



Influência do nitrato de prata nas propriedades mecânicas do cimento ósseo ortopédico e atividade antibacteriana *in vitro*

Influence of silver nitrate on the mechanical properties of orthopedic bone cement and *in vitro* antibacterial activity

Alini Osowski¹, Sheila Canevese Rahal¹, Celso Roberto Ribeiro², Luiz Donizete Campeiro Junior¹, JoséIVALDO de Siqueira Silva Júnior¹, Guilherme Rech Cassanego^{*1}, Paulo Henrique Gilio Gasparotto³

1 Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), Botucatu, São Paulo, Brasil. 

2 Laboratório de Ensaio Mecânicos e Metalográficos (LEMM), Jaú, São Paulo, Brasil.

3 Laboratório de Sanidade Animal - MICROVET, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil.

*autor correspondente: guilherme.rech@unesp.br

Recebido: 01 de junho, 2024. Aceito: 31 de outubro, 2024. Publicado: 13 de fevereiro, 2025. Editor: Luiz Augusto B. Brito

Resumo: O objetivo do estudo foi avaliar a influência do nitrato de prata (AgNO_3) 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. 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. 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

Abstract: This study aimed to evaluate the influence of silver nitrate (AgNO_3) 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 ($n=10$); and Group 2, cement with silver nitrate ($n=10$). In Group 1, the cement was prepared manually by mixing 20 g of PMMA powder with 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. 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 cement with silver nitrate on *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. In conclusion, the concentration of silver nitrate did not change the mechanical properties of the PMMA bone cement in the bending test, but it had a negative effect in the compression testing. In addition, the product did not reduce the bacterial load in the *in vitro* test.

Key-words: polymethylmethacrylate; mechanical testing; sample; static testing

1. 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⁽¹⁻⁴⁾. Entretanto, em virtude da ocorrência de infecções, o cimento carregado de antibiótico começou a ser utilizado como um método profilático em cirurgias de próteses, para o tratamento de infecções relacionadas à estes procedimentos e no tratamento de osteomielites crônicas, em especial como pérolas ou como um espaçador^(2,4). As preocupações associadas à administração local de antibióticos incluem: os efeitos colaterais, tais como citotoxicidade e toxicidade sistêmica; a ocorrência de organismos resistentes por exposição às concentrações subterapêuticas de antibióticos; os efeitos anti-biofilme dependentes da capacidade das bactérias de sobreviver em altas concentrações locais de antibióticos; apenas antibióticos estáveis ao calor são adequados para incorporação em PMMA; e o uso de antibióticos cujos dados farmacocinéticos são desconhecidos, entre outros⁽⁴⁻⁷⁾.

Visto as dificuldades 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⁽⁸⁾. 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^(9,10). 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⁽⁹⁾. 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^(10,11).

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^(3,12). Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do nitrato de prata nas propriedades mecânicas do cimento ósseo de PMMA, por meio de testes estáticos, bem como a atividade antibacteriana *in vitro*.

2. Material e métodos

2.1 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⁽³⁾. 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 misturando 20 g de pó com 10 ml de líquido em um recipiente PET (polietilenotereftalato), usando uma espátula de plástico. 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°C ± 2°C), o cimento endurecido foi removido do molde.

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. No Grupo 2 o cimento foi preparado como no Grupo 1, a diferença foi que 0,25 g de Nitrato de Prata (AgNO₃) grau P.A. foi adicionado a 20 g de pó de polimetilmetacrilato. A mistura foi manualmente homogeneizada por um período de dois minutos, antes de adicionar o componente líquido. Em ambos os grupos, os procedimentos de preparação dos corpos de prova foram realizados sob condições assépticas em sala climatizada (23°C), pelo mesmo pesquisador, com base na norma ISO 5833:2002 (Implants for Surgery – Acrylic Resin Cements). Antes dos ensaios mecânicos, os corpos de prova foram mantidos por 24 horas em sala climatizada (23°C).

2.2 Ensaio mecânicos

O ensaio de flexão em quatro pontos (Figura 1a) foi conduzido seguindo a ISO-5833(2002) Anexo F (Determination of bending strength of polymerized cement). Foi utilizada para o teste uma máquina de ensaio universal (EMIC DL-10.000), com capacidade máxima de 10.000 kgf e uma 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. A velocidade do ensaio foi 5 mm/min. A resistência à flexão foi medida até o deslocamento completo (quebra dos corpos de prova) usando o software TESC. O teste foi conduzido em um ambiente controlado com temperatura de 23° ± 2°C e umidade relativa de 60%. Cada amostra foi identificada de 1 a 10 no software, de acordo com o Grupo.

O ensaio de compressão (Figura 1b) foi realizado seguindo a norma ISO-5833(2002) Anexo E (Determination of compressive strength of polymerized cement). Foi utilizada máquina universal de ensaios mecânicos (EMIC DL-10.000) com capacidade máxima de 10.000 kgf e uma célula de carga de 2000 N. O corpo de prova foi posicionado entre dois

pratos e a força foi aplicada a uma velocidade de teste de 22 mm/min. A força compressiva foi determinada pelo pico da deformação. O teste foi realizado em um ambiente controlado com temperatura de $23^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60%.

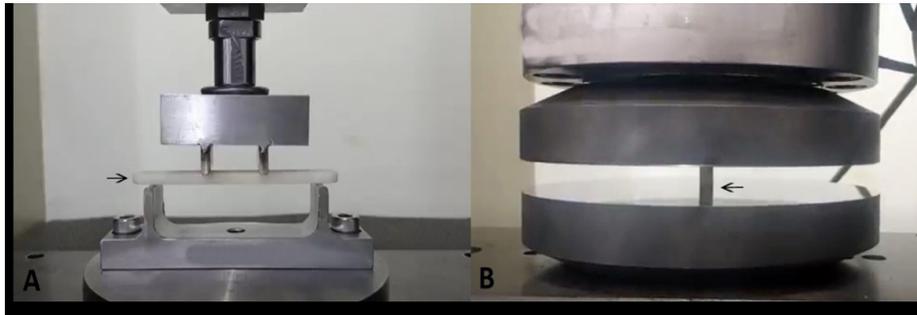


Figura 1. (A) Configuração do ensaio de flexão em quatro pontos junto com uma amostra (seta). (B) Configuração do ensaio de compressão junto com uma amostra (seta).

2.3 Análise estatística

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 ensaio 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.

2.4 Análise microbiológica

As análises microbiológicas (testes bacterianos e fúngicos) foram realizadas nas amostras de ambos os grupos, as quais não foram utilizadas para testes mecânicos. Todas as amostras foram produzidas e manipuladas sob condições assépticas. Após limpeza externa dos corpos de prova com álcool 70%, estes foram quebrados, triturados e imersos 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 de 20 - 25°C .

2.5 Teste de sensibilidade antimicrobiana

Bactérias específicas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, foram usadas para testar a sensibilidade antimicrobiana das amostras dos Grupos 1 e 2. Cada colônia foi colocada em caldo BHI e incubada a 35° - 37°C por 24 h. Efetuou-se a técnica do tapete com swab no ágar Mueller Hinton ou ágar MacConkey (bactéria Gram negativa). As amostras dos Grupos 1 e 2 foram então colocadas nas placas, e as placas foram incubadas a 35° - 37°C por 48 horas.

3. Resultados

Não foram observadas diferenças estatísticas para resistência à flexão entre o controle e o cimento com nitrato de prata ($p = 0,519$). Diferenças estatísticas foram verificadas na resistência à compressão ($p = 0,001$), que foi maior para as amostras controle. Os valores estão mostrados na Tabela 1. Os gráficos de resistência à flexão e resistência à compressão das amostras controle e cimento acrescido de nitrato de prata estão nas Figuras 2 e 3, respectivamente.

Tabela 1. Comparação entre controle (Grupo 1) e cimento ósseo acrescido de nitrato de prata (Grupo 2), segundo ensaios mecânicos.

Ensaio mecânico	Controle (MPa)	Cimento ósseo acrescido de nitrato de prata (MPa)	Valor de p
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

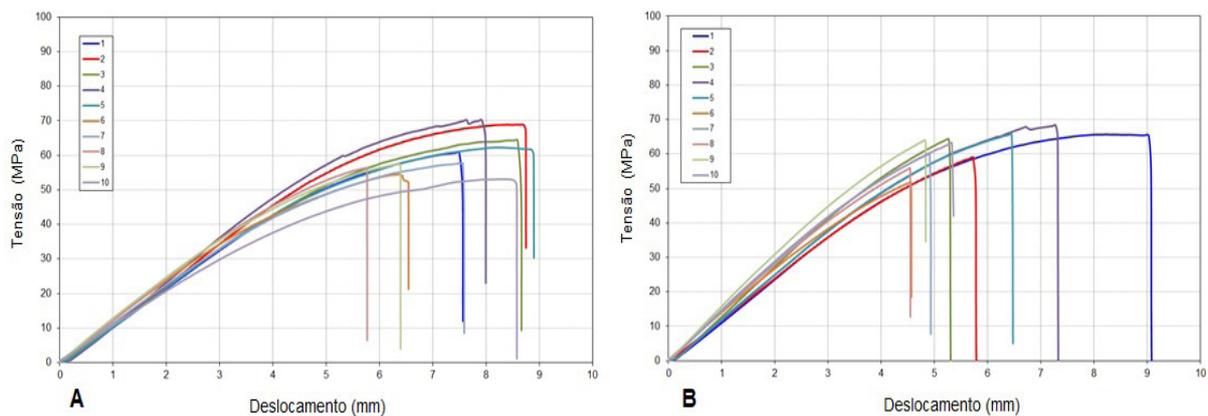


Figura 2. Gráficos de deslocamento e tensão obtidos nos ensaios de flexão de quatro pontos de 10 corpos de prova controle (A) e 10 corpos de prova de cimento ósseo acrescido de nitrato de prata (B).

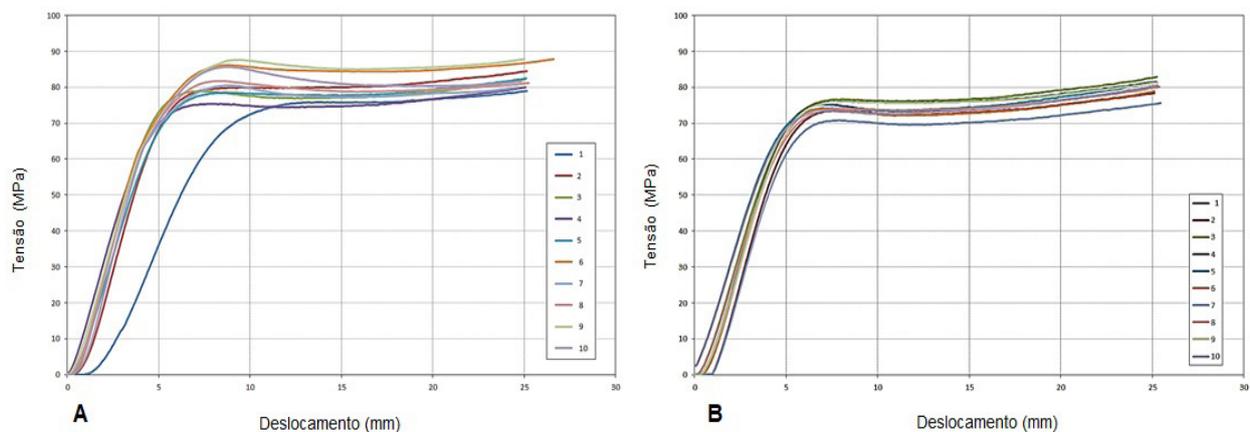


Figura 3. Gráfico de deformação e tensão obtidos nos ensaios de compressão de 10 corpos de prova controle (A) e 10 corpos de prova de cimento acrescido de nitrato de prata (B).

A análise microbiológica não detectou crescimento bacteriano ou fúngico nas amostras do Grupo 1 ou Grupo 2. Os testes de sensibilidade antimicrobiana não mostraram efeito do cimento com nitrato de prata em relação ao *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

4. Discussão

O presente estudo verificou que as propriedades mecânicas do cimento ósseo foram influenciadas pelo acréscimo 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^(3,13,14). Além disso, 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⁽¹⁴⁾. No presente estudo foram analisadas duas propriedades de curto prazo, sendo que tanto os ensaios de flexão quanto de compressão foram realizados conforme determinado pela norma ISO 5833:2002.

A resistência à flexão em quatro pontos foi de 60,20 MPa para o controle e 61,80 MPa para o cimento ósseo acrescido de nitrato de prata, ao passo que a resistência à compressão foi de 78,60 MPa para o controle e 74,2 MPa para o cimento acrescido de nitrato de prata. 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, incluindo força de flexão de 67-72 Mpa e força compressiva de 80-94 MPa⁽³⁾. Em geral, a força compressiva do cimento ósseo é superior a força de flexão, a qual é mais alta que a força de tensão⁽¹⁴⁾, como verificado no controle e no cimento acrescido de nitrato de prata. O cimento cirúrgico de PMMA é um material quebradiço similar a concreto, caracterizado por ser fraco em tração e força de cisalhamento, mas forte em compressão⁽¹³⁾.

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⁽¹⁵⁾. 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 verificou que as propriedades mecânicas pelos testes estáticos (flexão em quatro pontos, compressão e tenacidade) e dinâmicos não foram substancialmente diferentes do cimento padrão⁽¹⁶⁾. 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⁽¹⁷⁾. 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.

O nitrato de prata usado no presente estudo não estava na forma de nanopartículas, as quais são as mais empregadas junto ao cimento ósseo ou cimento odontológico^(15,16,18-23). As nanopartículas de prata (de 1 a 100 nm em diâmetro) são aglomerados de átomos de prata^(11,17), as quais podem ser produzidas por meio de várias preparações, incluindo as vias física, química e biológica⁽¹⁰⁾. Apesar dos efeitos benéficos, estudos já demonstraram que as nanopartículas de prata têm o potencial de induzir danos genotóxicos e citotóxicos aos fibroblastos pulmonares humanos, supressão do sistema imunológico, induzir anormalidades de desenvolvimento em embriões de peixe-zebra, e romper a membrana celular, entre outros⁽⁹⁾. 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⁽²⁴⁾.

A análise microbiológica comprovou a esterilização dos produtos, tanto para bactérias como fungos. No entanto, o teste de sensibilidade antimicrobiana mostrou que o cimento ósseo com nitrato de prata não reduziu o crescimento das bactérias testadas. Um estudo observou que as nanopartículas de prata foram eficazes na redução da formação de biofilme de *Aeromonas spp.*, mas incapazes de inativar o crescimento dos isolados em testes de concentração bactericida, enquanto o nitrato de prata mostrou eficiência em diferentes concentrações. Além disso, os autores verificaram que, na presença de um inibidor da bomba de efluxo, um isolado que era inicialmente resistente às nanopartículas tornou-se sensível⁽²⁵⁾. Por outro lado, estudos *in vitro* com diferentes metodologias verificaram que as partículas de prata tinham atividades antibacteriana e antibiofilme^(18,21,22,26). A porcentagem de nitrato de prata adicionada ao cimento ósseo e não na forma de nanopartículas pode ter influenciado os resultados. Estudos futuros alterando essas variáveis são necessários para comparação.

5. Conclusão

Na concentração empregada, o nitrato de prata não alterou as propriedades mecânicas do cimento ósseo de polimetilmetacrilato (PMMA) no ensaio de flexão, porém influenciou negativamente os resultados no teste de compressão. Além disso, o produto não reduziu efetivamente a carga bacteriana no teste *in vitro*.

Declaração do conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Declaração de disponibilidade de dados

Os dados serão fornecidos mediante solicitação ao autor correspondente.

Contribuições dos autores

Conceituação: A. Osowski, S. C. Rahal e C. R. Ribeiro. **Curadoria de dados:** C. R. Ribeiro e H. G. Gasparotto. **Análise formal:** A. Osowski, S. C. Rahal, C. R. Ribeiro, L. D. Campeiro Junior e P. H. G. Gasparotto. **Aquisição de financiamento:** S. C. Rahal, C. R. Ribeiro e L. D. Campeiro Junior. **Administração do projeto:** A. Osowski, S. C. Rahal e C. R. Ribeiro. **Metodologia:** A. Osowski, S. C. Rahal, C. R. Ribeiro, L. D. Campeiro Junior e P. H. G. Gasparotto. **Supervisão:** S. C. Rahal e C. R. Ribeiro. **Investigação:** A. Osowski, S. C. Rahal e C. R. Ribeiro. **Visualização:** J. I. S. Silva Júnior e G. R. Cassanego. **Redação (rascunho original):** A. Osowski, S. C. Rahal e C. R. Ribeiro. **Redação (revisão e edição):** A. Osowski, S. C. Rahal, C. R. Ribeiro, L. D. Campeiro Junior e G. R. Cassanego.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes - Código de Financiamento 001), ao LEMM (Laboratório de Ensaios Mecânicos e Metalográficos) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – PQ 305813/2023-4).

Referências

1. Webb JC, Spencer RF. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume.* 2007; 89(7):851–857. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.89B7.19148>
2. Magnan B, Bondi M, Maluta T, Samaila E, Schirru L, Dall'Oca C. Acrylic bone cement: current concept review. *Musculoskeletal Surgery.* 2013; 97(2):93–100. <https://doi.org/10.1007/s12306-013-0293-9>
3. Cavalu S. Acrylic bone cements: new insight and future perspective. *Key Engineering Materials.* 2017; 745:39-49. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.745.39>
4. van Vugt TAG, Arts JJ, Geurts JAP. Antibiotic-loaded polymethylmethacrylate beads and spacers in treatment of orthopedic infections and the role of biofilm formation.. *Frontiers in Microbiology.* 2019; 10:1626. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01626>
5. Hayes G, Moens N, Gibson T. A review of local antibiotic implants and applications to veterinary orthopaedic surgery. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology.* 2013; 26(4):251–259. <https://doi.org/10.3415/VCOT-12-05-0065>
6. Walker LC, Baker P, Holleyman R, Deehan D. Microbial resistance related to antibiotic-loaded bone cement: a historical review. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy.* 2017; 25(12):3808–3817. <https://doi.org/10.1007/s00167-016-4309-5>
7. Schwarz EM, McLaren AC, Sculco TP, Brause B, Bostrom M, Kates SL, Parvizi J, Alt V, Arnold WV, Carli A, Chen AF, Choe H, Coraça-Huber DC, Cross M, Ghert M, Hickok N, Jennings JA, Joshi M, Metsemakers WJ, Ninomiya M, Nishitani K, Oh I, Padgett D, Ricciardi B, Saeed K, Sendi P, Springer B, Stoodley P, Wenke JC; Hospital for Special Surgery. Biofilm Symposium Workgroup. Adjuvant antibiotic-loaded bone cement: Concerns with current use and research to make it work. *Journal of Orthopaedic Research.* 2021; 39(2):227–239. <https://doi.org/10.1002/jor.24616>
8. Lewis G. Antibiotic-free antimicrobial poly (methyl methacrylate) bone cements: A state-of-the-art review. *World Journal of Orthopedics.* 2022; 13(4):339–353. <https://doi.org/10.5312/wjo.v13.i4.339>
9. Brennan SA, Ní Fhoghlú C, Devitt BM, O'Mahony FJ, Brabazon D, Walsh A. Silver nanoparticles and their orthopaedic applications. *The Bone & Joint Journal.* 2015; 97-B(5):582–589. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.97B5.33336>
10. Naganthran A, Verasoundarapandian G, Khalid FE, Masarudin MJ, Zulkharnain A, Nawawi NM, Karim M, Che Abdullah CA, Ahmad SA. Synthesis, characterization and biomedical application of silver nanoparticles. *Materials (Basel).* 2022; 15(2):427. <https://doi.org/10.3390/ma15020427>
11. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends in Biotechnology.* 2010; 28(11):580–588. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.07.006>
12. Lewis G. Properties of nanofiller-loaded poly (methyl methacrylate) bone cement composites for orthopedic applications: a review. *Journal of Biomedical Materials Research.* 2017; 105(5):1260–1284. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33643>
13. Saha S, Pal S. Mechanical properties of bone cement: a review. *Journal of Biomedical Materials Research.* 1984; 18(4):435–462. <https://doi.org/10.1002/jbm.820180411>
14. Wang J-S, Dunne N. Bone cement fixation: acrylic cements. In: Revell PA, ed. *Joint Replacement Technology.* United Kingdom: Woodhead Publishing; 2008. p. 212-51.
15. Ficklin MG, Kunkel KA, Suber JT, Gerard PD, Kowaleski MP. Biomechanical evaluation of polymethyl methacrylate with the addition of various doses of cefazolin, vancomycin, gentamicin, and silver microparticles. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology.* 2016; 29(5):394–401. <https://doi.org/10.3415/VCOT-16-01-0005>

16. Slane J, Vivanco J, Rose W, Ploeg HL, Squire M. Mechanical, material, and antimicrobial properties of acrylic bone cement impregnated with silver nanoparticles. *Materials Science & Engineering*. 2015; 48:188–196. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.068>
17. Alsukhayri AA, Alwagdani AA, Ibrahim MI, Fahmi MK. (2019). Effect of silver nanoparticles fillers addition on flexural strength, fracture toughness, impact strength, compressive strength and hardness of heat-polymerized acrylic resin. *International Journal of Advanced Research*. 2019; 7(9):1419-1422. <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/9798>
18. Alt V, Bechert T, Steinrücke P, Wagener M, Seidel P, Dingeldein E, Domann E, Schnettler R. (2004). An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*. 2004; 25(18):4383–4391. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.078>
19. Oei JD, Zhao WW, Chu L, DeSilva MN, Ghimire A, Rawls HR, Whang K. Antimicrobial acrylic materials with in situ generated silver nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2012; 100(2):409–415. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31963>
20. Sodagar A, Kassaei MZ, Akhavan A, Javadi N, Arab S, Kharazifard MJ. Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins. *Journal of Prosthodontic Research*. 2012; 56(2):120–124. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2011.06.002>
21. Prokopovich P, Leech R, Carmalt CJ, Parkin IP, Perni S. A novel bone cement impregnated with silver-tiopronin nanoparticles: its antimicrobial, cytotoxic, and mechanical properties. *International Journal of Nanomedicine*. 2013; 8:2227–2237. <https://doi.org/10.2147/IJN.S42822>
22. Prokopovich P, Köbrick M, Brousseau E, Perni S. (2015). Potent antimicrobial activity of bone cement encapsulating silver nanoparticles capped with oleic acid. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2015; 103(2):273–281. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33196>
23. 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. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2014; 8(4):204–209. <https://doi.org/10.5681/joddd.2014.037>
24. Clement JL, Jarrett PS. Antibacterial silver. *Metal-based Drugs*. 1994; 1(5-6):467–482. <https://doi.org/10.1155/MBD.1994.467>
25. Braga NB, Pires LCSR, Oliveira HP, Costa MM. 2018. Antimicrobial and antibiofilm activity of silver nanoparticles against *Aeromonas* spp. isolated from aquatic organisms. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2018; 38(2):244-249. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4805>
26. Jackson J, Lo J, Hsu E, Burt HM, 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)*. 2021; 14(12):3413. <https://doi.org/10.3390/ma14123413>