacen especialmente

atractivo para el desarrollo de diversos dispositivos. En particular, la dureza del silicio es comparable a la del acero pero sin deformación plástica y sin histéresis mecánica. Aunque el ataque químico del silicio en soluciones de hidróxido de potasio ha sido exitosamente aplicado por décadas, algunos proble-

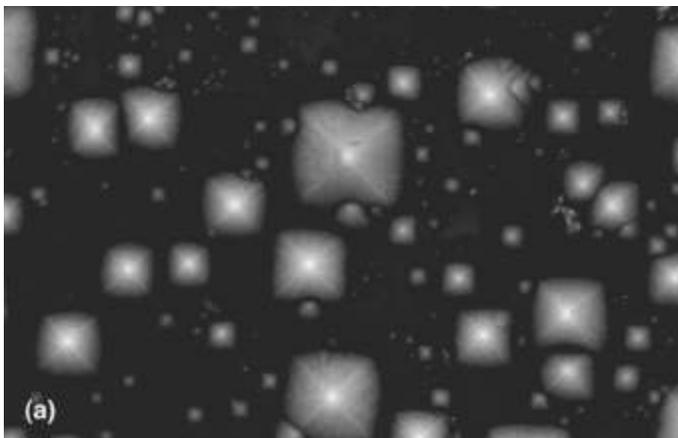
mas fundamentales persisten. En particular, la aparición de micro-pirámides es un problema crucial que altera las propiedades de las estructuras resultantes y que ha mantenido a numerosos investigadores en constante controversia. Una pirámide es, en principio, inestable. En efecto, las formas protuberantes deberían ser atacadas más rápidamente y por lo tanto deberían desaparecer. Sin embargo, la formación de pirámides indica la presencia de algún fenómeno retardador del ataque químico en sus puntas.

El estudio de la relación entre la morfología y los procesos que tienen lugar a nivel atómico ha sido uno de los objetivos fundamentales en ciencia de superficies. La aparición de estructuras con forma de pirámides, que no es lo esperable, ha llevado a postular varias hipótesis de distinto tenor. Todas ellas involucran el ataque químico anisótropo, con planos (111) muy fuertes. Sin embargo, esto no es suficiente para que aparezcan estructuras piramidales. Se requiere también la presencia de algún mecanismo que reduzca la velocidad del ataque químico en el tope de las pirámides. Se han propuesto diversas explicaciones para este fenómeno tales como el enmascaramiento de los vértices por la presencia de burbujas de hidrógeno o de partículas de algún producto de la reacción. Sin embargo, los mecanismos que dan lugar a estas pirámides continúan hoy, luego de años de estudios, siendo un tema de debate. Por otro lado, no existe consenso en cuanto a la secuencia de reacciones químicas que ocurren durante el ataque. Comprender la física y la química del proceso de remoción permanece como un paso crucial en el desarrollo de una fabrica-

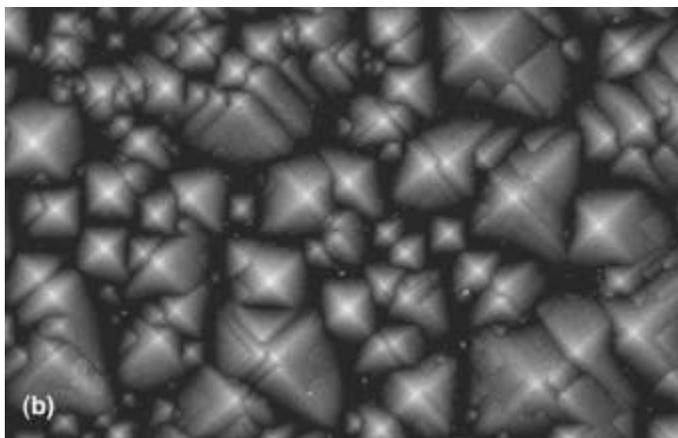
ción controlada [2].

Nuestro aporte al tema se ha focalizado en determinar si los mecanismos propuestos podían dar lugar a las superficies observadas. Nos dedicamos tanto a realizar experimentos a fin de observar la dependencia de la morfología resultante ante los posibles parámetros de relevancia (concentración del hidróxido, temperatura, agitación mecánica, gases en disolución) como a proponer un modelo que representara la esencia del problema [3, 4]. En general, se desea evitar la formación de pirámides. Sin embargo, en la fabricación de celdas solares son deseables ya que su presencia mejora el rendimiento energético.

En la Fig.1 vemos dos imágenes de 25 mm x 16 mm obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido de Si(100) luego del ataque con hidróxido de potasio. Las superficies fueron expuestas el tiempo suficiente para llegar a estado estacionario, en el sentido que mayor exposición no altera sus morfologías. En la Fig. 1a claramente se observa la formación de pirámides de muy variados tamaños, las mayores de alrededor de 3  $\mu\text{m}$ , distribuidas al azar sobre una superficie relativamente plana. En contraposición, en la Fig. 1b vemos una imagen de igual tamaño que la anterior pero preparada bajo distintas condiciones, en este caso una concentración de reactivo diferente. Se puede observar que la superficie también presenta estructuras piramidales pero no existen prácticamente regiones planas entre ellas. A este tipo de morfología se lo conoce como texturada.



**Fig. a:** La solución utilizada fue de KOH 2 M.



**Fig. b:** La solución utilizada fue de KOH 0.4 M.

## :: REFERENCIAS

- [1] M. Elwenspoek y H. Jansen, Silicon Micromachining, (Cambridge University Press, Cambridge, 1998).
- [2] B.S. Aldinger y M.A. Hines, J. Phys. Chem. C 116, 21499 (2012).
- [3] M.P. Suárez, D.A. Mirabella, y C.M. Aldao, Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 281, 230 (2008).
- [4] D.A. Mirabella, M.P. Suárez, y C.M. Aldao, Surf. Sci. 602, 1572, (2008).

# DISEÑO DE UN REACTIVO DE INMUNOAGLUTINACIÓN PARA DIAGNOSTICAR LA ENFERMEDAD DE CHAGAS UTILIZANDO PARTÍCULAS DE LÁTEX FUNCIONALIZADAS

Valeria S. Garcia, Verónica D.G. Gonzalez, y Luis M. Gugliotta

*INTEC (Universidad Nacional del Litoral - CONICET), Güemes 3450,  
Santa Fe (3000), Argentina.*

## :: RESUMEN

La enfermedad de Chagas es reconocida como la principal endemia de América Latina. Aunque el parásito, *Trypanosoma cruzi*, fue descubierto en 1909, la importancia de la enfermedad y su dimensión como problema social fue comprobada recién a mediados del siglo XX, momento a partir del cual comenzó una serie de acciones destinadas a combatirla. Para lograr este objetivo, es fundamental el diagnóstico de la enfermedad y el presente trabajo avanza en ese sentido a través del desarrollo de un reactivo de inmunoaglutinación. Con este propósito, se sintetizaron primero partículas de látex con funcionalidades carboxilo y acetal, que sirvieron de soporte para ligar diferentes proteínas antigénicas del *T. cruzi* (homogenato del parásito y proteínas recombinantes simples y quiméricas), produciendo complejos látex-proteína capaces de actuar como reactivos de inmunoaglutinación para detectar la enfermedad de Chagas. Se buscaron luego las condiciones “óptimas” de reacción, y se evaluó y comparó el rendimiento de las distintas proteínas frente a un panel de sueros. La reacción antígeno-

no-anticuerpo se detectó midiendo los incrementos en la absorbancia óptica respecto de un blanco (complejo látex-proteína sin el agregado de suero). Las proteínas recombinantes dieron lugar a mejores resultados que el homogenato, especialmente cuando se empleó una proteína quimérica. El trabajo realizado permitió desarrollar un “kit de inmunoaglutinación” para detectar en forma sencilla, precoz, e in situ, la enfermedad de Chagas.

## :: ABSTRACT

Chagas disease is recognized as the leading Latin American endemic illness. Although the parasite, *Trypanosoma cruzi*, was discovered in 1909, the importance of the disease and its dimension as a social problem was not proved until the mid-twentieth century, when a series of actions began to combat the Chagas. To this effect, it is essential to diagnose the disease and the present work pretends to advance in such sense, through the development of an immunoagglutination test. Latex particles with car-

boxyl and acetal functionalities were synthesized, and employed as a support of different antigenic proteins of *T. cruzi* (homogenate of the parasite, and single and chimeric recombinant proteins), for producing latex-protein complexes able to be used as immunoagglutination reagents for detecting Chagas disease. Optimal reaction conditions were sought and the performance of various proteins was evaluated against a panel of sera. The antigen-antibody reaction was detected by measuring the optical absorbance increments with respect to a blank (a latex-protein complex without serum). Recombinant proteins allowed outperform the homogenate, especially when chimeric proteins were employed. The present work allowed the development of an "immunoagglutination kit" to easily, early, and in situ detect Chagas disease.

## :: INTRODUCCIÓN

Actualmente, en la rama de la salud, se experimentan cambios profundos en busca de nuevos reactivos que permitan el diagnóstico "al pie del paciente" y la implantación de terapéuticas en corto tiempo, así como el seguimiento clínico y epidemiológico de las enfermedades.

La enfermedad de Chagas, también conocida como Tripanosomiasis Americana, es una enfermedad parasitaria tropical, causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*. Se considera a la enfermedad de Chagas endémica de América Latina, aunque existen casos identificados en Europa, Canadá y Estados Unidos debido a la migración de personas desde el

centro y sur de América hacia los países más desarrollados. La Organización Mundial de la Salud estima que la enfermedad de Chagas afecta entre 16 y 18 millones de personas sólo en América Latina, que anualmente mueren a causa de ella cerca de 50 mil personas, y que más de 25 millones de personas están en riesgo de adquirirla [1].

De todas las enfermedades transmitidas por vectores, la enfermedad de Chagas es la más asociada a condiciones de pobreza. No existe aún una vacuna contra la misma, ni un método satisfactorio y confiable de tratamiento etiológico (dirigido a atacar las causas) para erradicar el parásito, ni para evitar la aparición o progresión de lesiones e interferir en la cadena de transmisión. La prevención y el diagnóstico son las principales armas para controlar la enfermedad. Sin diagnóstico efectivo no se pueden identificar y por ende tratar a los individuos infectados, y la eficacia del tratamiento específico es difícil de evaluar. Más aún, la efectividad de cualquier campaña de control, ya sea dirigida a vectores, bloqueo de la transmisión o vacunación de poblaciones, no puede medirse sin un competente sistema de diagnóstico.

Los exámenes de laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad dependen de la etapa clínica que curse el paciente. En la etapa inicial o aguda, se encuentran parasitemias importantes, por lo que el estudio se basa en la búsqueda del *T. cruzi* en sangre (xenodiagnóstico o cultivo de sangre). En la etapa crónica, la detección del parásito es muy difícil, por lo que el diagnóstico se confirma mediante la detección de anticuerpos (Ac) *anti-T. cruzi* en el suero del paciente.

El diagnóstico basado en la detección de Ac anti-



*cruzi* en el suero del paciente, tiene su origen en Argentina en 1913. Desde entonces, el avance del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas ha sido enorme, existiendo actualmente más de 30 ensayos comerciales basados en Hemaglutinación Indirecta (HAI), Inmunoensayo Enzimático (ELISA) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

Un método de detección alternativo, es el ensayo de inmunoaglutinación (IA), donde se utilizan partículas de látex como soporte para la fijación de antígenos (Ag), de manera tal de amplificar la reacción Ag-Ac que se produce en el inmunoensayo. Este método resulta rápido, es de sencilla realización e interpretación, posee una sensibilidad analítica relativamente alta, es especialmente útil en aquellos laboratorios con escaso personal y equipamiento, y (en principio) permitiría realizar el diagnóstico en campo al pie del paciente.

Las ventajas enumeradas hacen de las reacciones de aglutinación una valiosa herramienta para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, a excepción del artículo de Cerisola et al. [2]; sólo los trabajos realizados por los autores del presente [3-13] han considerado la síntesis de partículas de látex, su sensibilización y posterior aplicación de los complejos látex-proteína en reacciones de aglutinación para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

Cerisola et al. [2] estudiaron, la reacción de aglutinación de partículas de poliestireno (PS) sensibilizadas mediante adsorción física con los Ag presentes en el homogenato total del parásito (HTP). Sin embargo, sus resultados no fueron adecuados, debido principalmente a que: **a)** la adsorción física es parcialmente

reversible, pudiéndose desorber la proteína desde la superficie por cambios en el pH o en la fuerza iónica del medio; y **b)** el HTP es una mezcla indefinida de Ags, que varía en contenido y cantidad según el estadio de desarrollo del parásito, por lo que puede generar variaciones en la reproducibilidad y confiabilidad del inmunoensayo.

Las condiciones exigidas a un reactivo de diagnóstico son exactitud y reproducibilidad. Clásicamente, la exactitud de una prueba diagnóstica se evalúa a partir de los conceptos de sensibilidad y especificidad. Una alta especificidad implica un número bajo de falsos positivos mientras que una alta sensibilidad significa un número bajo de falsos negativos. En general, se considera que la prueba diagnóstica tiene una validez aceptable si su sensibilidad y especificidad resultan mayores a 80% [14].

La búsqueda de Ag que permitan diagnosticar la enfermedad de Chagas con sensibilidad y especificidad adecuadas es uno de los más importantes pilares de su diagnóstico. La mayoría de los métodos serológicos utilizados actualmente, están basados en el uso de proteínas del HTP obtenidas a partir de cultivos in vitro del parásito, tras procesarlo por distintas técnicas fisicoquímicas. Como consecuencia, aparecen dificultades para estandarizar la metodología, existe considerable variación en la reproducibilidad y exactitud de los resultados obtenidos, y frecuentemente se observan falsos positivos como producto de la reacción cruzada con otras enfermedades parasitarias, tales como la Leishmaniasis.

La sustitución de los Ag nativos por Ag recombinantes del *T. cruzi* en inmunoensayos, permite estandarizar

la metodología, resolver el problema de la especificidad, eliminando los resultados falsos positivos por reacción cruzada con protozoarios relacionados, y mantener una alta sensibilidad.

Si bien se han utilizado muchas proteínas recombinantes para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas [15], ninguna de ellas fueron Ags capaces de ser reconocidos por todos los sueros humanos chagásicos. Para solucionar este inconveniente, se ha recurrido al uso de proteínas quiméricas, que expresan varios determinantes antigénicos no relacionados [16-18]. La estrategia se basa en la elección de epítopes inmunodominantes dentro de los Ags enteros y su posterior ensamblaje, lo que permite contemplar la sensibilidad de varias moléculas, sin perder la especificidad que brindan los fragmentos.

En este trabajo se describen las principales etapas involucradas en la síntesis y caracterización de partículas de polímero funcionalizadas y sensibilizadas con Ag del *T. cruzi*, y su empleo como reactivo de IA para detectar la enfermedad de Chagas. La investigación se realizó en el Grupo de Polímeros y Reactores de Polimerización del Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), donde se viene trabajando desde hace más de 30 años en la síntesis y caracterización de polímeros y coloides poliméricos; y en el modelado matemático, optimización y control de reactores de polimerización. En lo que se refiere a la obtención de polímeros para aplicaciones biomédicas, se está trabajando además en la síntesis de partículas para la detección de Toxoplasmosis en sus etapas aguda y crónica; y de Leptospirosis.

## :: TRABAJO EXPERIMENTAL

El desarrollo del reactivo de inmunoaglutinación involucró las siguientes etapas: **a)** síntesis y caracterización de las partículas de látex funcionalizadas; **b)** obtención de diferentes proteínas antigénicas del *T. cruzi*; **c)** producción de los complejos látex-proteína mediante unión covalente de los Ags sobre los grupos funcionales superficiales de las partículas; y **d)** aplicación de los complejos látex-proteína en ensayos de IA. Esta última etapa comprende a su vez: **1)** la búsqueda de las condiciones del medio de reacción que permitan la máxima diferenciación entre un suero control positivo y un suero control negativo; y **2)** la evaluación de la sensibilidad y especificidad del ensayo frente a un panel de sueros.

### Paso 1: Síntesis y Caracterización de Partículas de Látex Funcionalizadas

Se realizó la síntesis controlada de coloides poliméricos particulados con funcionalidades carboxilo o acetal mediante polimerización en emulsión en dos etapas y en ausencia de emulsificante. En una primera etapa, se prepararon las siembras de PS; por polimerización en emulsión “batch” de estireno (St) utilizando las condiciones y receta de reacción empleadas por Gonzalez et al. [6].

En una segunda etapa, se realizó la copolimerización en emulsión de St y de un monómero funcional, sobre las siembras sintetizadas previamente, obteniéndose partículas con morfología “core-shell” y funcionalida-

des carboxilo o acetal. Los látex con funcionalidad carboxilo se sintetizaron mediante copolimerización “semibatch” presembrada de St y ácido metacrílico (MAA) [5]; mientras que los látex con funcionalidad acetal se produjeron por copolimerización “batch” presembrada de St y acroleína dietil acetal (ADEA) [12, 20].

Todas las reacciones se llevaron a cabo en un reactor de vidrio encamisado de 1 litro de capacidad, con un baño termostático para regular la temperatura de reacción, un agitador de paletas de acero inoxidable, y entradas para el burbujeo continuo de nitrógeno, toma de muestras, y alimentación o carga. La conversión final ( $x$ ) se determinó por gravimetría. En la Fig. 1 se muestra una representación esquemática del sistema de reacción utilizado para las polimerizaciones y de las partículas de látex sintetizadas.

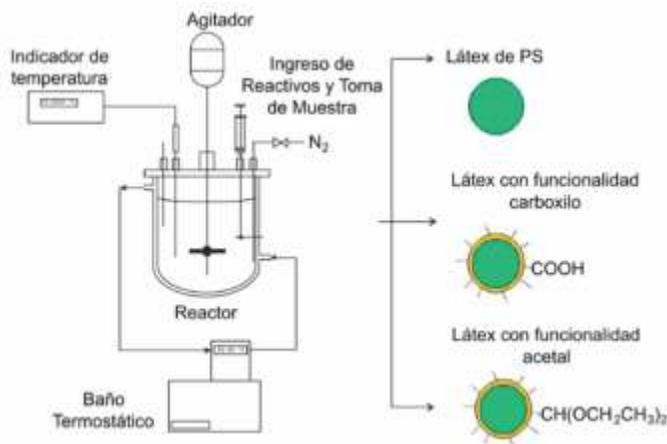


Fig. 1: Esquema del sistema de reacción utilizado y de las partículas de látex sintetizadas.

Antes de la caracterización de las partículas, se procedió a la limpieza de los látex mediante desplazamiento de suero. Este método permite retirar los restos no reaccionados de monómeros e iniciador, como así también los posibles oligómeros y polielectrolitos solubles en fase acuosa o adsorbidos sobre la superficie de las partículas. Durante la caracterización se determinó: **a)** el tamaño medio de partícula mediante Microscopía Electrónica de Barrido, SEM ( $D_{SEM}$ ), Dispersión de Luz Dinámica, DLS a  $90^\circ$  ( $D_{DLS}$ ), y Turbidimetría,  $T$  ( $D_T$ ); **b)** la polidispersidad de los látex a través de SEM; **c)** la densidad de carga superficial ( $\sigma$ ) y la densidad de grupos funcionales superficiales ( $\rho$ ) mediante titulación conductimétrica con una solución acuosa de NaOH; y **d)** la estabilidad coloidal, a través de la concentración crítica de coagulación ( $c.c.c.$ ), que se determinó visualmente y por DLS a  $90^\circ$ , en términos de la concentración mínima de KBr requerida para la agregación de las partículas.

## Paso 2. Obtención de los Antígenos

Se utilizaron distintas proteínas antigénicas del *T. cruzi*. Se trabajó con el HTP, constituido por una mezcla de antígenos, y con proteínas recombinantes simples y quiméricas.

El HTP se obtuvo por sonicación de un cultivo *in vitro* del parásito en el estadio de epimastigote. Los restos celulares se separaron de la mezcla de proteínas antigénicas mediante centrifugación.

La obtención de las proteínas recombinantes, que involucró la amplificación del gen que las codifica, el

clonado y la transformación de células de *Escherichia coli*, fue realizada por personal del Laboratorio de Tecnología Inmunológica de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (Universidad Nacional del Litoral), a cargo del Dr. Iván Marcipar.

Durante este trabajo se realizó la expresión y purificación de las proteínas recombinantes. El procedimiento consistió en hacer crecer, bajo agitación a 37°C, las células de *E. coli* transformadas. Luego se indujo la expresión génica. Las células se recogieron centrifugando durante 15 minutos, y se dispersaron en buffer de resuspensión de células (PBS, pH 7.4). La suspensión se sonicó hasta lisis total, se centrifugó durante 10 minutos para separar los restos celulares, y se recolectó el sobrenadante que contiene las proteínas solubles. Para purificar la proteína de interés, se utilizó Cromatografía de Afinidad de Ion Metálico Inmovilizado (IMAC) y el grado de purificación se comprobó mediante electroforesis en geles de poliacrilamida, de acuerdo al método descrito por Laemmli [20].

Las etapas fundamentales para la obtención de las proteínas mediante la tecnología de ADN recombinante se muestran en la Fig. 2.

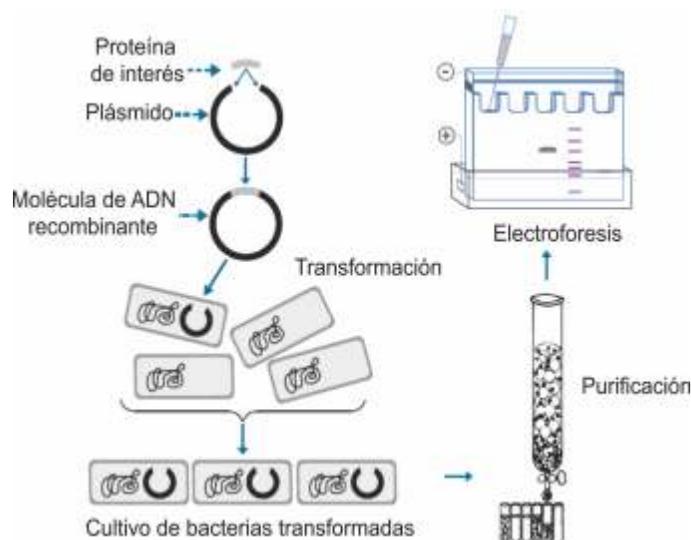


Fig. 2: Etapas fundamentales para la obtención de proteínas recombinantes.

Se trabajó con tres proteínas recombinantes simples RP1, RP2 y RP5 [3-13] (denominadas, en el presente trabajo, como S1, S2 y S3 respectivamente) que se expresan en todos los estadios de desarrollo y cepas del *T. cruzi*, y presentan alta especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de la enfermedad en su etapa crónica; y dos proteínas recombinantes quiméricas CP1 y CP2 [3-13] (denominadas respectivamente como Q1 y Q2) respectivamente formadas por la expresión en tándem de dos y tres péptidos altamente antigénicos, y específicos del *T. cruzi* de las etapas aguda y crónica de la enfermedad, lo que permite su diagnóstico en ambas etapas.

La antigenicidad de las distintas proteínas recombinantes obtenidas, es decir su capacidad para ser reconocidas por sus Ac específicos, se evaluó mediante ensayos de ELISA.

### **Paso 3: Producción de los Complejos Látex-Proteína**

El proceso de sensibilización consistió en la unión covalente de las proteínas antigénicas con los grupos funcionales (carboxilo o acetal) anclados sobre la superficie de las partículas, sin alterar su actividad antigénica.

Los grupos carboxilo no son lo suficientemente activos para reaccionar espontáneamente con los grupos amino de las proteínas, y por ello es necesario activarlos previamente con una carbodiimida soluble en agua, que convierte los grupos carboxilo en acilureas, las cuales reaccionan fácilmente con los grupos amino de las proteínas, con formación de un enlace amida. Para evitar la hidrólisis de la acilurea, la activación se realizó en presencia de la proteína.

Para poder sensibilizar los látex con funcionalidad acetal mediante unión covalente, los grupos acetal deben transformarse, mediante una simple acidificación, en grupos aldehído, los que no precisan ser activados para unirse covalentemente a las proteínas.

Las sensibilizaciones se realizaron a través de experimentos “batch” a temperatura ambiente, mezclando

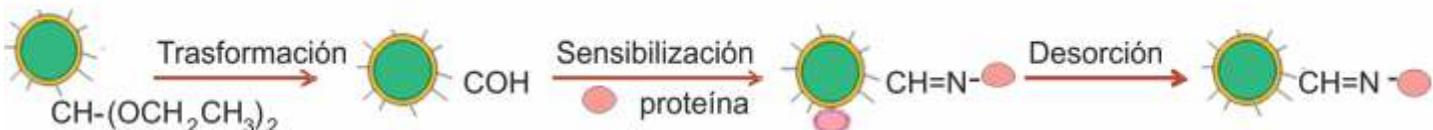
en tubos eppendorff las partículas de látex, el buffer fosfato pH 5 (fuerza iónica final 2 mM) y cantidades crecientes de la proteína antigénica. Además, para cada experimento se preparó un blanco sin proteína. Las muestras se agitaron suavemente durante 5 h. Los complejos látex-proteína se separaron de la solución mediante centrifugación y la proteína presente en el sobrenadante se cuantificó por el método del ácido bicinconínico (BCA).

Debido a que los complejos látex-proteína así obtenidos contienen, tanto proteínas absorbidas físicamente, como proteínas unidas covalentemente a los grupos funcionales superficiales, los complejos se trataron con un emulsificante para eliminar la proteína adsorbida, de manera de asegurar que la mayor parte de la proteína presente en la superficie de las partículas se encuentre unida covalentemente. Para ello, los complejos látex-proteína separados por centrifugación se redispersaron en Tritón X-100 y se mantuvieron bajo agitación durante 24 h. Luego de centrifugar, se determinó la cantidad de proteína presente en el sobrenadante por el método del BCA. Finalmente, mediante un balance de masa se calculó la cantidad de proteína que permanece en la superficie de las partículas luego del proceso de desorción. La Fig. 3 muestra un esquema del proceso de sensibilización por unión covalente de partículas de látex con funcionalidades carboxilo y acetal.

### Partículas con Funcionalidad Carboxilo



### Partículas con Funcionalidad Acetal

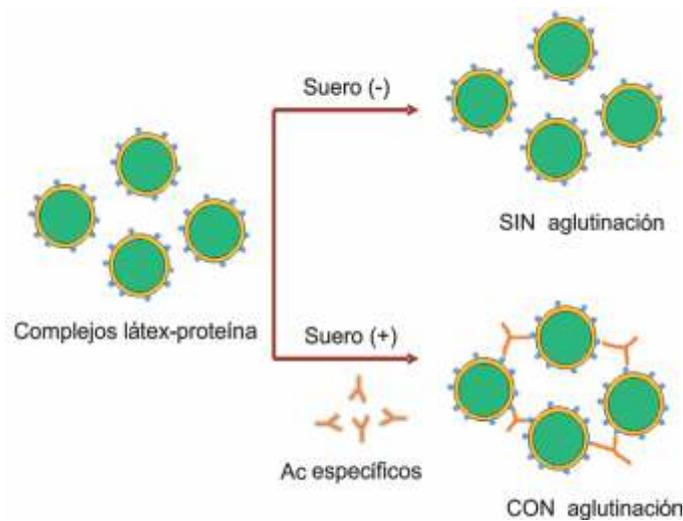


**Fig. 3:** Esquema del proceso de sensibilización por unión covalente de proteínas antigénicas sobre partículas de látex con funcionalidades carboxilo y acetal.

Una vez purificados, los complejos látex-proteína se redispersaron en buffer borato pH 8 para su almacenamiento y posterior utilización en los inmunoensayos.

### Paso 4: Aplicación de los Complejos Látex-Proteína en Ensayos de IA

La detección de la reacción de IA se realizó mediante el método visual y mediante turbidimetría. La Fig. 4 muestra un esquema del proceso de inmunoaglutinación.



**Fig. 4:** Representación esquemática del proceso de inmunoaglutinación.

Para la detección mediante el método visual, se mezclaron el complejo látex-proteína y el suero positivo o negativo sobre un portaobjeto de fondo negro, y se registró el tiempo al cual se visualizó el proceso de aglutinación.

En el estudio mediante turbidimetría, el inmunoensayo consistió en mezclar la dispersión del complejo látex-proteína, con el suero positivo o el suero negativo y medir el incremento en la absorbancia óptica ( $A$ ), a una longitud de onda de 570 nm, después de 5 minutos de reacción. El  $A$  se determinó restando al correspondiente valor de absorbancia medido, el valor de absorbancia de un blanco (complejo látex-proteína sin la adición del suero). Las mediciones de absorbancia del blanco deben ser constantes a lo largo del tiempo, lo que es indicativo de la estabilidad del complejo látex-proteína en el medio en el que se realiza el inmunoensayo. Esta condición es requerida para que un complejo se considere apto para ser utilizado en ensayos de IA.

#### 4.a. Búsqueda de las Condiciones del Medio de Reacción

Dado que en la reacción Ag-Ac intervienen fuerzas no covalentes y reversibles, ciertos parámetros tales como el tiempo de reacción, fuerza iónica del medio y agregado de agentes bloqueantes al buffer de reacción, afectan la respuesta del inmunoensayo. Por lo tanto, una vez obtenidos los complejos látex-proteína, se ajustaron dichos parámetros a fin de maximizar la discriminación en la respuesta de sue-

ros positivos y negativos, y de facilitar la lectura de los resultados. El control cuidadoso de estos parámetros es necesario para mejorar la sensibilidad en el ensayo de IA y para minimizar la unión no específica.

Se trabajó con los distintos complejos látex-proteína obtenidos y con sueros controles. El suero control negativo corresponde a un individuo sano y el suero control positivo corresponde a un individuo infectado con altos niveles de Ac anti-*T. cruzi*, que fueron detectados mediante la técnica de referencia, ELISA. Ambos sueros, fueron obtenidos de zonas endémicas del norte de la Provincia de Santa Fe.

#### 4.b. Evaluación de Sensibilidad y Especificidad del Inmunoensayo frente a un Panel de Sueros

Se realizó la detección de la reacción de IA mediante turbidimetría, enfrentando los complejos látex-proteína de sueros Chagas positivos (obtenidos de individuos con enfermedad de Chagas), sueros Leishmania positivos (obtenidos de individuos con Leishmaniasis) y sueros negativos para ambas parasitemias.

Las muestras de suero positivo para Chagas fueron obtenidas de una región endémica del noreste argentino y se clasificaron previamente como tales con dos técnicas de diagnóstico de referencia: ELISA y HAI. El panel de sueros positivos para Leishmaniasis fue obtenido de pacientes que habitan en una región de endemicidad (Recife, Brasil), con manifestaciones clínicas de Leishmaniasis cutánea. Las muestras de sueros negativos fueron clasificadas como tales, tan-

to para la infección por *T. cruzi* como para Leishmaniasis.

Los  $\Delta A$  obtenidos con cada complejo látex-proteína fueron empleados para la construcción de curvas ROC (Receiver Operating Characteristics), utilizando el software gráfico MedCald. Las curvas ROC son utilizadas para proporcionar un criterio unificador en el proceso de evaluación y uso de pruebas diagnósticas [21].

A partir de las curvas ROC se obtuvieron los datos de sensibilidad, especificidad y valor del *cut-off* (límite que permite diferenciar entre sueros positivos y sueros negativos). A partir de los valores de *cut-off* obtenidos, se representaron las distribuciones de  $\Delta A$  relativas ( $\Delta A/\text{cut-off}$ ), utilizando el software gráfico GraphPad Prism.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Síntesis y Caracterización de los Látex

La síntesis de partículas de látex con funcionalidades carboxilo y acetal se llevó a cabo mediante un proceso de polimerización en emulsión en dos etapas. En la primera se prepararon los núcleos o siembra de PS, alcanzándose un valor final de conversión de 71% y un  $D_{DLS}$  de 300 nm. En la segunda etapa se formaron las cortezas con funcionalidades carboxilo o acetal sobre la siembra de PS, generando así partículas con morfología “core-shell”.

En la Tabla 1 se resumen las principales característi-

cas del látex siembra de PS y de los dos látex funcionalizados.

Tabla 1. Principales características de los látex

	Látex		
	PS	Carboxilado	Acetal
$D_{SEM}$ [nm]	285	365	320
$D_T$ [nm]	303	369	326
$D_{DLS}$ [nm]	300	374	330
$e_{shell}$ [nm]	-	37	15
Polidispersidad	1.009	1.004	1.009
$\sigma$ [ $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ ]	14.9	78.4	24.6
$\delta_{SO_3}$ [ $\text{mEq}/\text{cm}^2$ ]	-	$1.76 \times 10^8$	$2.22 \times 10^7$
$\delta_{COOH}$ [ $\text{mEq}/\text{cm}^2$ ]	-	$7.95 \times 10^7$	-
$\delta_{CH_3O}$ [ $\text{mEq}/\text{cm}^2$ ]	-	-	$3.21 \times 10^6$
c.c.c. vis [mM]	250	900	250
c.c.c. DLS [mM]	75	300	150

Para el látex carboxilado se obtuvo una conversión final de 88%, con un crecimiento del diámetro de partícula, respecto de la siembra, de 74 nm (espesor de la corteza,  $e_{shell} = 37$  nm). En el látex con funcionalidad acetal, la conversión final obtenida fue baja (30%), observándose un incremento del diámetro de partícula, respecto al de la siembra, de 30 nm ( $e_{shell} = 15$  nm).

Los diámetros medios estimados a partir de las mediciones de DLS ( $D_{DLS}$ ) y T ( $D_T$ ) resultaron mayores a los obtenidos por SEM ( $D_{SEM}$ ) debido a que en esta última se miden partículas secas, mientras que en DLS y T se determinan diámetros hidrodinámicos.

En todos los casos, se logró sintetizar látex con baja polidispersidad de tamaños, que es requerida para su empleo en el desarrollo de reactivos de IA (los látex deben ser “monodispersos” para aumentar la estabilidad coloidal; asegurar un reparto homogéneo de las proteínas sobre la superficie de las partículas; y lograr una mejor visualización de la reacción de aglutinación que se produce en el inmunoensayo).

Los látex con morfología “core-shell” presentaron grupos sulfato, carboxilo y acetal en su superficie, proporcionados respectivamente por el iniciador y los monómeros de funcionalización (MAA y ADEA). Sólo los grupos superficiales sulfato y carboxilo proporcionaron estabilidad a las partículas de látex. Los látex con funcionalidad carboxilo mostraron mayor estabilidad coloidal (mayor *c.c.c.*); mientras que los látex con funcionalidad acetal presentaron una estabilidad similar a los látex de PS.

Finalmente, las *c.c.c.* obtenidas por el método visual resultaron mayores que las determinadas por DLS en iguales condiciones, corroborando la mayor sensibilidad y la ausencia de subjetividad de los métodos instrumentales en la detección de la agregación de las partículas coloidales.

## 2. Obtención de los Ags Recombinantes

Los Ags se obtuvieron con un alto grado de pureza y con una adecuada concentración como para ser utilizados en la síntesis de complejos látex-proteína para ensayos de IA.

Durante la evaluación de la antigenicidad de las pro-

teínas recombinantes mediante ELISA, se observó que los sueros de pacientes no infectados no mostraron ninguna reacción, mientras que los sueros de los pacientes chagásicos mostraron reacción positiva. De esta manera, se comprobó que las proteínas obtenidas presentan actividad específica como Ag de captura, para su utilización en la sensibilización de las partículas de látex para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

## 3. Síntesis de Complejos Látex-Proteína

En los experimentos de sensibilización de las partículas con HTP, la fracción de proteína unida covalentemente fue baja (menor al 50%) y cayó ligeramente con el incremento de la concentración inicial de proteína. Esto puede estar relacionado al hecho de que al ser el HTP una mezcla de proteínas de distintos tamaños, las mayores pueden ocluir grupos reactivos de la superficie de las partículas, reduciendo la disponibilidad de los mismos para interactuar con otras proteínas y/o a las distintas reactividades de las proteínas en función de su estructura.

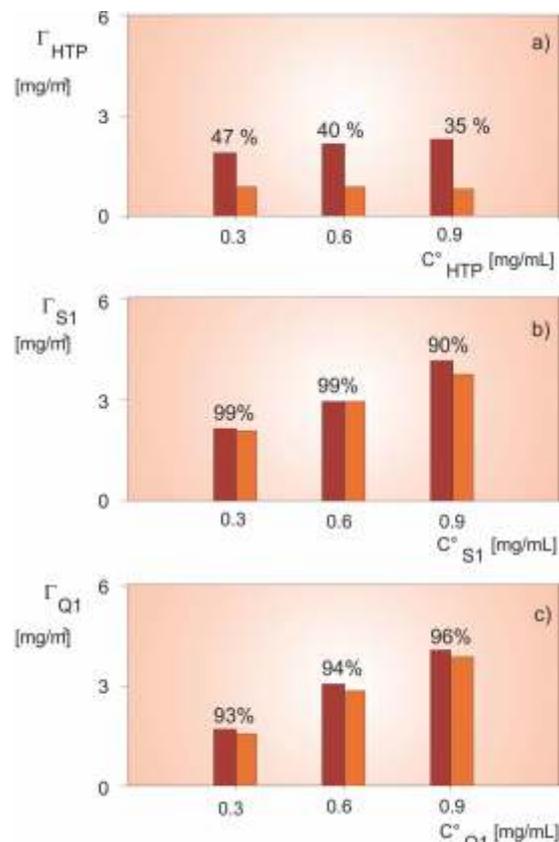
En el caso de las proteínas recombinantes, la fracción de proteína unida covalentemente fue mucho mayor que en el caso del HTP. Esto puede deberse al pequeño tamaño de las proteínas utilizadas, lo que permite que tengan buena accesibilidad a los sitios activos, evitando su oclusión.

Cuando se trabajó con las proteínas recombinantes, tanto la cantidad total unida, como la ligada covalentemente aumentaron con la concentración inicial de

proteína. Sin embargo, la relación entre la proteína unida covalentemente y la cantidad adicionada disminuyó al aumentar la concentración de proteína adicionada, debido a la saturación de los grupos superficiales. Se observó además, que la fracción de proteína unida covalentemente resultó muy alta, aún cuando la concentración inicial de proteína fuera baja, lo que podría hacer innecesaria la desorción de las proteínas adsorbidas físicamente, reduciendo así, el riesgo de desnaturalización.

La Fig. 5 muestra algunos de los resultados obtenidos en la producción de complejos látex-proteína, a partir del látex carboxilado y de diferentes proteínas antigénicas. La totalidad de los resultados, pueden consultarse en nuestros trabajos previos [3-13].

Finalmente, los complejos látex-proteína obtenidos fueron caracterizados. Para ello, se les determinó la *c.c.c.* y el diámetro de partícula de los complejos látex-proteína por DLS a Múltiples Ángulos (MDLS) en el rango  $30^\circ - 110^\circ$  (a intervalos de  $10^\circ$ ). De resultados que no se muestran por razones de brevedad, se observó que: **a)** los valores de *c.c.c.* de los complejos látex-proteína fueron menores que los correspondientes a los látex sin sensibilizar; **b)** los diámetros medios de los complejos látex-proteína medidos por MDLS en función del ángulo de detección exhibieron un comportamiento similar al de los látex sin sensibilizar, pero con un ligero desplazamiento hacia diámetros mayores. Esto estaría indicando que la distribución de tamaños de partícula no cambia de forma y que no hay aglomeración sustancial de partículas durante la sensibilización.



**Fig. 5:** Unión covalente del HTP (a); la proteína recombinante simple S1 (b) y la proteína recombinante quimérica Q1 (c) sobre las partículas con funcionalidad carboxilo. Se representa la cantidad de proteína unida sobre las partículas ( $\Gamma_{\text{Prot}}$ , mg/m<sup>2</sup>) en función de la concentración inicial de proteína ( $C^\circ$ , mg/mL). Las densidades de proteína total unida a la superficie de las partículas (barras marrones) se compara con las densidades de proteína ligada en forma covalente (barras naranjas) determinadas después del proceso de desorción con Tritón X-100. El porcentaje sobre las barras indica la fracción de proteína unida covalentemente.

#### 4. Aplicación de los Complejos Látex-Proteína en Ensayos de IA.

##### Evaluación Mediante el Método Visual

Durante el análisis mediante el método visual (Fig. 6), se utilizaron los complejos obtenidos con las proteínas recombinantes. En general, la IA se hizo visible a los 35-40 segundos con el suero control positivo. Sin embargo, para obtener una diferenciación significativa entre el suero control positivo y el negativo, se observó que el ensayo se debería leer después de 2 minutos, pudiéndose extender incluso hasta los 8-10 minutos. De resultados no mostrados por brevedad, se observó que si bien con los complejos obtenidos a partir de las proteínas recombinantes simples se obtuvo mayor velocidad de aglutinación, la misma resultó más clara con los complejos sintetizados en base a las proteínas recombinantes quiméricas.



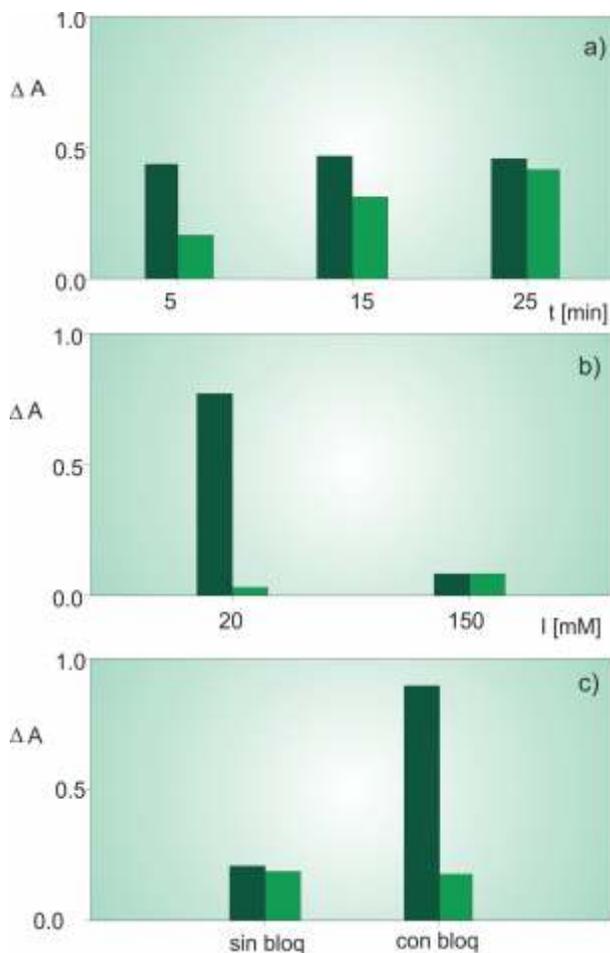
**Fig. 6:** Ensayo de IA detectado por el método visual a los 4 minutos de poner en contacto al suero control positivo (y al suero control negativo) con el complejo formado con el látex carboxilado y la proteína recombinante quimérica Q1.

#### Evaluación Mediante Turbidimetría

##### 4.a. Búsqueda de las Condiciones del Medio de Reacción

Debido a que la composición del medio de reacción juega un papel vital en el reconocimiento inmunológico, se la optimizó con el objetivo de obtener las condiciones de reacción que permitan maximizar la discriminación entre los sueros positivos y negativos. En base al complejo obtenido a partir de la proteína Q1 y el látex carboxilado, se analizó: **a)** el tiempo de reacción, es decir el intervalo entre la mezcla del suero con el complejo látex-proteína y la lectura de la absorbancia, haciendo mediciones a  $t = 5, 15$  y  $25$  min; **b)** la influencia de la fuerza iónica del medio de reacción, trabajando a valores de 20 y 150 mM; y **c)** la presencia de un agente bloqueante de los sitios que quedan libres sobre la superficie de las partículas después del proceso de sensibilización. Los resultados obtenidos se muestran en la Fig. 7.

Respecto del efecto del tiempo de reacción (Fig. 7a), se observó que los mejores resultados se obtuvieron a los 5 min. Al aumentar el tiempo, se incrementó la respuesta del suero negativo, dificultando la discriminación con el suero positivo. Esto podría deberse a la pérdida de estabilidad del complejo látex-proteína con el tiempo.



**Fig. 7:** Estudio de las condiciones de reacción: a) Influencia del tiempo de reacción; b) efecto de la fuerza iónica del medio; c) influencia de la presencia de agentes bloqueantes en el buffer de reacción. La respuesta del suero positivo (barras verdes oscuras) se compara con la respuesta del suero negativo (barras verdes claras).

En lo que refiere a la influencia de la fuerza iónica del medio de reacción en el que se llevó a cabo el inmunoensayo (Fig. 7b), se observó que la mayor discriminación entre el suero control positivo y el suero control negativo se obtuvo a baja fuerza iónica. En estas condiciones, las cadenas poliméricas situadas en la superficie de las partículas, y que poseen los Ags unidos covalentemente, se encuentran extendidas hacia la solución, lo que permite que los Ags queden más expuestos para interactuar con los Ac presentes en el suero. Por otra parte, la estabilidad de los complejos látex-proteína es mayor a baja fuerza iónica, debido a que tanto las proteínas como la superficie de las partículas están cargadas negativamente, lo que genera repulsión entre las partículas, evitando de este modo la aglutinación inespecífica. En cambio, a alta fuerza iónica, los Ags se encuentran más cercanos a la superficie de las partículas, dificultando la interacción Ag-Ac por impedimento estérico o bien por oclusión del sitio activo del Ag. Además, los complejos látex-proteína son menos estables a alta fuerza iónica, generando aglutinación inespecífica.

Cuando al buffer de reacción se le adicionó agentes bloqueantes, aumentó la interacción Ag-Ac y se logró disminuir las uniones inespecíficas (Fig. 7c). La presencia de estos agentes permite bloquear los sitios libres de las partículas, es decir, aquellos no ocupados por las proteínas antigénicas inmovilizadas durante la sensibilización. De esta manera, el Ac presente en el suero al que será expuesto posteriormente el complejo látex-proteína, tiene mayor posibilidad de unirse específicamente al Ag, y se evita su unión de manera inespecífica sobre la superficie de la partícula.

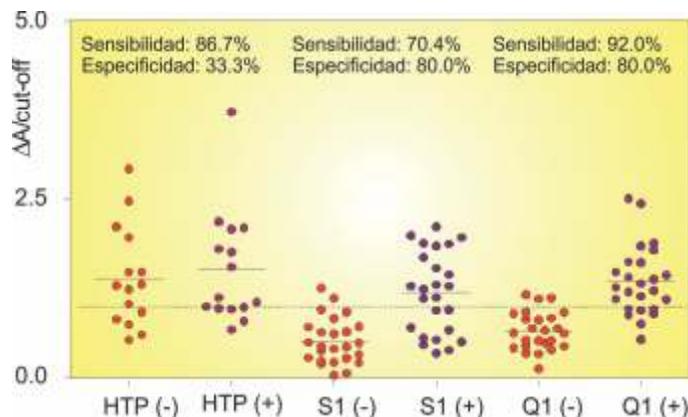
#### 4.b. Evaluación de la Sensibilidad y de la Especificidad del Inmunoensayo frente a un Panel de Sueros

En una primera instancia, se consideró la aplicación de los complejos látex-proteína obtenidos a partir de los látex carboxilados y de los distintos Ags (HTP, proteínas recombinantes simples y proteínas recombinantes quiméricas) en ensayos de IA, siguiendo las reacciones Ag-Ac mediante turbidimetría. En la Fig. 8 se muestran las distribuciones de  $\Delta A$  relativas ( $\Delta A/\text{cut-off}$ ) de los diferentes complejos desarrollados a partir del HTP, de la proteína recombinante simple S1 y de la proteína recombinante quimérica Q1.

Los complejos látex-HTP no permitieron diferenciar sueros positivos de negativos, debido a que presentan muy baja especificidad (33.3%). Además, debido a que el HTP está compuesto por una mezcla indefinida de proteínas, la cual varía en función de la cepa del parásito y del estadio de desarrollo del mismo, suelen observarse variaciones en la reproductibilidad y en la confiabilidad de los resultados; y dificultades para estandarizar el método de diagnóstico.

Cuando se trabajó con proteínas recombinantes simples, el ensayo mostró mayor especificidad (menor cantidad de falsos positivos) que cuando se utilizó el HTP. Sin embargo, la sensibilidad fue baja (70.4%). Cuando se utilizó proteínas quiméricas, la especificidad del ensayo se mantuvo respecto de las simples (80.0%), pero la sensibilidad aumentó (92.0%), disminuyendo la cantidad de falsos negativos. Esto puede estar relacionado al hecho de que al aumentar el número de determinantes antigénicos presentes en

la proteína, aumenta la posibilidad de que éstos sean reconocidos por los Ac presentes en el suero, lo que se refleja en una mayor sensibilidad del ensayo. La ventaja adicional de utilizar proteínas quiméricas es que permiten diagnosticar la enfermedad de Chagas tanto en la etapa aguda, como en la crónica, debido a los Ags que las componen.



**Fig. 8:** Distribuciones de  $\Delta A$  relativas obtenidas con los complejos sintetizados a partir del látex carboxilado y las proteínas HTP, S1 y Q1. Los segmentos horizontales continuos muestran los valores medios en cada ensayo, mientras que la línea horizontal punteada indica el valor de corte para discriminar entre sueros positivos y sueros negativos.

En cuanto al análisis del panel de sueros *Leishmania* positivos, con el complejo formado con el HTP fue imposible discriminar si el paciente está infectado con *T. cruzi* o *Leishmania* spp. Esto es debido al fenómeno de la reacción cruzada Chagas-Leishmaniasis, que se genera por la similitud entre los Ags de ambos parásitos. A diferencia de lo observado con el HTP, ningún suero positivo para Leishmaniasis reaccionó con

los complejos formados con las proteínas recombinantes.

Finalmente, se analizaron los complejos obtenidos con el látex con funcionalidad acetal y se comparó su respuesta durante los inmunoensayos, con la obtenida al utilizar los complejos basados en los látex con funcionalidad carboxilo. En la Fig. 9 se observa que, empleando la misma proteína, el complejo obtenido a partir del látex carboxilado permite discriminar mejor los sueros positivos y negativos, mostrando el ensayo mayor sensibilidad y especificidad. Por lo antedicho, los complejos obtenidos a partir del látex con funcionalidad acetal son menos eficientes para discriminar entre sueros positivos y negativos, probablemente debido a la baja c.c.c., baja densidad de carga superficial, y baja cantidad de grupos funcionales superficiales que presentan, respecto de los látex carboxilados. Además, los complejos formados a partir de los látex con funcionalidad acetal, presentan baja estabilidad en el tiempo, debido a que las iminas formadas durante el proceso de sensibilización (Fig. 3) poseen un doble enlace inestable, que se hidroliza fácilmente produciendo la separación entre la proteína y la superficie del látex.

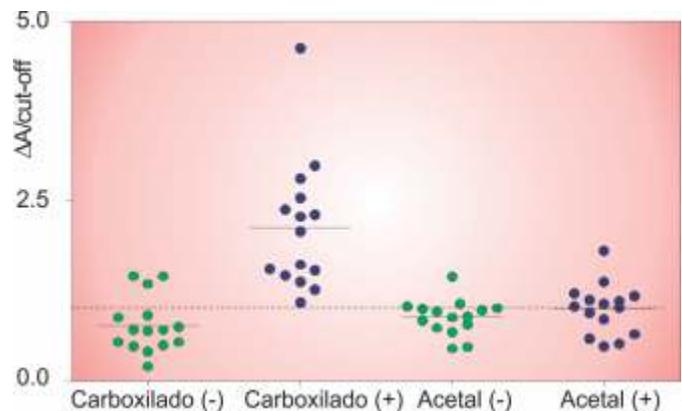


Fig. 9. Discriminación de sueros positivos y negativos, utilizando los complejos obtenidos con el látex carboxilado (o con el látex con funcionalidad acetal) y la proteína recombinante química Q1. Los segmentos horizontales continuos muestran los valores medios, mientras que la línea horizontal punteada indica el valor de corte para discriminar entre positivos y negativos.

## CONCLUSIONES

Se sintetizaron partículas de látex “monodispersas” de tipo “core-shell” con funcionalidades carboxilo y acetal, que sirvieron como soporte para el acoplamiento covalente de distintas proteínas antigénicas del T. cruzi. La síntesis de los látex se realizó en dos etapas, definiéndose en la primera (producción de la siembra de PS) el tamaño de las partículas; y controlando en la segunda (copolimerización sobre siembra PS) el tipo de funcionalidad y la densidad de carga superficial.

En la etapa de sensibilización de las partículas de látex con los Ags, se observó un mayor porcentaje de proteína unida covalentemente cuando se trabajó con los Ags recombinantes, lo que haría innecesaria

la etapa de desorción con emulsificante de la pequeña fracción adsorbida físicamente, previa a la utilización de los complejos.

Debido a que la composición del medio de reacción donde se realiza el ensayo de IA juega un papel vital en el reconocimiento inmunológico, se la optimizó a fin de obtener condiciones capaces de maximizar la discriminación entre sueros positivos y negativos. Los mejores resultados se obtuvieron a los 5 minutos de reacción, trabajando a baja fuerza iónica y en presencia de agentes bloqueantes en el buffer de reacción. El control cuidadoso de estos parámetros fue necesario para mejorar la sensibilidad en el ensayo de IA y para minimizar la unión no específica.

Los diferentes complejos látex-proteína sintetizados, se evaluaron como reactivos de IA en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, frente a un panel de sueros positivos para Chagas, sueros positivos para Leishmaniasis y sueros negativos para ambas parasitemias. Durante la evaluación del rendimiento antigénico del HTP se observó que las distribuciones de  $\Delta A$  relativas obtenidas para sueros positivos y para sueros negativos, resultaron muy similares, y que todos los sueros *Leishmania* positivos fueron reactivos, lo que refleja una muy baja especificidad de este complejo para ser utilizado en ensayos de IA.

Al utilizar complejos obtenidos a partir de las proteínas recombinantes simples, mejoró la discriminación entre sueros positivos y negativos, pero con un elevado número de falsos negativos. En cambio, los complejos sintetizados a partir de las proteínas recombinantes quiméricas permitieron una importante reducción de los falsos negativos, lo que generó un aumen-

to de la sensibilidad del ensayo. Además, ninguna de las proteínas recombinantes dio reacción con los sueros de pacientes con Leishmaniasis, lo cual indica que dichas proteínas son más específicas para la detección de Ac anti-*T. cruzi* que las obtenidas del HTP, debido a que codifican epítopes específicos del parásito.

El empleo de proteínas recombinantes en ensayos de IA, y el uso de proteínas quiméricas en particular, han posibilitado mejorar la sensibilidad y especificidad del ensayo, transformando a esta técnica en una herramienta atractiva para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Ella ha permitido detectar en forma precoz e *in situ*, pacientes con enfermedad de Chagas, tanto en la fase aguda como crónica de la enfermedad, con calidad diagnóstica y a bajo costo, lo que la haría accesible a la mayoría de la población de escasos recursos. Además, el ensayo presenta la facilidad que no requiere instrumental específico, pudiéndose aplicar directamente en campo.

## :: REFERENCIAS

- [1] Organización Mundial de la Salud (2010) [www.who.int/entety/mediantiquerposentre/anticuerpostsheets/fs340/es-31k](http://www.who.int/entety/mediantiquerposentre/anticuerpostsheets/fs340/es-31k)
- [2] Reacción de aglutinación de partículas de látex para diagnóstico de la enfermedad de Chagas, J. Cerisola, M. Alvarez, J. Wynne de Martín, *Medicina*, 40(1) (1980) 132-136.
- [3] Latex of immunodiagnosis for detecting the Chagas disease: II. Chemical coupling of antigen Ag36 onto carboxylated latexes, V. Gonzalez, L. Gugliotta, G. Meira, *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 19(2) (2008) 789-795.
- [4] Immunodiagnosis of Chagas disease: Synthesis of three latex-

protein complexes containing different antigens of *Trypanosoma cruzi*. V. Gonzalez, V. Garcia, J. Vega, I. Marcipar, G. Meira, L.M., Gugliotta, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 77(1) (2010) 12-17.

**[5]** Latex of immunodiagnosis for detecting the Chagas disease. I. Synthesis of the base carboxylated latex, V. Gonzalez, L. Gugliotta, G. Meira, *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 19(2) (2008) 777-788.

**[6]** Síntesis y Caracterización de un Látex Monodisperso Carboxilado y Sensibilizado para Detectar la Enfermedad de Chagas, V. Gonzalez, Tesis Doctoral, Univ. Nac. del Litoral, Fac. Ing. Qca., Santa Fe, Argentina (2004).

**[7]** Reactivo de Inmunoaglutinación para Detectar Infección por *Trypanosoma cruzi* (CP1), L. Gugliotta, J. Vega, V. Gonzalez, V. Garcia, I.S. Marcipar, G. Meira, Patente de Invención P-0110102351, solicitada al Instituto Nacional de la Propiedad Industrial (INPI) (2011).

**[8]** Reactivo de Inmunoaglutinación para Detectar Infección por *Trypanosoma cruzi* (FRA), L. Gugliotta, J. Vega, V. Gonzalez, V. Garcia, I. Marcipar, Patente de Invención P-0110102349, solicitada al Instituto Nacional de la Propiedad Industrial (INPI) (2011).

**[9]** Reactivo de Inmunoaglutinación para Detectar Infección por *Trypanosoma cruzi* (B13), L. Gugliotta, J. Vega, V. Gonzalez, V. Garcia, I. Marcipar, P. Caudana, Patente de Invención P-0110102348, solicitada al Instituto Nacional de la Propiedad Industrial (INPI) (2011).

**[10]** Reactivo de Inmunoaglutinación para Detectar Infección por *Trypanosoma cruzi* (CP2), L. Gugliotta, J. Vega, V. Gonzalez, V. Garcia, I. Marcipar, P. Caudana, Patente de Invención P-0110102350, solicitada al Instituto Nacional de la Propiedad Industrial (INPI) (2011).

**[11]** Obtención de un Reactivo de Inmunoaglutinación para el Diagnostico de la Infección por *Trypanosoma Cruzii*, V. Garcia, Tesis de Doctorado, Univ. Nac. del Litoral, Fac. Ing. Qca., Santa Fe, Argentina (2011).

**[12]** Synthesis and Characterization of Carboxyl and Acetal Latexes by Emulsion Polymerization. Application to the Production of Latex-Protein Complexes for Detecting Chagas Disease, V. Garcia, V. Gonzalez, J. Vega, I. Marcipar, L. Gugliotta,

*Latin American Applied Research*, 42(4) (2013) 405-412.

**[13]** Synthesis of Latex-Antigen Complexes from Single and Multiepitope Recombinant Proteins. Application in Immunoagglutination Assays for the Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* Infection, V. Garcia, V. Gonzalez, P. Caudana, J. Vega, I. Marcipar, L. Gugliotta, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 101 (2013) 384-391.

**[14]** Métodos de investigación clínica y epidemiológica, J. Argimón Pallás, J. Jiménez Vila, Ed Harcourt 2006.

**[15]** Serodiagnosis of Chronic and Acute Chagas' Disease with *Trypanosoma cruzi* Recombinant Proteins: Results of a Collaborative Study in Six Latin American Countries, E. Umezawa, A. Luquetti, G. Levitus, C. Ponce, E. Ponce, D. Henriquez, S. Revollo, B. Espinoza, O. Sousa, B. Khan, J. da Silveira, *J. Clin. Microbiol.* 42 (2004) 449-452.

**[16]** Use of Full-Length Recombinant Calflagin and Its C Fragment for Improvement of Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* Infection, I. Marcipar, C. Roodveldt, G. Corradi, M. Cabeza, M. Brito, L. Winter, A. Marcipar, A. Silber, *J. Clin. Microbiol.* 43 (2005) 5498-5503.

**[17]** Design, Construction, and Evaluation of a Specific Chimeric Antigen To Diagnose Chagasic Infection, S. Aguirre, A. Silver, M. Brito, M. Ribone, C. Lantigenosier, I. Marcipar, *J. Clin. Microbiol.* 44 (2006) 103768-103774.

**[18]** Comparison of recombinant *Trypanosoma cruzi* peptide mixture versus multiepitope chimeric proteins as sensitizing antigens for immunodiagnosis, C. Camussone, V. Gonzalez, M. Belluzo, N. Pujato, M. Ribone, C. Lagier, I. Marcipar, *Clinical and Vaccine Immunology*, 16(6) (2009) 899-905.

**[19]** Síntesis, caracterización y aplicaciones de coloides polimérico con funcionalidad aldehído y acetal, R.M. Santos-Pérez, Tesis Doctoral, Univ. del País Vasco (1997).

**[20]** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, U. Laemmli, *Nature*, 227 (5259) (1970) 680-685.

**[21]** Inefficiency of diagnostic efficiency, M. Zweig, *Clin. Chem.*, 38(1) (1992) 163-164.

## ADDITIVE MANUFACTURING: CHALLENGES FOR NEW MATERIALS DEVELOPMENT FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Jorge Vicente Lopes da Silva and Rodrigo Alvarenga Rezende

*Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer - CTI*

### :: RESUMEN

Este artículo presenta una visión resumida del área de Manufactura Aditiva donde se incluye la clasificación de los procesos disponibles, separados en categoría y resaltados por su importancia. Para la ciencia de los materiales, la manufactura aditiva representa aún un desafío en el desarrollo y evolución de nuevos materiales con propiedades requeridas que pueden ser utilizados en uno de estos procesos aditivos. Teóricamente cualquier forma geométrica puede ser producida con la manufactura aditiva, ya que permite controlar la estructura del material, como por ejemplo, los poros. Por tanto, las aplicaciones pueden variar yendo desde las artes, la industria aeroespacial, la medicina y la ingeniería de tejidos. En particular, este artículo se avoca a las aplicaciones en el área médica mostrando las oportunidades para los científicos dedicados a la ciencia de los materiales, para que puedan desarrollar, manipular y utilizar materiales como polímeros naturales o sintéticos, cerámicos, metales y sus mezclas, además de materiales biológicos como agregados celulares que potencial-

mente pueden producir nuevos tejidos u órganos. Este trabajo ha sido ilustrado con ejemplos de implantes permanentes, andamios para ingeniería de tejidos (scaffolds) y con el potencial de producción de tejidos utilizando la manufactura aditiva. La intención del mismo no es hacer una revisión sistemática de la literatura científica, sino más bien ofrecer una visión general de las potencialidades de esta nueva tecnología enfocada en la medicina, apoyados por algunas actividades desarrolladas en el Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer – CTI ubicado en Campinas - Brasil. El artículo es una compilación de una conferencia plenaria impartida durante el 4o Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia de Materiales llevado a cabo en Mar del Plata – Argentina en Octubre de 2012.

### :: ABSTRACT

This article presents an overview of the additive manufacturing area. The presented processes are classified in categories and the most important are high-

lighted. For material science, additive manufacturing is a challenge in order to customize and develop new materials with required properties that can be used in an additive processes. Theoretically, any shape can be produced using additive manufacturing with controlled structures in the material, such as engineered porosity, for example. Therefore, applications are expected to span from art to tissue engineering passing through aerospace and medical fields. This article highlights applications in the medical area showing opportunities for material scientists to develop, manipulate and use materials like natural and synthetic polymers, ceramics, and metals and its alloys, and even biological materials like cell aggregates to potentially produce new tissues or organs. We illustrate with examples of permanent implants, scaffolds and the potentialities for tissue productions with additive manufacturing. The purpose of the article is not to make a review of the area but to give a broad vision of the potential of this relatively new technology with a focus in medicine illustrated by some activities developed at Renato Archer Information Technology Center – CTI, in Brazil. This is mainly a compilation of a lecture presented at the 4th Meeting of Young Researchers in Material Science held in Mar del Plata –Argentina in October 2012.

## :: INTRODUCTION

The term 3D printing encompasses a broad class of processes based on continuous deposition of material layer-by-layer until a physical object is built as shown in Figure 1. Originally the name for this class of

process was rapid prototyping in the sense that a prototype of a product could be quickly and automatically created from a computational model. A prototype is the first of a series that is being used in many different industries to speed up new product development processes. The first Rapid prototyping process was first launched in 1986 by the 3D Systems Company, in the USA, showing a stereolithography machine where a photopolymeric resin can be hardened by the incidence of an ultraviolet laser beam with movement controlled by a computer [1]. Since then, a myriad of processes using many materials are available commercially and others are in development at many research laboratories.

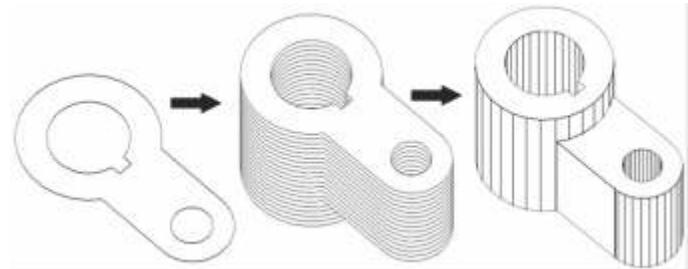


Fig. 1: Physical object built layer-by-layer

Nowadays, 3D printing or rapid prototyping is turning into a manufacturing focused process and a Committee (F42) of American Society for Testing and Materials –ASTM was established in 2009 to deal with it. This committee defined the official name of the technology as “additive manufacturing”. ASTM is also inte-

grating efforts with ISO (261 Technical Committee) in the area of test methods, processes, materials, terminology and design. It includes a new Standard Specification for Additive Manufacturing File Format – AMF for a better and more complete representation of complex objects [2].

In this article we will use from now on the term additive manufacturing to be compliant with the standards but 3D printing, rapid prototyping, solid freeform fabrication and others are still used as synonyms.

The aim of this article is to describe the classes of additive manufacturing processes with focus on material development challenges for this fast growing field and some applications.

## ❖ ADDITIVE MANUFACTURING PROCESSES

There are more than 30 commercial additive manufacturing processes with economic importance. In 2012 the International Committee F42 on Additive Manufacturing of ASTM voted on a list of process category, names and definitions. The available processes are included in one of the following categories, according to the definition of ASTM [3]:

- *Material extrusion* is an additive manufacturing process in which the material is selectively dispensed through a nozzle or orifice.
- *Material jetting* is an additive manufacturing process in which droplets of build material are selectively deposited.
- *Binder jetting* is an additive manufacturing process in

which a liquid bonding agent is selectively deposited.

- *Sheet lamination* is an additive manufacturing process in which sheets of material are bonded to form an object.
- *Vat photopolymerization* is an additive manufacturing process in which liquid photopolymer in a vat is selectively cured by light-activated polymerization.
- *Powder bed fusion* is an additive manufacturing process in which thermal energy selectively fuses regions of a powder bed.
- *Directed energy deposition* is an additive manufacturing process in which focused thermal energy is used to fuse materials by melting as the material is being deposited.

This is a valid categorization based on what is known at the moment but new processes will be developed and the standard has to be flexible to include them as new categories.

Those processes have in common the fact that they produce physical objects from a virtual model representation in a computer, frequently a CAD - Computer-Aided Design - model, and continuously depositing one layer of material upon another. This opens up new possibilities to produce complex or impossible geometries when using regular production processes.

Some pros and cons can be highlighted when comparing additive manufacturing to conventional process:

- *Energy optimization*: implies the use of energy only to transform the material necessary. Conversely to conventional process, as metal process for example,

in which a material is transformed in a block of bulk material that is milled and the big amount of chips has to be reprocessed into a new block and so on.

•*Reduction in material waste:* means that the only necessary material is used to create parts. However, it is not completely true because sacrifice support structures sometimes are necessary and some materials, in special polymers, degrades with continuous use under heating. The reduction in logistic is also interesting since you can be able to produce parts in the site they are wanted reducing costs of transportation and stocking. In this sense NASA lunched some programs to include additive manufacturing in its operations to produce parts with added value for satellites and space exploration vehicles in space in the future. Most recently NASA embraced a program in cooperation with Washington State University that intends to use a moon material simulant with the same composition of moon grinded surface rocks to produce parts by means of selective laser sintering process.

•*Special tooling and speed:* generally additive manufacturing processes are slower than conventional processes but its capability is increasing in a very fast pace. It has some advantages producing small and very complex parts when compared to conventional processes. There is great flexibility to produce many different parts at the same time automatically without the necessity of special tooling and fixtures. The drawback of additive manufacturing processes is the depreciation of material properties, stiffness and surface finishing.

•*Design optimization:* the use of additive manufacturing allows the designer to produce complex shapes

and moving parts without the constraints of conventional production. Production of internal or hidden structures, conformal cooling channels, special passages for cables, pockets for embedded sensors, actuators and optics, are also possible. It can be useful to mimic any structure from nature like the complexity of a human anatomy. The former opens up a new area of development in CAD to represent complex structures from micro to macro sizes [4]. New processes and materials are becoming available to produce multimaterial, functional gradient material (FGM), and cellular structured materials. The multimaterial and is achieved using different materials that are mixed automatically by computer, creating what is being called digital material.

Although additive manufacturing is becoming an economically promising technology, it will be almost impossible that this technology can replace the mass production of parts or components. On the other hand, its flexibility and increasing offer of materials can be a great opportunity for specific production or small series as well as mass customization. Today the most appealing areas to expand additive manufacturing applications are the aerospace industry due to its complexity, small series production, medical and dentistry, due its highly customized solutions to fit a specific patient.

Additive manufacturing is blooming. It ranges today from highly specialized machine for serial production of metal or polymer parts to the experimental platforms with open source software and hardware that promises to change the production scenario the coming years [5]. An influential report of Gartner Group on emerging technologies situates additive manufactur-

ing (3D printing and 3D Bioprinting as it appears) in the technology trigger stage [6] meaning that a lot has to be done. Agencies from all over the world are investing in centers and roadmaps for this technology [7, 8, 9].

Beyond this, size is becoming a very interesting and important domain. Today it is already possible to produce parts in the micron world using, for example, a process called Two-Photon Polymerization (2PP) [10].

## ⚡ SOME COMMERCIAL PROCESSES

The most commonly used commercial processes of additive manufacturing are:

- *Stereolithography (SLA)*: It was the first commercially available process in 1986. In this process a laser beam of specific wavelength hits selectively the surface of a photopolymeric resin deposited in a vat. The resin gets hard to form a layer. Then, a platform inside the vat is moved down and another resin layer is photopolymerized. The process follows this sequence until finishing the part. Support structures are built with the same material and are broken down after taking out the part. It is a process in the category of Vat photopolymerization according to ASTM. In the beginning there were few materials available but today there are many possibilities. All of the available materials try to imitate the properties of regular material for industry.

- *Fused Deposition Modeling (FDM)*: It is the process where a filament of material and a filament of support material are automatically deposited on a platform by

means of a heated extrusion head. The process is repeated layer-by-layer until the physical model is finished. After, the support material is taken out by means of a process like ultra-sound bath. This is a process in the category of Material extrusion as defined by ASTM. This process produces accurate models in many different thermoplastic materials, including special engineering thermoplastics.

- *Selective Laser Sintering (SLS)*: It is the process where a laser beam transfers energy into a surface containing a thin layer of pre-heated powder material. A computer automatically controls the movement of the laser beam focus. The energy transferred by the laser beam fuses specific areas of the surface. After fusing one layer, another one is deposited and again the laser fuses this layer that will glue in the previous ones. This is repeated until the physical model is finished. The remaining not sintered powder is taken out after finishing. This process is located in the ASTM category of Powder bed fusion. It produces strong models in many different materials and composites. There are two other important commercial processes that can be classified in this category. The first is the Direct Metal Laser Sintering (DMLS) that uses the same concepts with a fiber laser to melts down materials with higher melting point like metals and alloys. The second process is Electron Beam Melting (EBM) that instead of using a laser it utilizes an electron beam to transfer energy to a metal or metallic alloy powder bed. In order to illustrate one of the processes, Figure 2 shows a diagram of a typical SLS system.

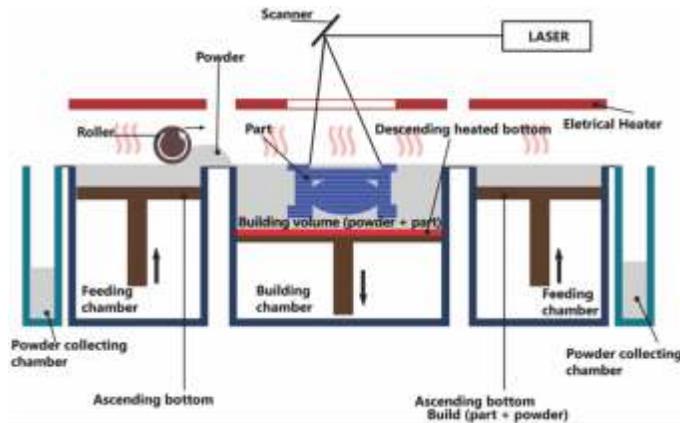


Fig. 2: Diagram of the SLS process

•**Multi Jet Modeling (MJM):** It is the additive process where a print head containing hundreds of nozzles selectively spreads in a surface a photopolymeric material that is cured by the incidence of a specific wavelength. Another print head spreads support material, normally in form of a gel that is also polymerized. It is a continuous process where the platform is lowered down a tenth of a millimeter for each layer. Finally, the support material is taken out with water jet. It is a process classified, according to ASTM, as Material Jetting. The company Objet Geometries calls this process Polyjet. Some of the Objet's machines are able to combine different material within a single 3D printed model. This company provides a myriad of material that mimics regular plastic materials.

•**3D Printing (3DP):** It is a process where a multinozzle print head selectively spreads a liquid binder in a plat-

form with a powder. The binder reacts with the powder to compose a layer while the platform is moved down. The process repeats until the end of the part. There is no necessity for support structures since the loose powder is responsible for stabilizing the part being built. After finishing, the loose powder is taken out and the part is infiltrated with resin to increase mechanical properties. ASTM classifies this process as Binder jetting. It is one of the most popular today because of the low costs of acquisition and operation.

## :: MATERIALS DEVELOPMENT FOR ADDITIVE MANUFACTURING

The ultimate goal of additive manufacturing processes is to produce physical models with known and predictable properties. The commercial additive manufacturing systems developers offer a huge amount of material choices but they are mostly specific for one process and many times for a specific machine. There are developers that have almost 60 different materials for their processes. Each of their material offer specific capability to meet specifications of form, fit, and function needs. Normally they defend their choices of proprietary arrangements promising the best features you need but it is mainly a matter of marketing. The additive manufacturing materials are very expensive and proprietary solutions are responsible for a big part of the developer's income.

In some processes the development of a new material that behaves like a well-established material in industry is challenging. Companies can offer commercially

different material of the type “ABS-like” or “Polyethylene-like”, among many others, that theoretically meet the required characteristics of a regular industrial material. In fact, it is not always true. Even when the suppliers specify their material as industrial grade the final part may have not the same properties of the injected or milled material found in regular production systems. Therefore, it is paramount that material scientists research new materials for additive manufacturing. These new materials have to meet real application requirements of the industry, with a minimum of waste in the processing and a maximum of functionality when in use.

Figure 3 depicts some basic possibilities of materials for additive manufacturing. The size of the circles corresponds to the market share of each type of material.

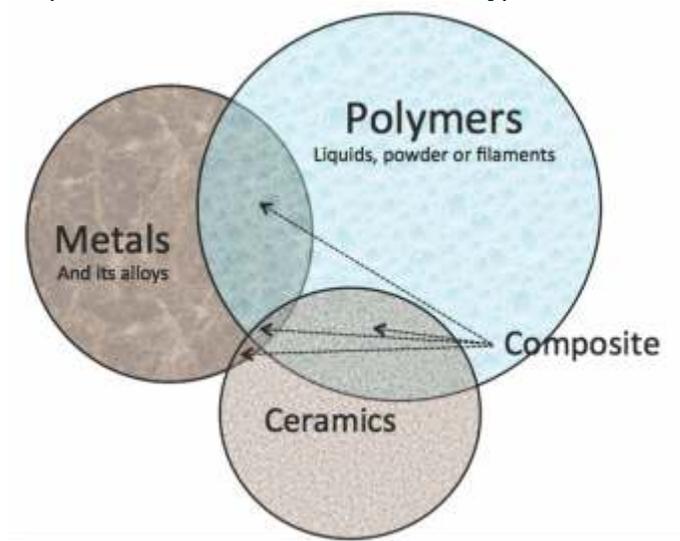


Fig. 3: Materials for additive manufacturing

- *Polymers*: It is the biggest class of material for additive manufacturing. The polymers can be a thermoset or a thermoplastic and can be found in many different forms like liquid, semi-liquid, powder, filaments and sheets, depending on the process to be utilized. The most important categories are the epoxies, acrylate epoxies, Acrylonitrile butadiene styrene (ABS), Polycarbonate, Polyphenylsulfone (PPSF), Polyamide (PA), polyetherimide (PEI), etc. The most common processes cited in this article that run polymers are SLA, Objet and SLS.

- *Metals*: this is the second biggest class of material for additive manufacturing. Theoretically any metal material or its alloy can be used if it is in powder form and the temperature is enough to reach the metal specific melting point. On the other hand, there are some intermediate processes that glue metal powder using a polymer and after the green part is fabricated it is sintered and infiltrated by a lower melting point metal in an oven like in the SLS process. Direct metal sintering and metal fusion are realized by DMLS and EBM processes, respectively. Sciaky Inc. produces an important metal wire-feed melting process using an electron beam or laser gun to melt the continuously fed wire. This process is being used to direct manufacture near net shape large parts for aeronautics. There are a huge list of metals and alloys and the most common are the various Stainless Steel alloys, Cobalt Chrome, Titanium Ti6Al4V-ELI, Titanium Grade 2, Inconel, Maraging Steel, Aluminum, and many others. Applications for added value industries and medical areas are growing very fast. Differently from polymer, metal parts are not made of “like-material” but the metal or alloy used is the real production material.

•**Ceramics:** This is the smallest class of regular material for additive manufacturing but with very promising developments and potential applications due the possibility to modulate material in a complex shape. There are different ways to process ceramic material:

**a)** Direct and indirect laser sintering of ceramic powders (SLS);

**b)** Movable print head selectively deposits a binder onto a platform (3DP);

**c)** sheets of ceramics can be laser cut, stacked and bonded using adhesives and heat (this process is known as Laminated Object Manufacturing - LOM);

**d)** ceramic particles in a semi-liquid or aqueous suspension can be extruded into a filament (FDM) and **e)** ceramic particles can be suspended into a photocurable liquid monomer, which can be selectively cured (SLA). The most common is the process 3DP where a liquid binder glues layers of material and after can be processed in an oven or infiltrated with resins to acquire mechanical resistance. Special sand can be sintered by means of the DMLS process to create molds for metal casting. The production of ceramic parts is very promising in industry due to the possibility to produce very complex shapes and modulate material properties. The ceramic area still misses accurate process development and applications. The materials mostly used are sand, gypsum, Zirconia, Silicon Nitride, Alumina, etc.

•**Composite materials:** Can assume any combination and it is very common to find materials like a polyamide matrix filled with additives like glass, alumi-

num or carbon fibers and photocurable resins with ceramic particles, especially for additive manufacturing microsystems (Ormosil - organically modified silica and Ormocer - organically modified ceramics, etc.).

## :: APPLICATIONS OF ADDITIVE MANUFACTURING IN MEDICINE

Applications of additive manufacturing range from art to tissue engineering. Figure 4 shows this broad area for additive processes. The applications shown in this article focuses on the additive manufacturing for the medical area. Our proposal is not to make a review of the area but show some applications in the medical field that are being developed at Renato Archer Information Technology Center - CTI, in Brazil.

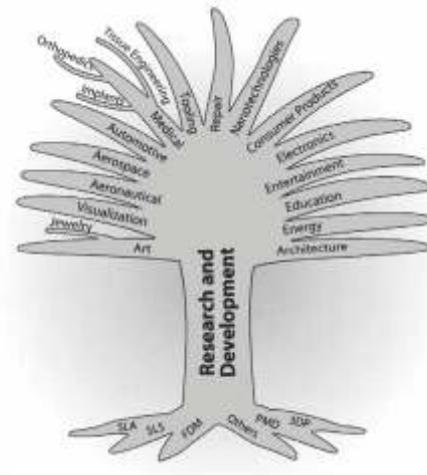


Fig. 4: Areas of application of Additive manufacturing [11]

The combination of additive manufacturing and biomaterials is paramount as a natural solution for medical areas in the near future. By means of Computerized - CT Tomography or Magnetic Resonance Imaging – MRI, a patient specific modeling can be done overtaking anatomical complexity. On the other hand, the biomaterials can be, theoretically, modulated in composition and in form for the specific application for either a temporary or permanent implant. However there are very few offers of biomaterials for additive manufacturing. The biomaterials available today that could be implanted are some metals like Titanium and its alloys, and Chrome-Cobalt alloys. The other biomaterials like polymers that comply with the certification ISO 10993 are not adequate yet for implants but only to be in temporary contact with body.

A natural evolution and growing challenging for research and development in the medical area is shown in the Figure 5. As the closer to a natural approach solution the more complex the solution is. Therefore, with the help of additive manufacturing processes, temporary and permanent implants can increase functionality and fit better in patients. Temporary structures for tissue healing (scaffolds) can be produced in a very effective way [12] and even new additive processes to produce organs and complex tissue can be pursued as organ bioprinting. In Figure 5, biofabrication encompasses the scaffold and the organ bioprinting approaches.

Some examples of permanent implants, surgical guides to improve surgery performance, scaffolds and organ bioprinting will be presented in this section in order to show the range of application in the medical

area.

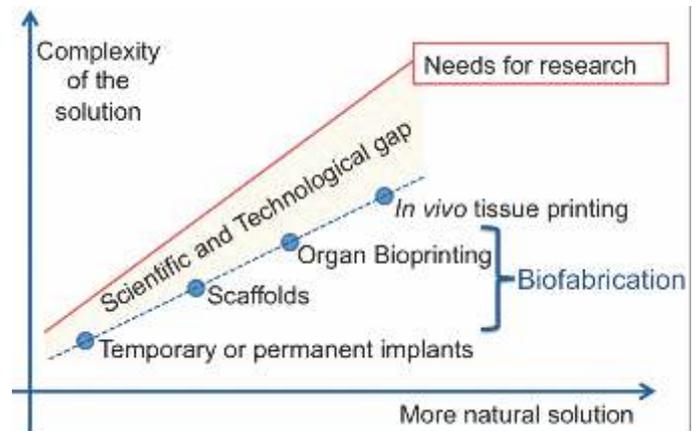


Fig. 5: Solutions to substitute or repair organ and tissues using additive manufacturing

## Permanent Implants

In what follows is presented an example of a human mandible reconstruction due to a tumor. Medical images from computerized tomography are acquired from the patient and a 3D model (STL file format) of the healthy part of the mandible is transformed into surfaces using the BioCAD approach [13] (see Figure 6(a)). The missing part of the mandible is redesigned considering biomechanical requirements to create the prosthesis. A mesh is then generated in Finite Element Methods – Figure 6(b), to simulate the bone and prosthesis made of Chrome-Cobalt medical alloy with the DMLS process – (Figure 6(c)). The prosthesis was fabricated in Chrome-Cobalt using the DMLS

additive manufacturing process (Figure 6(d)) [14]. However, this solution has not been approved yet by the national agencies on the world so far. For its actual use as implantation technique approval from ethical committees is necessary.

## Surgical Guide

In the Figure 7 a surgical guide for dental implants is developed specifically for the patient and realized in SLS process [15]. This guide can be sterilized and used as it is produced, adding some metal inserts in the holes (red circle). The guide is useful for translating surgical planning to operating room with precise depth and angulation control, avoiding risks to reach noble structures of the mandible like mandibular channel.



Fig. 7: Guide produced in SLS for dental implant surgery

## Scaffolds

Scaffolds are made of resorbable biomaterials with interconnected pores that will be used as a temporary structure for cell growing and proliferation in order to replace or repair a tissue or organ. This is a multidisciplinary approach and additive manufacturing appears as a very effective solution to produce scaffolds in various biomaterials in comparison with the traditional methods. With additive manufacturing, scaffolds can be directly produced in almost any material with a controlled morphology of the pore size and distribution in anatomical shapes from a CAD model.

Scaffolds can be made of natural or synthetic polymers, ceramics or any combination of the both. The most common biomaterials are hydroxyapatite, calcium phosphate, alginate, chitosan, Polyhydroxy-

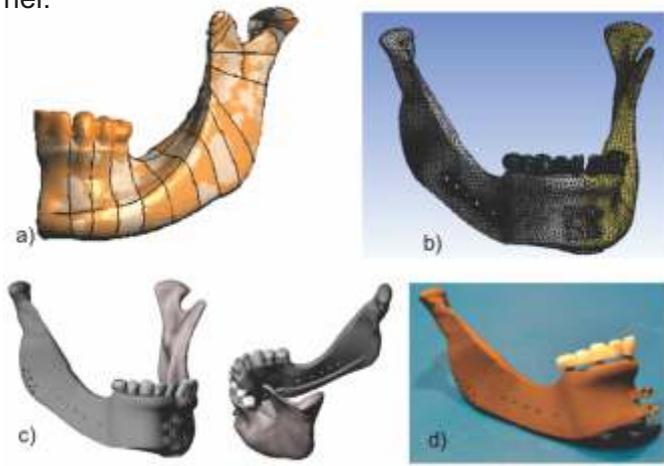
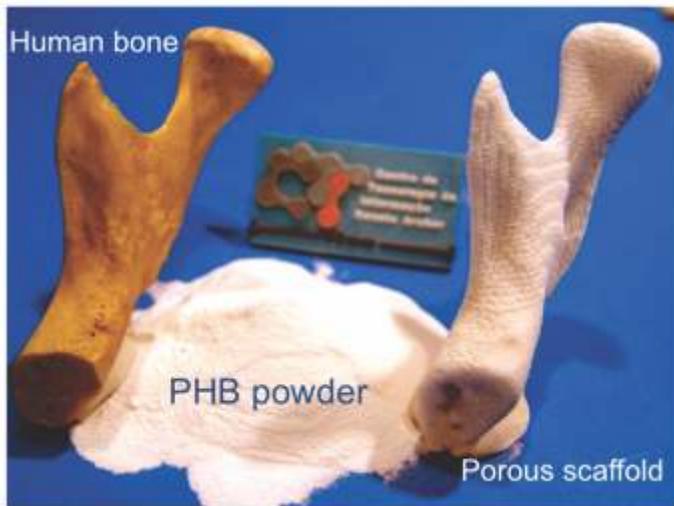


Fig. 6: A human mandible reconstruction and realization in DMLS additive manufacturing process

butyrate (PHB), Polycaprolactone (PCL), and Poly(lactic acid) (PLA).

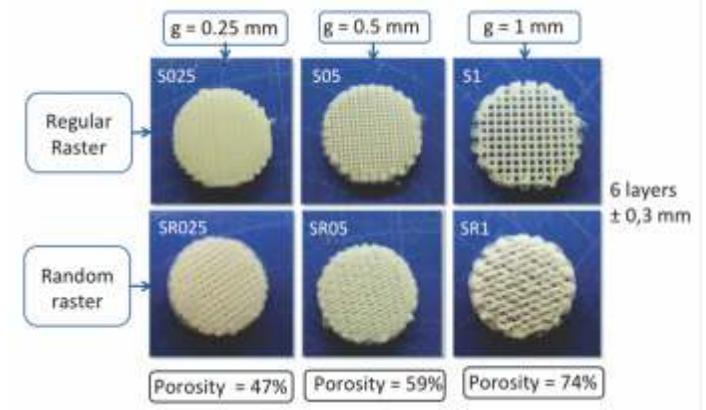
Figure 8 shows a scaffold structuration in the form of a human condyle using a commercial SLS machine (SinterStation 2000 -3D Systems) with Polyhydroxybutyrate (PHB), a natural polymer from sugar cane in powder [16]. This is an example of how to use commercial machines to give form to a non-commercial material. This is potentially interesting for tissue engineering of bones.



**Fig. 8:** Polyhydroxybutyrate porous scaffold mimicking a human condyle produced in SLS process

Experimental platforms for additive manufacturing are becoming of common use. In 2006 CTI developed an open platform called Fab@CTI [17] that has been used for many applications with high flexibility due to

the interchangeable strategy to use different materials in different forms. One of the applications developed was the production of scaffolds in Polycaprolactone (PCL). Figure 9 shows some results of scaffolds discs with different porous configuration [18]. Scaffolds of Poly(lactic acid) (PLA) were also produced in this platform [19].



**Fig. 9:** PCL scaffolds produced in Fab@CTI machine with different strategies

## Organ Bioprinting

Organ bioprinting is a branch of biofabrication appearing as a novel scaffold-free approach for tissue or organ production that uses a layer-by-layer additive automatic process to deposit tissue spheroids, in a controlled way, as building blocks [20, 21]. Basically, a tissue spheroid is a microtissue composed by cell aggregates that will be enveloped by some type of

hydrogel. Tissue spheroids contain high density of cells. When a 3D printer dispenses them, they start to fuse automatically by surface tension as a natural self-assembly behaving as a fluid. Therefore, tissue spheroids have been considered as a special type of material.

Organ printing includes three main sequential steps: the design of the organ “blueprint” with special imaging and Computer-Aided Design software (pre-processing), the actual printing by means of 3D printers (processing), and the accelerated tissue maturation with bioreactors (post-processing) [22]. These three phases – design, production and maturation – can be seen in the Figure 10. Computing simulation is a tool of great importance in all of the steps for better understanding and ideal design of the equipment and their integration.

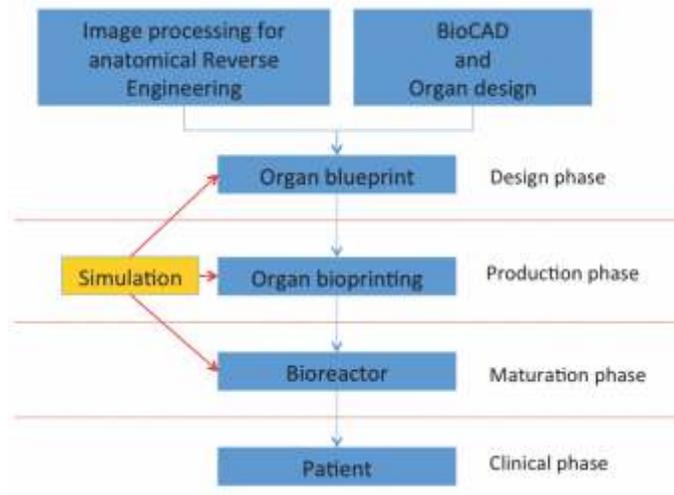


Fig. 10: Steps for organ production

## Lockyball approach

A novelty which has been developed at CTI, named 'lockyball', is characterized by a structure that contains hooks and loops in such way one can be attached to another as it happens with the Velcro® concept. The main goal is to create a hollow volume to encapsulate tissue spheroids. The advantages are the mechanical structuring and the avoidance of premature spheroids fusion. Lockyballs designed at CTI were tested in many different configurations regarding the level of lockability (see Figure 11(a)). After many tests using SLS models one was chosen as the preferred configuration and scaled down to the size of 200  $\mu\text{m}$  of diameter and produced in Two-Photon Polymerization (2PP) equipment using Ormocer resin as building material (Figure 11(b)) [23].

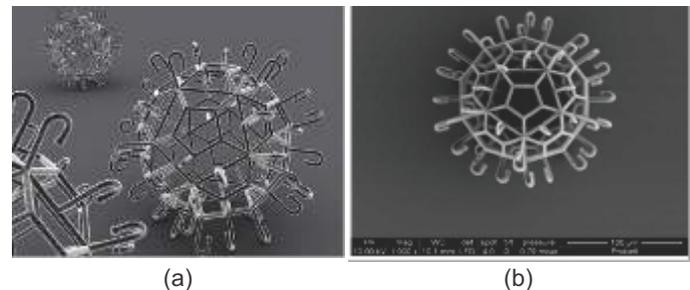
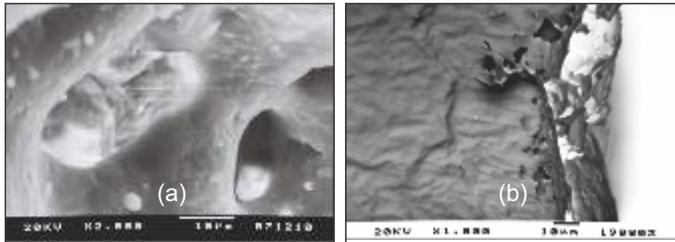


Fig. 11: Lockyball CAD design (a) and printed at Two-Photon Polymerization (b)

Lockyballs are expected to be useful as a self-structured filling material to repair bone and cartilage tissues without the use of traditional scaffolds [24].

## Post Processing of additive manufacturing parts

Additive manufactured produced parts with complex surface that can be coated by various methods. Bandeira et al. [25] treated the surface of polyamide (PA 12) parts obtained by SLS process by means of a dip-coating method with a sol-gel to obtain a calcium phosphate film. It is claimed to be a fast and simple chemical process not requiring the use of heat treatment or high pressure. Figure 12 shows a surface treatment process of PA12. The most challenging fact in surface functionalization is the geometrical complexity that an additive manufacturing part can assume with internal and external details that are not easily reachable.



**Fig. 12:** Surface coating of PA12 using Sol-gel process. Before treatment (a) and after treatment (b) [25]

## :: FINAL REMARKS

Additive manufacturing appears as a novel multidisciplinary area of research and development. The scientific and regular media are paying great attention to this subject. Indeed, the most industrialized countries are currently establishing research centers and governmental policies to incorporate additive manufac-

turing as a new industrial revolution. Many applications are consolidated in the industry and new challenging areas as medicine, are still an open field for material scientists. However the additive manufacturing still needs strong developments to get out of its infancy, even in more consolidated areas of industry. Within new areas like organ printing, despite its great potential, many years of advanced research will be necessary before reaching a mature stage of its development.

## :: ACKNOWLEDGEMENTS

This work has been funded by the São Paulo Research Foundation (FAPESP), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) through CTI/PCI program, by the Brazilian Institute of Biofabrication (INCT-Biofabris) and by the European Union under the grant FP7-PEOPLE-2009-IRSES-247476 – IREBID Project - Exchange for Biomedical Devices Design and Prototyping.

Special thanks to Dr. Gustavo Abrahan and Dr. Silvia Simison from INTEMA - Instituto de investigación en Ciencia y Tecnología de Materiales and Universidad Nacional de Mar del Plata for the invitation to give a lecture in 4th JIM. Thanks also for the very kind and warm reception in Mar del Plata.

## :: REFERENCES

- [1] Rapid Prototyping-Concept, Applications, and Potential Utilization in Brazil, J.V. Silva et al., In: 15th International Conference on CAD/CAM, Robotics and Factories of the Future, Águas de Lindóia, (1999) CT2-20-CT2-25.
- [2] <http://www.astm.org/COMMITTEE/F42.htm>

- [3] Wohlers Report: Additive Manufacturing and 3D Printing State of Industry, T. Wohlers, Wohlers Associates, (2012).
- [4] Procedural Function-based Spatial Microstructures, A. Pasko, T. Vilbrandt, O. Fryazinov, V. Adzhiev, Technical Report TR-NCCA-2009-02, Bournemouth University, UK, (2009).
- [5] The third industrial revolution, The digitisation of manufacturing will transform the way goods are made and change the politics of jobs too, The Economist, 21st April 2012.
- [6] Report on emerging Technologies 2011. Available at: [http://www.gartner.com/hc/images/215650\\_0001.gif](http://www.gartner.com/hc/images/215650_0001.gif)
- [7] Additive Manufacturing Technology Roadmap for Australia. Created by Wohlers Associates. Fort Collins, Colorado, EUA, (2011).
- [8] <http://www.commerce.gov/news/press-releases/2012/08/16/obama-administration-announces-new-public-private-partnership-support>.
- [9] Shaping our National Competency in Additive Manufacturing, R. Quarshie et al., Materials KTN, (2012) 31 pages.
- [10] Three-Dimensional Microfabrication by Two-Photon Polymerization Technique Computer-Aided Tissue Engineering, A. Ovshnikov, B. Chichkov, Methods in Molecular Biology, 868 (2012) 311-325.
- [11] Biomedical production of implants by additive electro-chemical and physical processes, P. Bártolo, J.P. Kruth, J. Silva, G. Levy, A. Malshe, K. Rajurkar, M. Mitsuishi, J. Ciurana, M. Leu. CIRP Annals - Manufacturing Technology, 61(2) (2012) 635-655.
- [12] Roadmap for Additive Manufacturing: Identifying the Future of Freeform Processing, Edited by David L. Bourell et alia, 2009.
- [13] A comparison between BioCAD and some known methods for finite element model generation, P. Noritomi, T. Xavier, J.V. Silva, In: 5th International Conference on Advanced Research and Rapid Prototyping, Leiria, Innovative Developments in Virtual and Physical Prototyping. London: Taylor and Francis Group, 1 (2011) 685-690.
- [14] Mandible Reconstruction Using an Additive Manufacturing Technology, J. Delgado, C. A. R. Lauretti, A. Camilo, J.V.L. Silva, L. Sereno, J. Ciurana, In: 1st International Conference on Design and Processes for Medical Devices, 2012, Brescia. Proceedings of the 1st International Conference on Design and Processes for Medical Devices PROMED. Rivoli: Neos Edizione srl, 1 (2012) 275-278.
- [15] Accuracy and Complications of Computer-Designed Selective Laser Sintering Surgical Guides for Flapless Dental Implant Placement and Immediate Definitive Prosthesis Installation, G. Di Giacomo, J.L. da Silva, A.M. da Silva, G. Paschoal, P. Cury, G. Szarf, Journal of Periodontology (1970), 1 (2011) 1-16.
- [16] Effect of process parameters on the properties of selective laser sintered Poly(3-hydroxybutyrate) scaffolds for bone tissue engineering, T. F. Pereira, M.A.C. Silva, M. F. Oliveira, I. A. Maia, J.V.L., M. F. Costa, R. M. Thiré, Virtual and Physical Prototyping (Print), 7 (2012) 275-285.
- [17] Construction and adaptation of an open source rapid prototyping machine for biomedical research purposes - a multinational collaborative development., A. Lixandrão Filho, P. Noritomi, J.V.L. Silva, P. Inforçatti Neto, P.Y. Cheung, N. Colangelo, H. Kang, J.T. Butcher, H. Lipson, In: 4th International Conference on advanced Research and Rapid Prototyping, 2010, Leiria. Innovative Developments in Design and Manufacturing. Londres: Taylor & Francis Group, 1 (2009) 469-473.
- [18] Additive Manufacturing to Build Polycaprolactone Scaffolds, A.L.C. Senedese, A. Lixandrão Filho, J.V.L. Silva, P. Inforçatti Neto, F.D.A.S. Pereira, R. Maciel Filho, In: 6º Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação, 2011, Caxias do Sul, Anais COBEF, (2011).
- [19] Producing polylactic acid scaffolds (PLA) by bioextrusion and degradation study during the manufacturing process, Z.C. Fermin, J.V.L. Silva, F.D.A.S. Pereira, P. Inforçatti Neto, M.A. Sabino, In: 1st International Conference on Design and Processes for Medical Devices, 2012, Brescia. Proceedings of the 1st International Conference on Design and Processes for Medical Devices Promed D. Rivoli: Neos Edizione srl, 1 (2012) 65-68.
- [20] Biofabrication: a 21st century manufacturing paradigm, V. Mironov, T. Trusk, V. Kasyanov, S. Little, R. Swaja, R. Markwald, Biofabrication, 1(2) (2009).
- [21] Bioprinting is coming of age: report from the International Conference on Bioprinting and Biofabrication in Bordeaux (3B'09), F. Guillemot, V. Mironov, M. Nakamura, Biofabrication, 2(1) (2010).
- [22] Organ printing: promises and challenges, V. Mironov, V. Kasyanov, C. Drake, R.R. Markwald, Regen Med., 3 (2008) 93-103.
- [23] Fabrication of microneedles using two photon polymerization for transdermal delivery of nanomaterials. A. Doraiswamy et al., Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 10 (10) (2010).
- [24] Design, physical prototyping and initial characterisation of "Lockyballs", R.A. Rezende, F.D.A.S. Pereira, V. Kasyanov, A. Ovshnikov, J. Torgensen, P. Gruber, J. Stampfl, K. Brakke, J.A. Nogueira, V. Mironov, J.V.L. da Silva, Virtual and Physical Prototyping (Print), 7 (2012) 287-301.
- [25] Effect of calcium phosphate coating on polyamide substrate for biomaterial applications, L.C. Bandeira, K.J. Ciuffi, P.S. Calefi, J.V.L. Silva, E.J. Nassar, M.F. Oliveira, I.A. Maia, I. Salvado, M.H.V. Fernandes, Journal of the Brazilian Chemical Society, 23 (2012) 810-817.

## PROGRAMA MATERIALES. SECRETARÍA DE CIENCIA, TECNOLOGÍA Y POSGRADO UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL

**Coordinadora:** Dra. Nancy Quaranta

**Asistente:** Ing. Romina Varoli

### :: MARCO INSTITUCIONAL

Diversas disposiciones en vigencia de la UTN expresan la necesidad de arbitrar medios para la promoción, coordinación, seguimiento y evaluación de las actividades Científico Tecnológicas de esta Universidad. Dichas acciones se potencian y proyectan adecuadamente cuando todas las actividades de un determinado campo de aplicación se organizan bajo la forma de un Programa, entendiendo como tal, al conjunto coordinado y autosuficiente de proyectos orientados hacia un mismo objetivo o hacia varios objetivos estrechamente relacionados entre sí, siendo inherente a dicho Programa consolidar una instancia de conducción centralizada que asegure coordinación, complementación de esfuerzos, interrelación, etc., optimizando medios y asignación de recursos.

El Programa Materiales-PROMAT ha sido creado en este marco por Resolución del Consejo Superior RCSUN°1814/07.

### :: OBJETIVOS

El Programa se enfoca a brindar especial atención a la formación de recursos humanos en Ciencia de Materiales tratando de seleccionar cursos o actividades que interesen e integren al mayor número posible de participantes del Programa, y en temáticas que se detecten como escasamente desarrolladas dentro de las consideradas imprescindibles para la consolidación de RRHH en esta área.

Otro objetivo importante es incentivar a los investigadores a la participación en Seminarios o Congresos sobre la temática específica, que se realicen periódicamente en el país y a nivel internacional, tratando además de generar un espacio dentro de la Universidad donde puedan intercambiarse conocimientos y acercar intereses entre los grupos propios y grupos de otras Universidades, Centros o Institutos con el fin de lograr una mayor "integración" de la Institución con el sistema científico argentino. Dicho marco resulta ideal para la capacitación de los jóvenes investigadores, doctorandos y maestrandos, tanto en la incorporación de nuevos conocimientos y

herramientas científicas, como en el desarrollo de las capacidades de expresión oral y escrita, que involucran redacción de trabajos, ajuste a normas de presentación, respuesta a referatos, diseño de presentaciones con ajustes de tiempo, etc.

Desde el Programa se pretende además establecer mecanismos y estrategias de búsqueda, análisis y selección de diferentes posibilidades de concreción de proyectos, mediante los distintos Programas de Investigación y Desarrollo, tanto en Organismos Nacionales, como Internacionales dedicados a tal fin. Se ha establecido una red de difusión interactiva entre los participantes del Programa Materiales de la UTN, e investigadores de estas temáticas externos a la Institución, que contribuye al conocimiento de las oportunidades disponibles y a la búsqueda de “socios” para presentaciones conjuntas.

### :: CONSEJO ASESOR DE PROMAT

El PROMAT cuenta con un Consejo Asesor que se renueva cada dos años y que está constituido por investigadores reconocidos en las temáticas que desarrollan, y que colaboran con la coordinación en tareas tales como evaluación de proyectos, sugerencias de actividades, etc. Ellos forman parte además del Comité Científico de las reuniones bianuales que organiza el Programa.

El Consejo Asesor actual del PROMAT está constituido por los siguientes integrantes:

**Dra. Patricia Vázquez**

Investigadora de CONICET, Profesora UNLP.

**Dra. Lilian Moro**

Investigadora y Profesora FRBB, UTN.

**Dra. Sonia Brühl**

Investigadora y Profesora FRCU, UTN.

**Dr. Eduardo Herrero**

Investigador y Profesor FRC, UTN.

**Dr. Javier Amalvy**

Investigador CIC, Profesor FRLP, UTN.

### :: LÍNEAS PRIORITARIAS I+D+i

La elección de las líneas temáticas prioritarias se realiza en base a los Lineamientos Estratégicos Nacionales de Ciencia, Tecnología e Innovación del Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología de la Nación Argentina, teniendo en cuenta además las áreas declaradas de interés por las Federaciones Internacionales de Materiales, y contemplando también las áreas de desarrollo de los proyectos que actualmente se llevan a cabo en la Universidad Tecnológica Nacional.

- Materiales de construcción civil y metalmecánica.
- Materiales nanoestructurados: desarrollos y aplicaciones.
- Superficies, interfaces y recubrimientos.
- Aprovechamiento de materiales residuales.
- Metales y aleaciones: fundición, solidificación, soldadura, termomecánica, etc.
- Materiales tecnológicos: catalizadores, cerámicos,

polímeros, biomateriales, materiales compuestos.

## :: ACTIVIDADES EN DESARROLLO

El PROMAT cuenta con un conjunto de investigadores que participan en proyectos de investigación acreditados y poseen amplia experiencia en el campo docente, desarrollando sus actividades en diversos Centros y Grupos de investigación. Su composición es muy dinámica y ha ido creciendo en los últimos años, contando en este momento con investigadores en 22 de las 29 sedes que la Universidad tiene en todo el país. Se encuentran en desarrollo 62 proyectos, que incorporan más de 200 investigadores, más de 40 doctorandos y un gran número de becarios-alumnos.

## :: CENTROS Y GRUPOS UTN

Dentro de la temática de Materiales, la UTN cuenta con varios Centros y Grupos de Investigación y Desarrollo, dependientes de la Universidad y radicados en distintas Facultades Regionales, cada uno de los cuales realiza actividades en diversos campos específicos. Dentro de ellos se pueden mencionar:

### FACULTAD REGIONAL CÓRDOBA

• **CINTEMAC** (Centro de Investigación en Tecnología de Materiales y Calidad).

Directora: Dra. María POSITIERI

R. CSU N° 517/12

• **CIQA** (Centro de Investigación y Transferencia en Ingeniería Química Ambiental)

Director: Ing. Héctor MACAÑO

R. CSU N° 815/11

• **CITeQ** (Centro de Investigación y Tecnología Química)

Director: Dr. Eduardo Renato HERRERO

R. CSU N° 740/95

• **NANOTEC** (Centro de Investigación en Nanociencia y Nanotecnología)

Director: Dr. Oscar ANUNZIATA

R. CSU N° 1804/11

### FACULTAD REGIONAL DELTA

• **CEA** (Centro de I+D en Energía y Ambiente)

Director: Ing. Carlos A. GARCÍA EBBENS

R. CSU N° 343/96

• **CENES** (Centros de Ensayos Estructurales)

Director: Dr. Vicente LESCANO

R. CSU N° 1504/10

**FACULTAD REGIONAL LA PLATA**

•**CITEMA** (Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Materiales)

Director: Dra. Elena Isabel BASADELLA

R. CSU N° 1099/11

•**LEMaC** (Centro de Investigaciones Viales)

Director: Ing. Hugo Gerardo BOTASSO

R. CSU N° 1265/02

**FACULTAD REGIONAL MENDOZA**

•**CEREDETEC** (Centro Regional de Desarrollos Tecnológicos para la Construcción, Sismología e Ingeniería Sísmica)

Director: Ing. Noemí Graciela MALDONADO

R. CSU N° 410/95

**FACULTAD REGIONAL SAN NICOLÁS**

•**DEYTEMA** (Centro de Desarrollo y Tecnología de Materiales)

Director: Dr. Edgardo Roque BENAVIDEZ

R. CSU N° 409/05

**FACULTAD REGIONAL SANTA FE**

•**CECOVI** (Centro de Investigación y Desarrollo para la Construcción y la Vivienda)

Director: Arq. Jorge CITRONI

R. CSU N° 739/95

**FACULTAD REGIONAL TUCUMÁN**

•**CEDIA** (Centro de Ingeniería Ambiental)

Director: Lic. Juan Carlos Pérez

R. CSU N° 741/95

**GRUPOS UTN****FACULTAD REGIONAL BAHÍA BLANCA**

•**GEMAT** (Grupo de Estudios de Materiales)

Director: Dra. Lilian Dina MORO

R. CSU N° 1503/10

**FACULTAD REGIONAL BUENOS AIRES**

•**GIBIO** (Grupo de Invest. y Desarrollo en Bioingeniería)

Director: Dr. Ing. Ricardo ARMENTANO FEIJOO

R. CSU. N° 1098/05

•**IDETQA** (Grupo de Investigación y Desarrollo en Tecnologías Químicas Aplicadas)

Director: Dr. Isaac Marcos COHEN

R. CSU. N° 813/11

## FACULTAD REGIONAL CONCEPCIÓN DEL URUGUAY

•**GEMA** (Grupo de Estudios de Maderas)

Director: Ing. Juan Carlos PITER

R. CSU. N° 1071/03

•**GIS** (Grupo de Ingeniería de Superficies)

Director: Dra. Sonia Brühl

R. CSU N° 1428/06

## FACULTAD REGIONAL CONCORDIA

•**GIICMA** (Grupo de Investigación de Ingeniería Civil y Medio Ambiente)

Director: Dr. José María COSENTINO

R. CSU N° 794/10

## FACULTAD REGIONAL HAEDO

•**GIMF** (Grupo de Investigación Mecánica de la Fractura)

Director: Ing. Eduardo ASTA

R. CSU N° 488/04

•**IREN** (Grupo Ingeniería de Recubrimientos Especiales y Nanoestructuras)

Director: Dr. Raúl VERSACI

R. CSU N° 1802/11

## FACULTAD REGIONAL LA RIOJA

•**GAIA** (Grupo de Actividades Interdisciplinarias Ambientales)

Director: Ing. Vicente CALBO

R. CSU N° 793/10

## FACULTAD REGIONAL MENDOZA

•**CLIOPE** (Energía, Ambiente y Desarrollo Sustentable)

Director: Dr. Ing. Alejandro Pablo ARENA

R. CSU. N° 1586/08

## FACULTAD REGIONAL RAFAELA

•**GEM** (Grupo de Estudios de Medio Ambiente)

Directora: Dra. María Cecilia PANIGATTI

R. CSU. N° 1803/11

## FACULTAD REGIONAL SAN NICOLÁS

- **GEA** (Grupo de Estudios Ambientales)  
Director: Dra. Nancy QUARANTA  
R. CSUN° 1827/07

### :: REUNIÓN BIANUAL MATERIALES TECNOLÓGICOS EN ARGENTINA – MATTE@R

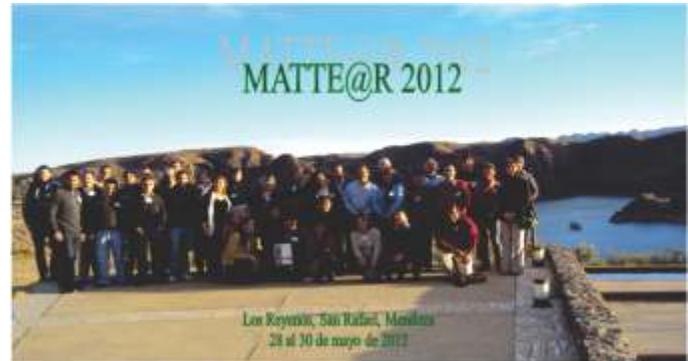
Desde el año 2010, se organizan desde el PROMAT reuniones bianuales denominadas “Materiales Tecnológicos en Argentina” – Matte@r.

La primera reunión se realizó en la ciudad de San Nicolás, Provincia de Buenos Aires, en mayo de 2010, y la segunda en la ciudad de San Rafael, Mendoza, en mayo de 2012.

En estas reuniones han participado más de 70 asistentes en cada oportunidad, con trabajos orales y en forma de paneles, y se han presentado charlas invitadas, dictadas por investigadores reconocidos.

Estas reuniones incluyen además un taller específico para los doctorandos, “Taller de Doctorandos en Ingeniería de Materiales”, donde los mismos exponen los avances de sus trabajos.

Las siguientes son las fotos Institucionales de Matte@r 2010 y 2012.



### :: DOCTORADO EN INGENIERÍA, MENCIÓN MATERIALES. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL

Íntimamente relacionado con el PROMAT, se desarrolla en la Subsecretaría de Posgrado, de la Secretaría de Ciencia, Tecnología y Posgrado de la

UTN, el Doctorado en Ingeniería - Mención Materiales, que se dicta en una modalidad de vinculación Cooperativa entre cuatro Facultades Regionales de la UTN: FRCU-Concepción del Uruguay, FRC-Córdoba, FRLP-La Plata y FRSN-San Nicolás.

Se trata de una carrera muy joven, de reciente acreditación por la CONEAU, que ya cuenta con sus primeros egresados.

**En este momento se encuentran desarrollando sus Tesis 30 doctorandos que realizan sus trabajos en una gran diversidad de materiales y temáticas:**

- Materiales micro y mesoporosos para catálisis y adsorción medioambientales.
- Materiales de electrodo para dispositivos electroquímicos.
- Refractarios de colada continua en contacto con metales fundidos y escorias.
- Titanio-hidroxiapatita para aplicaciones en reemplazos óseos.
- Caucho reciclado en mezclas asfálticas densas y antiderrapantes para carreteras.
- Grillas poliméricas en sistemas anti-reflejo de fisuras.
- Reacción sílice-álcali en hormigones reciclados.
- Nano-materiales con aplicaciones magnéticas.
- Hormigones con adiciones activas.
- Materiales microporosos para liberación de sus-

tancias biocidas.

- Materiales micro y mesoporosos para adsorción-desorción de moléculas orgánicas.
- Materiales mesoporosos para el almacenamiento de hidrógeno.
- Textiles basados en acabados micro/nanoencapsulados.
- Diseño estructural mecanicista de pavimentos flexibles.
- Maderas de diversas especies argentinas (pino, eucalipto, álamo), caracterización físico-mecánica-estructural.
- Materiales compuestos con suelos.
- Cationes metálicos en efluentes líquidos-tecnologías electroquímicas.
- Matrices estabilizadoras de potenciales contaminantes de residuos.
- Óxidos multicomponentes para procesos siderúrgicos.
- Carbones-caracterización y alternativas de uso.
- Nano-montmorillonitas de aplicación tecnológica en tratamiento de efluentes.
- Panel solar de bajo costo.
- Procesos siderúrgicos: modelos computacionales, simulaciones e ingeniería de procesos.
- Procesos de obtención de metales-caracterización.
- Procesos superficiales asistidos por plasma en aceros inoxidables austeníticos.

## CONSEJO DE EDITORES DE LA SAM 2012 - 2014

**Coordinador:** Ricardo Romero: IFIMAT / UNCPBA

### Materiales/Tópicos

<b>Metálicos</b>	<b>RAUL VERSACI</b> CAC CNEA UTN	<b>OSVALDO LAMBRI</b> CONICET UNR	<b>JOSE OVEJERO GARCIA</b> I. SABATO
<b>Cerámicos / Vítreos / Refractarios</b>	<b>MARCELO ESQUIVEL</b> CAB CNEA UNComa	<b>NORA PELLEGRINI</b> CONICET UNR	
<b>Poliméricos</b>	<b>MARCELO VILLAR</b> PLAPIQUI CONICET	<b>LIDIA QUINZANI</b> PLAPIQUI CONICET	
<b>Degradación / Tribología / Desgaste</b>	<b>ALEJANDRO DI SARLI</b> CIDEPINT CONICET	<b>SILVIA SIMISON</b> INTEMA UNMDP	<b>SONIA BRUHL</b> UTN C. DEL URUGUAY
<b>Electrónicos / Magnéticos Semiconductores / Aislantes / Dieléctricos</b>	<b>SILVIA URRETA</b> FAMAF UNC	<b>ROBERTO ARCE</b> INTEC UNL	<b>GABRIEL MEYER</b> CNEA CONICET UNCuyo
<b>Compuestos</b>	<b>CARLOS GONZALEZ OLIVER</b> CAB CNEA	<b>MA. MARTA REBOREDO</b> INTEMA UNMDP	
<b>Nanoestructurados</b>	<b>NOEMI WALSOE DE RECA</b> CONICET	<b>KARIM SAPAG</b> INFAP CONICET UNSL	
<b>Biomateriales</b>	<b>SILVIA CERE</b> INTEMA UNMDP	<b>MIGUEL ZANUTTINI</b> ITC FIQ UNL	