



aitex[®]
textile research institute

MEDIC@TEX

**I+D DE SOLUCIONES TECNOLÓGICAS
TEXTILES INNOVADORAS EN EL
ÁMBITO DE LA SALUD**

Contenido

1. FICHA TECNICA DEL PROYECTO.....	4
2. ANTECEDENTES Y MOTIVACIONES.....	6
3. OBJETIVOS DEL PROYECTO.....	8
4. PLAN DE TRABAJO.....	10
I. PLANIFICACIÓN TÉCNICA.....	12
II. EJECUCIÓN TÉCNICA.....	22
5. RESULTADOS OBTENIDOS.....	30
6. IMPACTO EMPRESARIAL.....	34
I. BIOINICIA. INNOVATIVE POLYMER APPLICATIONS.....	35
II. MILA-ROSA.....	36
7. COLABORADORES EXTERNOS DESTACADOS.....	37
I. DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DE LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA.....	38
II. ON SCIENCE BIOTECNOLOGÍA. APONIMA FACTORY.....	39

1. FICHA TECNICA DEL PROYECTO

Nº EXPEDIENTE	IMAMCI/2020/1
TÍTULO COMPLETO	I + D de soluciones tecnológicas textiles innovadoras en el ámbito de la salud
PROGRAMA	Plan de Actividades de Carácter no Económico 2020
ANUALIDAD	2020
ENTIDADES FINANCIADORAS	IVACE – INSTITUT VALENCIÀ DE COMPETITIVITAT EMPRESARIAL www.ivace.es
ENTIDAD SOLICITANTE	AITEX
C.I.F.	G03182870

Este proyecto cuenta con el apoyo de la Conselleria d'Economia Sostenible, Sectors Productius i Treball, a través de IVACE (Institut Valencià de Competitivitat Empresarial)



2. ANTECEDENTES Y MOTIVACIONES

La principal motivación del proyecto era desarrollar distintas líneas de investigación relacionadas con los materiales textiles y las tecnologías innovadoras en el sector de la salud.

El ámbito de la investigación biomédica incluye, además de las propias disciplinas clínicas, la investigación de nuevos fármacos y desarrollos terapéuticos, así como la investigación en salud pública y servicios de salud. Por lo tanto, es un instrumento clave para incrementar el bienestar social y mejorar la calidad y expectativa de vida de los ciudadanos.

La combinación de técnicas como el *electrospinning* y la bioimpresión 3D, permitirán conseguir productos específicos con propiedades biomiméticas para la resolución de lesiones de tejidos vivos. Como ejemplo de esta simbiosis entre dos tecnologías innovadoras del sector de la salud se encuentra la optimización de elementos para la regeneración de tejido periodontal. El siguiente paso de este desarrollo iniciado en anteriores anualidades a nivel de laboratorio, supone un avance más hacia la simulación en un entorno real, lo cual acerca más el producto hacia la obtención de un dispositivo comercializable por el sector quirúrgico-odontológico.

Otra técnica innovadora es el electrospraying, que se pretende combinar con la tecnología de electrospinning para abrir un nuevo campo de investigación aplicada en AITEX, en la producción de nanofibras y/o nanoesferas superabsorbentes, con aplicación en el desarrollo de nuevos productos de exudado o incontinencia, con menores dimensiones y espesores.

Finalmente, a consecuencia de la pandemia de Covid-19 sufrida este año, parte de los recursos del proyecto se han orientado a la mejora y optimización de mascarillas de protección respiratoria con nanofibras. De esta forma, se han utilizado algunas de las tecnologías innovadoras desarrolladas en el proyecto para generar conocimiento y desarrollo transferible a las empresas textiles orientadas al sector de la salud.

3. OBJETIVOS DEL PROYECTO

Obtener nuevas tecnologías y desarrollarlas, junto a las existentes en AITEX, para utilizarlas en distintas líneas de I+D en el ámbito de la salud. El proyecto constaba inicialmente de 4 líneas de investigación, a las que se añadió una quinta relacionada con el desarrollo de mascarillas con nanofibras:

- Línea 1. (DENTAL): Fabricar, optimizar y validar un producto para el tratamiento de la enfermedad periodontal, que combina la bioimpresión 3D y velos de nanofibras aditivadas.
- Línea 2. (SAP): Optimizar la disolución de ácido poliacrílico y las condiciones de electrospinning / electro spraying para la obtención de nanofibras/nanoesferas super absorbentes.
- Línea 3. (TEMP): Investigar las diferentes alternativas de monitorización de la temperatura corporal y plantear una metodología válida y fiable para su evaluación en el ámbito textil.
- Línea 4. (TECNO): Adquirir, poner a punto y trabajar las tecnologías de Bioimpresión 3D y Electro spraying.
- Línea 5. (MASCARILLAS): Desarrollar mascarillas de protección respiratoria con nanofibras para la prevención del COVID-19.

4. PLAN DE TRABAJO

CRONOGRAMA DEL PROYECTO

			01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
PT0. GESTIÓN Y SEGUIMIENTO	01/01/2020	31/12/2020												
PT1. PLANIFICACIÓN TÉCNICA	01/01/2020	30/11/2020												
PT2. EJECUCIÓN TÉCNICA	01/02/2020	31/12/2020												
PT3. TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO Y DIFUSIÓN	01/03/2020	31/12/2020												

TRABAJOS REALIZADOS POR PAQUETE DE TRABAJO

PAQUETES DE TRABAJO	
PT Nº	Nombre
0	Gestión y seguimiento
1	Planificación técnica
2	Ejecución técnica
3	Transferencia de conocimientos y difusión

I. PLANIFICACIÓN TÉCNICA

Los objetivos generales de este paquete de trabajo han sido:

- Actualizar la base de conocimiento sobre la temática propia de cada Línea de Investigación en los campos de aplicación del proyecto.
- Estudiar los artículos y las patentes concedidas sobre los productos que se pretende desarrollar, analizar los solicitantes y la tendencia prevista respecto a años anteriores.
- Conocer el mercado de los productos existentes y las propiedades deseables de dichos productos.

Respecto a los artículos técnicos, los criterios para buscar, comprobar y seleccionarlos han sido los siguientes:

- Tiempo: máximo 10 años de antigüedad (se consideran válidas los artículos publicados entre el 2010 y el 2020).
- Geografía: artículos técnicos publicados en cualquier revista, búsqueda global.
- Keywords: según Línea de investigación

Los estudios del arte incluyen artículos técnicos con la información relevante como el título, los autores, el año de publicación y el resumen del contenido técnico (abstract).

Se acompañan, además, con gráficos para ilustrar de forma visual la evolución de los artículos científicos publicados según los últimos 20 años.

En lo referente a las patentes, los criterios para buscar, comprobar y seleccionarlas han sido los siguientes:

- Tiempo: se consideran válidas las patentes publicadas entre el 2000 y el 2020).
- Geografía: nacionales, europeas y también norteamericanas y mundiales (WCT/WO).
- Keywords: según Línea de investigación

A1.1. Estado del arte y viabilidad técnica. Línea 1 DENTAL.

Se ha realizado un estudio y análisis en cuanto a las publicaciones científicas relacionadas con *electrospinning*, *bioimpresión 3D*, *cultivos celulares e ingeniería tisular*. Y paralelamente se ha realizado un estudio y selección de péptidos derivados de la proteína o factor de crecimiento BMP-7.

Artículos técnicos.

- Keywords: *electrospinning, electrospun, nanofiber, bioprinting, 3D, cells culture, periodontal regeneration, guided tissue regeneration, guided bone regeneration.*

Electrospinning, Bioimpresión 3D y Cultivos Celulares en Regeneración Tisular Guiada

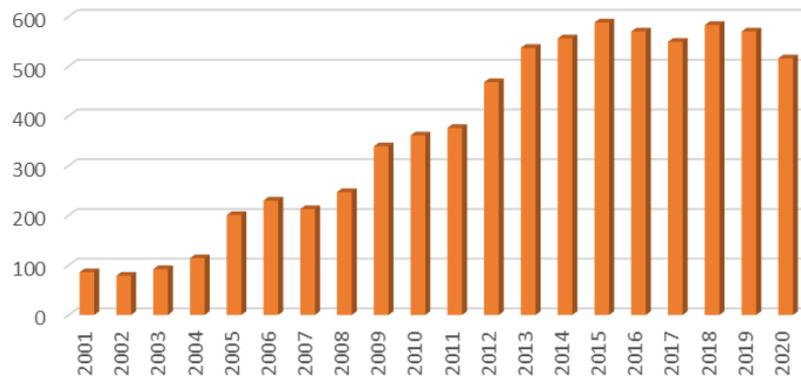


Figura 1. Número de publicaciones de artículos relacionados con la tecnología de electrospinning, bioimpresión 3D y cultivos celulares relacionados con la regeneración tisular guiada.

Se observa que la tendencia es ascendente, es decir, que el número de artículos publicados aumenta año tras año. Aunque los datos del 2020 no están actualizados.

Tras el estudio de su evolución, se puede deducir que seguirá aumentando su tendencia en los próximos años, aunque poco a poco ya que es un tema relativamente nuevo que empieza a despuntar.

Patentes.

- Búsqueda: (electrospinning OR electrospun OR nanofiber OR bioprinting OR 3D OR cells OR cells culture) AND ((periodontal regeneration) OR (guided tissue regeneration) OR (guided bone regeneration))

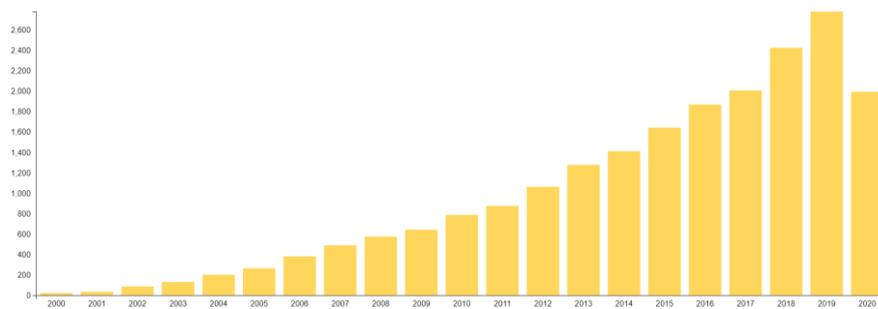


Figura 2. Evolución del número de patentes basadas en el electrospinning (en general).

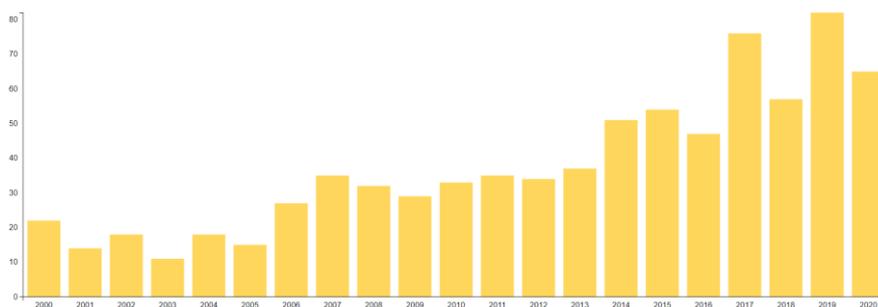


Figura 3. Patentes sobre el uso del electrospinning, bioimpresión y cultivos celulares para la regeneración guiada de tejidos.

Los datos del 2020 no están actualizados; por lo que es un valor que no se tendrá en cuenta a la hora de determinar la tendencia. Se puede ver que el tema de electrospinning en general es un tema que sigue creando patentes y cuya ascendencia se debe a la multitud de aplicaciones que posee. En el campo del uso del electrospinning, de la bioimpresión y de los cultivos celulares aplicados a la regeneración de tejidos se puede ver cómo se mantiene relativamente estable en los últimos años.

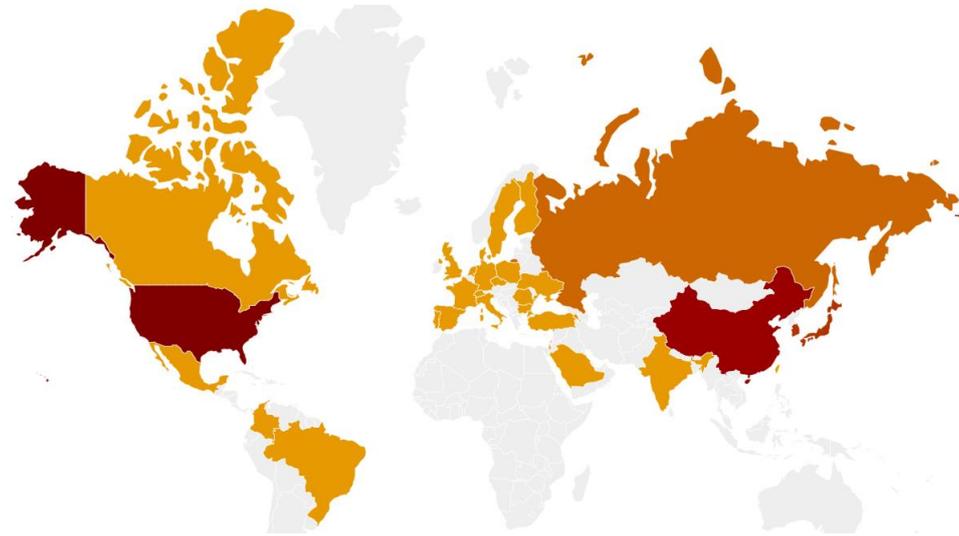


Figura 4. Mapa de países con mayor número de patentes sobre electrospinning, bioimpresión y cultivos celulares para la regeneración guiada de tejidos.

Anexo

Por otra parte, se ha realizado un estudio y selección de un péptido derivado de la proteína BMP-7, que ha sido recogido en forma de Anexo. En este entregable se estudian los péptidos derivados de la BMP-7 para incorporarlos a las nanofibras y provocar la diferenciación celular buscada. La utilización de péptidos facilita la incorporación (menor tamaño y peso molecular), favorece su viabilidad (más estables) y disminuyen drásticamente su coste (aproximadamente 6.000 veces inferior)

A1.1. Estado del arte y viabilidad técnica. Línea 2 SAP (Superabsorbentes).

Se ha presentado una introducción técnica de materiales superabsorbentes. Además, se indican también los parámetros de búsqueda de artículos bibliográficos y patentes que han sido tenidos en cuenta, así como el alcance temporal de la búsqueda y otras restricciones de interés.

Artículos técnicos.

- Keywords: *electrospinning, electrospun, nanofiber, superabsorbent, sap.*

Electrospinning de Superabsorbentes

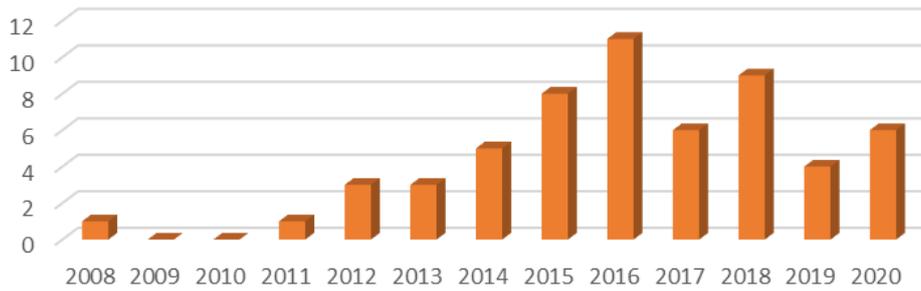


Figura 5. Número de publicaciones de artículos relacionados con el electrospinning de superabsorbentes.

Se puede observar que la tendencia es ascendente, es decir, que el número de artículos publicados aumenta año tras año. Aunque los datos del 2020 no están actualizados.

Además, la tendencia general es ligeramente ascendente, aunque en los últimos años se ha mantenido constante. Tras el estudio de su evolución, se puede deducir que seguirá aumentando su tendencia en los próximos años, aunque poco a poco ya que es un tema relativamente nuevo.

Patentes.

- Búsqueda: ((electrospinning) OR (electrospun) OR (nanofiber)) AND ((superabsorbent) OR (sap))

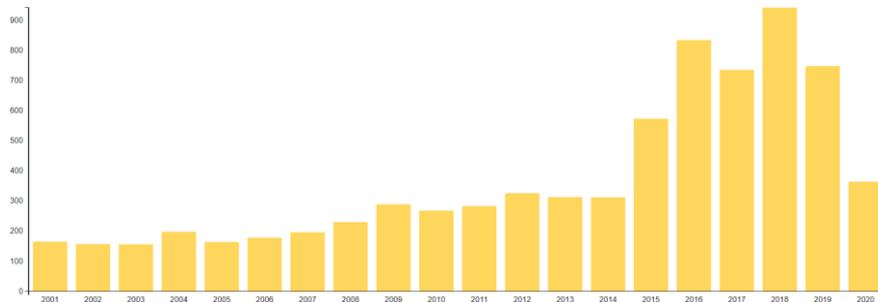


Figura 6. Patentes acerca del uso del electrospinning para superabsorbentes.

Acerca de las patentes se puede observar que ocurre algo similar que en los artículos, los datos del 2020 no están actualizados; por lo que es un valor que no se tendrá en cuenta a la hora de determinar la tendencia. En el campo del uso del electrospinning para la producción de superabsorbentes podemos ver cómo tiene una tendencia, sobre todo estos últimos 5 años, ascendente.

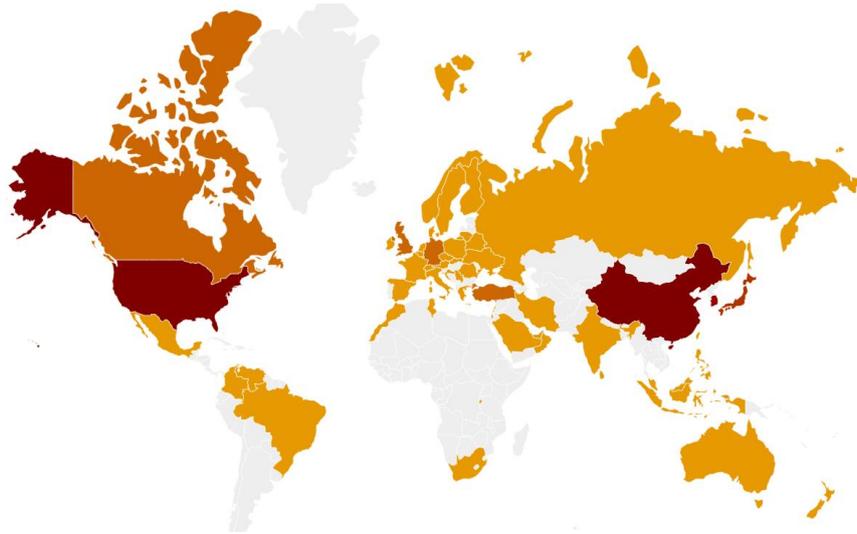


Figura 7. Mapa de patentes según países, para el electrospinning de superabsorbentes.

A1.1. Estado del arte y viabilidad técnica. Línea 3 TEMP (Temperatura corporal interna).

En el documento se presenta una introducción técnica de la importancia de la temperatura de los usuarios, así como de la temperatura interna para relacionarlo con el confort y bienestar de los deportistas. Además, se indican también los parámetros de búsqueda de artículos bibliográficos y patentes que han sido tenidos en cuenta, así como el alcance temporal de la búsqueda y otras restricciones de interés.

Además, se presenta una recopilación de los principales productos comerciales relacionados con la presente línea de investigación

Artículos técnicos.

- Keywords: *Thermoregulation, physical activity, sport ,athletes, core temperature*



Figura 8. Número de publicaciones de artículos relacionados con la regulación de la temperatura corporal y la actividad física.

Si nos fijamos en la evolución, lo primero que debemos destacar es que, debido a que aún estamos en el primer trimestre del 2020, los datos de este año no son fidedignos, ya que seguramente se publiquen más artículos a lo largo de este año.

Podemos observar que la tendencia es ascendente, es decir, que el número de artículos publicados aumenta generalmente año tras año.

Patentes.

- Búsqueda: *Thermoregulation* AND ((*physical activity*) OR *sport* OR *athletes* OR (*core temperature*))

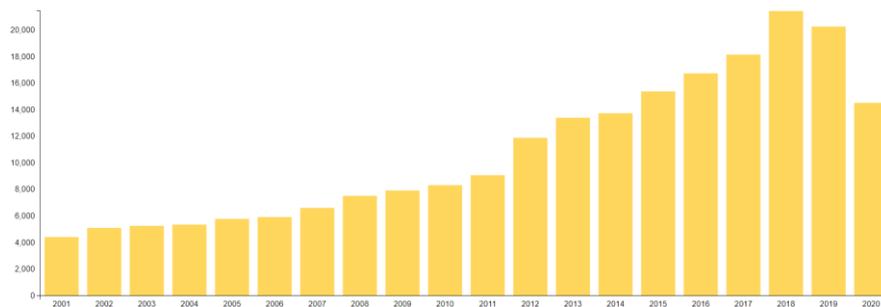


Figura 9. Acerca del uso de la termorregulación relacionada con la actividad física.

Acerca de las patentes se puede decir prácticamente lo mismo que con los artículos, los datos del 2020 no están actualizados; por lo que es un valor que no se tendrá en cuenta a la hora de determinar la tendencia. Aun así, la temática posee mucha relevancia y las publicaciones de patentes evolucionan gradualmente.

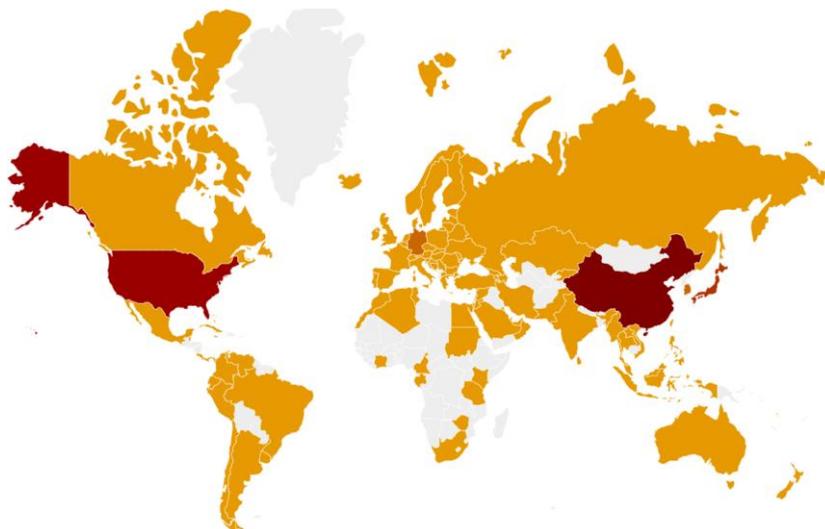


Figura 10. Mapa de países con mayor número de patentes sobre Termorregulación corporal.

A1.1. Estado del arte y viabilidad técnica. Línea 4 TECNO (Tecnologías de Bioimpresión 3D y Electro spraying).

Se muestran las alternativas valoradas en la compra del equipamiento necesario para la ejecución del proyecto. Se incluyen las tablas comparativas de las diferentes características y una explicación de la selección de cada uno de los equipos.

	<i>Microextrusión</i>	<i>Inkjet</i>	<i>Asistido por láser</i>	<i>Impresión integrada</i>	<i>Bioimpresión robótica</i>
Viscosidad	6-30x10 ⁷ mPa/s	3.5-12 mPa/s	1-300 mPa/s	N/D	N/D
Densidad celular	Alta	Baja, <10 ⁶ células/mL	Media, 10 ⁸ células/mL	Alta	Alta
Viabilidad celular	40-80%	85%	> 95%	> 90%	> 90%
Resolución	100 µm – 1 mm	75 µm	10-100 µm	2-50 µm	N/D
Velocidad impresión	100 µm/s	1-10000 drops/s	2-1600 mm/s	N/D	N/D
Tamaño de aguja	20 µm – 1 mm	20-150 µm	Sin aguja	50 µm	N/D
Principio funcionamiento	Contacto	Sin contacto	Sin contacto	Contacto	Contacto
Integridad mecánica	Alta	Baja	Baja	Alta	Media
Coste adquisición	Bajo	Bajo	Medio	Alto	Alto

Tabla 1. Comparación de los métodos de bioimpresión.

Nombre	CELLINK BIO X	ROKIT INVIVO	AETHER 1	ALLEVI 6	regenHU 3DDiscovery™ Evolution Line	RegenHU Biofactory	REGEMAT 3D V1
Enlace	+ info	+ info	+ info	+ info	+ info	+ info	+ info
Precio (€)	40k-50k	23k	24k	15k-20k	250k	nd	20k
Módulos	Extrusor FFD	SI	SI	SI	SI	NO	SI
	Inyector microválvula	SI	NO	SI	NO	SI	NO
	Extrusor Jeringa	SI	SI	SI	SI	SI	SI
	UV	SI	SI	SI	SI	NO	SI
	Enfriador / Calentador (°C)	SI/SI (4/250)	SI/SI (-25/350)	NO/SI (-/200)	SI/SI (4/160)	SI/SI	SI/SI
Cartuchos	SI (+19)	NO	NO	NO	SI	NO	NO
Espacio (cm)	13x9	10x10	32x23	nd	13x9	6x6	15x16
Resolución (µm)	1,0	1,5	1,0	1,0	5,0	5,0	150,0
Plato caliente (°C)	5/60	-25/80	nd	60	nd	5/80	SI
Cámara limpia	SI	SI	SI	NO	Opcional	Opcional	NO
País	EEUU	Corea	EEUU	EEUU	Suiza	Suiza	España

Tabla 2. Tabla comparativa de las Bioimpresoras 3D consideradas interesantes para la iniciación en el sector.

COMPañIA		MODELO	DIMENSIONES	POTENCIA	PUNT	PUNTER	AUTOFOCO	ALTURA PIEZ	PUERTAS	MESA VACI	PESO	PRECIO
Epilog Láser	EEUU	Epilog Zing 16	406 x 305 mm	30 / 40 W	SI	SI	NO	114 mm	NO	NO	43 kg	7.800,00 €
Epilog Láser	EEUU	Epilog Zing 24	610 x 305 mm	30 / 40 / 50 / 60 W	SI	SI	NO	197 mm	NO	NO	64 kg	9.900,00 €
Epilog Láser	EEUU	Epilog Legend Mini 18	457 x 305 mm	30 / 40 W	SI	SI	SI	102 (152) mm	NO	SI	45 kg	9.000,00 €
Epilog Láser	EEUU	Epilog Legend Mini 24	610 x 305 mm	30 / 40 / 50 / 60 W	SI	SI	SI	140 (203) mm	NO	SI	55 kg	12.100,00 €
Trotec	Alemani	Speedy 100	610 x 305 mm	12-60 CO2; 12-30 Fibra			SI	132 mm	NO	NO	80-100 kg	Solicitado
Trotec	Alemani	Speedy 300	726 x 432 mm	12-120 CO2; 12-50			SI	165 mm	NO	SI		20.000 €
GCC	Taiwan	Home Lase	500 x 300 mm	40 W CO2	NO	NO	NO		NO	NO		
GCC	Taiwan	PC40/30	400 x 300 mm	25W	NO	SI	NO	110 mm	NO	NO		
GCC	Taiwan	C-180H	458 x 305 mm	30 / 40W	SI	SI	SI	155 mm	SI	SI		12.500 € (30W)
GCC	Taiwan	ME-40	635 x 458 mm	40W CO2	NO	SI	NO	165 mm	SI	NO		
GCC	Taiwan	PC60/40	600 x 400 mm	60 / 80W	NO	SI	NO		NO	NO		
GCC	Taiwan	SPIRIT LS	640 x 460 mm	12 / 100W	NO	SI	SI	165 mm	SI	NO		
Full Spectrum Laser	EEUU	Muse 2D Desktop Laser	508 x 304 mm	40 / 45W CO2	NO	SI	NO	63,5 mm	NO	NO		5.000,00 \$
Full Spectrum Laser	EEUU	Muse 3D Autofocus	509 x 304 mm	40 / 45W CO2	NO	SI	SI	63,5 mm	NO	NO	24,5 kg	6.500,00 \$
Full Spectrum Laser	EEUU	PS24 Laser System	609 x 406 mm	90W	NO	SI	SI	165,1 mm	SI	NO	110 kg	9.000,00 \$
Seron	Polonia	SX 0503	500 x 300 mm	45W	SI	SI	NO		NO	NO		
Seron	Polonia	SL 0503	500 x 300 mm	40W	NO	SI	NO	300 mm	SI	SI	80 kg	12.350 €
Seron	Polonia	SL 0604	600 x 400 mm	60W	NO	SI	SI	300 mm	SI	SI	200 kg	14.350 €
Universal Láser		VLS2.30	406 x 305 mm	30W	NO	SI	NO	102 mm	NO	NO		
Universal Láser		VLS3.50	610 x 305 mm	50W	NO	SI	NO	102 mm	NO	NO		
Universal Láser		VLS3.60	610 x 305 mm	50-60W	NO	SI	NO	229 mm	NO	NO		
Universal Láser		VLS4.60	610 x 457 mm	50-60W	NO	SI	NO	229 mm	NO	NO		
Gravograph	Francia	LS100 Energy	460 x 305 mm	25W	SI	SI	SI	145 mm	NO	NO	43 kg	
Gravograph	Francia	LS100	460 x 305 mm	40-60W	SI	SI	SI	145 mm	NO	NO		12.183,00 €
Gravograph	Francia	LS900	610 x 610 mm	40-60-80W	SI	SI	SI	250 mm	NO	NO	170 kg	Solicitado

Tabla 3. Tabla comparativa de los equipos de corte láser considerados interesantes para el corte de velos de nanofibras.

Para el equipo de bioimpresión 3D y el equipo de corte por láser ha sido necesario un estudio de las diferentes alternativas existentes en el mercado. El segundo cabezal de *electrospinning/electrospraying* ha sido un desarrollo específico de los fabricantes del equipo. En este caso no se trataba de un equipo comercial, sino una ampliación del equipo existente por eso no ha sido necesario comparar alternativas, se solicitaron las características que debía tener y se verificó su comportamiento final.

A1.1. Estado del arte y viabilidad técnica. Línea 5 MASCARILLAS (Mascarillas de protección respiratoria para la prevención del COVID-19).

Se realiza un estado del arte sobre los tipos de mascarillas filtrantes existentes en el mercado y las normativas regulatorias sobre cada una de ellas; así como materiales filtrantes utilizados y sus composiciones.

Paralelamente se realiza una búsqueda y estudio de artículos técnicos, patentes y productos comerciales relacionados con la temática de la Línea.

Artículos técnicos.

- Keywords: *electrospinning, electrospun, nanofiber, respirators, face masks, air treatment, viruses filtration*. También se han buscado artículos de electrospinning de nanofibras de PA y PS, que son dos de los materiales que pueden tener buen comportamiento en esta aplicación.

El estudio bibliográfico ha resultado muy útil para entender el comportamiento de las mascarillas filtrantes.

A continuación, se indican los principales conocimientos adquiridos:

- La importancia que los tratamientos *electret* tienen en este tipo de aplicaciones y productos. Se trata de un acabado o tratamiento que busca cargar los medios filtrantes con electricidad estática para reforzar su acción. Las partículas de pequeño tamaño se ven altamente influenciadas por la atracción electrostática de los filtros, de este modo se consigue un incremento de la eficacia filtrante sin añadir más capas o espesor del medio filtrante.

- La capacidad filtrante de los velos de nanofibras. Las características del velo de nanofibras afectan a la filtración y respirabilidad de las mascarillas. Con ayuda de los artículos estudiados se ha podido establecer una serie de requisitos (gramaje, diámetro de fibras y material) con los que iniciar el desarrollo e incrementar la eficiencia filtrante.
- La adición de sustancias viricidas. Se han estudiado algunos tratamientos viricidas y su incorporación en el velo de nanofibras. La tecnología de electrospinning permite incorporar dichas sustancias de forma sencilla, utilizando pequeñas cantidades y proporcionando una disponibilidad funcional. En los artículos estudiados se ha encontrado información relativa a este tema, resultando interesante para los objetivos del proyecto.

Electrospinning en Protección respiratoria

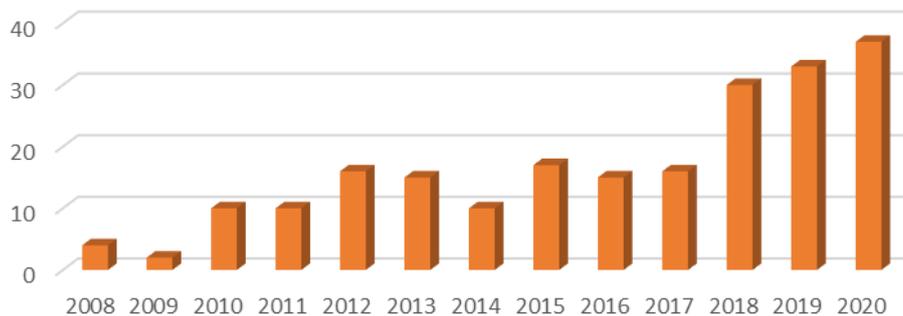


Figura 11. Número de publicaciones de artículos relacionados con el electrospinning en protección respiratoria.

Según la evolución, lo primero a destacar es que, pese a no haber finalizado el año, ha habido un incremento respecto a los anteriores. Por lo que, los datos no son definitivos, ya que seguramente se publiquen muchos más artículos de cara al final del año; debido a la problemática mundial de la pandemia del COVID-19. Por lo que, la tendencia es ascendente; el número de artículos publicados aumenta generalmente año tras año.

Tras el estudio de su evolución, se deduce que seguirá aumentando su tendencia en los próximos años, y de forma exponencial, ya que es un tema realmente puntero y global.

Patentes.

- Búsqueda: (electrospinning OR electrospun OR nanofiber) AND (respirators OR (face mask) OR (air treatment)) AND (viruses filtration)

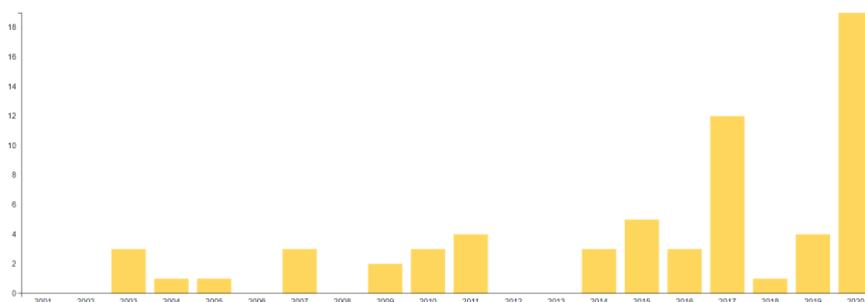


Figura 12. Patentes acerca del uso del electrospinning para superabsorbentes.

En cuanto mascarillas y productos filtrantes producidos mediante electrospinning y a diferencia de la cantidad de artículos relacionados con la temática, las patentes de productos respiratorios de filtración de virus no habían sido destacables hasta el inicio de la actual pandemia producida por el COVID-19. Aunque el volumen de patentes a final del 2020 será mucho mayor, debido a que el año aún no está finalizado y constantemente se están presentando nuevos productos.

Respecto al siguiente mapa, la mayoría de las patentes provienen de China, seguidos de Estados Unidos y Rusia

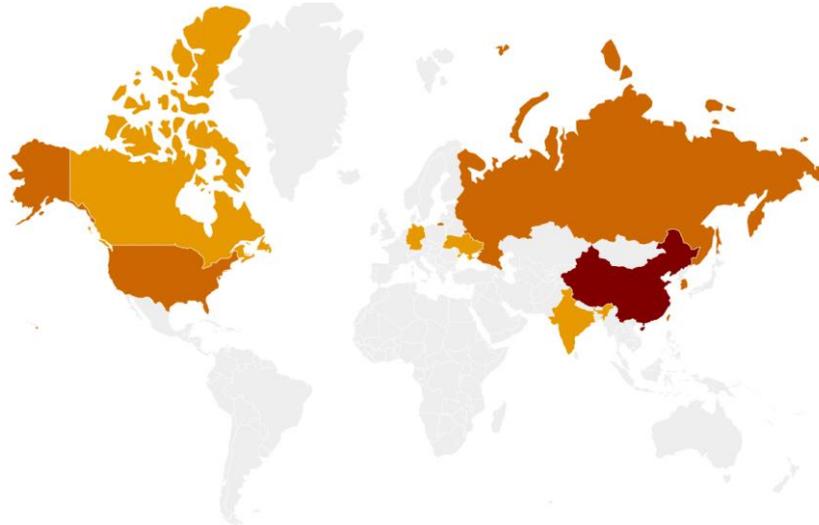


Figura 13. Mapa de países con mayor número de patentes de electrospinning relacionado con la protección respiratoria.

II. EJECUCIÓN TÉCNICA

A2.1. Experimental y A2.2. Caracterización. Línea 1 DENTAL.

En el presente informe se pretenden combinar las tecnologías de electrospinning y de bioimpresión 3D para el tratamiento de enfermedades en el sector dental. Para ello se ha seguido el *know-how* obtenido en la anterior anualidad (proyecto GVA DENTALTEX II), en el que se desarrolló un dispositivo compuesto por un núcleo o *core* central poroso (producido mediante impresión 3D) recubierto por distintos velos de nanofibras aditivadas, según la cara del núcleo sobre la que se depositan para el tratamiento específico de cada zona del periodonto.

En cuanto a la Bioimpresión 3D, se han analizado los pocillos desarrollados en el proyecto precedente, los cuales presentaban algunos problemas durante el cultivo celular en su interior y a la hora de preparar las muestras para la caracterización histológica. Para subsanar dichos problemas se ha realizado un nuevo diseño de pocillo

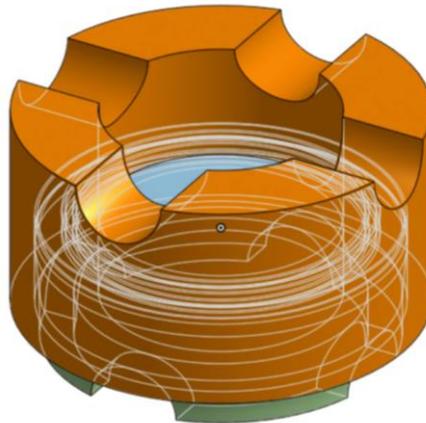


Figura 14. Diseño .stl. Ensamblaje de las tres piezas que conforman el nuevo pocillo (base + tapa + core).

Estos pocillos albergan un núcleo o *core*, micro-poroso y con formato cilíndrico capaz de soportar un velo de nanofibras distinto en cada una de sus caras y que además encaje en el nuevo pocillo; que igualmente ha sido rectificado.

Para la parte del electrospinning, se han desarrollado 2 tipos de velos de nanofibras distintos: uno aditivado con Hidroxiapatita (HA) para soportar y caracterizar células hDP-SC (células madre de pulpa dental) y otro velo aditivado con un factor de crecimiento o proteína (BMP-7) para células hPDL-SC (células madre de ligamento periodontal).

Los velos de nanofibras han sido colocados sobre los *cores* en sus respectivas posiciones y ensamblados en los nuevos pocillos para ser analizados por el del servicio externo *Universitat de València Departament de Patologia de la Facultat de Medicina i Odontologia* mediante el estudio de la funcionalidad de un dispositivo aditivado para el tratamiento de la enfermedad periodontal, del carácter antibacteriano y caracterización de proceso de diferenciación celular en osteoblastos y cementocitos con el fin de evaluar su capacidad regenerante de zonas periodontales".

Paralelamente y en forma de Anexo, se ha realizado un estudio sobre cultivo primario de células humanas, donde se ha descrito la metodología tanto de los aspectos teóricos para las buenas prácticas en el laboratorio, como los procedimientos necesarios para el cultivo celular.

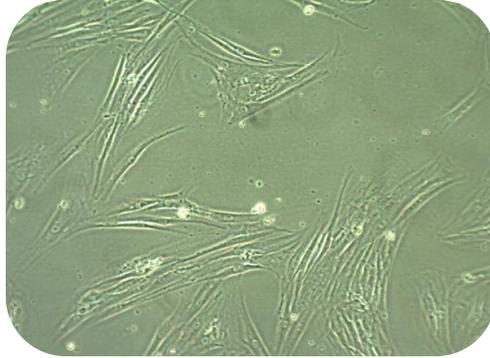


Figura 15. Observación en el microscopio óptico de fibroblastos (10 pases)

A2.1. Experimental y A2.2. Caracterización. Línea 4 TECNO.

Se ha documentado las acciones llevadas a cabo para poner en marcha y comprender las nuevas tecnologías necesarias para la realización del proyecto. Se subdivide en tres partes, cada una de las cuales explicando una tecnología diferente: bioimpresión 3D, electrospraying y corte con láser.

- Bioimpresión 3D, se realizan acciones para la puesta en marcha y pruebas preliminares de impresión con polímero fundido e hidrogeles o sustitutos equivalentes para pruebas.

Se ha realizado una batería de muestras para crear un muestrario de constructos que represente las posibilidades de creación del equipo, con posibilidad de variar los parámetros:

- Scaffold:
 - Poor size
 - Solid bottom/top layers
 - Infill Patter (angle/range)
- Infill:
 - μ l/layer
 - N points
 - Flow speed

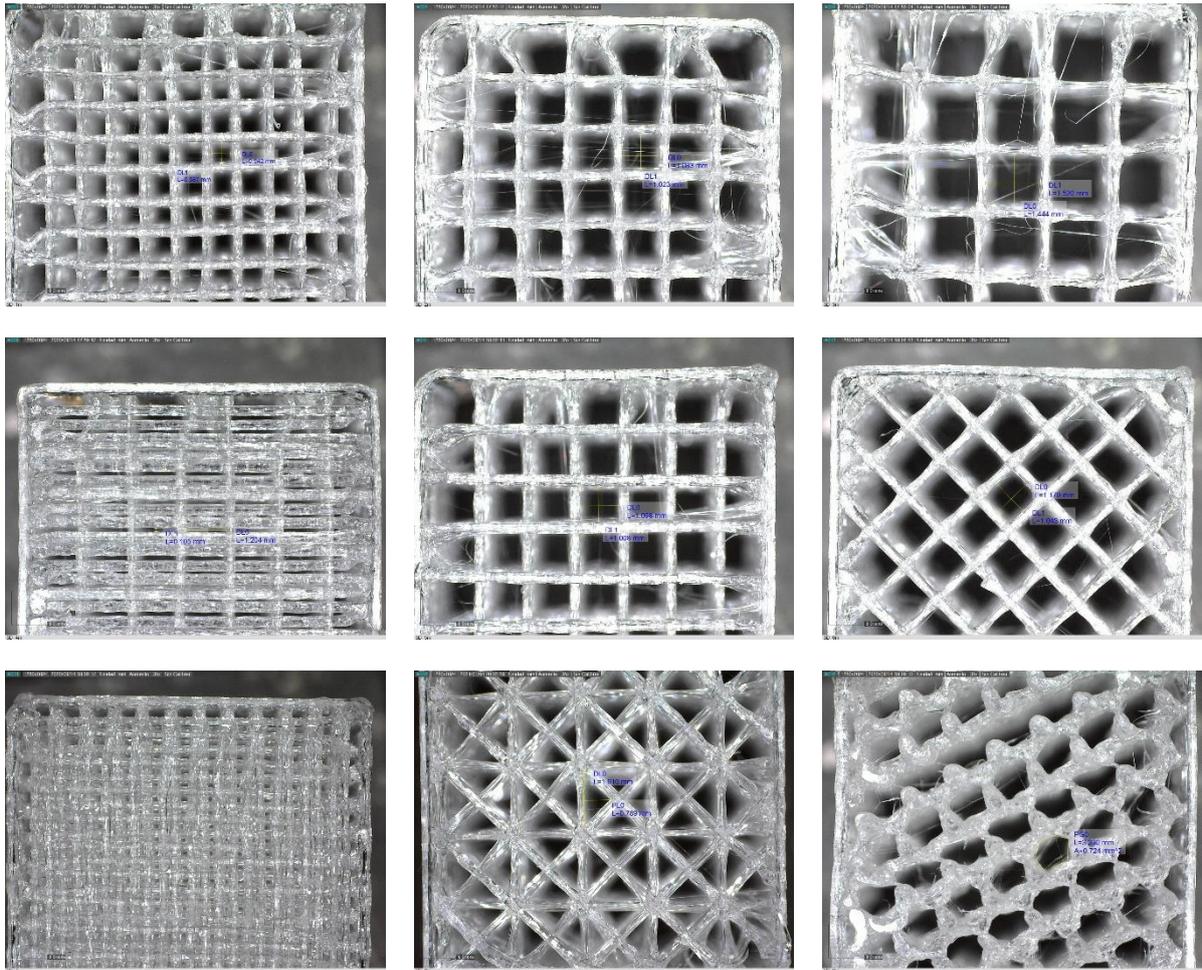


Figura 16. Scaffolds generados mediante impresión 3D sin relleno.

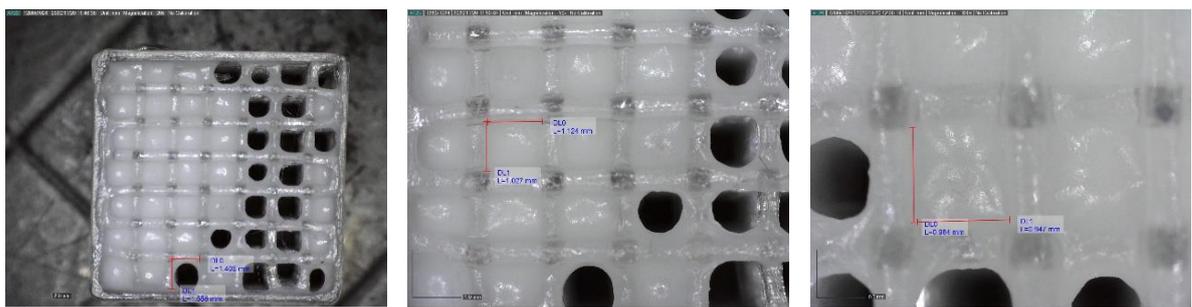


Figura 17. Scaffold generado mediante impresión 3D con filling por puntos. Se observan imágenes tomadas a diferentes aumentos 20x, 50x y 100x, de izquierda a derecha.

- **Electrosprayado**, se muestra la información de su instalación en el equipo de electrospinning y las pruebas preliminares con disoluciones conocidas y modificadas para su funcionamiento con el nuevo componente. Se muestran las pruebas realizadas para optimizar las disoluciones poliméricas para su uso en esta tecnología y la combinación de nanofibras de diferente material obtenidas mediante dos inyectores.

De esta forma, se amplían los modos de trabajo del equipo que quedan de la siguiente forma:

1. *Un inyector simple* para obtención de nanofibras o nanoesferas.
2. *Un inyector coaxial* para obtención de nanofibras bicomponente o nanocapsulas *core/Shell*.
3. *(Nueva posibilidad) Dos inyectores simples* para obtención de combinaciones de 2 tipos de nanofibras, 2 tipos de nanoesferas o combinación de nanofibras y nanoesferas.

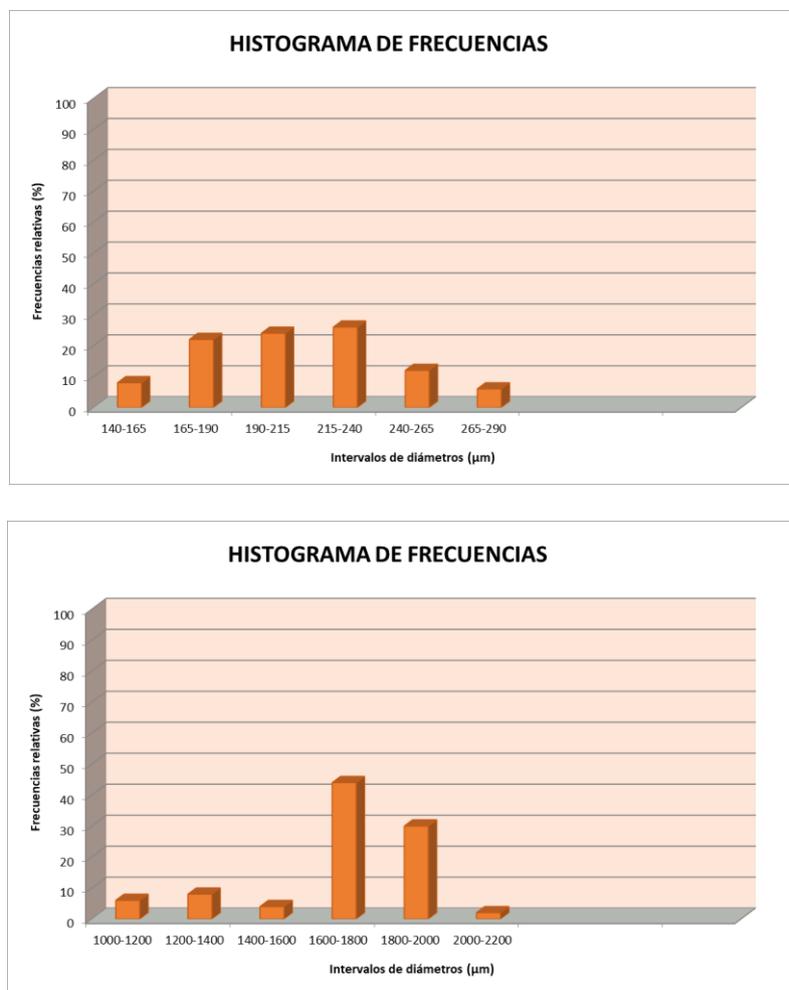


Figura 18. Histogramas de frecuencias de los diámetros de las nanofibras obtenidas en un velo de nanofibras bicomponente mediante la utilización simultánea de 2 inyectores simples (Imagen superior: diámetros de nanofibras de PA e Imagen inferior: diámetros de nanofibras de PS obtenidas)

- Equipo de corte por láser, se establecen las condiciones de corte adecuadas para los velos de nanofibras. El corte por láser ofrece un resultado preciso y un acabado limpio, sin embargo, es necesario establecer las variables del equipo para cada tipo de material. En el caso de las nanofibras, al ser un material termosensible, liviano y delicado, es necesario estudiar bien las condiciones para ajustar y estandarizar el proceso. Este estudio, además, ha servido para obtener el conocimiento necesario para entender el equipo y establecer las condiciones de corte de otros materiales en el futuro.

El procedimiento para estudiar el corte de nanofibras con láser ha sido la creación de diferentes muestras cortadas bajo diferentes condiciones, para comparar y determinar el mejor corte por observación macroscópica y microscópica. Estableciendo las variables que determinan el corte y los rangos de ajuste:

- Frecuencia de corte (Hz)
- Potencia láser (%)
- Velocidad (%)

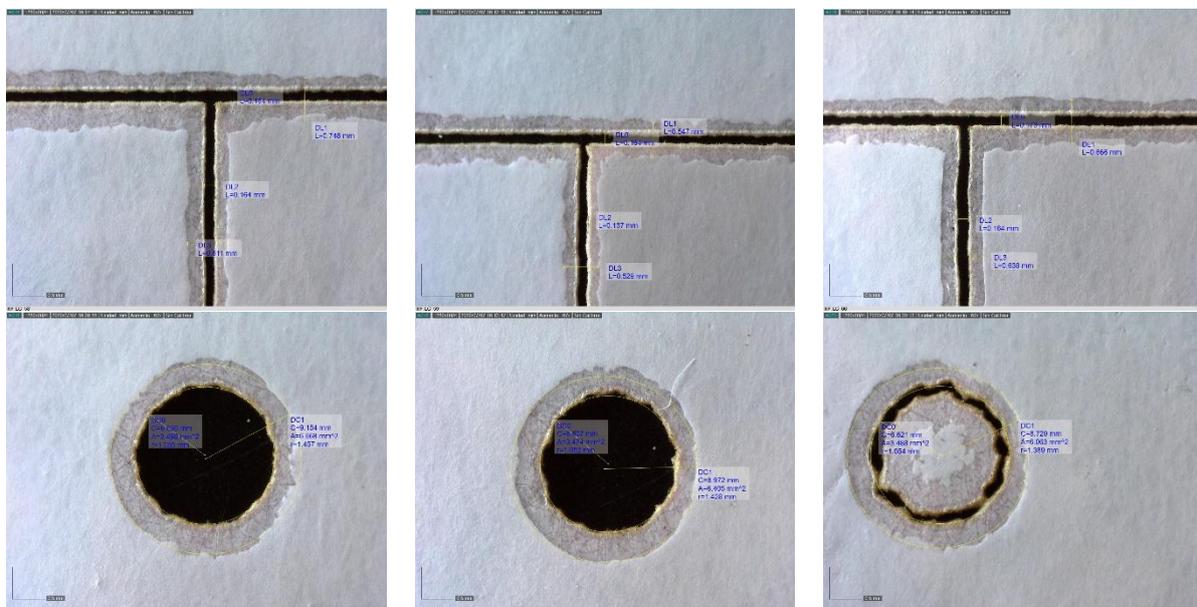


Figura 19. Fotografías de microscopio a x67 aumentos, de las muestras obtenidas en el estudio de corte con diferentes parámetros

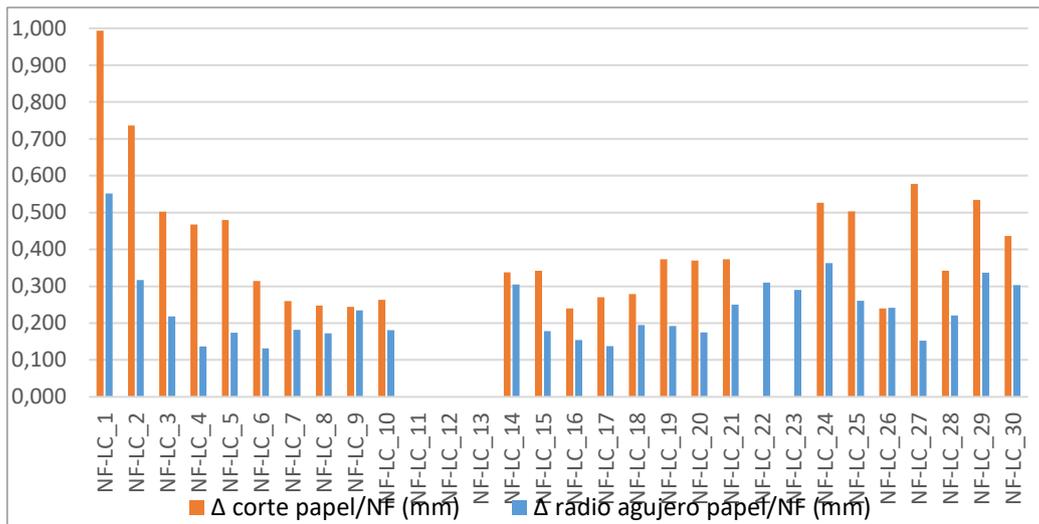


Figura 20. Grafica de barras de las diferencias de tamaño entre el corte del papel y las nanofibras. A menor diferencia más precisión del corte realizado sobre ambos materiales.

A2.1. Experimental y A2.2. Caracterización. Línea 5 MASCARILLAS.

El objetivo de la Línea 5 era fabricar, optimizar y validar una mascarilla higiénica con propiedades virucidas mediante la combinación de no tejidos y velos de nanofibras producidas mediante el proceso de electrospinning.

Debido a la pandemia provocada por la COVID-19 y a la gran demanda de sistemas y productos barrera, se ha considerado necesario elaborar un producto con los requisitos mínimos que deberían tener las mascarillas higiénicas a ser utilizadas en este escenario, con el fin de que estas complementen los gestos de barrera y las reglas sociales relacionadas con el distanciamiento entre personas.

Tras los estudios de estado del arte y viabilidad técnica de la anterior actividad A1.1 correspondiente a la línea actual, se seleccionan los materiales de cada una de las capas para conformar una mascarilla filtrante, producida en el caso actual, con nanofibras; sustituyendo así las capas de Meltblown (en falta de suministro de existencias y con aumentos de precios exponenciales, en el mercado, en el momento inicial de la pandemia COVID-19).

Se estudia así la obtención y caracterización de distintos velos de nanofibras hasta conseguir el óptimo que dote al conjunto de la mascarilla las cualidades necesarias para superar los ensayos de validación realizados sobre los diferentes formatos de mascarillas existentes actualmente.

Los pasos seguidos en el proceso experimental de obtención de los dispositivos se detallan a continuación:

Preparación de disoluciones.

Selección y cálculos de concentraciones de polímeros, disolventes, tensioactivos y/o virucidas y procesos necesarios para obtener las disoluciones poliméricas, con y sin aditivos; necesarios para la producción de velos de nanofibras que serán añadidos a un sustrato componente de una mascarilla filtrante mediante la tecnología de Electrospinning.

Se han realizado diferentes disoluciones. En primer lugar, se han realizado distintas configuraciones polímero-disolventes para seleccionar las candidatas a ser electrohiladas.

Proceso de obtención y caracterización de muestras y prototipos.

Con las disoluciones anteriormente citadas, se realizan mediante electrospinning pruebas sobre los diferentes sustratos que pueden contener una mascarilla filtrante convencional hasta obtener la combinación polímero-nanofibras producidas-colector ideal.

Se realizarán caracterizaciones mediante microscopio electrónico SEM con cada una de las muestras realizadas, ensayos de bioburden, citotoxicidad, actividad antiviral y carácter antibacteriano.

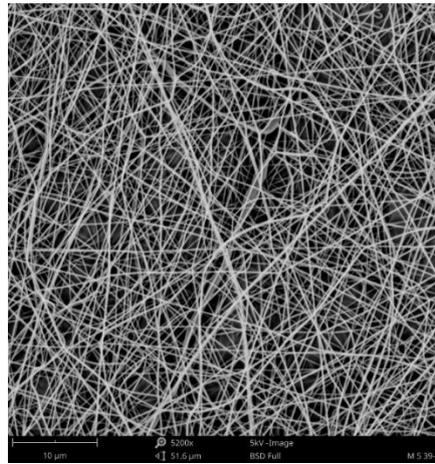


Figura 1. Vision SEM a x5000 de velo de nanofibras

Una vez obtenido el velo de nanofibras óptimo y los tejidos no-tejidos que conformarán cada una de las mascarillas a realizar se procede a su confección (que será llevada a cabo en las instalaciones de AITEX de Paterna).

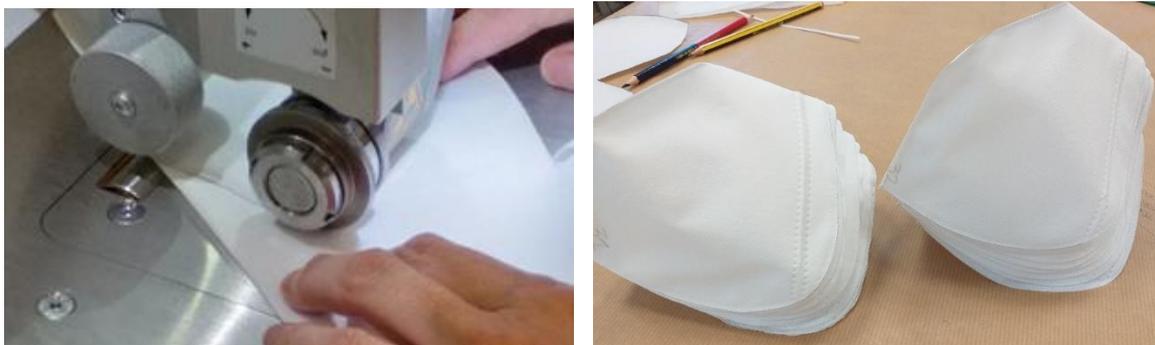
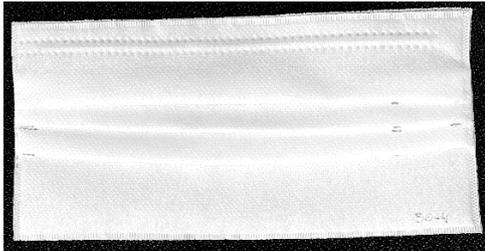


Figura 2. Imagen izq: detalle de confección de mascarillas por ultrasonidos. Imagen der: pruebas de mascarillas en formato EPI.

Se confeccionan 2 tipos de mascarillas que son ensayadas en las propias instalaciones de AITEX por el departamento APPE y por el departamento de Gestión de Productos para la Salud e Higiene, según sus respectivas normativas; como se resumen a continuación:

Formato Mascarilla	Normativa	Capas	Imagen
AUTOFILTRANTE (EPI) Equipo Protección Individual	UNE-EN 149:2001 + A1:2010	1- Spunbond 2- Needlepunch 3- Nanofibras +Spunbond 4- Spunbond	
	RFU COVID-19: EN 149:2001 + A1:2009 (punto 8.4) modificada por RfU PPE-R/02.075.02		
QUIRÚRGICA (Tipo IIR) (PS) Producto Sanitario	UNE EN14683:2019 + AC:2019	1- Spunbond 2- Nanofibras +Spunbond 3- Spunbond	
HIGIÉNICA NR No reutilizable	UNE 0064		
HIGIÉNICA R No reutilizable	UNE 0065		

5. RESULTADOS OBTENIDOS

- Línea 1. (DENTAL):
 - Diseño y fabricación 3D de un pocillo para permitir el cultivo celular simultáneo de 2 líneas celulares por separado y de un núcleo poroso recubierto con diferentes velos de nanofibras en cada una de sus caras, que permite el crecimiento y la movilidad celular en su interior.



Figura 21. Detalle de los 3 componenetes (base + tapa + core) tras su impresión 3D.

- Mediante el cultivo de células sobre *cores* cubiertos con velos de nanofibras sin y con aditivos (HA y BMP7) en el interior de los nuevos pocillos, se ha logrado desarrollar un protocolo para obtener secciones histológicas válidas que permiten la observación de las células crecidas sobre los velos y se ha estudiado la acción diferenciadora de dichos aditivos sobre células humanas.

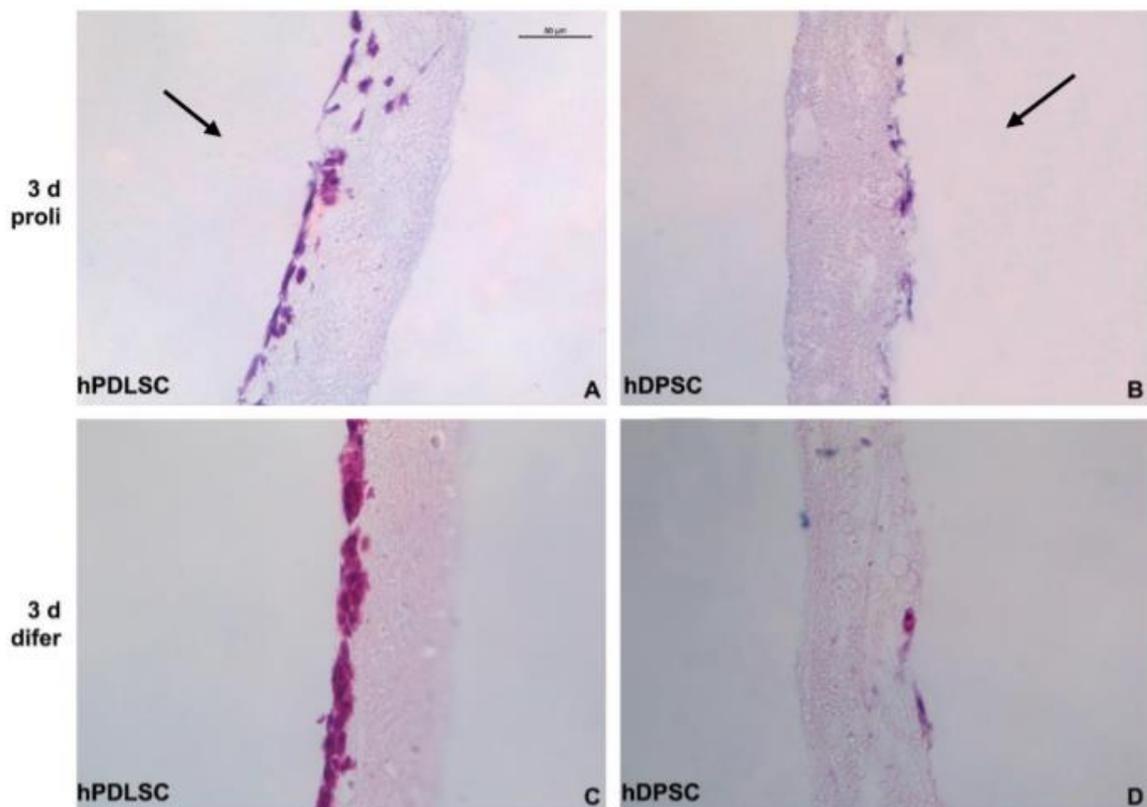


Figura 22. Proliferación de células hPDLSC y hDPSC sembradas sobre velos PLG con aditivos. Las células, hPDLSC (A, C) y hDPSC (B, D) se mantuvieron en medio de proliferación (A, B) o de diferenciación (C, D) durante 3 días. La flecha indica la cara del velo donde se sembraron inicialmente las células; la cara opuesta es la que contactaba con el core. Muestras teñidas con hematoxilina-eosina. Imágenes tomadas con el microscopio óptico con el objetivo a 20x

- Línea 4. (TECNO):
 - Diseño y producción de andamios celulares o *scaffolds* mediante Bioimpresión 3D, combinando la deposición de filamento continuo con llenado o *filling* de hidrogel tanto por puntos como linealmente.

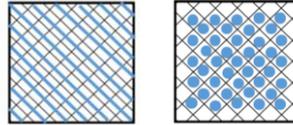


Figura 23. Patrón de llenado del filling por el inyector lineal (cuadrado de la izquierda) y por puntos (cuadrado de la derecha).



Figura 24. Scaffold obtenido mediante impresión de PLA y deposición lineal de hidrogel

- Desarrollo de la técnica de *twin-jet electrospinning* y obtención de velos compuestos por nanofibras combinadas de diferentes materiales o combinaciones de nanofibras y nanoesferas.

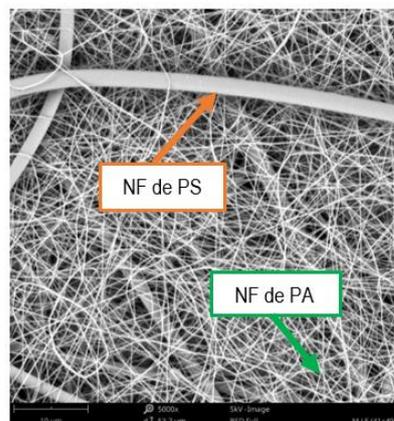


Figura 25. Vista SEM de un velo de nanofibras formado por dos materiales (PA y PS) obtenidas simultáneamente con el nuevo accesorio a 5000x

- Línea 5. (MASCARILLAS):
 - Desarrollo de mascarillas faciales de protección respiratoria con velos de nanofibras. Nivel de filtración y respirabilidad validado según las normas:
 - *EN 149:2001 + A1:2009 (punto 8.4) modificada por RfU PPE-R/02.075.02* (Mascarillas de filtración RFU COVID-19): se ha conseguido un nivel **RFU COVID-19 FFP-2**.

Muestra	Resistencia inhalación		Resistencia exhalación	Penetración (NaCl)	Exposición (NaCl)
	(30 l/min) mbar	(95 l/min) mbar	(160 l/min) mbar	%	%
58	0.24	0.85	1.13	5.08	5.3
Requisitos según RFU COVID-19	0,6 FFP1 0,7 FFP2 1 FFP3	2,1 FFP1 2,4 FFP2 3 FFP3	3 FFP1 3 FFP2 3 FFP3	20% FFP1 6% FFP2 1% FFP3	

Tabla 4. Resumen resultados de APPE Lote 20 de 2020IP0204

- *UNE EN 14683 2019 + AC:2019* (Mascarillas Quirúrgicas Tipo II o IIR): se ha conseguido un nivel de **Quirúrgicas Tipo IIR**
- *UNE 0064 y UNE 0065* (Mascarillas Higiénicas No Reutilizables o Reutilizables): se ha conseguido un nivel de **Higiénicas No Reutilizables**

Muestra	BFE (%)	Respirabilidad (l/min)	Splash	Bioburden (%)	Citotoxicidad
50 54 y 59	99.93	54	Pasa	9	Grado 0
Requisitos según clasificación	Quir. II ≥ 98 Quir. IIR ≥ 98 Higien. No reut. ≥ 95 Higien. Reut. ≥ 90	Quir. II < 40 Quir. IIR < 60 Higien. No reut. < 60 Higien. Reut. < 60	Pasa la norma o no	Quir. II ≤ 30 Quir. IIR ≤ 30	Grado 0 (Ninguna reactividad)

Tabla 5. Resumen resultados de Gestión de Productos para la Salud e Higiene. Lote 15, 17 y 21, pertenecientes a los informes 2020IP0159, 2020IP0171.

La utilización de velos de nanofibras se han presentado como una alternativa real al meltblown (material empleado como elemento filtrante en la confección de equipos de protección críticos, tales como mascarillas); ya que dicho material al inicio de la pandemia presentaba problemas de suministro (a nivel europeo se produjo un bloqueo en la exportación y en cuanto al mercado asiático, aumentaron los precios exponencialmente).

Además, la utilización de velos de nanofibras permite dotar al conjunto de una mayor ligereza, mejorar significativamente la respirabilidad, aumentar la durabilidad de filtración y disminuir la influencia de la humedad respecto a su efectividad.

6. IMPACTO EMPRESARIAL

I. BIOINICIA. INNOVATIVE POLYMER APPLICATIONS.

En cuanto al impacto empresarial y promoción de resultados, se ha realizado una colaboración con la empresa BioInicia, S.L. con sede en la Comunidad Valenciana y perteneciente al sector de los servicios técnicos de ingeniería. Está especializada en la ingeniería biotecnológica dedicada al desarrollo, fabricación y comercialización de maquinaria y servicios en el ámbito del procesado electro-hidrodinámico y/o aerohidrodinámico, así como la fabricación de producto farmacéutico, sanitario, biomédico, productos destinados a alimentación y otros productos.

Participando en el siguiente paquete de trabajo del proyecto:

PT1: Planteamiento y planificación técnica, de la Línea 4.

Se ha adquirido el desarrollo, validación, instalación y puesta a punto de un dispositivo o segundo cabezal para, aplicando los conocimientos y protocolos de electrospinning, poder obtener nanoesferas solamente variando las condiciones de la disolución polimérica (concentración, conductividad, etc.) combinándolas a su vez con nanofibras producidas por el inyector principal o producir velos de nanofibras bi-compuestos, mediante el electrospinning simultáneo de los ambos inyectores.

El segundo cabezal de *electrospinning/electrospraying* ha sido un desarrollo específico de los fabricantes del equipo para suplir las necesidades del proyecto. No se trataba de un equipo comercial, sino una ampliación del equipo existente por lo que no ha sido necesario comparar alternativas, se solicitaron las características que debía tener y se verificó su comportamiento final.

Mediante la instalación del segundo inyector, se han mostrado las nuevas variables e indicaciones a tener en cuenta para el proceso de producción de nanofibras y/o nanoesferas. Así como la adecuación de la máquina a nivel de software y de hardware.

Tras todo ello se ha realizado una puesta en marcha del equipo y una instrucción.

La empresa ha ampliado su conocimiento respecto a la aplicación que puedan tener sus equipos en el desarrollo de producción de electrohilados combinados, mediante materiales poliméricos.

Igualmente, la empresa ha participado en el desarrollo del proceso desde un punto de vista técnico, teniendo presente la posible futura producción, comercialización y explotación del producto.

II. MILA-ROSA.

Se ha colaborado con la empresa Mila-Rosa realizando pruebas de confección de mascarillas para protección respiratoria. Se han confeccionado un lote de mascarillas y han sido analizadas por el departamento APPE de AITEX según la normativa EN 149 RFU COVID-19. Participando así en el paquete de trabajo PT2: Ejecución técnica, de la Línea 5.



Ilustración 3. Vista general de mascarilla confeccionada por MILA ROSA,

La empresa, situada en Ontinyent (Valencia), es fabricante y proveedor de mantas, protectores, sábanas, así como de productos y equipamientos para hostelería e institutos oficiales. Dispone de plantas de hilatura tejeduría, acabados, confección y almacenes logísticos.

Recientemente han desarrollado una máquina para fabricar mascarillas, por lo que han realizado una apuesta por el Clúster Textil Sanitario adaptándose así a nivel científico, innovador y productivo, a las necesidades actuales del sector, tras la pandemia.

A partir de su colaboración activa en el proyecto MEDIC@TEX, la empresa ha demostrado gran interés por los resultados obtenidos. Dado que se trata de una temática novedosa para la empresa, ésta puede verse beneficiada con la experiencia adquirida por AITEX a través del desarrollo de nuevas tecnologías relacionadas con la obtención de productos textiles dirigidos a la protección de la salud.

7. COLABORADORES EXTERNOS DESTACADOS

I. DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DE LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

El trabajo realizado por el Servicio Externo del Departamento de Patología de la Universtiat de València (UV) ha sido el *“Estudio de la funcionalidad de un dispositivo aditivado para el tratamiento de la enfermedad periodontal, del carácter antibacteriano y caracterización de proceso de diferenciación celular en osteoblastos y cementocitos con el fin de evaluar su capacidad regenerante de zonas periodontales”*.

Estos trabajos corresponden a los realizados para la Línea 1 Dental- *“Fabricación, optimización y validación de un producto para el tratamiento de la enfermedad periodontal, que combina la bioimpresión 3D y velos de nanofibras aditivadas”*. Además, comprenden la continuación y finalización de los trabajos iniciados en el proyecto DENTALTEX II, anualidad 2019; entre los que se encuentran los estudios de citotoxicidad de velos de nanofibras con quitosano y caracterización de pocillos con cores recubiertos de velos de nanofibras aditivadas para el cultivo celular Se encuadran, por lo tanto, dentro del paquete de trabajo PT2 “Ejecución técnica” de la Línea 1 Dental.

Dividiendo su trabajo en las siguientes tareas:

T.1. Estudio de funcionalidad. Analizar velos de nanofibras depositados sobre ambas caras de un núcleo central (*“core”*), cultivando en ambos casos en una cara células hDPSC y en la otra cara células hPDLSC.

- Estudio de la aplicación de los pocillos generados por AITEX para el cultivo de células sobre velos de nanofibras sin aditivos.

El objetivo es determinar:

- que los velos permiten la siembra superficial de las células
- que el constructo desarrollado permite que las células permanezcan inicialmente solo en la superficie en que se han sembrado; sin fugas.
- que con el tiempo las células pueden acceder *core* situado entre los velos de nanofibras.

T.2. Estudio de muestras optimizadas con aditivos añadidos. Analizar los velos de nanofibras con adición de hidroxiapatita en una cara del *core* y en la otra de BMP7. Cultivar en una cara células hDPSC y en la otra cara células hPDLSC.

- Estudio de velos con carácter antibacteriano
 - Estudio de la citotoxicidad sobre células hPDLSC
 - Estudio de adhesión y proliferación de células hDPSC
 - Estudio de adhesión y proliferación de células hPDLSC
- Estudio de la aplicación de los pocillos optimizados generados por AITEX para el cultivo de células sobre velos con aditivos añadidos.

El objetivo es determinar:

- que las células hDPSC y hPDLSC, inicialmente situadas en superficies opuestas, pueden colonizar la zona central del constructo y, en su caso, establecer contactos entre ellas y secretar componentes de la matriz extracelular
- cómo la presencia de hidroxiapatita y BMP7 en los velos favorece este proceso y la diferenciación de los dos tipos de células madre.

II. ON SCIENCE BIOTECNOLOGÍA. APONIMA FACTORY.

La aportación al proyecto por parte de OnScience ha sido de *“Asesoramiento in company en extracción y cultivo primario de células humanas”*.

Estos trabajos corresponden a los realizados para la Línea 1 Dental- *“Fabricación, optimización y validación de un producto para el tratamiento de la enfermedad periodontal, que combina la bioimpresión 3D y velos de nanofibras aditivadas”*. Se encuadran, por lo tanto, dentro del paquete de trabajo PT2 “Ejecución técnica” de la Línea 1 Dental.

On Science es una iniciativa dirigida a fortalecer a profesionales y empresas del campo de la biotecnología aplicando sus conocimientos y experiencia a la innovación.

El trabajo realizado ha consistido en un asesoramiento técnico mediante el desarrollo de los conocimientos y las destrezas necesarios para empezar a trabajar en la extracción y cultivo de células humanas:

- Conocer las peculiaridades del cultivo primario.
- Preparar medios de cultivo y reactivos.
- Diferenciar por observación los estadios del cultivo.
- Extraer y cultivar células mesenquimales.
- Extraer y cultivar células sanguíneas.
- Producción para terapia celular