

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**INFLUÊNCIA DO NITRATO DE PRATA ( $\text{AgNO}_3$ ) NAS  
PROPRIEDADES MECÂNICAS DO CIMENTO ÓSSEO  
ORTOPÉDICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN*  
*VITRO***

**ALINI OSOWSKI**

**Botucatu – SP**

**2023**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**INFLUÊNCIA DO NITRATO DE PRATA (AgNO<sub>3</sub>) NAS  
PROPRIEDADES MECÂNICAS DO CIMENTO ÓSSEO  
ORTOPÉDICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN  
VITRO***

**ALINI OSOWSKI**

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Titular Sheila Canevese Rahal

**Co-orientador:** Dr. Celso Roberto Ribeiro

Nome do autor: Alini Osowski

INFLUÊNCIA DO NITRATO DE PRATA ( $\text{AgNO}_3$ ) NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DO CIMENTO ÓSSEO ORTOPÉDICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO*

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Titular Sheila Canevese Rahal

Presidente da banca e orientadora

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Dra. Luciane dos Reis Mesquita

Membro interno

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Professor Titular Roberto Lopes de Souza

Membro externo

Universidade Federal de Mato Grosso

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao programa de Pós –Graduação em biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Campus de Botucatu pela grande oportunidade.

A Deus, agradeço em todos os momentos da minha vida, frente todas alegrias e dificuldades e principalmente por colocar pessoas em meu caminho que conseguem deixar a vida ainda mais bela, como meu Lindo Esposo Luiz Donizete, aquele que esteve ao meu lado sempre, quem me incentiva a ser uma pessoa e profissional melhor desde o dia que o conheci, é quem deixa a vida mais leve, diante de toda dificuldade da maternidade (momento de muitos altos e baixos), foi ele quem assumiu as rédeas e me cobrou diariamente para chegar até aqui, não existem palavras para conseguir agradecer sua grande disposição sempre, por sua compreensão, não seria possível chegar até aqui sem você. Te Amo Intensamente.

Durante o período do mestrado, descobrimos que nosso príncipe Luiz Gabriel estava a caminho, luz dos meus dias, alegria de viver, um menininho encantador com seu jeitinho único. Mamãe de primeira viagem e muitos desafios pela frente, conheci o meu grande amor. Com você meu filho, descobri que a família é a base de tudo, e que a melhor parte da minha vida é quando podemos estar todos juntinhos, você e seu pai, é a família dos meus sonhos. Família é amor, é para o que der e vier, a Deus agradeço pela vida de vocês (Luiz, LG e Aninha).

Aos meus pais Gabriel e Helena, que não mediram esforços para a minha formação e sempre apoiou minha jornada, obrigada pelo carinho de vocês sempre, pela preocupação e pela felicidade em me ver evoluindo, vocês são minhas raízes e meu orgulho também, mesmo ambos (pai e mãe) com pouquíssima experiência escolar, prezaram e incentivaram a minha formação.

Agradeço também aos meus irmãos: Amanda, que está comigo todos os dias mesmo à distância, dando incentivo e me ajudando em tudo. Irmãos meninos: Eduardo e Anthony. Minha Vózinha Júlia que se faz sempre presente.

Grandiosa Professora Sheila, como profissional uma mulher sensacional, comprometida e dedicada, uma experiência fora do comum, como pessoa uma mulher linda e dona de grande humildade e coração bom, não há palavras suficientes para agradecer tudo que a senhora junto do meu esposo Donizete fez, desde o seu aceite a minha orientação, para sempre serei grata.

# Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELA.....	viii
<b>Resumo</b> .....	ix
<b>Abstract</b> .....	x
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	1
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	2
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3 REFERÊNCIAS.....	16
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	20
<b>Artigo científico 1</b> .....	21

# Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Exemplo de corpo de prova do Grupo 1 preparada para ser utilizada no ensaio de flexão.....	24
<b>Figura 2.</b> Ilustração do esquema de dispositivo da montagem do ensaio de flexão em quatro pontos.....	25
<b>Figura 3.</b> Ilustração da montagem do ensaio de compressão.....	26
<b>Figura 4.</b> Gráfico de deslocamento e tensão do ensaio mecânico de flexão dos 10 corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).....	28
<b>Figura 5.</b> Exemplos de corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle) após o ensaio mecânico de flexão.....	28
<b>Figura 6.</b> Gráfico de deslocamento e tensão do ensaio mecânico de flexão dos 10 corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).....	29
<b>Figura 7.</b> Exemplos de corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata) após o ensaio mecânico de flexão.....	30
<b>Figura 8.</b> Gráfico de deformação e tensão do ensaio mecânico de compressão dos 10 corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).....	31
<b>Figura 9.</b> Gráfico de deformação e tensão do ensaio mecânico de compressão dos 10 corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).....	32

# Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Valores do ensaio mecânico de flexão dos corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).....	27
<b>Tabela 2.</b> Valores do ensaio mecânico de flexão dos corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).....	29
<b>Tabela 3.</b> Valores do ensaio mecânico de compressão dos corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).....	31
<b>Tabela 4.</b> Valores do ensaio mecânico de compressão dos corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).....	32
<b>Tabela 5.</b> Comparação entre o cimento ósseo controle (Grupo 1) e o cimento acrescido de nitrato de prata (Grupo), conforme os testes mecânicos.....	33

**OSOWSKI, A. Influência do nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) nas propriedades mecânicas do cimento ósseo ortopédico e atividade antibacteriana *in vitro*.** Botucatu, 2023. 38p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a influência do nitrato de prata nas propriedades mecânicas do cimento ósseo de polimetilmetacrilato (PMMA), por meio de testes estáticos, bem como a atividade antibacteriana *in vitro*. Foram constituídos dois grupos: Grupo 1 – controle (n=10), Grupo 2 – cimento acrescido de nitrato de prata (n=10). No Grupo 1 o cimento foi preparado manualmente usando 20 g de pó de PMMA, o qual foi misturado a 10 ml de líquido metilmetacrilato. No Grupo 2 o cimento foi preparado como no Grupo 1, a diferença foi que 0,25 g de nitrato de prata foi adicionado a 20 g de pó de PMMA. Dez corpos de prova de cada grupo foram designados para o ensaio de flexão em quatro pontos e 10 para o ensaio de compressão. Para o ensaio de flexão em quatro pontos, os corpos de prova tinham 75 mm de comprimento, 10 mm de largura e 3 mm de espessura. Para o ensaio de compressão, os corpos de prova tinham 6 mm de diâmetro e 12 mm de comprimento. Não foram observadas diferenças estatísticas para a resistência à flexão com (61,80 ± 4,96 MPa) ou sem nitrato de prata (60,20 ± 5,88 MPa). Diferenças estatísticas foram verificadas na resistência à compressão, sendo maior para os corpos de prova controle (78,60 ± 3,20 MPa) comparado ao nitrato de prata (74,20 ± 1,61 MPa). Amostras dos produtos foram analisadas pelo teste de sensibilidade antimicrobiana, porém não foi verificado efeito com relação ao *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Conclui-se que na concentração empregada, o nitrato de prata não alterou as propriedades mecânicas do cimento ósseo de PMMA no teste de flexão, porém influenciou negativamente no teste de compressão. Além disso, o produto não permitiu a redução da carga bacteriana no teste *in vitro*.

**Palavras-chave:** Polimetilmetacrilato; Ensaio mecânico; Corpo de prova; Ensaio estático.

**OSOWSKI, A. Influence of silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) on the mechanical properties of orthopedic bone cement and *in vitro* antibacterial activity.** Botucatu, 2023. 38p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## **SUMMARY**

This study aimed to evaluate the influence of silver nitrate on the mechanical properties of polymethyl methacrylate (PMMA) bone cement by static testing and *in vitro* antibacterial activity. Two groups were formed: Group 1 – control (n=10), Group 2 – cement with silver nitrate (n=10). In Group 1, the cement was prepared manually by mixing 20 g of PMMA powder and 10 ml of methyl methacrylate liquid. In Group 2, the cement was prepared as in Group 1; however, 0.25 g of silver nitrate was added to 20 g of PMMA powder. Ten samples from each group were assigned to the four-point bending testing and 10 to the compression testing. For the four-point bending testing, the samples had 75-mm length, 10-mm width, and 3-mm thickness. For the compression testing, the specimens had 6-mm diameter, and 12-mm length. No statistical differences were observed for bending strength with ( $61.80 \pm 4.96$  MPa) or without silver nitrate ( $60.20 \pm 5.88$  MPa). Statistical differences were verified in the higher compressive strength for the control ( $78.60 \pm 3.20$  MPa) compared to cement with silver nitrate specimens ( $74.20 \pm 1.61$  MPa). Antimicrobial sensitivity testing showed no effect of the cement with silver nitrate regarding *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. In conclusion, the concentration used of silver nitrate did not change the mechanical properties of the PMMA bone cement in the bending testing but was negative in the compression testing. In addition, the product did not allow the reduction of the bacterial load in the *in vitro* test.

**Key words:** Polymethylmethacrylate; Mechanical testing; Sample; Static testing.

# **CAPÍTULO 1**

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O cimento ósseo ortopédico, baseado no polimetilmetacrilato (PMMA), tem sido empregado há anos em diversos procedimentos cirúrgicos, tais como na fixação de próteses, cirurgias oncológicas e vertebroplastias percutâneas, entre outros (WEBB e SPENCER, 2007; MAGNAN et al., 2013; CAVALU, 2017; VUGT et al., 2019). Contudo, em virtude da ocorrência de infecções, o cimento carregado de antibiótico começou a ser utilizado como um método profilático em cirurgias de próteses, mas também para tratamento de infecções relacionadas ao procedimento e no tratamento de osteomielites crônicas, em especial como pérolas ou como espaçador (MAGNAN et al., 2013; VUGT et al., 2019).

Em virtude da dificuldade do tratamento das infecções relacionadas às próteses e o potencial para induzir resistência antibiótica, outras abordagens têm sido propostas, com o intuito de reduzir ou eliminar o carregamento de antibiótico no cimento de PMMA (LEWIS, 2022). Entre as possibilidades encontra-se a prata, material que tem sido empregado em uma variedade de aplicações industriais, domésticas e na saúde, sendo reconhecida por suas propriedades como agente antibacteriano, antiviral e antifúngico (BRENNAN et al., 2015; NAGANTHRAN et al., 2022). Do ponto de vista clínico, a prata tem sido usada em formas minerais e compostas, como zeólita de prata e nitrato de prata, sendo que com o avanço da nanotecnologia há também a produção de nanop prata (BRENNAN et al., 2015). Contudo, ao se incluir qualquer material com o cimento de PMMA, deve-se preservar ou mesmo aumentar sua resistência mecânica, para manter sua funcionalidade, particularmente quando empregado na fixação de próteses (CAVALU, 2017; LEWIS, 2017).

Neste sentido, o presente estudo se justificou porque avaliou a influência do nitrato de prata nas propriedades mecânicas do cimento ósseo de PMMA. Para o desenvolvimento do assunto foi estabelecido como Capítulo 1

tópicos associados à Introdução e à Revisão da Literatura, e como Capítulo 2 incluiu-se o Artigo Científico propriamente dito.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 *Cimento ósseo*

O PMMA foi inicialmente usado para promover a fixação dos componentes acetabular e femoral na prótese total de quadril em pacientes humanos, por Charnely em 1960; contudo, seu emprego progressivamente se expandiu para outros procedimentos, tais como fraturas, cirurgias oncológicas, vertebroplastias percutâneas e reparo de defeitos cranianos (NUSSBAUM et al., 2004; WEBB e SPENCER, 2007; MAGNAN et al., 2013; CAVALU, 2017; VUGT et al., 2019). Entre as funções dos cimentos ósseos acrílicos podem ser citadas a fixação de articulações artificiais, a ancoragem do implante ao osso, transferência de carga da prótese ao osso, a distribuição de estresse e a liberação de antibióticos (KUEHN et al., 2005; WANG e DUNNE, 2008).

Os constituintes do cimento incluem uma parte de pó e outra líquida, os quais após a mistura, geralmente na proporção de 2:1, ocorre polimerização exotérmica promovendo um material sólido e rígido (MAGNAN et al., 2013; CAVALU, 2017; VUGT et al., 2019). A temperatura máxima pode ser influenciada pela composição química do cimento, pela proporção de pó por líquido e pelo radiopacificador (KUEHN et al., 2005). A produção do calor de polimerização está em torno de 57 kJ (13,8 kcal) por mol de metilmetacrilato (WANG e DUNNE, 2008).

Embora os cimentos comerciais tenham formulações similares, há várias diferenças em composição (CAVALU, 2017). Entre os componentes do pó podem estar incluídos: polimetilmetacrilato; copolímeros de metacrilato, os quais alteram as propriedades físicas do cimento; iniciador da polimerização de peróxido de benzoíla; radiopacificadores, tais como sulfato de bário ou dióxido de zircônio; antibióticos para profilaxia antimicrobiana; corantes para favorecer a distinção entre o cimento e o osso (NUSSBAUM et al., 2004; WEBB e

SPENCER, 2007; WANG e DUNNE, 2008; CAVALU, 2017). O componente líquido pode ter em sua composição: monômero de metilmetacrilato ou butilmetacrilato; N,N-Dimetil-p-toluidina ou 2-[4-(dimetilamino)fenil]etanol como ativadores; peróxido de benzoíla, o qual reage com N,N-Dimetil-p-toluidina para catalisar a polimerização; hidroquinona como estabilizador, para prevenir a polimerização prematura; corantes para favorecer a distinção entre o cimento e o osso (KUEHN et al., 2005; WEBB e SPENCER, 2007; WANG e DUNNE, 2008). O monômero de metilmetacrilato é um líquido claro, incolor, inflamável e de odor intenso (KUEHN et al., 2005).

A viscosidade do cimento pode variar de baixa, média e alta, conforme o peso molecular e métodos de esterilização (KUEHN et al., 2005; WEBB e SPENCER, 2007). Além disso, a cura sofre influência de fatores ambientais, sendo que temperaturas baixas e alta umidade prolongam a mesma (WEBB e SPENCER, 2007). A viscosidade é uma propriedade importante para o cirurgião, já que determina as propriedades de trabalho do cimento (KUEHN et al., 2005).

A manipulação dos cimentos ósseos se faz por quatro diferentes fases: fase de mistura, de até um minuto, na qual é realizada a homogeneização completa do pó de polímero e dos componentes líquidos; fase de espera, período para o cimento obter uma consistência não pegajosa; fase de aplicação ou fase de trabalho, de 2 a 4 minutos dependendo do cimento e temperatura; e fase de endurecimento, de 1 a 2 minutos, no qual ocorre o calor da polimerização (WANG e DUNNE, 2008).

Diversos problemas têm sido relacionados ao PMMA, tais como polimerização exotérmica alta, fragilidade, necrose química devido às ligações do monômero não reativo, efeito hipotensor do monômero, retração e rigidez entre o cimento e o osso (MAGNAN et al., 2013; CAVALU, 2017). Se preparado sob condições atmosféricas o cimento de PMMA tende a retrair menos do que aquele misturado sob aplicação de vácuo (WANG e DUNNE, 2008).

## **2.2 Propriedades mecânicas do cimento ósseo**

O cimento quando aplicado junto ao implante está sujeito tanto a carga estática como a dinâmica, visto ocorre transmissão de carga da prótese ao osso (SAHA e PAL, 1984; CAVALU, 2017). Desta forma, as propriedades mecânicas do cimento têm sido determinadas por testes destrutivos com uma carga única até a falha e por testes dinâmicos que envolvem a carga cíclica (SAHA e PAL, 1984; WANG e DUNNE, 2008; CAVALU, 2017). As propriedades mecânicas do cimento ósseo podem ser divididas em curto prazo e longo prazo, sendo que as mais importantes de curto prazo são a força de tração, a força a compressiva, força à flexão e o módulo de elasticidade (WANG e DUNNE, 2008).

De acordo com a ISO 5833 e ASTM F 451, os cimentos comerciais devem variar dentro de um intervalo limitado: força de flexão (configuração de quatro pontos:  $67 \pm 72$  MPa), força compressiva ( $80 \pm 94$  MPa), força de tração ( $36 \pm 47$  MPa), força de cisalhamento ( $50 \pm 69$  MPa), tenacidade média à fratura ( $1,52 \pm 2,02$  MPa $\sqrt{m}$ ) (CAVALU, 2017). Em geral, a força compressiva do cimento ósseo é superior a força de flexão, a qual é mais alta que a força de tração (WANG e DUNNE, 2008). O cimento cirúrgico de PMMA é similar ao concreto, um material quebradiço, o qual se caracteriza por ser fraco em tração e força de cisalhamento, mas forte em compressão (SAHA e PAL, 1984).

No teste de fadiga três diferentes técnicas têm sido usadas, ou seja, ISO 5833, ISO 527 e ASTM F 2118, geralmente conduzidas pela flexão, sendo o número de ciclos por falha de 24,163 e 53,528 para misturas realizadas, respectivamente, a mão e a vácuo pela ISSO 527 (WANG e DUNNE, 2008).

Entre os fatores que podem interferir com a performance do cimento estão a composição química, a viscosidade, a porosidade, os radiopacificantes e os aditivos antibióticos, bem como os métodos de mistura, a esterilização e a temperatura durante o manuseio (WANG e DUNNE, 2008; CAVALU, 2017). A forma de esterilização pode influenciar as características mecânicas do cimento; a radiação gama e beta diminuem o peso molecular do polímero, mas não o óxido de etileno, considerado um dos métodos preferidos de esterilização (KUEHN et al., 2005; WEBB e SPENCER, 2007; WANG e DUNNE, 2008).

Dependendo da técnica de mistura, segundo Nussbaum et al. (2004), o ar pode tornar-se preso na mistura de cimento, aumentando a porosidade. O ar enfraquece o cimento e fornece uma interface para o desenvolvimento de fraturas e rachaduras. A mistura à vácuo é considerada o método de escolha para a obtenção de um cimento homogêneo, reduzindo a porosidade e aumentando a força do cimento (WANG e DUNNE, 2008). A centrifugação pode também ser um método efetivo para limitar a porosidade (NUSSBAUM et al., 2004).

Lewis et al. (1997) analisaram cinco formas de preparação do cimento: mistura manual; mistura à vácuo ativo; mistura em uma máquina que permitia a mistura mecânica simultânea e centrifugação; mistura usando esta máquina seguida da aplicação de um vácuo passivo; aplicação de vácuo passivo seguido de mistura na máquina. Os melhores resultados globais (densidade, porosidade e testes de compressão) foram obtidos no cimento que foi misturado usando a mistura à vácuo e aplicação de vácuo passivo seguido de mistura na máquina.

Segundo Wang e Dunne (2008), tem sido relatado que pequenas doses de antibióticos (menos de 1 grama por 40 grama de pós de polímero) não seria prejudicial na força de compressão ou tração diametral, porém doses maiores diminuem as forças de compressivas e de tração. A mistura de antibiótico manualmente no cimento ósseo no momento da cirurgia, também pode afetar a qualidade do cimento.

Weisman et al. (2000) avaliaram a influência de diferentes métodos de esterilização (nenhum, vapor, óxido de etileno) na atividade microbiana (pó de cefazolina ou pó de gentamicina) ou propriedades mecânicas dos compósitos antibiótico/PMMA. O cimento usado foi da marca Simplex. A preparação do cimento foi manual. Os compostos de antibiótico/PMMA inibiram o crescimento bacteriano por sete a 10 dias; contudo, a força compressiva foi afetada por diferentes adições de antibiótico.

Conforme Lewis (2003), existe um consenso de que a vida de fadiga de um cimento é aumentada pelos seguintes fatores: aumento do peso molecular do pó de cimento e, portanto, o cimento totalmente curado; inclusão de um radiopacificador no pó de cimento; incorporação de um agente de

endurecimento/reforço, como partículas de polimetacrilato de butilo ou fibras polietileno tereftalato, como parte do pó de cimento; e o aumento na frequência do teste.

Como o cimento ósseo é viscoelástico por natureza, é provável que o relaxamento do estresse e a deformação do PMMA podem afetar adversamente a capacidade de suportar tensões das próteses, podendo contribuir para o seu afrouxamento e fracasso (SAHA e PAL, 1984).

Verdonschot e Huiskes (1994) estudaram o comportamento dinâmico de deformação do cimento ósseo (Simplex P) misturado à mão e armazenado entre 60 e 100 dias em solução salina na temperatura de 37°C, para permitir a completa polimerização e absorção de água. Foi avaliada a força de tração com três níveis de carga usando os estresses máximos de 3, 7 e 11 MPa. Foi notada relação linear entre os valores logarítmicos da deformação e o número de ciclos de carregamento. Espécimes expostos a cargas mais altas apresentaram deformações de fluência significativamente maiores. Não foi possível estabelecer uma relação entre os níveis de deformação e a porosidade dos corpos de prova. Amostras carregadas dinamicamente com uma tensão máxima de 7 ou 11 MPa a partir de 0 falharam durante os testes.

## **2.2 Infecção ortopédica**

Para diminuir a possibilidade de infecção em próteses, o antibiótico na forma de pó ou líquido é misturado ao pó do PMMA, antes de se incluir o monômero, de forma que durante a polimerização o antibiótico é incorporado entre as cadeias de PMMA (HAYES et al., 2013; MAGNAN et al., 2013; WALKER et al., 2017; VUGT et al., 2019). Além do uso profilático, o PMMA carregado de antibiótico tem também sido aplicado no tratamento de infecções ortopédicas, incluindo aquelas decorrentes de aplicação de prótese e nas osteomielites crônicas (VUGT et al., 2019). Este pode ser aplicado de diferentes formas, sendo as mais comuns como pérolas ou como espaçador (MAGNAN et al., 2013; VUGT et al., 2019).

O antibiótico escolhido precisa ser estável em face ao calor gerado durante a polimerização (HAYES et al., 2013). Entre os utilizados estão os

aminoglicosídeos (gentamicina e tobramicina), devido à estabilidade química e térmica, pequeno tamanho das moléculas, amplo espectro de atividade microbiana, solubilidade em água, baixa capacidade alergênica e biocompatibilidade (MAGNAN et al., 2013; WALKER et al., 2017). O uso de antibiótico líquido do que o em pó não foi associado em perda de eficácia (HAYES et al., 2013). Um fato a se destacar é que o *S. aureus* e *S. epidermidis*, micro-organismos responsáveis pela maioria das infecções articulares prostéticas em pacientes humanos, estão se tornando resistente ao sulfato de gentamicina, antibiótico presente na maioria dos cimentos comerciais (LEWIS, 2022).

Há um liberar inicial do antibiótico após a implantação, seguido de uma liberação após dias, porém em menor concentração (VUGT et al., 2019). No caso da gentamicina e vancomicina foi observado liberação local em concentrações ainda efetivas após três a seis meses, porém o tempo de liberação do antibiótico foi variável (MAGNAN et al., 2013). O cimento com antibiótico preparado industrialmente é considerado mais homogêneo e com eficácia estabelecida, já que a mistura manual tem sido relacionada à diminuição da resistência do cimento, inibição da reação de polimerização, ineficácia relacionada à difusão desigual do antibiótico (PASSUTI e GOUIN, 2003). Uma constante preocupação é a liberação subótima do antibiótico, com alta taxa de liberação inicial curta, menos do que dois dias, seguida por uma redução significativa na taxa de liberação, culminando na exaustão da liberação em torno de 20 a 30 dias (LEWIS, 2022).

Há vários estudos relativos a mistura cimento/antibiótico tão bem quanto as concentrações da eluição, porém existem grandes variações de resultados (HAYES et al., 2013). Um estudo de consenso citou haver falta de evidência nível 1 para demonstrar a eficácia do cimento ósseo carregado de antibiótico (SCHWARZ et al., 2021). As discrepâncias observadas em relação à eficácia antimicrobiana do cimento ósseo carregado de antibiótico podem ter relação com as diferentes marcas comerciais (PELLEGRINI e SUARDI, 2020).

Um dos problemas associados com a administração local do antibiótico são os potenciais negativos, particularmente a citotoxicidade e a toxicidade sistêmica (VUGT et al., 2019), bem como a ocorrência de organismos

resistentes por exposição às concentrações subterapêuticas de antibiótico (HAYES et al., 2013; WALKER et al., 2017; SCHWARZ et al., 2021). A nefrotoxicidade, a hepatotoxicidade e a ototoxicidade podem ocorrer com concentrações sistêmicas altas de gentamicina ou vancomicina (VUGT et al., 2019).

## **2.2 Nitrato de prata**

De acordo com Brennan et al. (2015), a prata é um material que tem sido empregado em uma variedade de aplicações industriais, domésticas e na saúde, sendo reconhecida por suas propriedades antimicrobianas. Do ponto de vista clínico, a prata tem sido usada em formas minerais e compostas, como zeólita de prata e nitrato de prata, sendo que com o avanço da nanotecnologia há também a produção de nanop prata. As nanopartículas de prata são aglomerados de átomos de prata que variam em diâmetro de 1 a 100 nm (CHALOUPEK et al., 2010), as quais podem ser produzidas por meio de várias preparações, incluindo as vias física, química e biológica (NAGANTHRAN et al., 2022).

A despeito dos efeitos benéficos, estudos já demonstraram que as nanopartículas de prata têm o potencial de induzir anormalidades de desenvolvimento em embriões de peixe-zebra, romper a membrana celular, induzir danos genotóxicos e citotóxicos aos fibroblastos pulmonares humanos e supressão do sistema imunológico (BRENNAN et al., 2015). Sob condições experimentais, a prata complexada por certos ligantes é mais citotóxica do que o nitrato de prata, mas com ligantes relacionados é consideravelmente menos tóxica (CLEMENT e JARRETT, 1994).

Hwang et al. (2012) avaliaram os efeitos da combinação de nanopartículas de prata com antibióticos convencionais (ampicilina, cloranfenicol e kanamicina), verificando que as nanopartículas possuem efeitos antibacterianos e atividades sinérgicas, além de apresentarem atividades antibiofilme.

Com relação ao cimento ósseo de PMMA, diversos tipos de fibras e partículas têm sido testados com o intuito de promover um reforço do mesmo,

entre as quais as nanopartículas de prata, que mostraram forte atividade antibacteriana sem redução significativa na resistência mecânica (CAVALU, 2017; LEWIS, 2017). Em virtude do desenvolvimento de bactérias resistentes aos antibióticos, têm sido propostas novas abordagens sem antibiótico, incluindo o uso de nanopartículas de prata (NAGANTHRAN et al., 2022). Há sugestões que o uso do cimento ósseo de PMMA com nanopartículas seria um mecanismo de diminuir a incidência de resistência, por meio de um mecanismo de ação multifacetado (CHALOUPKA et al., 2010; NAGANTHRAN et al., 2022).

Dueland et al. (1982) promoveram osteomielite por *Staphylococcus* em tibia de coelhos. Foram então inseridas hastes de PMM pré-polimerizadas com 1% de sulfato de prata, 2,5% de gentamicina e nenhum aditivo. Em seis semanas, a taxa de mortalidade foi de 61% nos controles, 22% nos animais sulfato de prata-PMM e 6% nos animais gentamicina-PMM. As contagens bacterianas do osso de animais mortos e sobreviventes foram significativamente menores do que os controles, 23,6% dos controles para os grupos tratados com Ag-PMM e 6,0% para os grupos tratados com gentamicina-PMM. Todos os animais sobreviventes tiveram cultura positiva, exceto três ossos estéreis obtidos do grupo gentamicina-PMM.

Alt et al. (2004) analisaram *in vitro* o cimento ósseo carregado com partículas de prata metálica com um tamanho de 5-50 nm, com nome comercial de NanoSilver. A atividade antibacteriana deste cimento foi efetiva contra *S. epidermidis*, *S. epidermidis* resistente à metilina e *S. aureus* resistente à metilina, o que não foi verificado com a gentamicina e com o cimento simples. Ademais, não houve diferença significativa em relação à citotoxicidade *in vitro* entre NanoSilver e o controle não tóxico.

Três agentes antimicrobianos (cloro, prata e tobramicina) foram usados, por Kim et al. (2008), para examinar as atividades sobre biofilmes. A tobramicina pareceu ser a mais eficaz na redução da atividade respiratória das células do biofilme. Em contraste, as células de biofilme tratadas com tobramicina mantiveram sua membrana integridade melhor do que os tratados com cloro ou prata. Os tratamentos combinados e sequenciais com prata e tobramicina mostraram eficiência antimicrobiana de mais de 200%, ao passo que

atividade antimicrobiana do cloro e tobramicina foi antagonizada quando os agentes foram usados em combinação.

Os efeitos de várias concentrações do iniciador e acelerador no PMMA (resina acrílica odontológica) carregado de nanopartículas de prata foram avaliados por Oei et al. (2012). Em uma pesquisa inicial, os autores notaram que íons de prata ao serem reduzidos para nanopartículas de prata através do processo de polimerização da resina promovia interferência na cura do material e diminuição das propriedades mecânicas. Este fato foi modificado, sendo verificado um espectro amplo e efeito antimicrobiano intermediário longo, com propriedades mecânicas comparáveis ao PMMA controle em uma parte das amostras. Todas as amostras carregadas de nanopartículas de prata liberaram íons de prata *in vitro* por 28 dias.

Sodagar et al. (2012) analisaram os efeitos das nanopartículas de prata na força de flexão (flexão em três pontos) de dois tipos de resina odontológica (Selecta Plus e Rapid Repair). As nanopartículas de prata foram sintetizadas em duas concentrações de 0,05% e 0,2%, por meio da adição de nitrato de prata e álcool isopropílico ao monômero. A adição de 0,05% de nanopartículas de prata ao Rapid Repair diminuiu significativamente sua resistência, e a contínua adição até 0,2% aumentou a resistência quase até o seu nível primário. Em contraste, a adição de nanopartículas de prata ao Selecta Plus aumentou sua resistência à flexão, mas a adição de 0,05% de nanopartículas foi mais eficaz do que 0,2%.

Prokopovich et al. (2013) realizaram estudo com nanopartículas de prata cobertas com tiopronina embebidas no cimento ósseo. Foram testadas duas proporções de reagentes durante a síntese e o efeito sobre as nanopartículas investigado por meio de espectroscopia. Uma vez encapsuladas no cimento ósseo, apenas as nanopartículas com maior quantidade de fração inorgânica conferiram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em concentrações tão baixas quanto 0,1% p/p. A atividade antimicrobiana aumentou com o incremento das nanopartículas encapsuladas no cimento. A citotoxicidade e as propriedades mecânicas (teste de compressão) não foram afetadas pelas nanopartículas.

Ghaffari et al. (2014) investigaram o acréscimo de nanopartículas de prata menores de 35 nm à resina acrílica odontológica nas concentrações de

2% e 0,2%. O procedimento de mistura foi realizado em amalgamator por 20 minutos. A mistura das nanopartículas de prata foi realizada manualmente com um monômero de resina. A microscopia eletrônica de varredura foi usada para estudar a distribuição de nanopartículas e a morfologia transversal das amostras. As amostras foram acondicionadas em ambiente padrão por 24 horas antes da realização dos testes (temperatura=  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade=  $50 \pm 5\%$ ). A força de compressão média não diferiu entre as diferentes concentrações de nanopartículas de prata, sendo ambas maiores quando comparadas ao grupo controle. A força de tração não foi significativamente diferente entre as amostras com 0,2% de nanopartículas e as controle. Além disso, foi notada diminuição da força de tensão após incorporação de 2% nanopartículas. Foi citado que nanopartículas de pratas atuam como impurezas e a resistência à tensão diminui aumentando seu conteúdo.

Morrison et al. (2015) estudaram *in vitro* o impacto da gentamicina, prata, ou ambos os aditivos, em pérolas de cimento ósseo de PMMA na formação do biofilme de *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à metilicina. Quatro grupos foram constituídos: sem aditivo; 1% de prata (pó de prata com partículas de 10- $\mu\text{m}$ ); 1,25% de gentamicina; 1,25% de gentamicina e 1% de prata. Nenhum dos aditivos de PMMA inibiu completamente a formação do biofilme. Houve um efeito significativo da gentamicina e gentamicina mais prata nesta variável, em comparação com os controles, mas não com o aditivo somente de prata. A falha da prata foi relacionada a uma série de fatores, incluindo tamanho de partícula, tempo de incubação, concentração de prata, e resistência ao biofilme testado.

A incorporação de nanopartículas de prata no cimento ósseo acrílico (Palacos R) foram avaliadas por Slane et al. (2015). As nanopartículas de prata em três proporções (0,25, 0,5 e 1,0% p/p) foram incorporadas ao cimento ósseo por sonicação. Os cimentos resultantes demonstraram propriedades mecânicas pelos testes estáticos (flexão em quatro pontos, compressão e tenacidade) e dinâmicos (flexão em três pontos) que não foram substancialmente diferentes do cimento padrão. Testes contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* não demonstraram atividade antimicrobiana contra bactérias planctônicas, porém os cimentos nanopartículas

de prata reduziram significativamente a formação de biofilme na superfície do cimento.

O ácido oleico tamponado com nanopartículas de prata foram encapsuladas em cimento ósseo de PMMA em várias proporções, por Prokopovich et al. (2015). Concentrações de nanopartículas tão baixas quanto 0,05% permitiram a redução do número de microorganismos contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter baumannii*. Não foi detectada influência nas propriedades mecânicas do cimento (teste de compressão) e citocompatibilidade.

Ficklin et al. (2016) investigaram os efeitos biomecânicos (compressão axial e flexão em quatro pontos) de antibióticos (cefazolina, gentamicina, vancomicina), e pó de prata acrescido ao cimento de PMMA (BioMedtrix). Doses de 0,5, 1, 2 ou 3 gramas de pó de antibiótico foram incluídas a 20 gramas de PMMA. Grupos de prata continham 0,25 g de micropartículas (média de 10  $\mu\text{m}$ ) acrescidas a 20 gramas de PMMA e 0, 0,5 ou 1 grama de pó de antibiótico. Todas as preparações foram feitas à mão. Relativo ao teste de compressão, os grupos antibióticos e grupos de prata foram mais fracos do que o controle, porém todos os grupos estavam acima do padrão ASTM, exceto 3 g de vancomicina. Com respeito à flexão em quatro pontos, a adição de antibióticos não afetou significativamente a resistência em grupos com doses mais baixas de antibióticos. O grupo prata com PMMA foi mais fraco do que o controle. Nenhum grupo foi significativamente abaixo do padrão ISO, exceto o 3 g de vancomicina.

Foi investigado, por Alsukhayri et al. (2019), o acréscimo de nanopartículas de prata nas propriedades mecânicas da resina acrílica odontológica (PMMA) nas concentrações de 0,5% e 2%. As nanopartículas de prata em diâmetros menores de 35 nm foram adicionadas à resina acrílica termopolimerizável e processadas com ótima condição (relação pó/monômero 2,5:1, método de empacotamento convencional e cura em banho-maria por 2 horas a 95°C). Ocorreu aumento significativo na força de flexão (teste de flexão em três pontos), resistência à fratura, resistência ao impacto e dureza à medida que foi aumentada a porcentagem de nanopartículas de prata. A força compressiva não melhorou com o aumento da porcentagem de nanopartículas.

Jackson et al. (2021) investigaram o uso da combinação de antibiótico e nitrato de prata no cimento ósseo, contra as bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Inicialmente foram analisados os efeitos antibacterianos da gentamicina e prata, seguidos por estudos usando concentrações subterapêuticas de cada um em combinação. Um forte efeito sinérgico foi encontrado usando ambas as drogas dissolvidas e usando o meio de liberação de cimento ósseo no dia 7, tanto para bactérias Gram-positivas como Gram-negativas. Quando usado vancomicina e tobramicina foram verificados efeitos sinérgicos com *P. aeruginosa*, mas não com *S. aureus*. Os autores concluíram que cargas baixas de gentamicina e nitrato de prata no cimento ósseo pode oferecer uma solução econômica para os tratamentos ortopédicos anti-infecciosos.

### 3 REFERÊNCIAS

- ALT, V.; BECHERT, T.; STEINRÜCKE, P.; WAGENER, M.; SEIDEL, P.; DINGELDEIN, E.; DOMANN, E.; SCHNETTLER, R. An *in vitro* assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*, v.25, n.18, p.4383–4391, 2004.
- ALSUKHAYRI, A.A.; ALWAGDANI, A.A.; IBRAHIM, M.I.; FAHMI, M.K. Effect of silver nanoparticles fillers addition on flexural strength, fracture toughness, impact strength, compressive strength and hardness of heat-polymerized acrylic resin. *Int. J. of Adv. Res.*, v.7, n.9, p.1419-1422.
- BRENNAN, S.A.; NÍ FHOGLÚ, C.; DEVITT, B.M.; O'MAHONY, F.J.; BRABAZON, D.; WALSH, A. (2015). Silver nanoparticles and their orthopaedic applications. *Bone Joint J.*, v.97-B, n.5, p.582-589, 2015.
- CAVALU, S. Acrylic bone cements: new insight and future perspective. *Key Eng. Mater.*, v.745, p.39-49, 2017.
- CHALOUPIKA, K.; MALAM, Y.; SEIFALIAN, A.M. Nanosilver as a new generation of nanoprodukt in biomedical application. *Trends Biotechnol.*, v.28, n.11, p.580-588, 2010.
- CLEMENT, J.L.; JARRETT, P.S. Antibacterial silver. *Met. Based Drugs*, v.1, p.467-482, 1994.
- DUELAND, R.; SPADARO, J.A.; RAHN, B.A. Silver antibacterial bone cement. Comparison with gentamicin in experimental osteomyelitis. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, v.169, p.264-268, 1982.
- FICKLIN, M.G.; KUNKEL, K.A.; SUBER, J.T.; GERARD, P.D.; KOWALESKI, M.P. Biomechanical evaluation of polymethyl methacrylate with the addition of various doses of cefazolin, vancomycin, gentamicin, and silver microparticles. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, v.29, n.5, p.394-401, 2016.
- GHAFFARI, T.; HAMEDIRAD, F.; EZZATI, B. *In vitro* comparison of compressive and tensile strengths of acrylic resins reinforced by silver nanoparticles at 2% and 0.2% concentrations. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects*, v.8, n.4, p.204-209, 2014.

- HWANG, I.S.; HWANG, J.H.; CHOI, H.; KIM, K.J.; LEE, D.G. Synergistic effects between silver nanoparticles and antibiotics and the mechanisms involved. *J. Med. Microbiol.*, v.61, p.1719-1726, 2012.
- JACKSON, J.; LO, J.; HSU, E.; BURT, H.M.; SHADEMANI, A.; LANGE, D. The combined use of gentamicin and silver nitrate in bone cement for a synergistic and extended antibiotic action against gram-positive and gram-negative bacteria. *Materials (Basel)*, v.14, n.12, p.3413, 2011.
- KIM, J.; PITTS, B.; STEWART, P.S.; CAMPER, A.; YOON, J. Comparison of the antimicrobial effects of chlorine, silver ion, and tobramycin on biofilm. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.52, n.4, p.1446-1453, 2008.
- LEWIS, G.; NYMAN, J.S.; TRIEU, H.H. Effect of mixing method on selected properties of acrylic bone cement. *J. Biomed. Mater Res.*, v.38, n.3, p.221-228, 1997.
- LEWIS, G. Fatigue testing and performance of acrylic bone-cement materials: state-of-the-art review. *J. Biomed. Mater Res. B Appl. Biomater.*, v.66, n.1, p. 457-486, 2003.
- LEWIS, G. Properties of nanofiller-loaded poly (methyl methacrylate) bone cement composites for orthopedic applications: a review. *J. Biomed. Mater Res. B Appl. Biomater.*, v.105, n.5, p.1260-1284, 2017.
- LEWIS, G. Antibiotic-free antimicrobial poly (methyl methacrylate) bone cements: A state-of-the-art review. *World J. Orthop.*, v.13, n.4, p.339-353, 2022.
- HAYES, G.; MOENS, N.; GIBSON, T. A review of local antibiotic implants and applications to veterinary orthopaedic surgery. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, v.26, n.4, p.251-259, 2013.
- KUEHN, K.D.; EGE, W.; GOPP, U. Acrylic bone cements: composition and properties. *Orthop. Clin. North Am.*, v.36, n.1, p.17-28, 2005.
- MAGNAN, B.; BONDI, M.; MALUTA, T.; SAMAILA, E.; SCHIRRU, L.; DALL'OCA, C. Acrylic bone cement: current concept review. *Musculoskelet. Surg.*, v.97, n.2, p.93-100, 2013.
- MORRISON, S.; SINGH, A.; ROUSSEAU, J.; WALKER, M.; NAZARALI, A.; CRAWFORD, E.; BRISSON, B.; SEARS, W.C.; WEESE, J.S. Impact of polymethylmethacrylate additives on methicillin-resistant *Staphylococcus*

*pseudintermedius* biofilm formation in vitro. *Am. J. Vet. Res.*, v.76, n.5, p.395-401, 2015.

NAGANTHRAN, A.; VERASOUNDARAPANDIAN, G.; KHALID, F.E.; MASARUDIN, M.J.; ZULKHARNAIN, A.; NAWAWI, N.M.; KARIM, M.; CHE ABDULLAH, C.A.; AHMAD, S.A. Synthesis, characterization and biomedical application of silver nanoparticles. *Materials (Basel)*, v.15, v.427, p.1-43, 2022.

NUSSBAUM, D.A.; GAILLOUD, P.; MURPHY, K. The chemistry of acrylic bone cements and implications for clinical use in image-guided therapy. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, v.15, p.121-126, 2004.

OEI, J.D.; ZHAO, W.W.; CHU, L.; DeSILVA, M.N.; GHIMIRE, A.; RAWLS, H.R.; WHANG, K. Antimicrobial acrylic materials with *in situ* generated silver nanoparticles. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, v.100, n.2, p.409-415, 2012.

PASSUTI, N.; GOUIN, F. Antibiotic-loaded bone cement in orthopedic surgery. *Joint Bone Spine*, v.70, n.3, p.169-174, 2003.

PELLEGRINI, A.V.; SUARDI, V. Antibiotics and cement: what I need to know?. *Hip Int.*, v.30, n.1, p.48-53, 2020.

PROKOPOVICH, P.; LEECH, R.; CARMALT, C.J.; PARKIN, I.P.; PERNI, S. A novel bone cement impregnated with silver-tiopronin nanoparticles: its antimicrobial, cytotoxic, and mechanical properties. *Int. J. Nanomedicine*, v.8, p.2227-2237, 2013.

PROKOPOVICH, P.; KÖBRICK, M.; BROUSSEAU, E.; PERNI, S. Potent antimicrobial activity of bone cement encapsulating silver nanoparticles capped with oleic acid. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, v.103, n.2, p.273-281, 2015.

SAHA, S.; PAL, S. Mechanical properties of bone cement: a review. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.18, n.4, p.435-462, 1984.

SCHWARZ, E.M.; MCLAREN, A.C.; SCULCO, T.P.; BRAUSE, B.; BOSTROM, M.; KATES, S.L.; PARVIZI, J.; ALT, V.; ARNOLD, W.V.; CARLI, A.; CHEN, A.F.; CHOE, H.; CORAÇA-HUBER, D.C.; CROSS, M.; GHERT, M.; HICKOK, N.; JENNINGS, J.A.; JOSHI, M.; METSEMAKERS, W.J.; NINOMIYA, M., ... Hospital for Special Surgery 2019 Biofilm Symposium Workgroup (2021). Adjuvant antibiotic-loaded bone cement: Concerns with current use and research to make it work. *J. Orthop. Res.*, v.39, n.2, p.227-239, 2021.

- SLANE, J.; VIVANCO, J.; ROSE, W.; PLOEG, H.L.; SQUIRE, M. Mechanical, material, and antimicrobial properties of acrylic bone cement impregnated with silver nanoparticles. *Mater Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, v.48, p.188-196, 2015.
- SODAGAR, A.; KASSAEI, M.Z.; AKHAVAN, A.; JAVADI, N.; ARAB, S.; KHARAZIFARD, M.J. Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins. *J. Prosthodont. Res.*, v.56, n.2, p.120-124, 2012.
- VERDONSCHOT, N.; HUISKES, R. Creep behavior of hand-mixed Simplex P bone cement under cyclic tensile loading. *J. Appl. Biomater.*, v.5, n.3, p.235-243, 1994.
- VUGT, T.A.G.; ARTS, J.J.; GEURTS, J.A.P. Antibiotic-Loaded Polymethylmethacrylate beads and spacers in treatment of orthopedic infections and the role of biofilm formation. *Front. Microbiol.*, v.10, n.1626, p.1-11, 2019.
- WALKER, L.C.; BAKER, P.; HOLLEYMAN, R.; DEEHAN, D. Microbial resistance related to antibiotic-loaded bone cement: a historical review. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, v.25, n.12, p.3808-3817, 2017.
- WANG, J-S.; DUNNE, N. Bone cement fixation: acrylic cements. In: REVELL, P.A. *Joint replacement technology*. United Kingdom: Woodhead Publishing, 2008. p.212-251.
- WEBB, J.C.; SPENCER, R.F. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *J. Bone Joint Surg. Br.*, v.89, n.7, p.851-857, 2007.
- WEISMAN, D.L.; OLMSTEAD, M.L.; KOWALSKI, J.J. *In vitro* evaluation of antibiotic elution from polymethylmethacrylate (PMMA) and mechanical assessment of antibiotic-PMMA composites. *Vet. Surg.*, v.29, n.3, p.245-251, 2000.

## **CAPÍTULO 2**

## ARTIGO CIENTÍFICO

A ser enviado para Polimeros

Normas da revista: <https://www.revistapolimeros.org.br/>

### **Influência do nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) nas propriedades mecânicas do cimento ósseo ortopédico e atividade antibacteriana *in vitro***

#### **RESUMO**

O objetivo do estudo foi avaliar a influência do nitrato de prata nas propriedades mecânicas do cimento ósseo de polimetilmetacrilato (PMMA), por meio de testes estáticos, bem como a atividade antibacteriana *in vitro*. Foram constituídos dois grupos: Grupo 1 – controle (n=10), Grupo 2 – cimento acrescido de nitrato de prata (n=10). No Grupo 1 o cimento foi preparado manualmente usando 20 g de pó de PMMA, o qual foi misturado a 10 ml de líquido metilmetacrilato. No Grupo 2 o cimento foi preparado como no Grupo 1, a diferença foi que 0,25 g de nitrato de prata foi adicionado a 20 g de pó de PMMA. Dez corpos de prova de cada grupo foram designados para o ensaio de flexão em quatro pontos e 10 para o ensaio de compressão. Para o ensaio de flexão em quatro pontos, os corpos de prova tinham 75 mm de comprimento, 10 mm de largura e 3 mm de espessura. Para o ensaio de compressão, os corpos de prova tinham 6 mm de diâmetro e 12 mm de comprimento. Não foram observadas diferenças estatísticas para a resistência à flexão com (61,80 ± 4,96 MPa) ou sem nitrato de prata (60,20 ± 5,88 MPa). Diferenças estatísticas foram verificadas na resistência à compressão, sendo maior para os corpos de prova controle (78,60 ± 3,20 MPa) comparado ao nitrato de prata (74,20 ± 1,61 MPa). Amostras dos produtos foram analisadas pelo teste de sensibilidade antimicrobiana, porém não foi verificado efeito com relação ao *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Conclui-se que na concentração empregada, o nitrato de prata não alterou as propriedades mecânicas do cimento ósseo de PMMA no teste de

flexão, porém influenciou negativamente no teste de compressão. Além disso, o produto não permitiu a redução da carga bacteriana no teste *in vitro*.

**Palavras-chave:** Polimetilmetacrilato; Ensaio mecânico; Corpo de prova, Ensaio estático.

## INTRODUÇÃO

O cimento ósseo ortopédico, baseado no polimetilmetacrilato (PMMA), tem sido empregado há anos em diversos procedimentos cirúrgicos, tais como na fixação de próteses, cirurgias oncológicas e vertebroplastias percutâneas, entre outros (WEBB e SPENCER, 2007; MAGNAN et al., 2013; CAVALU, 2017; VUGT et al., 2019). Entretanto, em virtude da ocorrência de infecções, o cimento carregado de antibiótico começou a ser utilizado como um método profilático em cirurgias de próteses, mas também para tratamento de infecções relacionadas ao procedimento e no tratamento de osteomielites crônicas, em especial como pérolas ou como espaçador (MAGNAN et al., 2013; VUGT et al., 2019). Um dos problemas associados com a administração local do antibiótico são os potenciais negativos, particularmente a citotoxicidade e a toxicidade sistêmica (VUGT et al., 2019), bem como a ocorrência de organismos resistentes por exposição às concentrações subterapêuticas de antibiótico (HAYES et al., 2013; WALKER et al., 2017; SCHWARZ et al., 2021).

Visto a dificuldade do tratamento de infecções relacionadas às próteses e o potencial para induzir resistência antibiótica, outras abordagens têm sido propostas, com o intuito de reduzir ou eliminar o carregamento de antibiótico no cimento de PMMA (LEWIS, 2022). Entre as possibilidades encontra-se a prata, material que tem sido empregado em uma variedade de aplicações industriais, domésticas e na saúde, sendo reconhecida por suas propriedades como agente antibacteriano, antiviral e antifúngico (BRENNAN et al., 2015; NAGANTHRAN et al., 2022). Do ponto de vista clínico, a prata tem sido usada em formas minerais e compostas, como zeólita de prata e nitrato de prata, sendo que com o avanço da nanotecnologia há também a produção de nanop prata (BRENNAN et al., 2015). Tem sido sugerido que o emprego do cimento ósseo de PMMA com nanopartículas seria um mecanismo de diminuir a incidência de resistência, por

meio de um mecanismo de ação multifacetado (CHALOUPIKA et al., 2010; NAGANTHRAN et al., 2022).

Contudo, ao se incluir qualquer material com o cimento de PMMA, deve-se preservar ou mesmo aumentar sua resistência mecânica, para manter sua funcionalidade, particularmente quando empregado na fixação de próteses (CAVALU, 2017; LEWIS, 2017).

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do nitrato de prata nas propriedades mecânicas do cimento ósseo de polimetilmetacrilato, por meio de testes estáticos, bem como a atividade antibacteriana *in vitro*.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***Preparação dos corpos de prova***

Para a preparação dos corpos de prova foi empregado um cimento ósseo comercial, contendo polimetilmetacrilato (81,0%), sulfato de bário (10%) e peróxido de benzoila (2,25%) no pó, e monometilmetacrilato (99,24%), *nn* dimetil-p-toluidina (0,75%) e hidroquinona (0,04%) no líquido. A esterilização do produto foi por óxido de etileno.

Foram constituídos dois grupos: Grupo 1 – controle (n=20), Grupo 2 – cimento acrescido de nitrato de prata (n=20). Dez corpos de prova de cada grupo foram designados para o ensaio de flexão e 10 para o ensaio de compressão.

No Grupo 1 o cimento foi preparado manualmente usando 20 g de pó de polimetilmetacrilato, a qual foi misturado a 10 ml de líquido metilmetacrilato em um recipiente de polímero PET (polietilenotereftalato), com espátula. O cimento na fase pastosa foi colocado em um molde metálico de alumínio, de acordo com as dimensões especificadas pela norma ISO 5833, pressionado manualmente e aguardou-se o tempo de polimerização. Após 24 horas em temperatura ambiente ( $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), o cimento endurecido foi removido do molde. Para o ensaio de flexão, os corpos de prova tinham 75 mm de comprimento, 10 mm de largura e 3 mm de espessura (Figura 1). Para o ensaio de compressão, os corpos de prova tinham 6 mm de diâmetro e 12 mm de comprimento.

No Grupo 2 o cimento foi preparado como no Grupo 1, a diferença foi que 0,25 g de Nitrato de Prata ( $\text{AgNO}_3$ ) grau P.A. foi adicionado a 20 g de pó de polimetilmetacrilato. A mistura foi homogeneizada por agitação por um período de dois minutos e, na sequência, o componente líquido foi adicionado.

Os corpos de prova de ambos os grupos foram confeccionados pelo mesmo profissional, em laboratório com sala climatizada na temperatura de 23°C, com base na norma ISO 5833:2002 – Implants for Surgery – Acrylic Resin Cements. Antes dos testes mecânicos os corpos de prova foram mantidos em sala climatizada na temperatura de 23°C por 24 horas.

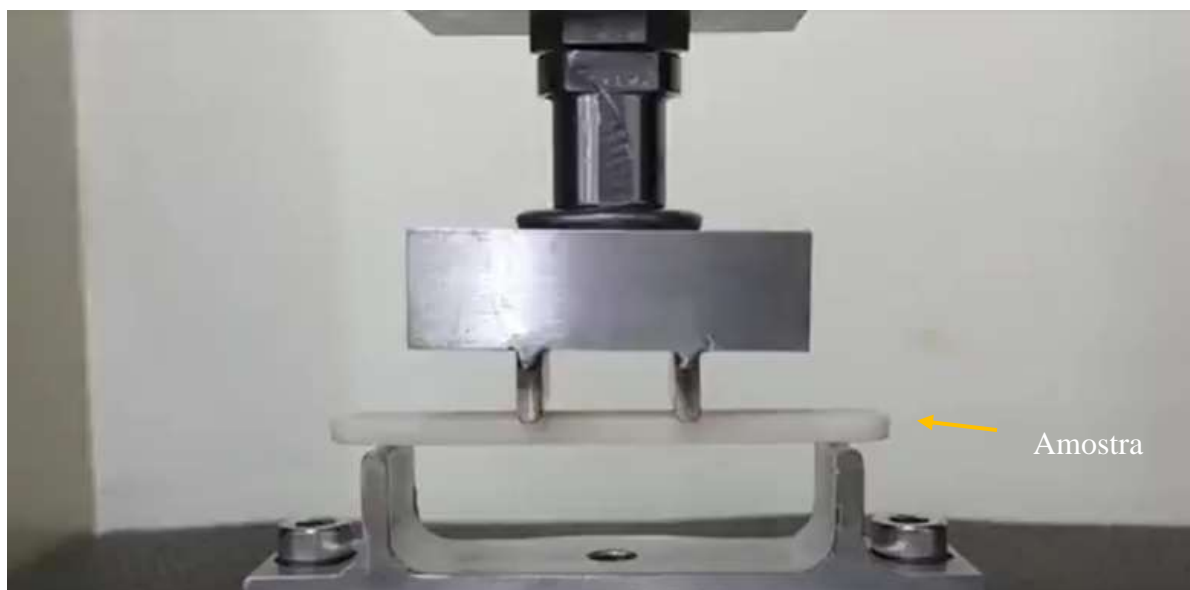


**Figura 1.** Exemplo de corpo de prova do Grupo 1 preparada para ser utilizada no ensaio de flexão.

### ***Ensaio de flexão ISO 5833***

Para os ensaios, em ambos os grupos, foi utilizado o procedimento do anexo F da norma ISO 5833:2002 – Implants for Surgery – Acrylic Resin Cements. Annex F: Determination of Bending Modulus and Bending Strength of Polymerized Cement.

O ensaio de flexão em quatro pontos foi efetuado em máquina universal de ensaios mecânicos (EMIC DL 10000), com capacidade de carga 10000 kgf e célula de carga de 1000 N. A distância entre os roletes apoiadores foi de 60 mm. Por sua vez, a distância de 20 mm foi determinada entre os roletes aplicadores e também entre os roletes aplicadores e apoiadores. O diâmetro externo dos roletes foi de 3 mm (Figura 2). O ensaio foi efetuado em temperatura ambiente (23°C ± 2°C). A velocidade do ensaio foi 5 mm/min.



**Figura 2.** Ilustração do esquema de dispositivo da montagem do ensaio de flexão em quatro pontos.

Durante o ensaio de flexão, foi utilizado o software TESC, no qual foi mensurado a força de tensão e deslocamento até a falha do corpo de provas. Cada corpo de prova foi identificado no software como CP-1 a CP-10, de acordo com o Grupo.

### ***Ensaio de compressão ISO 5833***

Para o ensaio foi empregado o procedimento do anexo E da norma ISO 5833:2002 – Implants for Surgery – Acrylic Resin Cements. Annex E: Determination of Compressive Strength of Polymerized Cement.

Os ensaios foram efetuados em máquina universal de ensaios mecânicos (EMIC DL 10000), com capacidade do equipamento de 10.000 kgf e capacidade da célula de carga de 2000 N. A velocidade do ensaio foi 22 mm/min. Os corpos de prova foram colocados entre dois pratos e a força foi aplicada (Figura 3). A força compressiva foi determinada pelo pico da deformação.



**Figura 3.** Ilustração da montagem do ensaio de compressão.

### ***Análise estatística dos testes mecânicos***

Após o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, foi realizado o teste t de Student para comparação do cimento acrescido ou não de nitrato de prata, de acordo com o teste mecânico. Em todas as análises, os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ . Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico SigmaStat 3.5.

### ***Análise microbiológica***

Para controle dos corpos de prova dos Grupos 1 e 2, efetuou-se análise microbiológica de cultura bacteriana e fúngica. Para tanto, foram obtidas amostras aleatórias cada grupo. Após limpeza externa dos corpos de prova com álcool 70%, estes foram quebrados, triturados e imerso em caldo líquido BHI (caldo de infusão de cérebro e coração bovinos). Este foi incubado por 24 horas em temperatura de 35°-37°C, seguido da técnica de esgotamento do caldo BHI. Para cultura bacteriana, realizou-se a passagem para o ágar Sangue, ágar TSA (Agar Triptona de soja) e ágar MacConkey, com incubação entre 35° e 37°C. Para a cultura fúngica, efetuou-se a passagem para o ágar Sabouraud Dextrose, com incubação entre e incubado a temperatura de 25°-27°C.

### **Técnica do tapete para teste de sensibilidade**

Depois de isolada a bactéria específica (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, ou *Escherichia coli*), colocou-se a colônia em caldo BHI (infusão de cérebro e coração), com incubação por 24 horas em temperatura de 35°-37°C. Na sequência, efetuou-se a técnica do tapete com swab no ágar Mueller Hinton ou ágar MacConkey (bactéria Gram negativa). Foi então colocado amostras dos corpos de prova dos Grupos 1 e 2, seguido de incubação por 48 horas em temperatura de 35°-37°C.

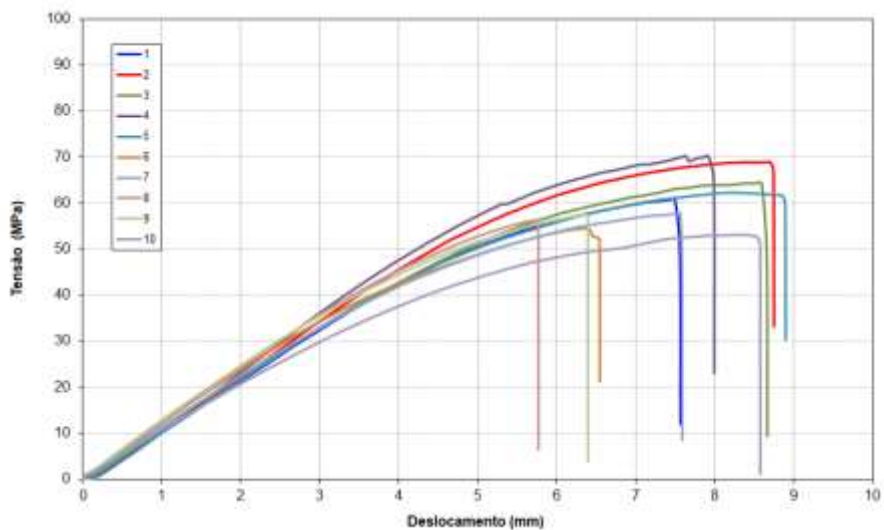
## **RESULTADOS**

### **Ensaio mecânico de flexão**

Os valores do módulo de flexão (MPa) e resistência à flexão (MPa) dos corpos de prova do cimento ósseo controle (Grupo 1) estão apresentados na Tabela 1 e na Figura 4. A Figura 5 mostra exemplos dos corpos de prova após o teste.

**Tabela 1.** Valores do ensaio mecânico de flexão dos corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).

<b>Corpos de Prova</b>	<b>Módulo de flexão (MPa)</b>	<b>Resistência à flexão (MPa)</b>
1	2475	61
2	2718	69
3	2560	64
4	2964	70
5	2662	60
6	2684	54
7	2619	58
8	2814	56
9	2769	57
10	2249	53
<b>Média</b>	<b>2651,40</b>	<b>60,20</b>
<b>Desvio Padrão</b>	<b>196,08</b>	<b>5,88</b>



**Figura 4.** Gráfico de deslocamento e tensão do ensaio mecânico de flexão dos 10 corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).

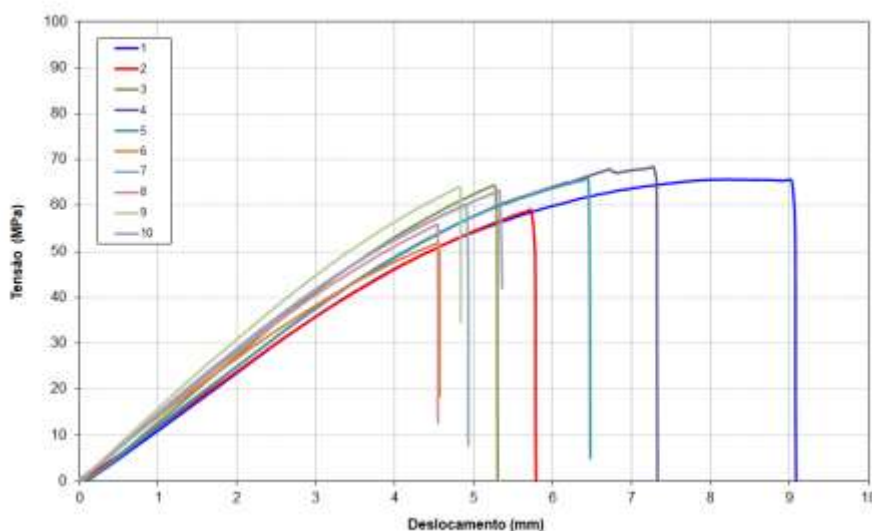


**Figura 5.** Exemplos de corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle) após o ensaio mecânico de flexão.

Os valores do módulo de flexão (MPa) e resistência à flexão (MPa) dos corpos de prova do cimento acrescido de nitrato de prata (Grupo 2) estão apresentados na Tabela 2 e na Figura 6. A Figura 7 mostra exemplos dos corpos de prova após o teste.

**Tabela 2.** Valores do ensaio mecânico de flexão dos corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).

Corpos de Prova	Módulo de flexão (MPa)	Resistência à flexão (MPa)
1	2900	65
2	2822	59
3	3420	64
4	2981	68
5	2958	66
6	3010	52
7	3340	60
8	3320	56
9	3590	64
10	3167	64
Média	3150,80	61,80
Desvio Padrão	255,36	4,96



**Figura 6.** Gráfico de deslocamento e tensão do ensaio mecânico de flexão dos 10 corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).



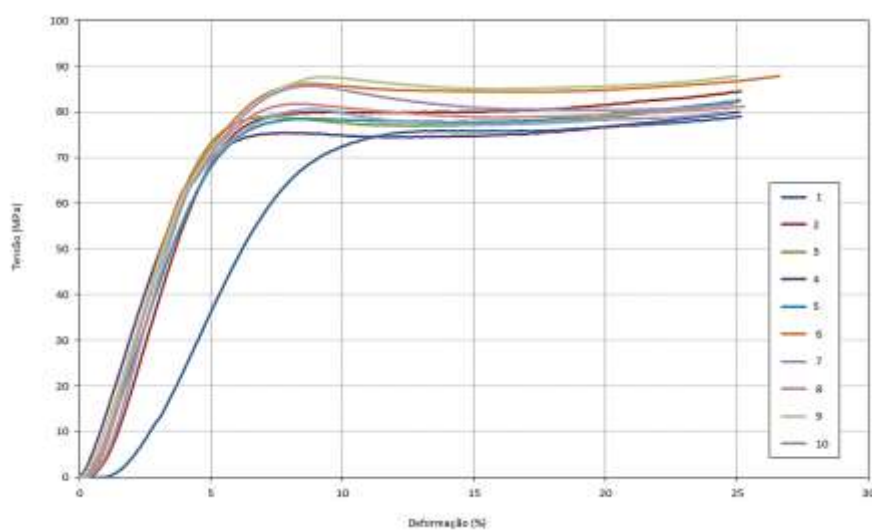
**Figura 7.** Exemplos de corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata) após o ensaio mecânico de flexão.

### **Ensaio mecânico de compressão**

Os valores da resistência à compressão (Mpa) dos corpos de prova do Grupo 1 estão apresentados na Tabela 3 e Figura 8.

**Tabela 3.** Valores do ensaio mecânico de compressão dos corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).

Corpos de Provas	Resistência à compressão (MPa)
1	73
2	79
3	79
4	75
5	77
6	83
7	77
8	79
9	82
10	82
Média	78,60
Desvio Padrão	3,20

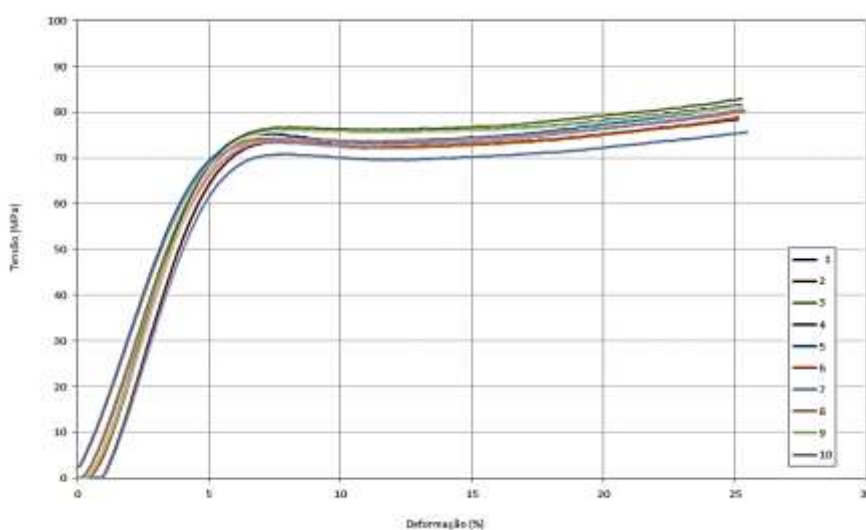


**Figura 8.** Gráfico de deformação e tensão do ensaio mecânico de compressão dos 10 corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).

Os valores da resistência à compressão (Mpa) dos corpos de prova do Grupo 2 estão apresentados na Tabela 4 e Figura 9.

**Tabela 4.** Valores do ensaio mecânico de compressão dos corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).

Corpos de Prova	Resistência à compressão (MPa)
1	75
2	73
3	76
4	76
5	74
6	74
7	71
8	74
9	76
10	73
Média	74,20
Desvio Padrão	1,61



**Figura 9.** Gráfico de deformação e tensão do ensaio mecânico de compressão dos 10 corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).

### **Análise estatística**

Não foram observadas diferenças estatísticas para a resistência à flexão com ou sem nitrato de prata ( $p = 0,519$ ). Contudo, houve diferença no módulo de flexão ( $p < 0,001$ ), sendo maior para os corpos de prova com nitrato de prata. Diferenças foram verificadas na resistência à compressão ( $p = 0,001$ ), sendo maior para os corpos de prova sem nitrato de prata. Os valores estão apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Comparação entre o cimento ósseo controle (Grupo 1) e o cimento acrescido de nitrato de prata (Grupo 2), conforme os testes mecânicos.

<b>Testes mecânicos</b>	<b>Cimento ósseo controle (Mpa)</b>	<b>Cimento ósseo acrescido de nitrato de prata (Mpa)</b>	<b>Valor de p</b>
Módulo de flexão	2651,40 ± 196,08	3150,80 ± 255,36	< 0,001
Resistência à flexão	60,20 ± 5,88	61,80 ± 4,96	0,519
Resistência à compressão	78,60 ± 3,20	74,20 ± 1,61	0,001

### **Análise microbiológica e teste de sensibilidade**

Pela análise microbiológica não houve crescimento bacteriano ou fúngico, tanto dos corpos de prova do Grupo 1 como do Grupo 2. No teste de sensibilidade, as amostras de ambos os grupos não foram capazes de inibir o crescimento das quatro bactérias testadas.

## DISCUSSÃO

O presente estudo verificou que pode haver diferenças nos testes mecânicos com a adição do nitrato de prata. As propriedades mecânicas do cimento têm sido determinadas por testes destrutivos com uma carga única até a falha, como o usado no atual estudo, e por testes dinâmicos que envolvem a carga cíclica (SAHA e PAL, 1984; WANG e DUNNE, 2008; CAVALU, 2017). Foram efetuados testes de flexão e compressão, conforme determinado pela ISO 5833:2002. As propriedades mecânicas do cimento ósseo podem ser divididas em curto prazo e longo prazo, sendo que as mais importantes de curto prazo são a força de tração, força compressiva, força à flexão e módulo de elasticidade (WANG e DUNNE, 2008), das quais duas foram analisadas no presente estudo.

A resistência à flexão em quatro pontos foi de 60,20 MPa para o Grupo 1 e 61,80 MPa para o Grupo 2, ao passo que resistência à compressão foi de 78,60 MPa para o Grupo 1 e 74,2 MPa para o Grupo 2. Os valores mostraram diferenças com o citado pela ISO 5833 e ASTM F 451, nas quais os cimentos comerciais devem variar dentro de um intervalo limitado: força de flexão (configuração de quatro pontos:  $67 \pm 72$  MPa), força compressiva ( $80 \pm 94$  MPa), força de tração ( $36 \pm 47$  MPa), força de cisalhamento ( $50 \pm 69$  MPa), tenacidade média à fratura ( $1.52 \pm 2.02$  MPa $\sqrt{m}$ ) (CAVALU, 2017). Em geral, a força compressiva do cimento ósseo é superior a força de flexão, a qual é mais alta que a força de tensão (WANG e DUNNE, 2008), como verificado em ambos os grupos. O cimento cirúrgico de PMMA é similar a concreto, um material quebradiço, o qual se caracteriza por ser fraco em tração e força de cisalhamento, mas forte em compressão (SAHA e PAL, 1984).

A proporção do nitrato de prata foi de 0,25 g para 20 g de pó de polimetilmetacrilato, o que influenciou negativamente na resistência mecânica à compressão, porém sem interferência na flexão. Outro estudo que também empregou 0,25 g de micropartículas acrescidas em 20 gramas de PMMA foi notado que, tanto na compressão axial como na flexão em quatro pontos, o grupo prata foi mais fraco que o controle (FICKLIN et al., 2016). Por outro lado, um estudo que incorporou nanopartículas de prata em três proporções (0,25, 0,5 e 1,0% p/p) ao cimento ósseo (Palacos R) verificou que as propriedades mecânicas pelos testes estáticos (flexão em quatro pontos, compressão e tenacidade) e dinâmicos (flexão em três pontos) não foram substancialmente diferentes do

cimento padrão (SLANE et al., 2015). Além disso, o acréscimo de nanopartículas de prata nas concentrações de 0,5% e 2% na resina acrílica odontológica (PMMA) promoveram aumento significativo na força de flexão (teste de flexão em três pontos), resistência à fratura, resistência ao impacto e dureza à medida que foi aumentada a porcentagem de nanopartículas de prata, porém sem melhora da força compressiva (ALSUKHAYRI et al., 2019). Deve-se considerar que as diferenças entre produtos e a forma de incorporação no nitrato de prata pode ter interferido nos resultados entre os estudos.

Vale citar que o nitrato de prata testado não estava na forma de nanopartículas, as quais são as mais empregadas junto ao cimento ósseo ou cimento odontológico (ALT et al., 2004; OEI et al., 2012; SODAGAR et al., 2012; PROKOPOVICH et al., 2013; GHAFARI et al., 2014; SLANE et al., 2015; PROKOPOVICH et al., 2015; FICKLIN et al., 2016; ALSUKHAYRI et al., 2019). As nanopartículas de prata são aglomerados de átomos de prata que variam em diâmetro de 1 a 100 nm (CHALOUPIKA et al., 2010), as quais podem ser produzidas por meio de várias preparações, incluindo as vias física, química e biológica (NAGANTHRAN et al., 2022). Apesar dos efeitos benéficos, estudos já demonstraram que as nanopartículas de prata têm o potencial de induzir anormalidades de desenvolvimento em embriões de peixe-zebra, romper a membrana celular, induzir danos genotóxicos e citotóxicos aos fibroblastos pulmonares humanos e supressão do sistema imunológico (BRENNAN et al., 2015). Foi também observado que a prata complexada por certos ligantes é mais citotóxica do que o nitrato de prata, mas com ligantes relacionados é consideravelmente menos tóxica (CLEMENT e JARRETT, 1994).

O teste de análise microbiológica comprovou a esterilização dos produtos, tanto para bactérias como fungos. Por outro lado, ao se efetuar o teste de sensibilidade nenhum dos produtos foi eficiente para reduzir a carga das bactérias avaliadas. Isto diferiu de outros estudos *in vitro* com diferentes metodologias em que as partículas de prata auxiliaram na diminuição do número de microorganismos e atividade antibiofilme (ALT et al., 2004; HWANG et al., 2012; PROKOPOVICH et al., 2013; PROKOPOVICH et al., 2015; JACKSON et al., 2021). Entre os fatores que podem ter influenciado nos resultados no presente estudo podem ser citados a porcentagem de nitrato de prata incorporada no

cimento e o fato da prata empregada não estar na forma de nanopartículas. Desta forma, estudos futuros são necessários incluindo concentrações crescentes de nitrato de prata, bem como o uso de produto na forma de nanopartículas, como base comparativa.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que na concentração empregada, o nitrato de prata não alterou as propriedades mecânicas do cimento ósseo de polimetilmetacrilato no ensaio estático ao teste de flexão, porém influenciou negativamente no teste de compressão. Além disso, o produto não permitiu a redução da carga bacteriana no teste *in vitro*.

## REFERÊNCIAS

- ALT, V.; BECHERT, T.; STEINRÜCKE, P.; WAGENER, M.; SEIDEL, P.; DINGELDEIN, E.; DOMANN, E.; SCHNETTLER, R. An *in vitro* assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*, v.25, n.18, p.4383–4391, 2004.
- ALSUKHAYRI, A.A.; ALWAGDANI, A.A.; IBRAHIM, M.I.; FAHMI, M.K. Effect of silver nanoparticles fillers addition on flexural strength, fracture toughness, impact strength, compressive strength and hardness of heat-polymerized acrylic resin. *Int. J. Adv. Res.*, v.7, n.9, p.1419-1422. 2019.
- BRENNAN, S.A.; NÍ FHOGHLÚ, C.; DEVITT, B.M.; O'MAHONY, F.J.; BRABAZON, D.; WALSH, A. Silver nanoparticles and their orthopaedic applications. *Bone Joint J.*, v.97-B, n.5, p.582-589, 2015.
- CAVALU, S. Acrylic bone cements: new insight and future perspective. *Key Eng. Mater.*, v.745, p.39-49, 2017.
- CHALOUPKA, K.; MALAM, Y.; SEIFALIAN, A.M. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical application. *Trends Biotechnol.*, v.28, n.11, p.580-588, 2010.

- CLEMENT, J.L.; JARRETT, P.S. Antibacterial silver. *Met. Based Drugs*, v.1, p.467-482, 1994.
- FICKLIN, M.G.; KUNKEL, K.A.; SUBER, J.T.; GERARD, P.D.; KOWALESKI, M.P. Biomechanical evaluation of polymethyl methacrylate with the addition of various doses of cefazolin, vancomycin, gentamicin, and silver microparticles. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, v.29, n.5, p.394-401, 2016.
- GHAFFARI, T.; HAMEDIRAD, F.; EZZATI, B. *In vitro* comparison of compressive and tensile strengths of acrylic resins reinforced by silver nanoparticles at 2% and 0.2% concentrations. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects*, v.8, n.4, p.204-209, 2014.
- HAYES, G.; MOENS, N.; GIBSON, T. A review of local antibiotic implants and applications to veterinary orthopaedic surgery. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, v.26, n.4, p.251-259, 2013.
- JACKSON, J.; LO, J.; HSU, E.; BURT, H.M.; SHADEMANI, A.; LANGE, D. The combined use of gentamicin and silver nitrate in bone cement for a synergistic and extended antibiotic action against gram-positive and gram-negative bacteria. *Materials (Basel)*, v.14, n.12, p.3413, 2011.
- LEWIS, G. Properties of nanofiller-loaded poly (methyl methacrylate) bone cement composites for orthopedic applications: a review. *J. Biomed. Mater Res. B Appl. Biomater.*, v.105, n.5, p.1260-1284, 2017.
- LEWIS, G. Antibiotic-free antimicrobial poly (methyl methacrylate) bone cements: A state-of-the-art review. *World J. Orthop.*, v.13, n.4, p.339-353, 2022.
- MAGNAN, B.; BONDI, M.; MALUTA, T.; SAMAILA, E.; SCHIRRU, L.; DALL'OCA, C. Acrylic bone cement: current concept review. *Musculoskelet. Surg.*, v.97, n.2, p.93-100, 2013.
- NAGANTHRAN, A.; VERASOUNDARAPANDIAN, G.; KHALID, F.E.; MASARUDIN, M.J.; ZULKHARNAIN, A.; NAWAWI, N.M.; KARIM, M.; CHE ABDULLAH, C.A.; AHMAD, S.A. Synthesis, characterization and biomedical application of silver nanoparticles. *Materials (Basel)*, v.15, v.427, p.1-43, 2022.
- OEI, J.D.; ZHAO, W.W.; CHU, L.; DeSILVA, M.N.; GHIMIRE, A.; RAWLS, H.R.; WHANG, K. Antimicrobial acrylic materials with in situ generated silver nanoparticles. *J. Biomed. Mater Res. B Appl. Biomater.*, v.100, n.2, p.409-415, 2012.

PROKOPOVICH, P.; LEECH, R.; CARMALT, C.J.; PARKIN, I.P.; PERNI, S. A novel bone cement impregnated with silver-tiopronin nanoparticles: its antimicrobial, cytotoxic, and mechanical properties. *Int. J. Nanomedicine*, v.8, p.2227-2237, 2013.

PROKOPOVICH, P.; KÖBRICK, M.; BROUSSEAU, E.; PERNI, S. Potent antimicrobial activity of bone cement encapsulating silver nanoparticles capped with oleic acid. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, v.103, n.2, p.273-281, 2015.

SAHA, S.; PAL, S. Mechanical properties of bone cement: a review. *J. Biomed. Mater Res.*, v.18, n.4, p.435-462, 1984.

SCHWARZ, E.M.; MCLAREN, A.C.; SCULCO, T.P.; BRAUSE, B.; BOSTROM, M.; KATES, S.L.; PARVIZI, J.; ALT, V.; ARNOLD, W.V.; CARLI, A.; CHEN, A.F.; CHOE, H.; CORAÇA-HUBER, D.C.; CROSS, M.; GHERT, M.; HICKOK, N.; JENNINGS, J.A.; JOSHI, M.; METSEMAKERS, W.J.; NINOMIYA, M., ... Hospital for special surgery 2019 biofilm symposium workgroup (2021). Adjuvant antibiotic-loaded bone cement: Concerns with current use and research to make it work. *J. Orthop. Res.*, v.39, n.2, p.227-239, 2021.

SLANE, J.; VIVANCO, J.; ROSE, W.; PLOEG, H.L.; SQUIRE, M. Mechanical, material, and antimicrobial properties of acrylic bone cement impregnated with silver nanoparticles. *Mater Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, v.48, p.188-196, 2015.

SODAGAR, A.; KASSAEE, M.Z.; AKHAVAN, A.; JAVADI, N.; ARAB, S.; KHARAZIFARD, M.J. Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins. *J. Prosthodont. Res.*, v.56, n.2, p.120-124, 2012.

VUGT, T.A.G.; ARTS, J.J.; GEURTS, J.A.P. Antibiotic-loaded polymethylmethacrylate beads and spacers in treatment of orthopedic infections and the role of biofilm formation. *Front. Microbiol.*, v.10, n.1626, p.1-11, 2019.

WALKER, L.C.; BAKER, P.; HOLLEYMAN, R.; DEEHAN, D. Microbial resistance related to antibiotic-loaded bone cement: a historical review. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, v.25, n.12, p.3808-3817, 2017.

WANG, J-S.; DUNNE, N. Bone cement fixation: acrylic cements. In: REVELL, P.A. *Joint replacement technology*. United Kingdom: Woodhead Publishing, 2008. p.212-251.

WEBB, J.C.; SPENCER, R.F. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *J. Bone Joint Surg. Br.*, v.89, n.7, p.851-857, 2007.