

سنتز، ارزیابی خواص ساختاری و آنتی باکتریال پودر هیدروکسی آپاتیت حاوی یون‌های نقره و فلوراید جهت کاربرد در پوشش‌دهی اکسترنال فیکساتورهای ارتوپدی از جنس فولاد 316 L به روش غوطه‌وری

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۷

خلاصه

مقدمه: یکی از تجهیزات پرکاربرد در جراحی‌های ارتوپدی (تروما) اکسترنال فیکساتورها (پین) هستند. یکی از مهمترین چالش‌های موجود در زمینه کاربرد اکسترنال فیکساتورها، شل شدن پین فرو رفته در استخوان به دلیل تشکیل فیلم زیستی ناشی از حضور باکتری‌ها بر روی پین است که باعث تضعیف فصل مشترک و نهایتاً شل‌شدگی پین شده و این عفونت تا سطح مشترک استخوان و پین پیشروی خواهد کرد. یکی از روش‌های مؤثر در کاهش این عفونت، پوشش‌دهی سطح پین‌ها با مواد آنتی-باکتریال است.

روش کار: سنتز پودر هیدروکسی آپاتیت حاوی یون‌های نقره و فلوراید (Ag-FHA) به روش سل‌ژل مورد بررسی قرار گرفت و خواص ساختاری و میکروبی آن ارزیابی گردید. تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی (FESEM) تأییدکننده اندازه نانو در ذرات پودر Ag-FHA می‌باشد.

نتایج: بر اساس نتایج تست پراکندگی (Mapping)، پراکندگی همگن ذرات در پودر سنتز شده به‌خوبی انجام گرفته است و نتایج تست طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) نشان می‌دهد هیچ‌گونه گروه عاملی ناخواسته یا ناخالصی در ساختار آپاتیت-های سنتز شده وجود ندارد. آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) نشان می‌دهد در دمای حدودی ۳۰۰ تا ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد تبدیل فاز آمورف به فاز کریستالی در ساختار HA اتفاق افتاده است و در دمای حدود ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد تشکیل فاز HA مشاهده می‌گردد که در دمای حدود ۶۰۰ افزایش یافته و تکمیل شده است. تست آنتی‌باکتریال پودر سنتز شده (حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) در برابر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی به‌عنوان باکتری‌های رایج در عفونت‌های بعد از جراحی‌های ارتوپدی، مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد پودرهای حاوی Ag 0.2-FHA می‌توانند به‌صورت مطلوبی در برابر رشد هر دو گونه باکتری مقاومت کنند.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، سل‌ژل، هیدروکسی آپاتیت، اشریشیا کلی، فیکساتور خارجی، نقره

بی‌نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

نفریسه جیرفتی^۱

علی مرادی^۱

فرشید باقری^۱

محمد حسین ابراهیم‌زاده^{۱*}

گروه ارتوپدی، دانشکده پزشکی مرکز تحقیقات ارتوپدی بیمارستان قائم (عج)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

*نویسنده مسئول: دکتر محمد حسین ابراهیم‌زاده استاد تمام گروه ارتوپدی دانشکده پزشکی، فلوشیپ جراحی شانه و زانو، مرکز تحقیقات ارتوپدی بیمارستان قائم (عج)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.

Email: EbrahimzadehMH@mums.ac.ir

مقدمه

باکتری‌ها به سوء مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها شوند (۸-۱۰). در این خصوص استفاده از مواد آنتی‌باکتریال جایگزین با منشأ طبیعی که عوارض جانبی کمتری داشته باشند همواره مورد توجه محققین بوده است (۱۱، ۱۲).

در راستای مطالعات انجام شده در این خصوص، استفاده از لایه کامپوزیتی با ماتریس مصنوعی سرامیک زیستی به همراه یون‌های افزودنی فلزی با خاصیت آنتی‌باکتریال در محل شکستگی و یا قرار گرفتن فیکساتور به عنوان یک راهبرد مؤثر بیان گردیده است.

داربست‌های مصنوعی سرامیک زیستی به طور گسترده در مهندسی بافت استخوان مورد استفاده قرار گرفته و شامل سه دسته‌ی غیر جذبی، زیست فعال یا فعال سطحی، و زیست تخریب‌پذیر یا جذب شدنی هستند (۱۳). در این میان، مواد زیست فعال مانند کلسیم فسفات‌ها و هیدروکسی آپاتیت (HA) به دلیل شباهت ساختاری به فاز معدنی تشکیل دهنده استخوان‌ها، به عنوان بافت سخت بدن، از اهمیت بیشتری برخوردارند. اجزای اصلی سازنده هیدروکسی آپاتیت یون-های فسفات و کلسیم می‌باشند که به طور طبیعی در بدن انسان وجود دارند (۱۴).

HA به عنوان حامل پروتئین‌های استخوان‌ساز در مجاورت بافت استخوانی آسیب‌دیده، موجب القای استخوان‌سازی می‌گردد و در مقایسه با سایر مشتقات فسفات کلسیم، از قدرت و تحرک بیشتری در تحریک و هدایت استخوان-سازی برخوردار می‌باشد. این ماده با توجه به نتایج امیدوارکننده‌ای که در ترمیم نقایص استخوانی داشته است به-عنوان یک داربست بیوسرامیکی مطلوب جهت پوشش‌دهی فیکساتورهای خارجی مطرح گردیده است (۱۵).

HA به خاطر خواص بسیار مطلوب مانند زیست‌فعالی، زیست‌سازگاری و چسبندگی خوب با استخوان یکی از رایج‌ترین انتخاب‌ها به عنوان ماتریس سرامیکی به‌شمار می‌رود (۱۶). شایان ذکر است که علیرغم موارد بیان‌شده در مورد مزیت‌های HA، به هیچ عنوان مقاومتی در برابر رشد

درمان بیماری‌ها و عیوب استخوانی ناشی از تروما و شکستگی یکی از مهمترین معضلات پزشکی در حوزه ارتوپدی است و سالانه عده زیادی در سراسر دنیا از این مشکل رنج می‌برند (۱). پیوندهای آلوگرافت و اتوگرافت از جمله متداولترین و مهمترین روش‌های درمانی در این حوزه هستند (۲). استفاده از فیکساتورهای خارجی در جراحی‌های ارتوپدی یک روش معمول محسوب می‌شود و موارد استفاده‌ی زیادی به خصوص در زمینه‌ی تروما دارد (۳). ایجاد عفونت ناشی از کاربرد این ایمپلنت‌ها در جراحی‌های ارتوپدی، یکی از مشکلات عمده در ارتوپدی بوده و از دیرباز این عارضه، موفقیت کاربرد ایمپلنت‌ها را به شدت تحت تأثیر قرار داده است (۴).

برای جلوگیری از بروز این عارضه اقدامات مناسبی مانند ضد عفونی کردن محیط عمل، رعایت اصول استریلیزاسیون اتاق عمل و وسایل عمل جراحی، تهویه اتاق عمل و حذف عوامل مستعد کننده عفونت از طرف جراح و نیز مشخص کردن استعداد به عفونت نزد بیماران، صورت گرفته است (۵). با این وجود مشکل عفونت ناشی از کاربرد فیکساتورهای خارجی، هنوز هم به عنوان یکی از مهمترین چالش‌های موجود در زمینه جراحی‌های ارتوپدی به‌شمار می‌رود. در این میان شل شدن پین فرو رفته در استخوان به دلیل تشکیل فیلم زیستی ناشی از حضور باکتری‌ها بر روی پین، باعث تضعیف فصل مشترک و در نهایت شل شدگی پین می‌شود و این عفونت تا سطح مشترک استخوان و پین پیشروی خواهد کرد. بر این اساس با توجه به گستردگی کاربرد فیکساتورهای خارجی در جراحی‌های ارتوپدی، یافتن راه‌حل مؤثر جهت حل این مشکل، از ضروریات است (۶، ۷).

در خصوص رفع باکتری‌ها، مواد آنتی‌باکتریال در حوزه پزشکی به دو دسته سنتتیک شیمیایی و طبیعی تقسیم می‌شوند. آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی پرکاربرد در حوزه ارتوپدی، ونکومايسين، جنتامایسین و توپرامایسین می‌باشند که در صورت استفاده بی‌رویه می‌توانند منجر افزایش مقاومت

آمونیم (سیگما آلدریج)، و اتانول خالص (مرک) برای سنتز نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت استفاده گردید. هم‌چنین محیط کشت کامل و میکروارگانسیم‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی از آزمایشگاه علوم دارویی در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تهیه گردید. تمام مواد بدون هیچ‌گونه خالص سازی مورد استفاده قرار گرفتند.

روش کار

سنتز هیدروکسی آپاتیت حاوی یونهای نقره و فلوراید

با توجه به نسبت استوکیومتری کلسیم به فسفر (۱,۶۷) $(Ca)/(P)$ در ساختار هیدروکسی آپاتیت، سنتز این ماده با در نظر گرفتن نسبت مولی ۱۰:۳. به روش سل-ژل انجام گرفت. در این خصوص نمکهای نیترات کلسیم چهارآبه و دی آمونیم هیدروژن فسفات به صورت جداگانه در مخلوط اتانول و آب مقطر تهیه شدند و به مدت ۲۴ ساعت بر روی همزن مغناطیسی با دور rpm ۱۰۰۰ قرار گرفتند (۲۰). مقدار معین از یون‌های فلوراید (با نسبت مولی $(F)/(P) = 6$) و نقره ۰,۱ (Ag 0.1-FHA) و ۰,۲ (Ag 0.2-FHA) درصد وزنی) به ترتیب به محلولهای فسفر و کلسیم اضافه شد و مدت ۱ ساعت مجدد بر روی همزن قرار گرفتند تا محلول کاملاً همگن حاصل شود. در ادامه، محلول نیترات کلسیم چهارآبه به آرامی و به صورت قطره قطره به محلول دی آمونیم هیدروژن فسفات اضافه گردید و pH محلول به دست آمده با افزودن آمونیم هیدروکسید در حدود ۱۰ تنظیم شد. در ادامه فرآیند، محلول داخل حمام آب و بر روی هیتر قرار گرفت تا زمانی که ژل هیدروکسی آپاتیت تشکیل گردید. بعد از فرآیند کلسینه کردن ژل به دست آمده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی گراد و به مدت دو ساعت در کوره الکتریکی، نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به دست آمدند.

روش آماده‌سازی سطح فیکساتورهای خارجی

با توجه به ساختار فیکساتورهای خارجی که عمدتاً از جنس استیل L 316 می‌باشند، ورقه‌های استیل با گرید پزشکی با ابعاد (20×10×1 mm) مورد استفاده قرار گرفت. سطح

باکتری‌ها و توانایی از بین بردن آن‌ها را ندارد. به همین دلیل حضور یون‌های فلزی از قبیل نقره، مس و یا روی در ماتریس HA برای رسیدن به هدف جلوگیری از بروز عفونت ضروری است (۱۷).

در میان یون‌های فلزی بیان شده، فلز نقره با توجه خاصیت آنتی باکتریال خود، از دیرباز به عنوان یک ماده آنتی-باکتریال در پوشش دهی سطوح مورد استفاده قرار گرفته است چرا که، نه تنها زیست‌سازگاری پوشش را مختل نمی‌کند، بلکه جلوی چسبیدگی اولیه باکتری را گرفته و همچنین با انجام فعل وافاعات با مولکول‌های DNA باکتری جلوی رشد و تکثیر آن را نیز می‌گیرد (۱۸). هم‌چنین ذرات نقره با ناپایدار کردن پتانسیل غشایی پلاسما و در نتیجه کاهش سطح دنوزین تری فسفات درون سلول، غشا سلولی را مورد هدف قرار داده و منجر به از بین رفتن باکتری‌ها می‌گردند (۱۹).

بر این اساس و در راستای مطالعات انجام شده در مرکز تحقیقات ارتوپدی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، در مطالعه پیش‌رو سنتز، ساخت و ارزیابی خواص ساختاری و میکروبی پودر هیدروکسی آپاتیت با ساختار نانو حاوی یون نقره (با دو ترکیب درصد متفاوت ۰,۱ و ۰,۳ درصد وزنی) با خاصیت آنتی باکتریال جهت پوشش دهی فیکساتورهای خارجی مورد بررسی قرار گرفته است. هم‌چنین ساختار ساخته شده توسط کریستال‌های غیرارگانیک مانند فلوراید تقویت شده است تا باعث پایداری بیشتر پودر سنتز شده در شرایط بالینی گردد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهند استفاده از ترکیب درصد ۰,۲ درصد وزنی از ذرات نقره، در مهار میکروبی مطلوب میکروارگانسیم‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی به عنوان عفونت‌های رایج بعد از جراحی ارتوپدی، نقش موثری داشته است.

بخش تجربی

مواد

در مطالعه پیش‌رو، از کلسیم نیترات چهارآبه با خلوص ۹۹ درصد (سیگما آلدریج)، دی آمونیم هیدروژن فسفات (سیگما آلدریج)، نرمال سالین (سیگما آلدریج)، هیدروکسید

بررسی ریزساختاری پودر سنتز شده (n=4) توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM, MIRA3, TESCAN CO., Czech) انجام گرفت.

طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS)

بررسی و تأیید عناصر کلیدی در پودر هیدروکسی آپاتیت سنتز شده (n=4) با استفاده از طیف سنجی پراش انرژی EDS مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا مقدار کمی از پودر کلسینه شده داخل دستگاه (FESEM, MIRA3, TESCAN CO., Czech) قرار گرفت و بررسی حضور عناصر مورد نظر انجام شد.

تعیین میزان پراکندگی عناصر توسط تست Mapping

بررسی میزان پراکندگی عناصر در پودر سنتز شده توسط تست Mapping و با دستگاه (FESEM, MIRA3, TESCAN CO., Czech) انجام گرفت.

طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

شناسایی گروه‌های عاملی و تحلیل نانوذرات سنتز شده هیدروکسی آپاتیت با استفاده از دستگاه طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (AVATAR 370 FTIR Nicolet Thermo Scientific Co. USA) در گستره‌ی بسامد - 400-4000 cm⁻¹ انجام گردید.

پراش اشعه ایکس (XRD)

بررسی فاز کریستالی پودر سنتز شده با استفاده از دستگاه XRD, ((X'PertPro, Holland, Panalytical Company) (با استفاده از تشعشع CuKα (طول موج = 1.54056 Å در ۴۰ کیلوولت ۳۰ میلی‌ولت) با اسکن سریع ۸ درجه بر دقیقه انجام گرفت.

بررسی تست آنتی باکتریال

بررسی میزان فعالیت آنتی‌باکتریال پودر سنتز شده در برابر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 8739) و اشریشیا کلی (ATCC 1112/ PTCC 6538P) به‌عنوان باکتری‌های رایج در عفونت‌های بعد از جراحی‌های ارتوپدی، مورد بررسی قرار گرفت. در این خصوص با توجه به سمیت یون نقره، و اینکه استفاده بیش از حد آن می‌تواند موجب بروز سمیت در بدن گردد، بررسی

نمونه‌ها ابتدا با استفاده از سمباده‌های کاربرد سیلیسوم تحت عملیات سمباده کاری مکانیکی قرار گرفتند. در ادامه تمام نمونه‌ها جهت از بین رفتن تمام ذرات گرد و غبار احتمالی به مدت ۶۰ دقیقه ابتدا در حمام آلتراسونیک استون و بعد حمام آلتراسونیک آب مقطر قرار گرفتند. غوطه وری نمونه‌ها در محلول سود ۵ نرمال NaOH به مدت ۲۰ دقیقه جهت افزایش میزان چسبندگی ژل هیدروکسی آپاتیت و افزایش ماندگاری آن بر روی سطح انجام گرفت.

انجام فرآیند پوشش دهی

محلول ژل به دست آمده جهت دستیابی به ویسکوزیته و غلظت یکنواخت بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت و نمونه‌ها با سرعت تقریبی ۱ میلی‌متر بر ثانیه، به‌صورت عمودی با حرکت پادساعتگرد وارد محلول ژل شده و به همان صورت خارج شدند. نمونه‌های پوشش داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفته تا کاملاً خشک شوند و در ادامه ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و مجدد فرآیند پوشش دهی برای آن‌ها تکرار شد. این عملیات جهت دستیابی به پوشش دهی یکسان و یکنواخت ۵ مرتبه تکرار گردید. در نهایت تمام ساختارها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد در کوره الکتریکی و تحت عملیات پختگی قرار گرفتند.

تعیین بازده پودر سنتز شده

جهت تعیین بازده پودر سنتز شده از نسبت وزن پودر سنتز شده به وزن مقدار مواد مصرفی استفاده گردید.

$$\text{بازده (\%)} = \frac{\text{وزن مواد اولیه مصرفی}}{\text{وزن محصول تولید شده}}$$

آنالیز گرماسنجی حرارتی (TGA)

جهت تعیین میزان دمای مطلوب برای کلسینه کردن ژل به دست آمده، از آنالیز گرماسنجی حرارتی TGA استفاده شد. در این راستا مقداری معینی از نمونه (۲۷ mg) داخل دستگاه (Shimadzu Tga 50 Analyzer) قرار گرفت و فرآیند حرارتی از دمای ۱۰ تا دمای ۷۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM)

رقت مربوطه ریخته شد. سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر از غلظت $10^6 \frac{CFU}{ml}$ میکروارگانسیم مورد بررسی، به هر چاهک اضافه گردید. این عمل برای هر فرآورده مورد آزمایش و هر میکروارگانسیم در دو ردیف عمودی کنار هم در میکروپلیت تکرار گردید. در انتهای هر دو ردیف عمودی مربوط به هر میکروارگانسیم و فرآورده، دو چاهک یکی شامل محیط کشت تنها (کنترل منفی) و دیگری محیط کشت همراه با سوسپانسیون میکروبی (کنترل مثبت) قرار داده شد. درب میکرو پلیت ها بسته و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه روز انکوبه گردید.

نتایج

تعیین بازده پودر سنتز شده

میزان بازده حاصل از سنتز پودرهای HA، Ag 0.1-FHA و Ag 0.2-FHA بر اساس وزن محصول به دست آمده به ترتیب $1.5 \pm 0.3\%$ ، $0.8 \pm 0.3\%$ و $0.6 \pm 0.3\%$ گزارش گردید که بر اساس مقادیر به دست آمده می توان گفت یک سوم مواد مصرفی اولیه به محصول تبدیل شده اند.

آنالیز گرماسنجی حرارتی (TGA)

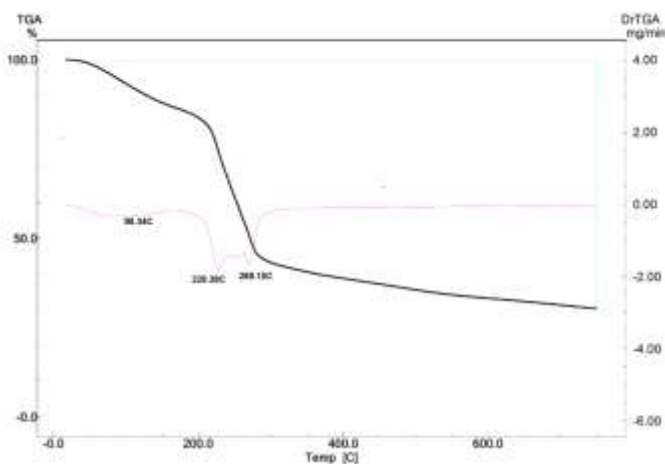
شکل ۱ تغییرات فیزیکی و شیمیایی و تغییرات وزنی پودر سنتز شده هیدروکسی آپاتیت را نسبت به دما در یک فرآیند حرارت دهی در اتمسفر هوا نشان می دهد. بر اساس نتایج به دست آمده دمای مورد نیاز برای کلسینه کردن ژل حاصل از سنتز به روش سل-ژل ۶۰۰ درجه به دست آمد و دمای مورد نظر ۲ ساعت تعیین گردید.

تست های تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) برای تعیین حداقل میزان یون نقره ($n=4$) جهت کاربردهای آنتی باکتریال بررسی شد.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)

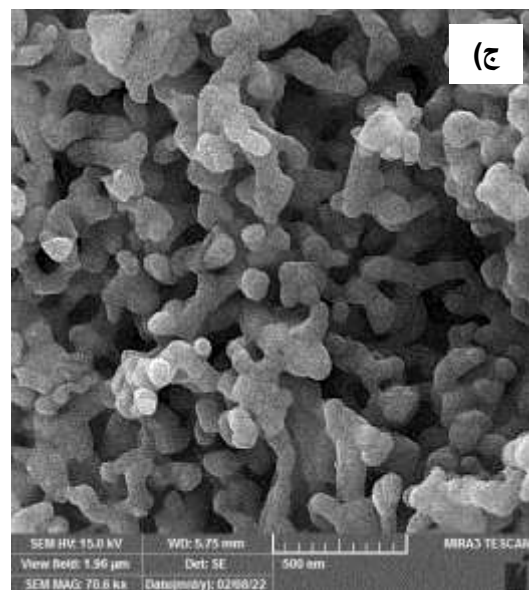
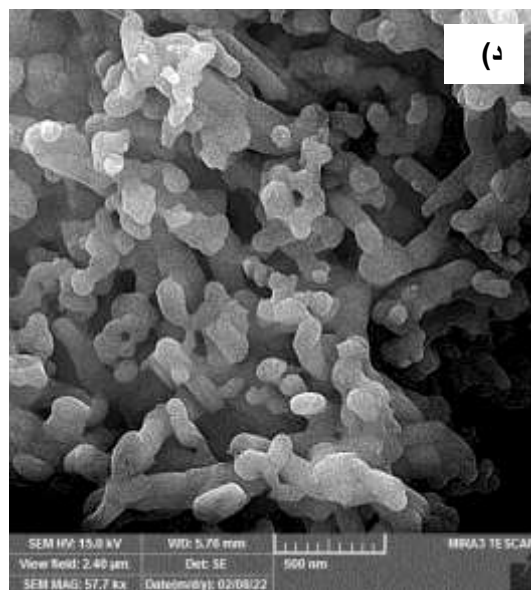
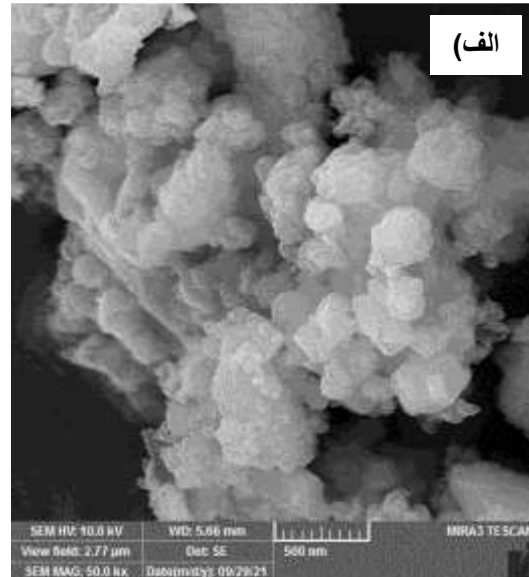
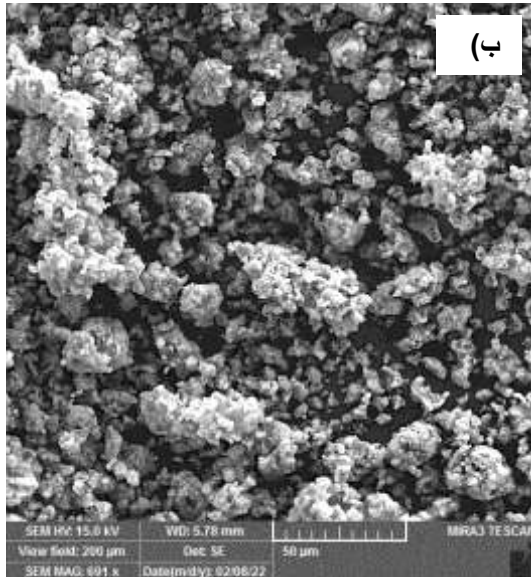
مطالعه فعالیت ضد میکروبی ترکیبات مختلف مورد آزمایش در این تحقیق، با استفاده از روش رقیق سازی متوالی (Serial Dilution Method) انجام شد. اثر ضد میکروبی ساختارهای عاری و حاوی نقره بر روی میکروارگانسیم های استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 6538P/ PTCC 1112)، اشیریشیا کلی (ATCC 8739 / PTCC 1330) مورد بررسی قرار گرفت. جهت سهولت کار، از میکرو پلیت استفاده شد. در این راستا و بر طبق جدول ۱ رقیق سازی (۴ رقت) ساختارها با استفاده از محیط کشت مایع (SCDB (Soyabean Casein Digest Broth) انجام گرفت. مقدار ماده موجود در هر فرآورده پس از رقیق سازی، در جدول ۱ آمده است.

جهت جلوگیری از آلودگی میکروبی، پس از تهیه غلظت ها درب ویال ها بسته شد. در مرحله بعد، مقدار غلظت $10^6 \frac{CFU}{ml}$ از میکروارگانسیم ها در لوله آزمایش برای انجام آزمون های MIC و MBC تهیه گردید. سپس در دو لوله آزمایش متوالی دیگر، با نرمال سالین استریل، دو غلظت $10^7 \frac{CFU}{ml}$ و $10^6 \frac{CFU}{ml}$ از غلظت $10^8 \frac{CFU}{ml}$ تهیه شد. کار عملی در میکروپلیت صورت گرفت و در هر چاهک میکروپلیت، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از



شکل ۱. منحنی بررسی تغییرات فیزیکی و شیمیایی و تغییرات وزنی پودر سنتز شده هیدروکسی آپاتیت

در ساختارهای HA، Ag 0.1-FHA، و Ag 0.2-FHA به ترتیب 11 ± 75 ، 6 ± 98 و 15 ± 115 گزارش شده است و بر این اساس می‌توان گفت با افزودن یونهای نقره و فلوراید به ساختار شاهد افزایش اندازه ذرات هستیم.



شکل ۲. تصاویر به دست آمده از بررسی ساختاری پودرهای سنتز شده: الف و ب) HA، ج) Ag 0.1-FHA، د) Ag 0.2-FHA

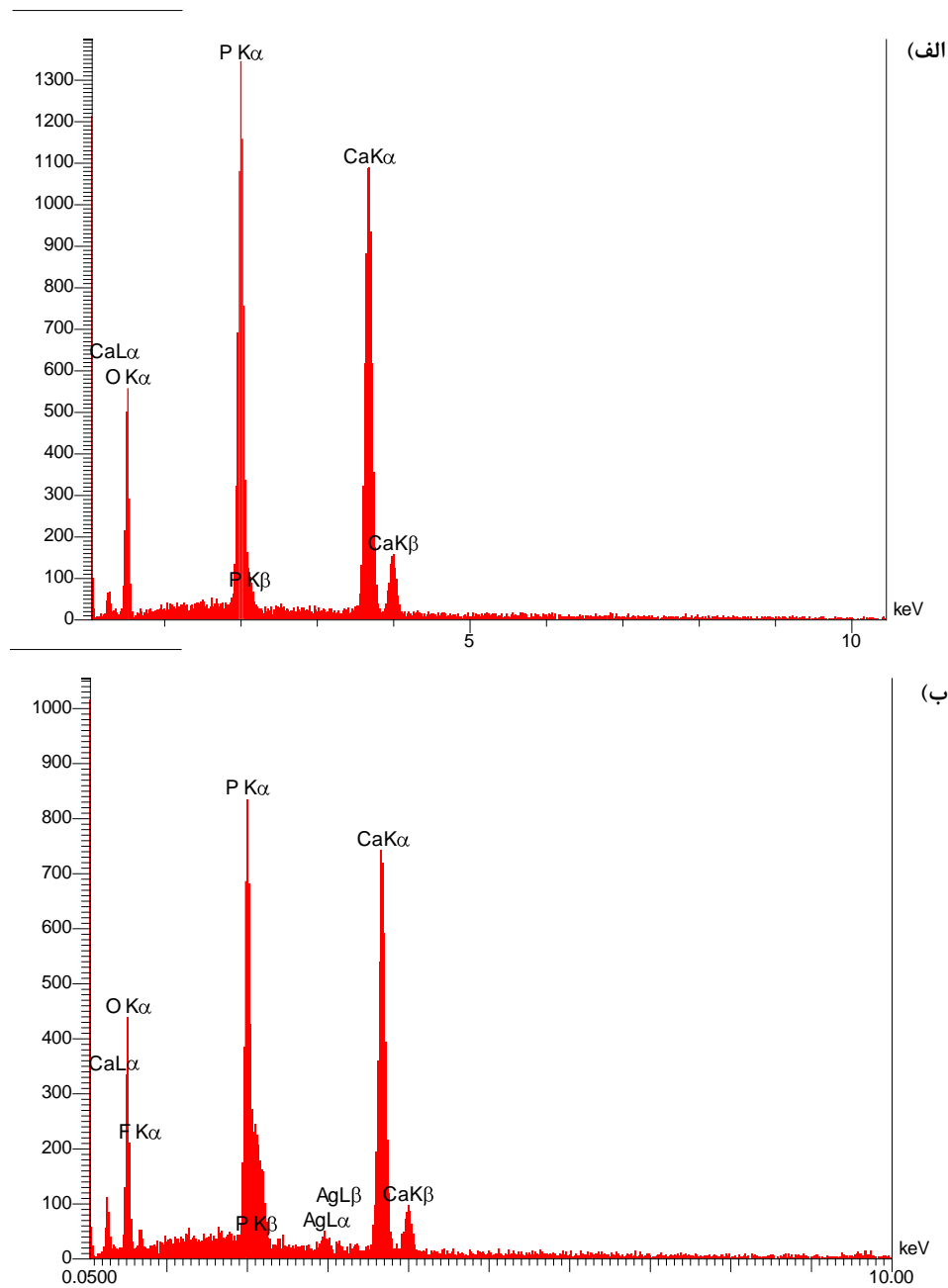
میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM)

بر اساس تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی که در شکل ۲ ارائه شده‌اند، پودرهای HA و Ag-FHA همگی دارای ابعاد نانو هستند. محدوده اندازه ذرات

طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS)

به دست آمده حضور یونهای کلسیم، فسفر در ساختار HA مورد تأیید قرار گرفته است.

تصاویر به دست آمده از طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) در شکل ۳ ارائه شده است. بر اساس تصاویر



شکل ۳. تصاویر به دست آمده آر طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) ساختار پودرهای سنتز شده: الف) HA و ب) Ag-FHA

در شکل ۴ ارائه شده است. تصاویر به دست آمده گویای پراکندگی یکنواخت تمام عناصر و یونها در کل ساختار می- باشد که این موضوع با توجه به کاربرد ساختارها، بسیار حائز اهمیت می باشد. همانطور که در تصاویر مشخص است میزان حضور یون نقره در ساختار Ag 0.2-FHA بیشتر از ساختار Ag 0.1-FHA می باشد.

همچنین شکل ب-۳ تأیید کننده حضور یونهای نقره و فلورئور علاوه بر عناصر گفته شده، در ساختار هیدروکسی آپاتیت حاوی نقره (Ag-FHA) می باشد.

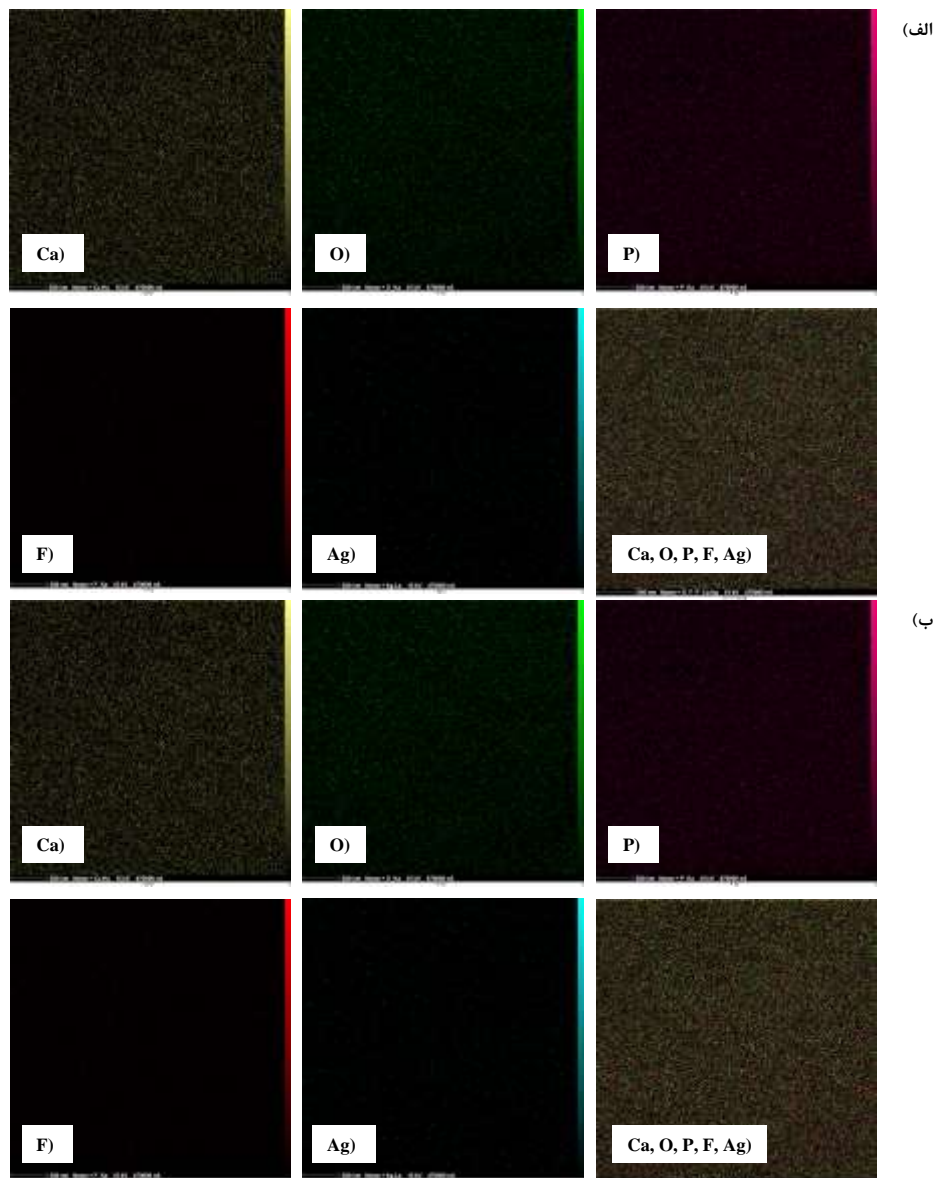
تعیین نقشه پراکندگی عناصر Mapping
 میزان توزیع یکنواخت و پراکندگی همگن کلسیم، فسفر، فلوراید و نقره در تصاویر به دست آمده از آنالیز mapping

طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

نتایج حاصل از بررسی ساختاری طیف سنجی تبدیل فوریه فرسرخ مربوط به پودرهای سنتز شده در شکل ۵ نشان داده شده است.

بر اساس نتایج به دست آمده هیچ گونه گروه عاملی ناخواسته یا ناخالصی در ساختار آپاتیت‌های سنتز شده وجود ندارد. بر اساس پیک‌های حاصل از آنالیز FTIR مربوط به ساختار HA، پیک‌های پهن حاصل شده در طول موج 3273 cm^{-1} نشان‌دهنده‌ی گروه هیدروکسیل در این ساختار می‌باشد که با افزودن فلئور در ساختارهای FHA-0.1 و Ag-0.2

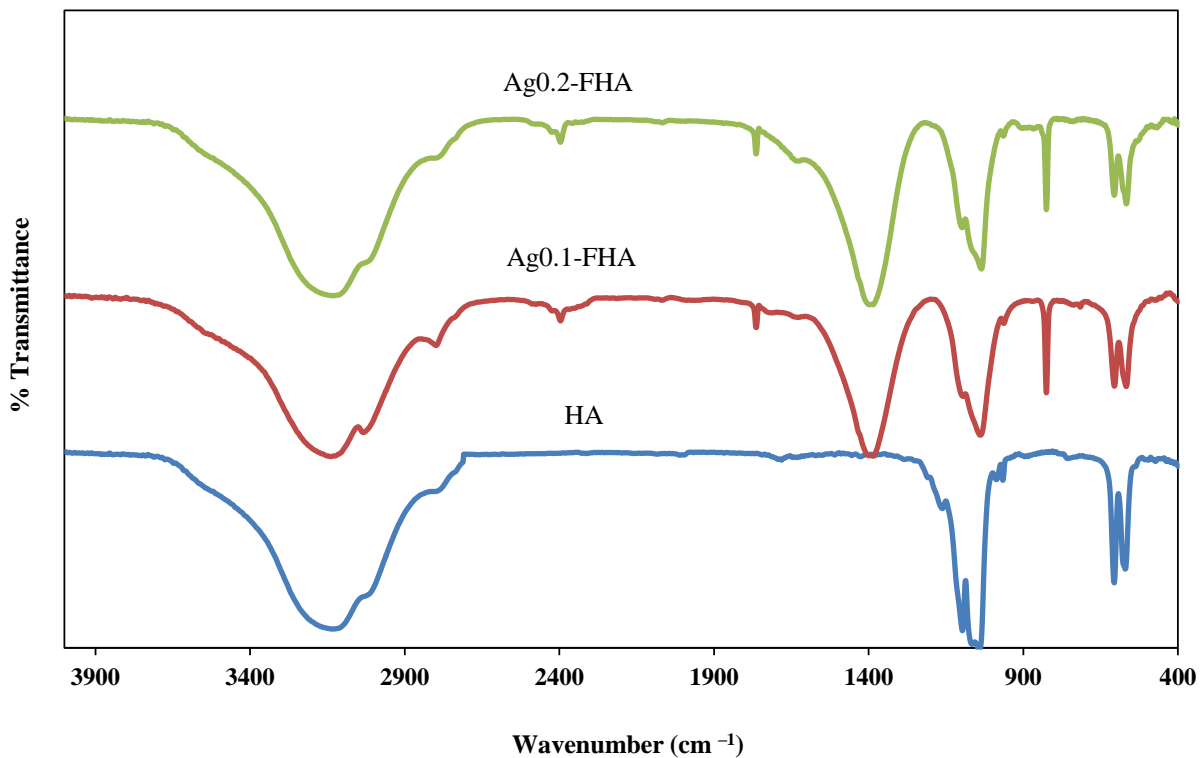
FHA به دلیل جانشینی گروه هیدروکسیل با یون فلوراید (F-OH) این پیک کوچکتر شده، و به سمت طول موج‌های بالاتر جابجا می‌شود. پیک‌های مشاهده شده در نواحی 3485 cm^{-1} و 1641 cm^{-1} مربوط به آب (H-O-H) موجود در پیش ماده‌ها می‌باشد. پیک‌های کششی PO_4^{3-} در طولم پیک‌های به دست آمده در نواحی 870 cm^{-1} ، $(1400-1650)\text{ cm}^{-1}$ تاییدکننده‌ی جایگزینی گروه کربنات C-O در ساختار آپاتیت هستند. پیک‌های CH_3 و NO_3 به ترتیب در نواحی 1336 cm^{-1} و 746 cm^{-1} قابل مشاهده هستند.



شکل ۴. تصاویر به دست آمده آر بررسی تعیین نقشه پراکنندگی عناصر در ساختار پودرهای سنتز شده الف) FHA-0.1، ب) Ag 0.2- FHA

گروه کربنات با نقره می باشد که تأیید کننده حضور نقره در ساختار نیز می باشد. پیک های خمشی در ناحیه 600 cm^{-1} مربوط به گروه P-O در گروه فسفات می باشد که با گروه آپاتیت وارد واکنش شده است. وج های 812 cm^{-1} ، 1041 cm^{-1} و 2995 cm^{-1} در ساختارهای HA و AG-FHA (0.1, 0.2) مشاهده شده است.

بر اساس نتایج به دست آمده با افزودن مقدار کمی نقره در ساختار پودرهای سنتز شده طیف های FTIR تغییر چشمگیری نخواهند داشت و نواحی 1385 cm^{-1} ، 1394 cm^{-1} و 1684 cm^{-1} به ترتیب در ساختارهای، Ag 0.1-FHA و Ag 0.2-FHA مشاهده می شود و تغییرات میزان شدت پیک های در این ساختارها نسبت به ساختار HA، مربوط به جایگزینی

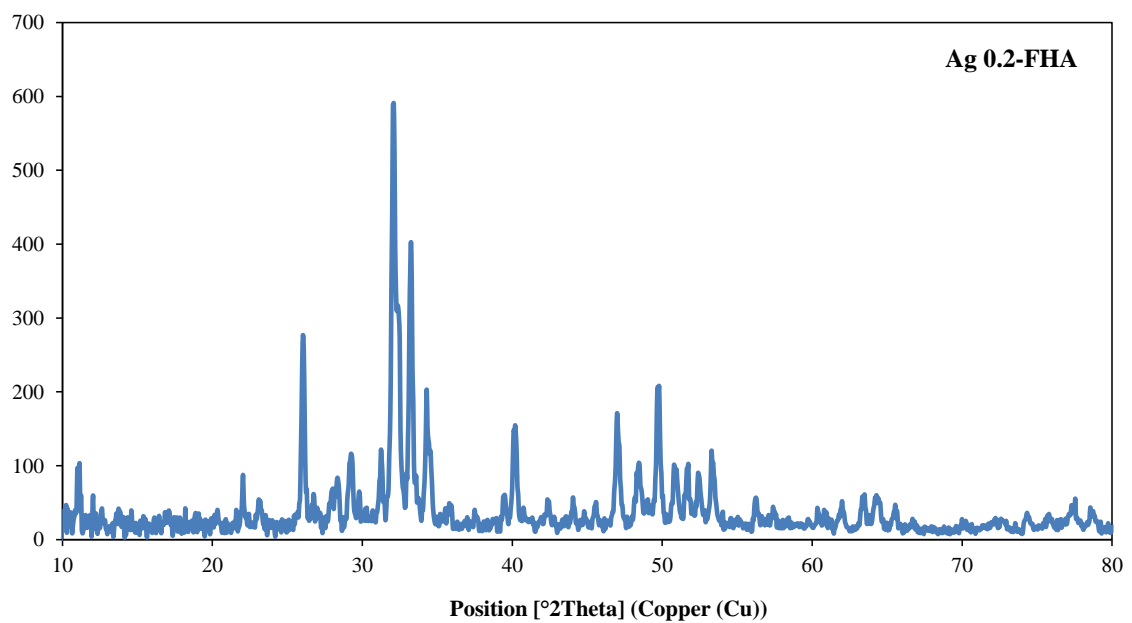
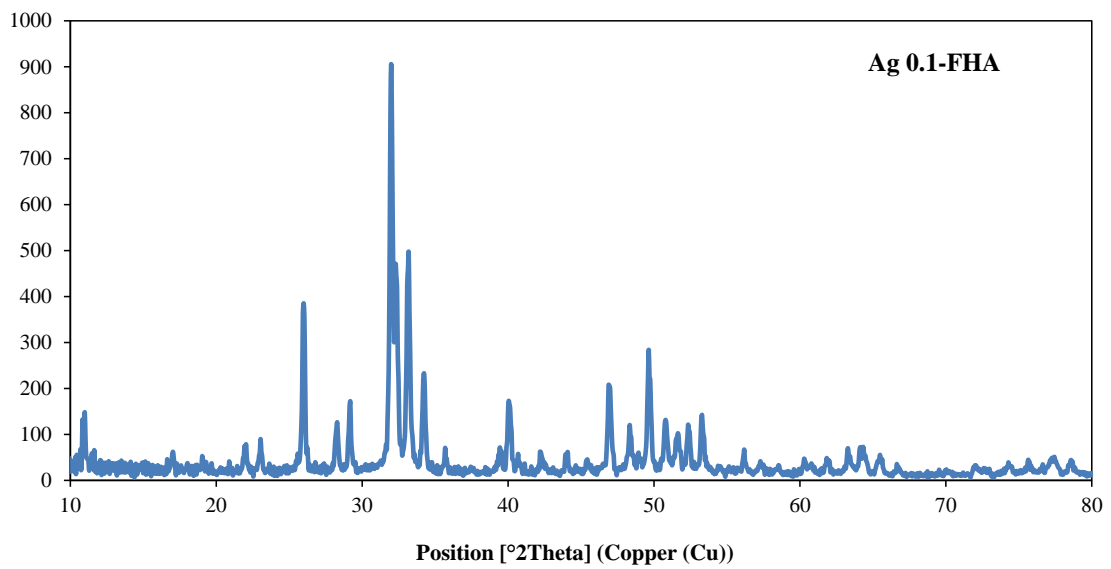
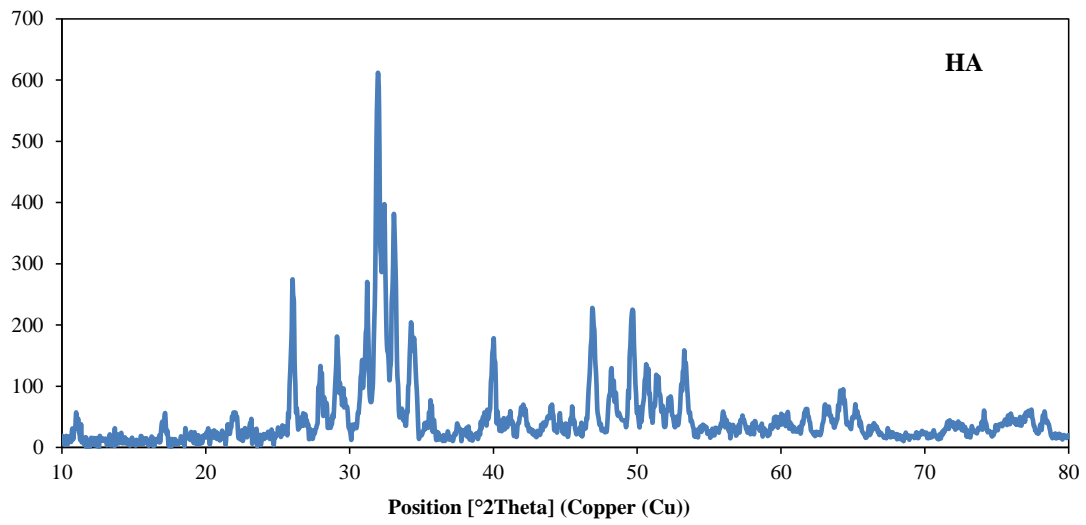


شکل ۵. ساختارهایی طیف سنجی تبدیل فوریه فرسرخ مزبوط به پودرهای سنتز شده HA، Ag 0.1-FHA، و Ag 0.2-FHA

پراش اشعه ایکس (XRD)

تبدیل فاز آمورف به فاز کریستالی در تمام ساختارها اتفاق افتاده است. در دمای حدود 500°C درجه سانتی گراد تشکیل فاز HA مشاهده می گردد که در دمای حدود 600°C افزایش یافته و تکمیل می شود.

جهت بررسی تغییرات فازی و به دست آوردن دمای کریستالیزاسیون مناسب از ساختارهای سنتز شده طیف پراش پرتو ایکس (XRD) گرفته شد. بر اساس نتایج به دست آمده در شکل ۶ در دمای حدودی 300°C تا 350°C درجه سانتی گراد



در ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای بهینه کلسینه شدن ساختارهای HA، و Ag-FHA تأیید گردید.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)

بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال ساختارهای سنتز شده‌ی HA، Ag 0.1-FHA و Ag 0.2-FHA با اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) به روش غلظت سریالی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از تست بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال ساختارهای سنتز شده در جدول ۱ گزارش شده است.

در خصوص ساختارهای حاوی فلوراید میزان تشکیل فاز HA در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به دلیل وجود ناخالصی‌هایی مانند فلورید کلسیم و نیترات کلسیم کمتر اتفاق افتاده است و افزایش فاز FHA و تکمیل فاز کریستالی HA در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر مشاهده شده است.

مشاهده شده است که با افزایش دمای کلسینه کردن ساختارهای HA، علاوه بر پیک‌های HA، پیک‌های اکسید کلسیم و بتاتریکلسیم فسفات به‌عنوان ناخالصی نیز مشاهده گردیده است و براساس تحقیقات انجام شده و بر مبنای آنالیز TGA انجام شده در پژوهش پیش‌رو همان دمای

جدول ۱. درصد ماده موجود در فرآورده‌های رقیق شده جهت بررسی MIC و MBC

نمونه	استافیلوکوکوس اورئوس		اشریشیا کلی	
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
HA	> 2000	> 2000	> 2000	> 2000
Ag 0.1-FHA	4000	4000	> 4000	> 4000
Ag 0.2-FHA	2000	2000	4000	4000

درصد نقره به خوبی توانسته است در برابر مهار رشد هر دو گونه باکتری به‌صورت موفقیت‌آمیزی عمل کرده و نتایج مثبتی در خصوص تست MBC نیز ارائه دهد.

بحث

عفونت‌های ناشی از کاربرد پین‌ها در جراحی‌های ارتوپدی، در دو مقطع زمانی، یکی به فاصله کوتاهی پس از عمل جراحی و دوم در فاصله زمانی طولانی‌تر بعد از جراحی و به علت تشکیل فیلم زیستی ناشی از حضور باکتریها در محل جراحی اتفاق می‌افتد (۲۱). جلوگیری از ایجاد یا پیشروی عفونت‌های ایجاد شده در محل شکستگی در بازه زمانی کوتاه بعد از جراحی تا حدودی توسط تکنیک‌های جراحی مانند اعمال نیروی کمتر بر روی پین در حین استفاده که باعث کاهش میزان نکروز و التهاب می‌شود، و به‌کارگیری ضدعفونی‌کننده‌ها در حین جراحی قابل کنترل هستند (۲۲). (۲۳). اما در خصوص پیشگیری از عفونت‌هایی که در بازه زمانی طولانی‌تر بعد از جراحی اتفاق می‌افتد، می‌تواند

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان دادند هیچ‌گونه نتایجی که نشان‌دهنده‌ی خاصیت آنتی‌باکتریال در ساختار HA باشد دیده نشد و با افزودن نقره در ساختار نتایج رضایت‌بخشی در این خصوص به دست آمد و بهترین میزان مهارکنندگی باکتری‌های مورد بررسی در مورد ساختار با ۰٫۲ درصد نقره حاصل شده است. در ساختار ذکر شده حداقل غلظت باکتری کشی مقدار ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مورد باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی به دست آمده است. میزان MIC برای ساختارهای Ag 0.1-FHA و Ag 0.2-FHA به ترتیب ۴۰۰۰ و > ۴۰۰۰ گزارش شده است. نتایج نشان می‌دهد ساختار حاوی ۰٫۲ درصد نقره در برابر هر دو باکتری توانسته است به‌صورت مطلوبی در برابر رشد هر دو گونه باکتری مقاومت کرده و ساختار حاوی ۰٫۱ درصد نقره فقط توانسته است در برابر رشد باکتری استافیلوکوکوس مقاومت کند و این درصد در مورد باکتری اشریشیاکلی عملکرد مثبتی نداشته است. در مقابل ساختار حاوی ۰٫۲

تأیید کننده این موضوع می‌باشد و با افزایش یون فلوراید اندازه ذرات افزایش یافته است. جهت جلوگیری از تولید مواد ناخالص یا دیگر ترکیبات در ساختار HA سنتز شده، دمای کلسینه کردن بسیار حائز اهمیت می‌باشد که در این راستا بر اساس مطالعه انجام شده توسط Othman و همکاران و همچنین نتایج مربوط به آنالیز TGA با تعیین دمای بهینه، دستیابی به محصول با حداکثر خلوص میسر گردید. همچنین نشان داده شده است که افزایش دمای کلسینه کردن منجر به تولید بتاکلسیم فسفات در ساختار HA می‌گردد که در بعضی موارد مطلوب نمی‌باشد (۲۸). که نتایج حاصل از آنالیزهای FTIR و XRD در این مطالعه نیز تأیید کننده این موضوع می‌باشند. همچنین در راستای نتایج ارائه شده توسط محققین، تشکیل فاز سرامیکی کلسیم فسفات در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد. نتایج آنالیز XRD نیز همین موضوع را نشان می‌دهد (۲۹). میزان پراکندگی در ساختارهای حاوی و عاری از یون‌های فلوراید و نقره، حالت یکنواختی را نشان داد که نشان‌دهنده سنتز موفق ساختار HA (0.1, Ag-FHA) (0.2) می‌باشد (۳۰). همچنین بر اساس مطالعات انجام شده یکی از مواد مهم در کاهش تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های سیستمیک در جلوگیری و درمان عفونت‌های ناشی از کاربرد ایمپلنت‌ها در جراحی‌های ارتوپدی، کاهش جریان خون در اطراف استخوان آسیب دیده می‌باشد (۳۱). بر این اساس استفاده از مواد آنتی‌باکتریال بر روی سطح بین‌ها می‌تواند به عنوان یک روش کارآمد برای کاهش عفونت و تشکیل فیلم زیستی بر روی سطح بین و شل شدگی آن باشد (۳۲). در بین یون‌های موجود که دارای خاصیت آنتی‌باکتریال می‌باشند، یون‌های نقره با ایجاد اتصال به پروتئین‌ها و آنزیم‌های درون سلول باکتری و با ایجاد تغییراتی در وظایف اصلی سلول‌های باکتری مانند تنظیم فعالیت سیگنالینگ آنزیمی، نفوذپذیری، اکسیداسیون سلولی و تنفسی می‌تواند به صورت موثری باعث از بین رفتن باکتری‌ها گردند (۳۳).

با این حال نتایج به دست آمده نشان می‌دهد افزودن یون‌های نقره باعث ایجاد خاصیت آنتی‌باکتریال در پودرهای سنتز

توسط پوشش‌دهی بین‌های ارتوپدی از طریق کامپوزیت-های آنتی‌باکتریال به عنوان روشی مؤثر عنوان می‌گردد (۲۴). در این خصوص پژوهش پیش‌رو با استفاده از روش سل-ژل اقدام به سنتز پودر هیدروکسی آپاتیت نموده است. سنتز HA در مطالعه پیش‌رو از طریق روش سل-ژل در چند مرحله انجام گرفت: (۱) تهیه سل با استفاده از پیش‌سازهای کلسیم و فسفر به عنوان نمک‌های فلزی، (۲) ژل شدن، که در آن پلیمریزاسیون کافی برای ایجاد اتصالات عرضی مولکول‌ها انجام می‌شود (۳) پیری که برای خلوص مهم است و (۴) خشک کردن که در این مرحله حذف حلال اضافی اتفاق می‌افتد. در نهایت، عملیات حرارتی برای حذف ترکیبات آلی و دستیابی به کریستالیزاسیون انجام می‌شود (۲۵).

پودر سنتز شده هیدروکسی آپاتیت سنتز شده در این مطالعه حاوی یون‌های نقره می‌باشد که ساختار ترکیب آن توسط کریستال‌های غیرارگانیک مانند فلوراید تقویت شده است. به علاوه طبق پژوهش‌های انجام شده، نقره توانایی مقابله با گستره وسیعی از خانواده باکتری‌ها را دارا می‌باشد. البته نکته قابل توجه دیگر در مورد نقره این است که برای به کارگیری آن در بدن بایستی مطالعه بسیاری بر روی میزان غلظت نقره در کامپوزیت داشت، چرا که این مقدار باید از حداقل مقداری، بیشتر باشد تا اثر آنتی‌باکتریال از خود نشان دهد و نیز کمتر باشد تا برای بافت‌های بدن سمیت در پی نداشته باشد (۲۶).

در ادامه با استفاده از پودرهای آپاتیت به دست آمده، اقدام به پوشش‌دهی شانزهای ارتوپدی کرده و در این خصوص خواص ساختاری و میکروبی پودرهای سنتز شده جهت بررسی دایره عملکرد ساختار سنتز شده مورد بررسی قرار گرفته است.

در مطالعات مشابه گزارش شده است که با افزایش میزان یون‌های فلوراید و نقره میزان اندازه ذرات افزایش می‌یابد که به حضور یون‌های فلوراید نسبت داده شده است (۲۷). نتایج به دست آمده در خصوص اندازه ذرات در مطالعه پیش‌رو نیز

می‌دهد در دمای حدودی ۳۰۰ تا ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد تبدیل فاز آمورف به فاز کریستالی در ساختار HA اتفاق افتاده است و در دمای حدود ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد تشکیل فاز HA مشاهده می‌گردد که در دمای حدود ۶۰۰ افزایش یافته و تکمیل شده است. سطح فیکساتورهای اکسترنال، جهت افزایش میزان چسبندگی پودر حاضر به سطح آنها، تحت عملیات آماده سازی با روش الکتروپولیش و هیدرولیز قلیایی قرار گرفتند. بارگذاری ۰٫۲ درصد نقره در پودر هیدروکسی آپاتیت سنتز شده، مهار میکروبی مطلوبی را در برابر باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیاکلی نشان داد. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، پودر هیدروکسی آپاتیت سنتز شده حاوی فلوراید و ۰٫۲ درصد نقره می‌تواند کاندیدای مناسبی جهت پوشش دهی سطح اکسترنال فیکساتورها به منظور ایجاد سطوح آنتی باکتریال بر روی سطح آنها باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را بابت حمایت‌های دانشگاه علوم پزشکی مشهد و مرکز تحقیقات ارتوپدی بیمارستان قائم اعلام می‌دارند.

شده می‌گردد اما استفاده بیش از حد آن می‌تواند باعث ایجاد مسمومیت در بدن گردد. لذا هر چند با افزایش میزان درصد نقره میزان مهارکنندگی باکتری افزایش می‌یابد ولی با توجه با سمیت نقره باید کمترین مقدار مؤثر آن به عنوان بهینه‌ترین مقدار مورد استفاده قرار گیرد. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، ۰٫۲ درصد وزنی نقره توانسته است مهار میکروبی موفق‌تری را در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیاکلی نشان دهد و در نتیجه ساختار Ag 0.2 FHA می‌تواند به عنوان کاندیدای مناسبی جهت پوشش دهی ایمپلنت‌های ارتوپدی معرفی گردد.

نتیجه گیری

در پژوهش حاضر پودر هیدروکسی آپاتیت بارگذاری شده با یون‌های فلوراید و نقره به روش سل ژل تهیه گردید. تمام ساختارهای تهیه شده از نظر ساختار و مورفولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند. حضور یون‌های کلسیم، فسفر، نقره و فلوراید با استفاده از آنالیزهای FTIR و EDS مورد تأیید قرار گرفتند. بر اساس نتایج آنالیز mapping میزان پراکندگی یون‌های بیان شده در پودر سنتز شده در سطح یکنواختی گزارش گردید. آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) نشان

1. H.-S. Sohn and J.-K. Oh, "Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries," *Biomaterials research*, vol. 23, no. 1, pp. 1-7, 2019.
2. P. Baldwin, D. J. Li, D. A. Auston, H. S. Mir, R. S. Yoon, and K. J. Koval, "Autograft, allograft, and bone graft substitutes: clinical evidence and indications for use in the setting of orthopaedic trauma surgery," *Journal of orthopaedic trauma*, vol. 33, no. 4, pp. 203-213, 2019.
3. A. Hadeed, R. L. Werntz, and M. Varacallo, "External fixation principles and overview," 2019.
4. J. Mahan, D. Seligson, S. L. Henry, and P. Hynes, "Factors in pin tract infections," *Orthopedics*, vol. 14, no. 3, p. 305, 1991.
5. I. Ktistakis, E. Guerado, and P. V. Giannoudis, "Pin-site care: can we reduce the incidence of infections?," *Injury*, vol. 46, pp. S35-S39, 2015.
6. T. Jennison, M. McNally, and H. Pandit, "Prevention of infection in external fixator pin sites," *Acta biomaterialia*, vol. 10, no. 2, pp. 595-603, 2014.
7. V. Antoci, C. M. Ono, V. Antoci Jr, and E. M. Raney, "Pin-tract infection during limb lengthening using external fixation," *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, vol. 37, no. 9, pp. E150-E1544, 2008.
8. M. Ribeiro, F. J. Monteiro, and M. P. Ferraz, "Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions," *Biomatter*, vol. 2, no. 4, pp. 176-194, 2012.

9. C. L. Romanò, S. Scarponi, E. Gallazzi, D. Romanò, and L. Drago, "Antibacterial coating of implants in orthopaedics and trauma: a classification proposal in an evolving panorama," *Journal of orthopaedic surgery and research*, vol. 10, no. 1, pp. 1-11, 2015.
10. F. Kalalinia *et al.*, "Evaluation of wound healing efficiency of vancomycin-loaded electrospun chitosan/poly ethylene oxide nanofibers in full thickness wound model of rat," *International journal of biological macromolecules*, vol. 177, pp. 100-110, 2021.
11. A. A. Vu and S. Bose, "Natural Antibiotic Oregano in Hydroxyapatite-Coated Titanium Reduces Osteoclastic Bone Resorption for Orthopedic and Dental Applications," *ACS applied materials & interfaces*, vol. 12, no. 47, pp. 52383-52392, 2020.
12. N. Jirofti, M. Golandi, J. Movaffagh, F. S. Ahmadi, and F. Kalalinia, "Improvement of the Wound-Healing Process by Curcumin-Loaded Chitosan/Collagen Blend Electrospun Nanofibers: In vitro and in vivo Studies," *ACS Biomaterials Science & Engineering*, vol. 7, no. 8, pp. 3886-3897, 2021.
13. M. Vallet-Regí, F. Balas, M. Colilla, and M. Manzano, "Bone-regenerative bioceramic implants with drug and protein controlled delivery capability," *Progress in Solid State Chemistry*, vol. 36, no. 3, pp. 163-191, 2008.
14. K. A. Hing, "Bioceramic bone graft substitutes: influence of porosity and chemistry," *International journal of applied ceramic technology*, vol. 2, no. 3, pp. 184-199, 2005.
15. B. G. Zhang, D. E. Myers, G. G. Wallace, M. Brandt, and P. F. Choong, "Bioactive coatings for orthopaedic implants—recent trends in development of implant coatings," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 15, no. 7, pp. 11878-11921, 2014.
16. A. Jaafar, C. Hecker, P. Árki, and Y. Joseph, "Sol-gel derived hydroxyapatite coatings for titanium implants: A review," *Bioengineering*, vol. 7, no. 4, p. 127, 2020.
17. S. Jebahi *et al.*, "Biologic response to carbonated hydroxyapatite associated with orthopedic device: experimental study in a rabbit model," *Korean Journal of Pathology*, vol. 46, no. 1, p. 48, 2012.
18. J. R. Morones *et al.*, "The bactericidal effect of silver nanoparticles," *Nanotechnology*, vol. 16, no. 10, p. 2346, 2005.
19. H. Qu, C. Knabe, S. Radin, J. Garino, and P. Ducheyne, "Percutaneous external fixator pins with bactericidal micron-thin sol-gel films for the prevention of pin tract infection," *Biomaterials*, vol. 62, pp. 95-105, 2015.
20. M. Catauro, F. Barrino, I. Blanco, S. Piccolella, and S. Pacifico, "Use of the sol-gel method for the preparation of coatings of titanium substrates with hydroxyapatite for biomedical application," *Coatings*, vol. 10, no. 3, p. 203, 2020.
21. T. Shirai, T. Shimizu, K. Ohtani, Y. Zen, M. Takaya, and H. Tsuchiya, "Antibacterial iodine-supported titanium implants," *Acta Biomaterialia*, vol. 7, no. 4, pp. 1928-1933, 2011.
22. A. Shahi and J. Parvizi, "Prevention of periprosthetic joint infection," *Archives of bone and joint surgery*, vol. 3, no. 2, p. 72, 2015.
23. D. Armbruster, "Anti-Infection Technologies for Orthopedic Implants: Materials and Considerations for Commercial Development," in *Orthopedic Biomaterials*: Springer, 2018, pp. 219-242.
24. B. Li and T. J. Webster, "Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections," *Journal of Orthopaedic Research®*, vol. 36, no. 1, pp. 22-32, 2018.
25. A. Jaafar *et al.*, "Sol-gel derived hydroxyapatite coating on titanium implants: Optimization of sol-gel process and engineering the interface," *Journal of Materials Research*, pp. 1-13, 2022.
26. B. Necula, J. Van Leeuwen, L. Fratila-Apachitei, S. Zaat, I. Apachitei, and J. Duszczuk, "In vitro cytotoxicity evaluation of porous TiO₂-Ag antibacterial coatings for human fetal osteoblasts," *Acta biomaterialia*, vol. 8, no. 11, pp. 4191-4197, 2012.
27. M. Jelinek *et al.*, "Antibacterial, cytotoxicity and physical properties of laser—Silver doped hydroxyapatite layers," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 33, no. 3, pp. 1242-1246, 2013.

28. R. Othman, Z. Mustafa, J. Mohd Juoi, P. T. Kien, and A. F. Mohd Noor, "Effect of calcination temperatures on phase transformation and stability of β -tricalcium phosphate powder synthesized by a wet precipitation method," in *Solid State Phenomena*, 2017, vol. 264, pp. 132-135: Trans Tech Publ.
29. D. R. R. Lazar, S. M. Cunha, V. Ussui, E. Fancio, N. B. de Lima, and A. H. A. Bressiani, "Effect of calcination conditions on phase formation of calcium phosphates ceramics synthesized by homogeneous precipitation," in *Materials science forum*, 2006, vol. 530, pp. 612-617: Trans Tech Publ.
30. F. Miculescu *et al.*, "Considerations and influencing parameters in EDS microanalysis of biogenic hydroxyapatite," *Journal of Functional Biomaterials*, vol. 11, no. 4, p. 82, 2020.
31. J. Podporska-Carroll, B. Quilty, and R. Devery, "Non-cytotoxic and antimicrobial plasma sprayed coatings for orthopaedic application," *Materials Letters*, vol. 112, pp. 54-57, 2013.
32. A. J. Huh and Y. J. Kwon, "'Nanoantibiotics': a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era," *Journal of controlled release*, vol. 156, no. 2, pp. 128-145, 2011.
33. P. N. Lim, L. Chang, and E. San Thian, "Development of nanosized silver-substituted apatite for biomedical applications: A review," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 11, no. 6, pp. 1331-1344, 2015.

Original Article

Synthesis, characterization and evaluation of antibacterial properties of silver- fluoride hydroxyapatite powder on coating of 316L steel external fixator by sol gel method

Received: 11/04/2022 - Accepted: 28/06/2022

Nafiseh Jirofti¹
Ali Moradi¹
Farshid Bagheri
Mohammad Hosein Ebrahimzadeh^{1*}

¹Department of Orthopedics center,
Ghaem Hospital, Mashhad University
of Medical Science, Mashhad, Iran

*Corresponding authr:

Dr Mohammad Hosein Ebrahimzadeh i,
MD, PhD, Department of Orthopedics,
Ghaem Hospital, Mashhad University
of Medical Science, P. O. Box 91388-
13944, Mashhad, Iran

Email:

EbrahimzadehMH@mums.ac.ir

Abstract

Introduction

The external fixators (pins) have many applications in orthopedic surgeries in the field of trauma. The success of clinical applications of external fixators has decreased due to their infection after orthopedic surgery. Meanwhile, the loosening of the pin embedded in the bone occurs due to the presence of bacteria and the formation of biofilm on the pin, and this infection will progress to the joint surface of the bone and the pin. Among the different techniques to improve the bone-pin interface in external fixation, coating the pins with antibacterial materials proved to be the most effective. Accordingly, the present study has focused on synthesis with sol gel method, structural, and antibacterial evaluations of Ag-FHA structure. The FESEM images and Mapping analysis confirmed the nano-scale size and homogeneous dispersion of particles in the Ag-FHA structure, respectively. In addition, the FTIR results indicated the hydroxyapatite formation in obtained structure. The XRD analysis has shown that the conversion of the amorphous phase to the crystalline phase occurred in all structures at a temperature of about 300 to 350 ° C, and the formation of the HA phase is increased and completed at 600 ° C. The antibacterial study was done by minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) determination. The obtained results showed that the Ag 0.2-FHA could significantly inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Key words

Staphylococcus aureus, Sol gel, Hydroxyapatite, *Escherichia coli*, External fixator

Acknowledgement: There is no conflict of interest