

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Dissertação será disponibilizado
somente a partir de 04/01/2025.

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

**INFLUÊNCIA DO NITRATO DE PRATA (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_3) 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.^a Titular Sheila Canevese Rahal

Co-orientador: Dr. Celso Roberto Ribeiro

Nome do autor: Alini Osowski

INFLUÊNCIA DO NITRATO DE PRATA (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
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	2
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3 REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO 2.....	20
Artigo científico 1.....	21

Lista de Figuras

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

Lista de Tabelas

Tabela 1. Valores do ensaio mecânico de flexão dos corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).....	27
Tabela 2. Valores do ensaio mecânico de flexão dos corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).....	29
Tabela 3. Valores do ensaio mecânico de compressão dos corpos de prova do Grupo 1 (cimento ósseo controle).....	31
Tabela 4. Valores do ensaio mecânico de compressão dos corpos de prova do Grupo 2 (cimento acrescido de nitrato de prata).....	32
Tabela 5. 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_3) 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 ($61,80 \pm 4,96$ MPa) ou sem nitrato de prata ($60,20 \pm 5,88$ MPa). Diferenças estatísticas foram verificadas na resistência à compressão, sendo maior para os corpos de prova controle ($78,60 \pm 3,20$ MPa) comparado ao nitrato de prata ($74,20 \pm 1,61$ 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 (AgNO₃) 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 ± 4.96 MPa) or without silver nitrate (60.20 ± 5.88 MPa). Statistical differences were verified in the higher compressive strength for the control (78.60 ± 3.20 MPa) compared to cement with silver nitrate specimens (74.20 ± 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 nanoprata (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.

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 nanoproduct 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.