

بررسی رفتار آنتی‌باکتریال آلیاژ لایه نازک شیشه فلز پایه زیرکونیوم

$Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ اعمال شده بر روی فولاد زنگ نزن ۳۱۶

حسین شفیعی، امیر سیفال‌الدینی* و سعید حسینی

دانشکده مهندسی معدن و متالورژی، دانشگاه یزد

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۲۰)

<https://doi.org/10.47176/jame.43.3.1066>

چکیده: فولادهای زنگ نزن ۳۱۶ و ۳۰۴ از جمله آلیاژهایی هستند که به‌طور معمول برای ساخت تجهیزات پزشکی از جمله ابزارهای جراحی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این فولادها، به علت این که هیچ‌گونه خاصیت کنترل‌کننده‌ای در جلوگیری از رشد باکتری و یا از بین بردن باکتری از خود نشان نمی‌دهند، هنگامی که در تماس با باکتری‌ها قرار می‌گیرند، به‌شدت آلوده می‌شوند. با اعمال پوشش‌هایی با خاصیت آنتی‌باکتریال بالا تا حد زیادی می‌توان بر این مشکل غلبه کرد. یکی از این پوشش‌ها که در سال‌های اخیر توجه محققین زیادی را به خود جلب کرده است، استفاده از پوشش‌های لایه نازک شیشه فلزی پایه زیرکونیوم می‌باشد. لذا در این پژوهش، پس از مطالعه و بررسی تأثیر عناصر مختلف در رفتار آنتی‌باکتریال یک پوشش، ابتدا آلیاژی با ترکیب شیمیایی $Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ طراحی و تولید شد. در ادامه با اعمال لایه نازکی از آلیاژ مذکور با ساختار آمورف بر روی زیر لایه فولاد زنگ نزن ۳۱۶، رفتار این پوشش در مقابله با دو باکتری متداول بیمارستانی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. در ابتدا پس از توزین و مخلوط کردن عناصر انتخاب‌شده با نسبت استوکیومتری لازم، همگن‌سازی آن‌ها توسط یک آسیاب مکانیکی و استفاده از دستگاه تف‌جوشی به کمک قوس پلاسما، هدفی با ترکیب شیمیایی مورد نظر تولید شد. بررسی‌های ساختاری اولیه نشان داد که عناصر موجود در ترکیب هدف از توزیع یکنواختی برخوردارند. در ادامه با به‌کارگیری ترکیب هدف تولیدشده در دستگاه پوشش‌دهی نوع کندوپاش، لایه‌های نازکی از آلیاژ مذکور با ضخامت‌های مختلف بر روی زیر لایه فولاد ۳۱۶ ایجاد شد. بررسی‌های اولیه نشان داد که این پوشش‌ها، ضمن برخورداری از یک پیوستگی خوب با زیر لایه، دارای ساختار شیشه‌ای و آمورف می‌باشند. در ادامه رفتار آنتی‌باکتریال پوشش ایجادشده در مقابله با دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که پوشش‌های ایجادشده به دلیل دارا بودن دو عنصر مس و نقره دارای خاصیت آنتی‌باکتریال بالایی در مقابله با دو باکتری ذکر شده می‌باشند. از طرفی بر اساس بررسی‌های انجام گرفته، اعمال پوشش یاد شده به‌علت کاهش حدوداً ۵۰ درصدی زبری زیر لایه، می‌تواند نقش مهمی در عدم چسبیدن انواع پلاکت‌های خونی انسانی و حیوانی، همچنین سلول‌های سرطانی انسانی و حیوانی به ابزارهای جراحی تولیدشده با استفاده از فولادهای زنگ ۳۱۶ داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: لایه نازک شیشه‌های فلزی پایه زیرکونیوم، خواص آنتی‌باکتریال، زبری، چسبندگی سلول‌های سرطانی.

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: seifoddini@yazd.ac

Investigation of the Antibacterial Behavior of Thin Film Metallic Glass Alloy $Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ Applied on 316 Stainless Steel Substrate

H. Shafeyi, A. Seifoddini* and S. Hasani

Department of Mining and Metallurgical Engineering, Yazd University

ABSTRACT

Stainless steels 316 and 304 are among the alloys commonly used to make medical equipment, including surgical instruments. These steels, however, do not exhibit properties that control bacterial growth or destroy bacteria upon contact, leading to significant contamination. This problem can be largely mitigated by applying coatings with high antibacterial properties. One such coating that has attracted considerable attention from researchers, in recent years, is Zr-based metallic glass coatings. In this study, after studying the effects of different elements on the antibacterial behavior of coatings, an alloy with the chemical composition of $Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ was designed and produced. A thin layer of this amorphous alloy was then applied to a 316 stainless steel substrate, and its behavior against two common hospital bacteria was studied. After weighing and mixing the selected elements in the required stoichiometric ratios and homogenizing them using a mechanical ball mill, a target with the desired chemical composition was produced using Spark Plasma Sintering (SPS). Structural investigations revealed a uniform distribution of the elements in the produced target. Using this target, thin layers of the alloy with different thicknesses were deposited on the 316 stainless steel substrate. Preliminary investigations showed that the coatings, in addition to forming a good bond with the substrate, possess a glassy and amorphous structure. The antibacterial behavior of the coatings against Escherichia Coli and Staphylococcus Aureus was then investigated. The results showed that the coatings, due to the presence of copper and silver, exhibit high antibacterial properties against these bacteria. Furthermore, the application of the coating, which reduces the roughness of the polished 316 substrate by 50%, can significantly affect the adhesion of human and animal blood platelets, as well as human and animal cancer cells, to surgical instruments made from 316 stainless steel.

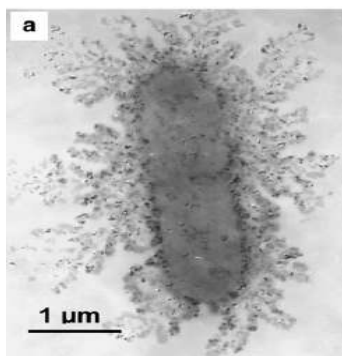
Keywords: Zr-based thin film metallic glass, Antibacterial properties, Roughness, Adhesion of cancer cells.

۱- مقدمه

یکی از مشکلات عمده در بیمارستان‌ها، عفونت تجهیزات بیمارستانی است که در بسیاری از موارد می‌تواند باعث انواع بیماری‌ها و یا حتی مرگ‌ومیر در افراد درگیر گردد. فولادهای زنگ نزن ۳۰۴ و ۳۱۶ از جمله فولادهایی است که در تجهیزات جراحی و پزشکی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. این فولادها، به علت این‌که هیچ‌گونه خاصیت کنترل‌کننده در رشد باکتری و یا از بین برنده آن‌ها از خود نشان نمی‌دهند، هنگامی که در تماس با باکتری‌ها قرار می‌گیرند، به‌شدت آلوده می‌شوند. این باکتری‌ها به‌عنوان یک میکروارگانیزم، به ابزارهای مربوطه چسبیده و در طی انجام فرآیندی باعث ایجاد فیلم نازکی بر روی این سطوح می‌گردند، درحالی‌که حذف کردن و یا از بین بردن آن از طریق ضدعفونی کردن کار مشکلی است (۱). لذا ایجاد پوشش‌هایی با خاصیت

ضد میکروبی روی سطوح آن‌ها از جمله موضوعات مهم و مطرح در دنیا می‌باشد (۲). مطالعات نشان می‌دهد یکی از جدیدترین پوشش‌هایی که به‌عنوان پوشش‌های آنتی‌باکتریال توجه محققین را به خود جلب کرده است، پوشش‌های پایه زیرکونیوم و با ساختار شیشه‌ای می‌باشد. وجود عناصری همچون مس، نقره و یا حتی آلومینیوم در این پوشش‌ها باعث ایجاد خاصیت ضد میکروبی در آن‌ها شده، علاوه بر این به دلیل وجود ساختار شیشه‌ای و صافی سطح خیلی بالایی امکان چسبیدن باکتری‌های و تشکیل فیلم‌های زیستی روی آن‌ها کم‌تر است.

لازم به ذکر است که مس و نقره به‌عنوان دو عنصر آنتی‌باکتریال از سال‌های بسیار قدیم تاکنون مورد استفاده قرار می‌گرفته است. برای مثال هرودتس مورخ یونانی به این نکته اشاره کرده است که پادشاهان ایران باستان هنگامی که عازم



شکل ۱- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی

عبوری از تجمع نانو ذرات نقره در اطراف یک باکتری

اشرشیاکلی، تخریب جداره آن و ورود به داخل باکتری (۸).

اصولاً میزان زبری و ناهمواری‌های موجود بر روی سطح یکی از مؤلفه‌های مهم در تعیین نحوه انجام واکنش سطح قطعات با محیط اطراف و یا چسبیدن مواد به آن‌ها می‌باشد. با توجه به یافته‌های اخیر، یکی از راهکارهای مهم که می‌تواند باعث کاهش چسبندگی سلول‌های سرطانی به این ابزارها گردد، ایجاد پوشش‌هایی با حداقل زبری سطح می‌باشد. لذا به نظر می‌رسد اعمال پوشش‌های لایه نازک شیشه فلز به علت دارا بودن صافی سطح بسیار خوب، بتواند این هدف را تأمین کند (۹). در یک جمع‌بندی کلی می‌توان گفت قدرت چسبندگی سلولی به یک ابزار پزشکی را می‌توان عمدتاً به سه عامل: میزان زبری سطح، انرژی سطحی و ترکیب شیمیایی زیر لایه نسبت داد (۱۴-۱۰).

در مورد عامل اول یعنی رابطه بین میزان زبری سطوح با میزان چسبندگی سلول‌های سرطانی تاکنون مطالعات وسیع و گسترده‌ای انجام شده است (۹ و ۱۸-۱۴). برای نمونه اتمبل و همکاران (۱۹)، گزارش کرده‌اند که اعمال لایه نازک شیشه فلز بر روی فولاد زنگ نزن $Zr_{39}Cu_{39}Ag_{22}$ بر روی فولاد زنگ نزن 304 ، به علت افزایش میزان صافی سطح بیش‌تر پوشش در مقایسه با زیر لایه، باعث کاهش چسبندگی باکتری اشرشیاکلی به پوشش شده است. و یا در سال ۲۰۱۴، توسط چن و همکاران (۲۰)، گزارش شده اعمال پوشش آمورف $Zr-Cu-Al-Ag$ بر روی زیر لایه فولاد زنگ نزن 304 ، به علت کاهش زبری سطح از هفت نانومتر به

جنگ می‌شدند، برای حمل آب موردنیاز خود از ظروف نقره‌ای استفاده می‌کردند (۳) و یا گزارش شده است که مس و ترکیبات دربردارنده عنصر مس از دیرهنگام برای درمان عفونت‌های میکروبی، قارچی و یا ویروسی مورد استفاده قرار می‌گرفته است (۵ و ۶). گرس و همکاران (۷)، گزارش کرده‌اند که همه موجودات زنده میکروسکوپی اگر به مدت طولانی در تماس با سطوح مسی قرار گیرند، نمی‌توانند به حیات خود ادامه دهند. به همین دلیل در آژانس حفاظت محیط‌زیست آمریکا عنصر مس به‌عنوان اولین ماده جامد ضد میکروبی ثبت شده است. مطالعات حاکی از این است که یون‌های مس و نقره موجود در پوشش عامل اصلی خاصیت آنتی‌باکتریال پوشش‌های تولیدی است. این‌که یون‌های مس یا نقره چگونه باکتری‌ها را نابود می‌کنند، باید گفت یون‌های نقره با نشستن بر روی غشای سلول باکتری، به‌راحتی وارد سلول می‌شوند. آن‌ها، به پروتئین‌های غشایی که مسئول انتقال مواد به داخل و خارج باکتری هستند، متصل شده و عملکرد آن‌ها را مختل می‌نمایند. در نتیجه باکتری، بر اثر عدم تغذیه، از بین می‌رود (۸). همچنین گزارش شده، باکتری‌ها برای زنده ماندن نیاز به اکسیژن دارند؛ یون‌های نقره سیستم تنفسی باکتری‌ها را مسدود کرده و در نتیجه جذب اکسیژن مختل می‌شود. محققان با بررسی‌هایی که بر روی پروتئین‌های موجود در باکتری اشرشیا انجام داده‌اند، دریافتند که یون‌های نقره باعث جداسازی و ضعف شدن اتصال بین پروتئین و DNA موجود در سلول می‌شوند. نقره با اتصال به DNA جلوی تقسیم سلول‌ها را می‌گیرد و در حقیقت مانع از تکثیر و ازدیاد آن‌ها می‌گردد (۷ و ۸).

در شکل (۱)، که توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری تهیه شده، نشان داده شده است که چگونه نانو ذرات نقره در اطراف یک باکتری اشرشیاکلی تجمع نموده و با تخریب جداره آن در حال ورود به داخل باکتری می‌باشند (۸).

پارامتر دیگری که می‌تواند بر رفتار آنتی‌باکتریال سطح یک ابزار جراحی و یا به عبارتی بر میزان چسبیدن باکتری‌ها به این ابزارها تأثیرگذار باشد، میزان ناهمواری‌های سطحی آن‌ها می‌باشد.

جدول ۱- مقدار پودرهای مصرفی اولیه جهت تهیه ترکیب هدف مورد نظر

عنصر	Zr	Cu	Al	Ag	Cr	Si	B
درصد اتمی	۳۰	۲۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
درصد وزنی	۴۳/۷	۲۰/۳	۴/۳	۱۷/۲	۸/۳	۴/۵	۱/۷

۲-۲-۲- مراحل انجام آزمایش‌ها

۲-۲-۲-۱- توزین پودر مواد و انجام آلیاژسازی مکانیکی

ابتدا پودر مواد اولیه مورد نیاز، به نسبت استوکیومتری، لازم توسط یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شده و سپس بعد از افزودن نیم گرم اسید استناریک به آن‌ها توسط دستگاه آسیاب سیارهای مدل PM100 تحت عملیات آسیاب‌کاری مکانیکی قرار گرفت. این عملیات تحت اتمسفر آرگون، با نسبت گلوله به پودر ۱۰ به ۱، به مدت سه ساعت و با سرعت چرخش ۲۰۰ rpm انجام شد. مقدار پودرهای مصرفی برای تولید آلیاژ $Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ در جدول (۱) ارائه شده است.

یک نانومتر، رشد، تکثیر و حرکت میکروب‌ها را با مشکل بیش‌تری روبرو کرده است. در سال ۲۰۱۹ جابید و همکاران (۲۱)، در مورد رفتار آنتی‌باکتریال دو پوشش لایه نازک پایه زیرکونیوم با ترکیب‌های $Zr_{46}Ti_{40}Ag_{14}$ و $Zr_{46}Ti_{43}Al_{11}$ نشان دادند که سطوح صاف‌تر، چسبندگی باکتریایی کم‌تری را از خود نشان می‌دهند. همچنین بوراسا و همکاران دریافتند رابطه مستقیمی بین بی‌نظمی‌های سطحی و تشکیل ترومبوز وجود دارد (۱۷). یا هوآنگ و همکاران (۱۸)، نیز گزارش نموده‌اند که اعمال پوشش آمورف اکسید تیتانیم با صافی سطح بالا بر روی فولاد زنگ‌نزن ۳۱۶ می‌تواند باعث کاهش چسبندگی پلاکت‌ها به دستگاه‌های مورد استفاده در پزشکی گردد.

۲- مواد و روش تحقیق

۲-۱- مواد اولیه

در این پژوهش، برای تهیه آلیاژ از پودر عناصر فلزی و شبه‌فلزی با درصد خلوص بالا شامل پودرهای زیرکونیوم، مس، نقره، آلومینیوم، کروم، سیلیسیم، بور، استفاده شد. همچنین برای انجام لایه نشانی، از فولاد زنگ‌نزن ۳۱۶ و ویفر سیلیکونی به‌عنوان زیر لایه استفاده شد. لازم به ذکر است مس، نقره و آلومینیوم به علت دارا بودن خاصیت آنتی‌باکتریال، کروم به علت افزایش مقاومت به خوردگی و دو عنصر سیلیسیم و بور به علت بالا بردن احتمال آمورف شدن پوشش، از مهم‌ترین دلایل انتخاب این عناصر بوده‌اند. علاوه بر این مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که بور باعث بهبود رفتار زیست‌سازگاری و افزایش مقاومت خوردگی (۲۲) و نقره باعث افزایش پایداری حرارتی و بهبود خواص خوردگی پوشش خواهد شد (۲۳).

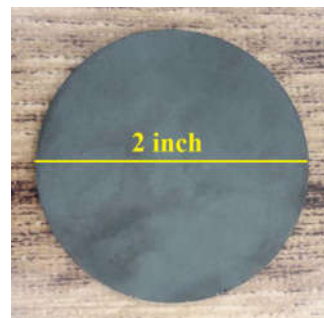
۲-۲-۳- آماده‌سازی سطحی زیر لایه

برای تهیه زیر لایه از ورق فولاد زنگ نزن ۳۱۶ استفاده شد. ابتدا نمونه‌هایی به ابعاد 1×1 سانتی‌متر مربع تهیه شدند. پس از زدودن آلودگی‌های سطحی و عملیات سنباده‌زنی تا سنباده ۱۲۰۰،

جدول ۲- شرایط انجام فرایند SPS

دما (سانتی گراد)	فشار (مگاپاسگال)	زمان (دقیقه)	جریان (آمپر)	ولتاژ (ولت)	پالس (خاموش و روشن) (میلی ثانیه)	خلاء (تور)
۸۵۰	۴۰	۱۰	۱۱۰۰	۲/۵	۲۴۰-۶۰	۰/۰۱

رویشی نشر میدانی^۳، طیف سنجی پراش انرژی پرتو-ایکس^۴ و میکروسکوپ نیروی اتمی^۵، استفاده شد. برای مطالعه لایه‌های نازک تولیدشده، لازم است از آزمون پراش اشعه ایکس با زاویه خیلی کم^۶ استفاده کرد. برای این منظور و اطمینان از آمورف بودن ساختار پوشش از دستگاه پراش پرتو-ایکس مجهز به سیستم Grazing Incident Beam موجود در شرکت نقش پراش صنعتی اصفهان واقع در شهرک علمی تحقیقاتی اصفهان استفاده شد.



شکل ۲- یک نمونه از ترکیب هدف‌های تولیدشده با استفاده پودر فلزات توسط دستگاه SPS.

۲-۲-۶- بررسی رفتار آنتی باکتریال پوشش‌ها

رفتار آنتی باکتریال پوشش در برابر دو باکتری استافیلوکوک اورئوس^۷ و اشرشیاکلی^۸ بر اساس استاندارد شماره Z2801: 2000 (۲۴)، طی مراحل زیر انجام گرفت:

۱- تهیه دو باکتری استافیلوکوک اورئوس (ATCC 25923) و باکتری اشرشیاکلی (ATCC 25922) از مرکز میکروارگانیزم‌های صنعتی ایران با غلظت اولیه 10^6 CFU/ml (CFU/ml = Colony Forming Unit / milli liter)

۲- قرار دادن نمونه‌های بدون پوشش و نمونه‌های پوشش‌دار در داخل پتری دیش‌های استریل شده حاوی دو باکتری بالا؛

۳- نگهداری پتری دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یک انکوباتور لرزشی با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد؛

۴- خارج کردن پتری دیش‌ها از داخل انکوباتور و انجام عملیات رقیق‌سازی سری محلول حاوی باکتری‌های موجود.

لازم به ذکر است که عملیات رقیق‌سازی سری با استفاده از محلول بافر فسفات سالین^۹ و در طی پنج مرحله و به صورت متوالی مطابق با شکل (۳) انجام شد:

مطابق با شکل فوق در هر مرحله از رقیق‌سازی ۱/۰ میلی‌لیتر

عملیات پولیش بر روی آن‌ها انجام شد. سپس نمونه‌ها توسط آب و اتانول شستشو و خشک شده و آماده لایه نشانی گردیدند.

۲-۲-۴- لایه نشانی به روش کندوپاش

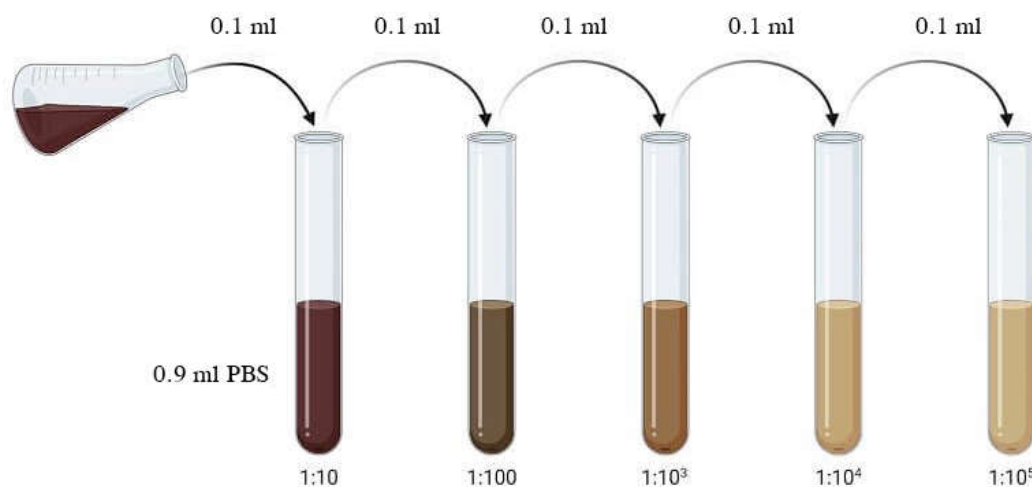
برای تهیه لایه‌های نازک شیشه فلزی، از دستگاه کندوپاش با جریان DC، مدل DST3-A استفاده شد. لازم به ذکر است که عملیات پوشش‌دهی علاوه بر این که بر روی نمونه‌هایی از فولاد زنگ نزن ۳۱۶ انجام شد، بر روی تعداد نمونه از نوع ویفر سیلیکونی نیز انجام شد. در جدول (۳) نیز پارامترهای انتخاب‌شده در حین فرایند پوشش‌دهی جهت دستیابی به دو پوشش با ضخامت‌های متفاوت- توسط تغییر دادن جریان ارائه شده است.

۲-۲-۵- مطالعات ساختاری پوشش‌ها

بررسی مورفولوژی سطح پوشش، اندازه‌گیری ضخامت آن‌ها، و همچنین انجام آنالیز عنصری سطح پوشش از دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی^{۱۰}، میکروسکوپ الکترونی

جدول ۳- پارامترهای پوشش دهی دستگاه کندوپاش

پارامتر	نوع پوشش	ضخامت یک میکرون	ضخامت نیم میکرون
فشار خلأ اولیه (تور)		10^{-4}	10^{-4}
فشار خلأ حین پوشش دهی (تور)		$9/8 \times 10^{-3}$	$6/35 \times 10^{-3}$
توان (وات)		$0/3 \times 347 = 10^4$	$0/1 \times 361 = 36/1$
ولتاژ (ولت)		347	361
جریان (آمپر)		0/3	0/1
فاصله ترکیب هدف تا زیرلایه (سانتی متر)		12	12
دمای زیرلایه (درجه سانتی گراد)		دمای محیط	دمای محیط
سرعت چرخش زیرلایه (rpm)		10	10
زمان پوشش دهی (دقیقه)		60	60
شار گاز آرگون (cm^3/min)		10	10



شکل ۳- نحوه انجام عملیات رقیق سازی سری.

نمکی - آبی است که متشکل از کلرید سدیم، فسفات سدیم، کلرید پتاسیم و فسفات سدیم می باشد. این محلول به علت نداشتن اثر سمی بر روی باکتری ها برای رقیق کردن محلول های دربردارنده باکتری ها استفاده می شود.

۵- انجام عملیات کشت باکتری در محیط کشت مایع^۱: این عملیات به منظور رشد باکتری ها زنده باقیمانده انجام شد. در این

از محلول حاوی باکتری با $0/9$ میلی لیتر بافر فسفات سالین مخلوط گردید. شایان ذکر است که پس از ۵ مرحله انجام عملیات رقیق سازی، به ترتیب محلول هایی با رقت $1:10^1$ ، $1:10^2$ ، $1:10^3$ ، $1:10^4$ و $1:10^5$ به دست می آید. هدف از انجام این عملیات رقیق سازی، فراهم آوردن امکان شمارش باکتری ها می باشد. (توضیح = محلول بافر فسفات سالین یک محلول

پراش اشعه ایکس با زاویه خیلی کم (گریزینگ) استفاده شد. در شکل‌های (۵) و (۶) به ترتیب الگوی پراش اشعه ایکس لایه نازک شیشه فلزی با ترکیب $Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ مربوط دو نمونه تولیدشده، به ترتیب با توان ۳۶ وات (۰/۱ آمپر) و توان ۱۰۴ وات (۰/۳ آمپر) نشان داده شده است. عدم وجود هرگونه پیک شاخص در این دو نمودار (به جز دو پیک ایجادشده ناشی از زیر لایه سیلیکونی در نمونه با ضخامت کم‌تر) حاکی از عدم وجود هرگونه ساختار کریستالی در این دو نمونه می‌باشد. لذا با اطمینان بیش‌تری می‌توان گفت که پوشش‌های ایجادشده، داری ساختار آمورف می‌باشند.

در شکل‌های (۷) و (۸) نیز تصاویر میکروسکوپی از سطح مقطع دو پوشش ایجادشده با توان‌های مختلف نشان داده شده است. اندازه‌گیری ضخامت پوشش‌ها توسط FESEM نشان داد که نمونه تولیدشده با توان ۳۶ وات (۰/۱ آمپر) دارای ضخامت ۵۰۴ نانومتر (حدوداً ۰/۵ میکرون)، و نمونه تولیدشده با توان ۱۰۴ وات (۰/۳ آمپر) دارای ضخامت ۱/۱ میکرون می‌باشد. همان‌گونه که این تصاویر نشان می‌دهد این پوشش‌ها از صافی سطح و یکنواختی ضخامت نسبتاً خوبی برخوردارند. علاوه بر این پیوستگی بسیار خوبی در فصل مشترک بین پوشش و زیر لایه وجود دارد.

در شکل (۹) نیز ترکیب شیمیایی پوشش داده‌شده، نشان داده شده است. الگوی رسم شده نشان می‌دهد که تمامی عناصری است که در ترکیب هدف مورد استفاده قرار گرفته‌اند، در پوشش نیز حضور دارند. لازم به ذکر است فلز بور به علت سبک بودن در آنالیز انجام‌شده، خود را نشان نداده است.

۳-۳- بررسی رفتار آنتی‌باکتریال پوشش ایجادشده

همان‌گونه که قبلاً گفته شد، دو باکتری استافیلوکوک اورئوس و باکتری اشرشیاکلی از شایع‌ترین باکتری‌های بیمارستانی به حساب می‌آیند. این دو باکتری که مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند، باعث گسترش عفونت و ایجاد مشکلات جدی در سرتاسر دنیا گردیده‌اند. لذا در این پژوهش

مرحله هر باکتری که هنوز مانده زنده باشد، رشد کرده و به یک کلونی بزرگ تبدیل می‌شود، به گونه‌ای که با چشم غیر مسلح قابل رؤیت بوده و به راحتی قابل شمارش می‌باشد.

برای انجام عملیات کشت، پس از رقیق‌سازی، ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول سوسپانسیون رقیق‌شده نهایی به محیط کشت مولر- هیتون آگار^{۱۱} انتقال داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید تا رشد و تکثیر باکتری‌های زنده صورت گیرد. (توضیح = محیط کشت مولر- هیتون آگار محیطی است متشکل از عصاره گوشتی، نشاسته، آگار (نوعی جلبک) و آب مقطر می‌باشد. محیط مولر- هیتون آگار به عنوان یک محیط استاندارد برای رشد باکتری‌ها استفاده می‌شود، به گونه‌ای که تمامی موجودات زنده بر روی این محیط به راحتی می‌توانند رشد کنند).

۶- خروج پتری دیش‌ها از درون انکوباتور پس از ۲۴ ساعت و انجام عملیات عکس‌برداری از نمونه‌ها به منظور شمارش باکتری‌های زنده باقی مانده.

۷- محاسبه نرخ آنتی‌باکتریال پوشش‌ها و زیر لایه در برابر دو باکتری موردنظر با استفاده از رابطه داده‌شده.

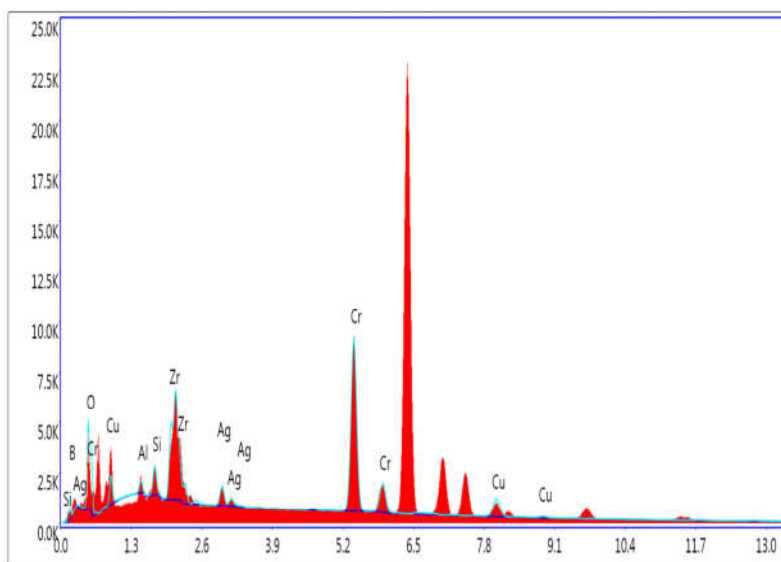
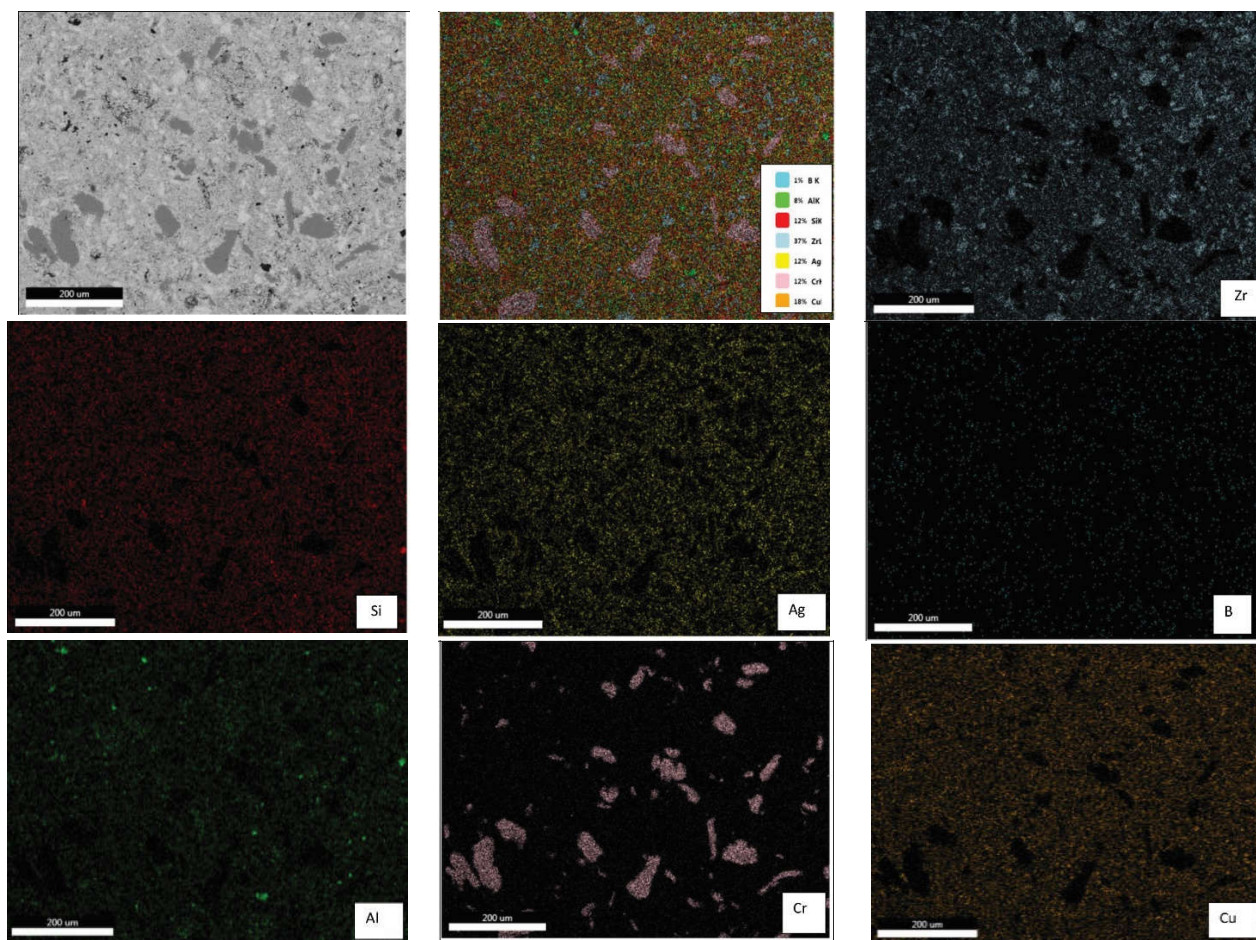
۳- نتایج و بحث

۳-۱- مطالعات ساختاری ترکیب هدف تولیدشده

به منظور مطالعات ساختاری ترکیب هدف محورد استفاده برای فرآیند پوشش‌دهی و نحوه توزیع عناصر مختلف در آن، نقشه عنصری، همچنین آنالیز شیمیایی ترکیب هدف تولیدشده، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی مورد مطالعه قرار گرفت. مطابق شکل (۴) نشان می‌دهند، کلیه عناصر از توزیع یکنواختی در ترکیب هدف تولیدشده برخوردارند. گرچه ذرات کروم، به علت درشت‌تر بودن، نتوانسته‌اند در هنگام آسیاب‌کاری توزیع کاملاً یکنواختی همچون دیگر عناصر پیدا کنند.

۳-۲- مشخصه‌یابی پوشش‌های تولیدی

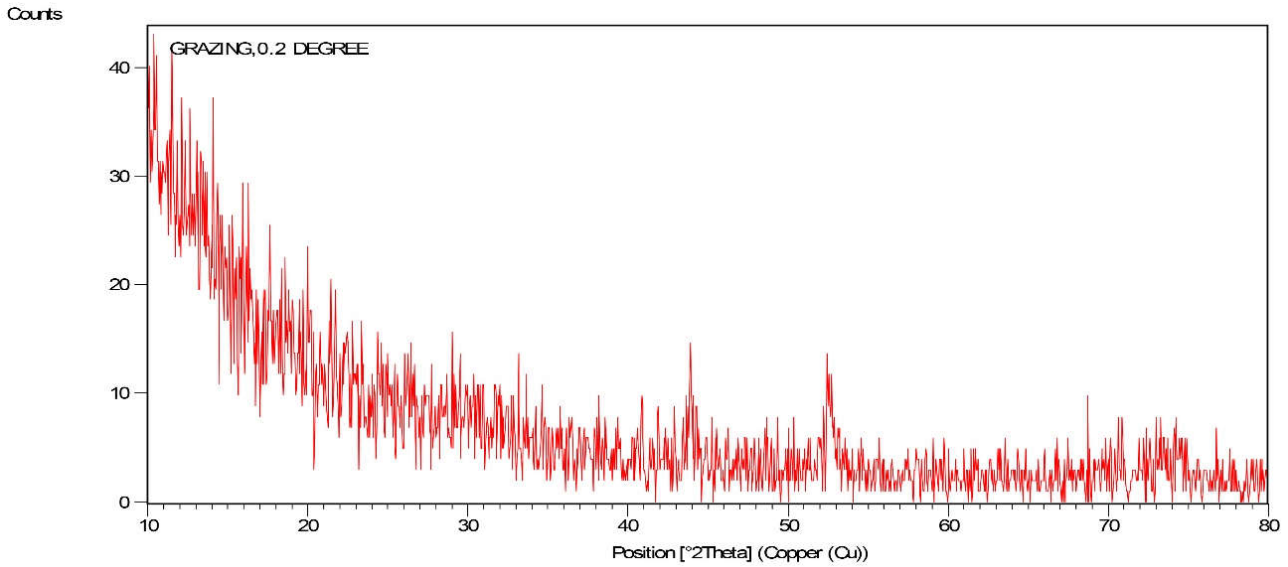
برای اطمینان از آمورف بودن لایه‌های نازک تولیدشده از آزمون



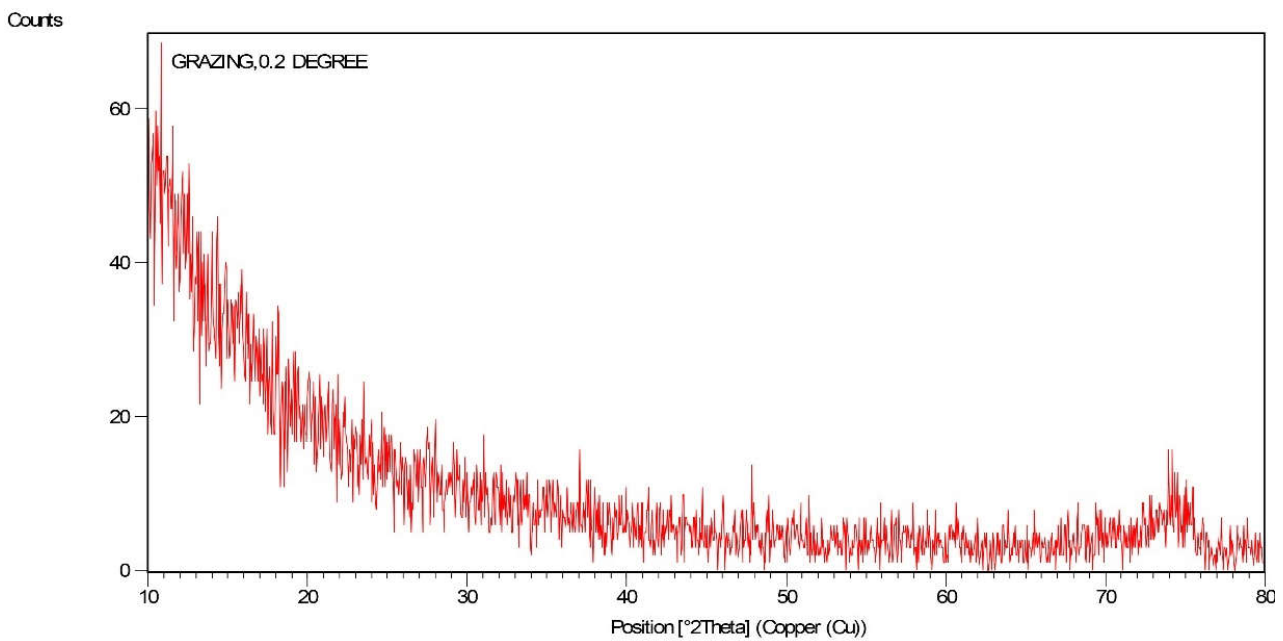
Lsec: 122.9 1.176K Cnts 2.930 keV Det: Octane Elite Plus

Element	Weight %	Atomic %
B K	18.12	50.99
O K	3.64	6.93
Al K	1.27	1.44
Si K	2.09	2.26
Zr L	11.38	3.80
Ag L	4.23	1.19
Cr K	47.30	27.67
Cu K	11.96	5.73

شکل ۴- نقشه توزیع عنصری و آنالیز شیمیایی عناصر آلیاژی مختلف موجود در ترکیب هدف تولیدشده توسط دستگاه SPS.



شکل ۵- الگوی پراش اشعه ایکس GIXRD لایه نازک شیشه فلزی تولیدشده با توان ۳۶ وات (۱/۰ آمپر).

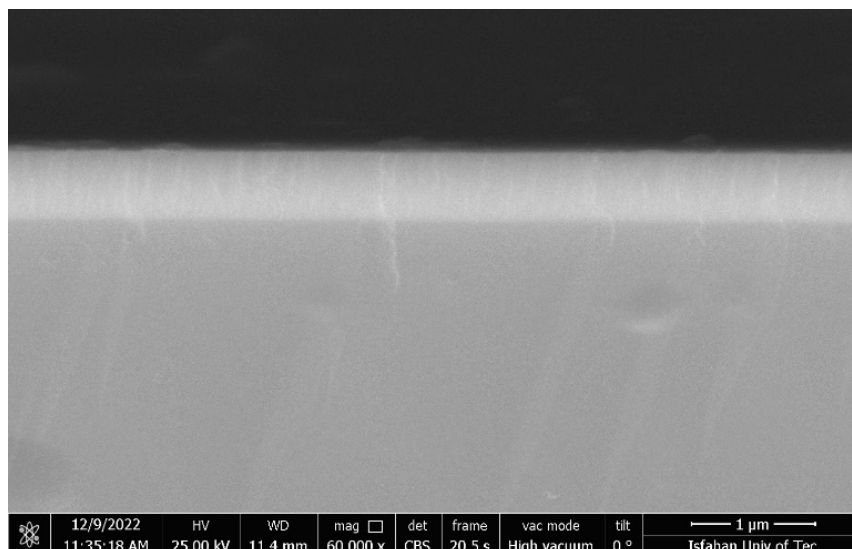


شکل ۶- الگوی پراش اشعه ایکس GIXRD لایه نازک شیشه فلزی تولیدشده با توان ۱۰۴ وات (۳/۰ آمپر).

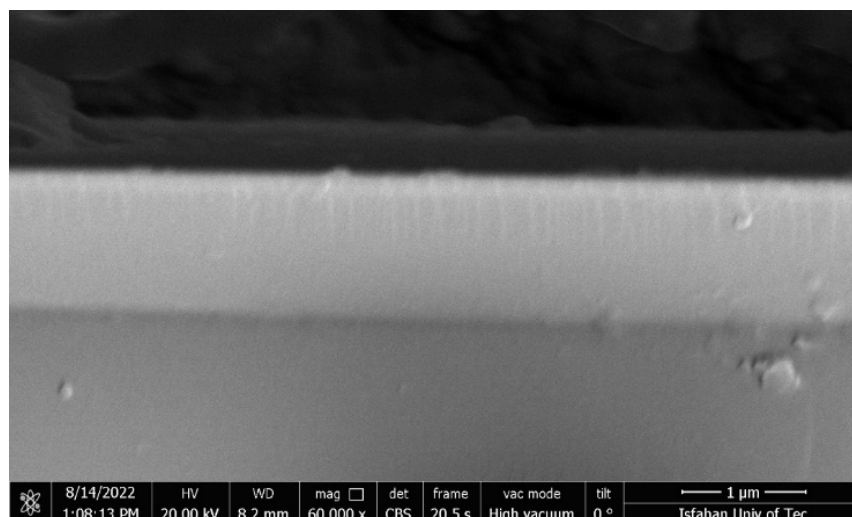
۳-۴- محاسبه نرخ آنتی باکتریال پوشش

بر اساس استاندارد ذکرشده، پس از قرار دادن نمونه‌های بدون پوشش و نمونه‌های پوشش‌دار در تماس با دو باکتری مورد مطالعه، نگره‌داری آن در درون یک انکوباتور لرزشی به مدت زمان ۲۴ ساعت، انجام عملیات رقیق‌سازی، کشت دادن

رفتار آنتی باکتریال پوشش‌های ایجادشده در برابر این دو باکتری و بر اساس استاندارد شماره Z2801: 2000 (۲۴)، مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهد تقریباً در اکثر پژوهش و آزمون‌ها، رفتار آنتی باکتریال پوشش‌ها، با استفاده از این استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفته است.



شکل ۷- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی از سطح مقطع پوشش ایجاد شده با توان ۳۶ وات (۱/۱ آمپر) - ضخامت ۰/۵ میکرون.



شکل ۸- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی از سطح مقطع پوشش ایجاد شده با توان ۱۰۴ وات (۰/۳ آمپر) - ضخامت ۱/۱ میکرون.

و نمونه‌های پوشش داده شده می‌باشد.

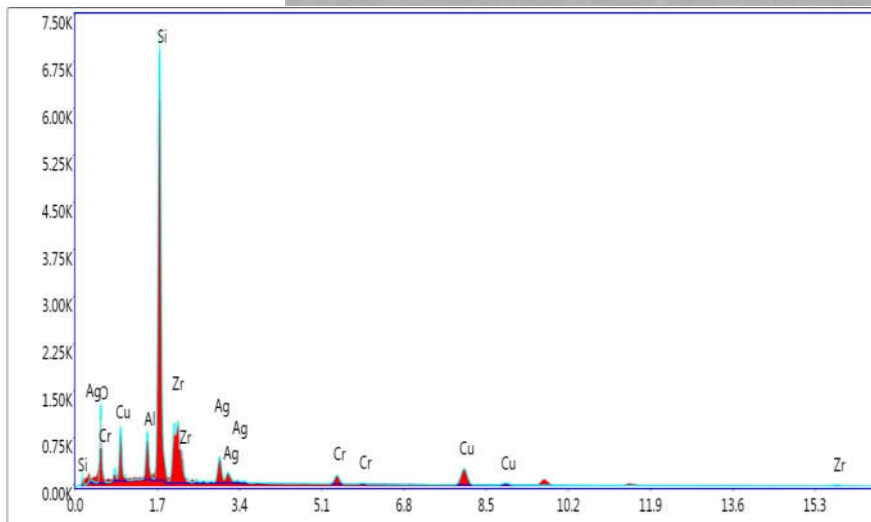
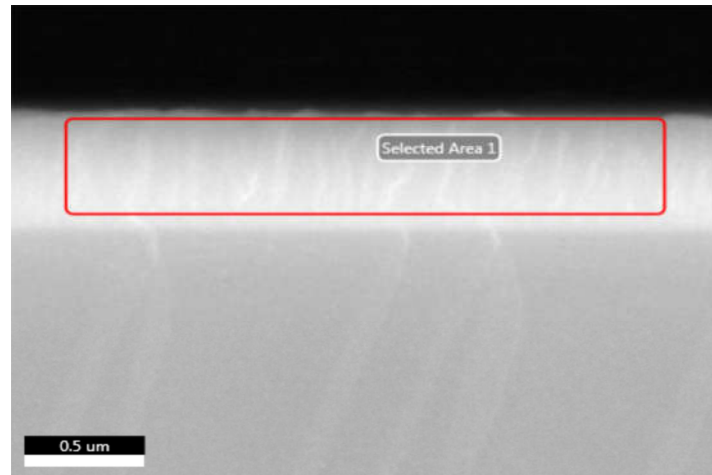
در شکل (۱۰- الف و ب) به ترتیب تصاویری از باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و اشرشیاکلی موجود بر روی نمونه‌های بدون پوشش در لحظات اولیه تماس با زیر لایه و قبل از هرگونه عملیات رقیق‌سازی نشان داده شده است. همان‌گونه که قبلاً گفته شد غلظت اولیه باکتری‌ها در حدود 10^6 باکتری بر میلی‌لیتر می‌باشد.

در شکل‌های (۱۱- الف و ب) به ترتیب تصاویری از

باکتری‌های زنده باقی‌مانده در محیط مولر- هیتتون و نهایتاً تصویربرداری و انجام عملیات شمارش آن‌ها، نرخ آنتی‌باکتریال پوشش‌ها در مقابله با این دو باکتری با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد (۲۶).

$$\text{Rate Antibarial \%} = \frac{N_0 - N}{N_0} \times 100 \quad (1)$$

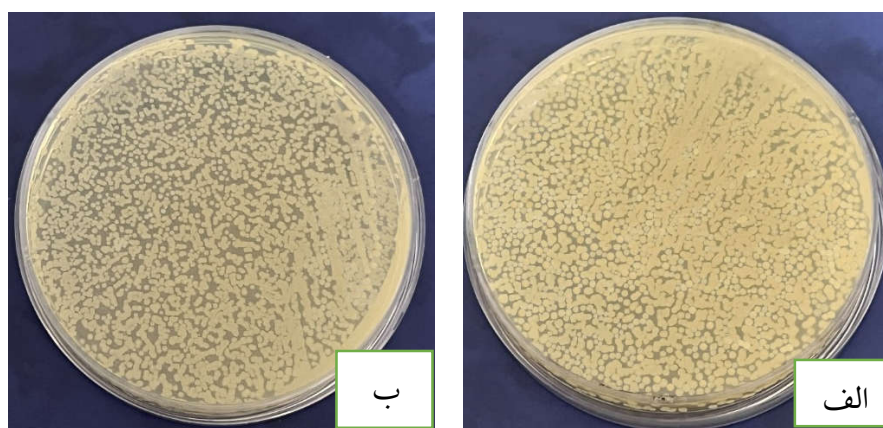
درحالی‌که N_0 و N به ترتیب برابر تعداد کلونی‌های باکتری زنده باقیمانده بر روی سطح نمونه فولاد زنگ نزن ۳۱۶ بدون پوشش



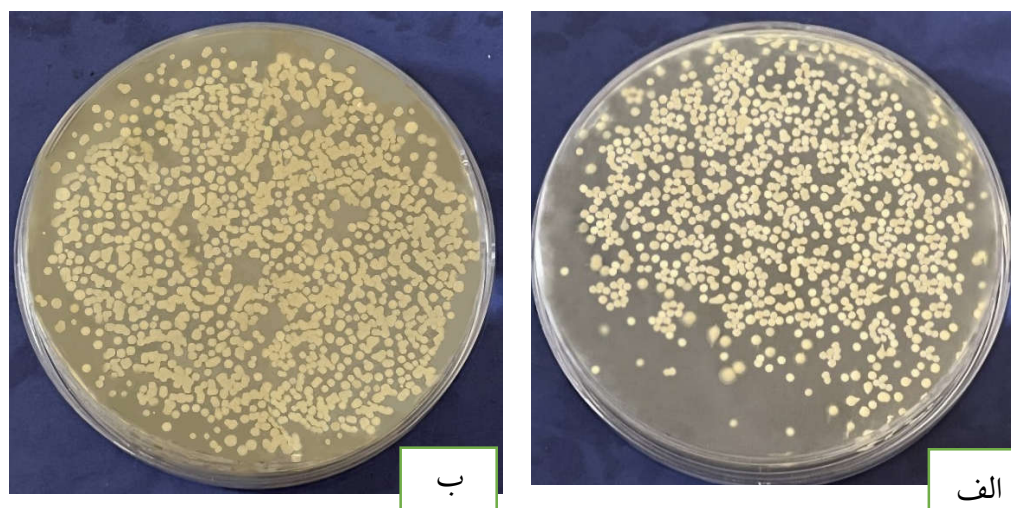
Element	Weight %	Atomic %
O K	19.73	37.72
AlK	4.76	5.40
SiK	39.76	43.31
ZrL	15.44	5.18
AgL	8.40	2.38
CrK	2.56	1.50
CuK	9.35	4.50

Lsec: 10.1 0 Cnts 0.000 keV Det: Octane Elite Plus

شکل ۹- تصویر میکروسکوپی از سطح مقطع پوشش به همراه آنالیز شیمیایی پوشش توسط آزمون EDX.



شکل ۱۰- تصاویری از دو باکتری الف) استافیلوکوک اورئوس و ب) اشرشیاکلی موجود بر روی نمونه‌های فولاد زنگ نزن ۳۱۶ بدون پوشش در لحظات اولیه تماس قبل از هرگونه عملیات رقیق‌سازی.



شکل ۱۱- تصاویری از باکتری‌های زنده باقیمانده (الف) استافیلوکوک اورئوس و (ب) اشرشیاکلی بر روی نمونه‌های بدون پوشش در انتهای آزمون و بعد از پنج مرحله عملیات رقیق‌سازی.

زنده باقیمانده بر روی پوشش و استفاده از رابطه (۱)، می‌توان نرخ متوسط آنتی‌باکتریال هر پوشش را محاسبه کرد. نتایج نشان می‌دهد که نرخ متوسط آنتی‌باکتریال پوشش برای باکتری استافیلوکوک اورئوس برابر ۹۸ درصد و نرخ متوسط آنتی‌باکتریال پوشش برای باکتری اشرشیاکلی برابر ۹۷ درصد به‌دست آمد.

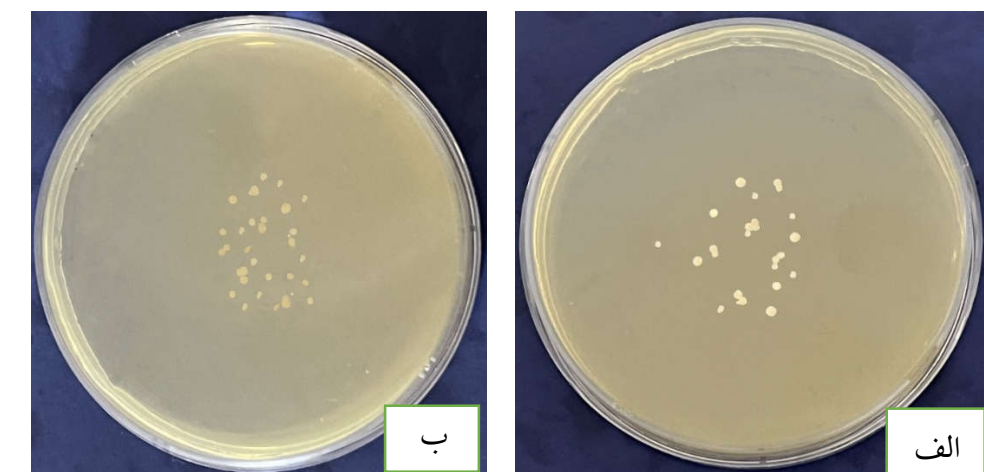
مشاهده می‌شود که پوشش‌های ایجاد شده توانسته‌اند رفتار آنتی‌باکتریال خوبی از خود نشان دهند و تفاوت معناداری در رفتار آنتی‌باکتریال و ضد میکروبی پوشش در برابر این دو باکتری وجود ندارد. می‌توان گفت، وجود درصد بالایی از عناصر مس، نقره و حتی آلومینیوم در پوشش تولید شده، علت اصلی خاصیت بالای آنتی‌باکتریال آن در برابر دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس می‌باشد.

نتایج حاصل از این پژوهش هم‌راستا با نتایج به‌دست‌آمده توسط سایر محققین می‌باشد. تمامی این یافته‌ها حاکی از رفتار آنتی‌باکتریال آلیاژهای مختلف لایه نازک شیشه فلز پایه زیرکونیوم، که در بردارنده دو عنصر مس و نقره باشند، در برابر این دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس می‌باشند. برای مثال در آزمون‌های انجام‌شده توسط چو و همکاران (۲۵)،

باکتری‌های زنده استافیلوکوک اورئوس و اشرشیاکلی موجود بر روی نمونه‌های بدون پوشش در انتهای آزمون و بعد از پنج مرحله عملیات رقیق‌سازی نشان داده شده است. تعداد زیاد باکتری‌های زنده باقی‌مانده بر روی زیر لایه حاکی از عدم خاصیت آنتی‌باکتریال فولاد زنگ نزن ۳۱۶ می‌باشد. تعداد متوسط باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس باقی‌مانده بر روی این نمونه‌ها، پس از رقیق‌سازی نهایی، برابر با 1110 CFU/ml و برای باکتری اشرشیاکلی برابر با 1220 CFU/ml می‌باشد.

تصویربرداری و شمارش باکتری‌های زنده باقیمانده روی نمونه‌های پوشش داده‌شده، نشان می‌دهد که تعداد باکتری استافیلوکوک اورئوس زنده باقی‌مانده بر روی پوشش برابر 23 CFU/ml می‌باشد. همچنین تعداد متوسط باکتری اشرشیاکلی زنده باقی‌مانده بر روی پوشش مذکور برابر 32 CFU/ml می‌باشد. در شکل‌های (۱۲- الف و ب) به ترتیب تصاویری از باکتری‌های زنده استافیلوکوک اورئوس و اشرشیاکلی موجود بر روی نمونه‌های پوشش داده‌شده در انتهای آزمون و پس از پنج مرحله عملیات رقیق‌سازی نشان داده شده است.

حال با داشتن تعداد باکتری‌های اولیه و تعداد باکتری‌های



شکل ۱۲- تصاویری از باکتری‌های زنده باقیمانده الف) استافیلوکوک اورئوس و ب) اشرشیاکلی بر روی نمونه‌های پوشش داده‌شده در انتهای آزمون و بعد از پنج مرحله عملیات رقیق‌سازی.

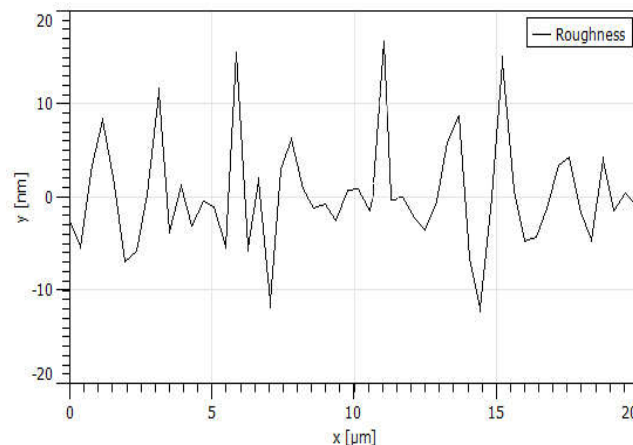
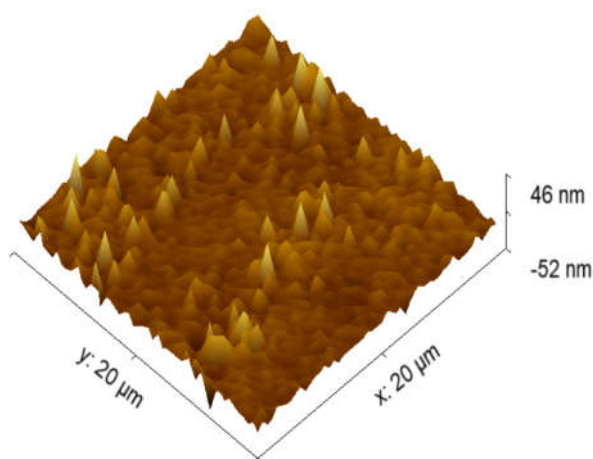
دارای عنصر نقره و دیگری دارای عنصر آلومینیوم مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد، از این دو آلیاژ با ترکیب‌های $Zr_{46}Ti_{43}Al_{11}$ و $Zr_{46}Ti_{40}Ag_{14}$ آلیاژی که دارای نقره می‌باشد، رفتار آنتی‌باکتریال بهتری نسبت به آلیاژی که دارای عنصر آلومینیوم می‌باشد، از خود نشان می‌دهد. این آلیاژ نیز مقاومت بیش‌تری در برابر رشد باکتری‌های مقاوم در برابر پنی‌سیلین از خود نشان می‌دهد.

همچنین مطالعات انجام‌شده توسط سوبرامانیا (۲۸) در سال ۲۰۱۵، نشان داد که اعمال لایه‌های نازک شیشه‌های فلزی پایه تیتانیم $Ti_{40}Cu_{36}Pd_{14}Zr_{10}$ بر روی زیر لایه فولاد زنگ نزن ۳۱۶L باعث کاهش افزایش خاصیت آب‌گریزی و همچنین بهبود خاصیت آنتی‌باکتریال زیر لایه در برابر باکتری اشرشیاکلی می‌گردد.

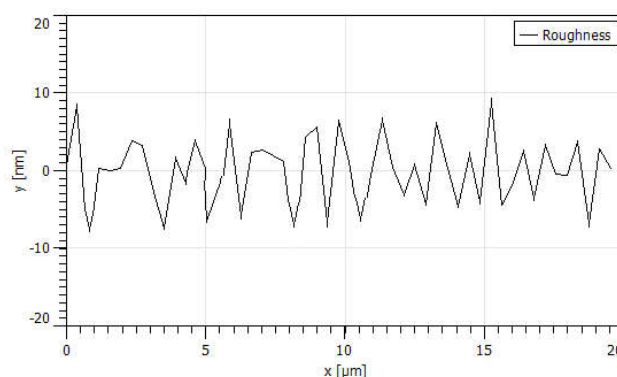
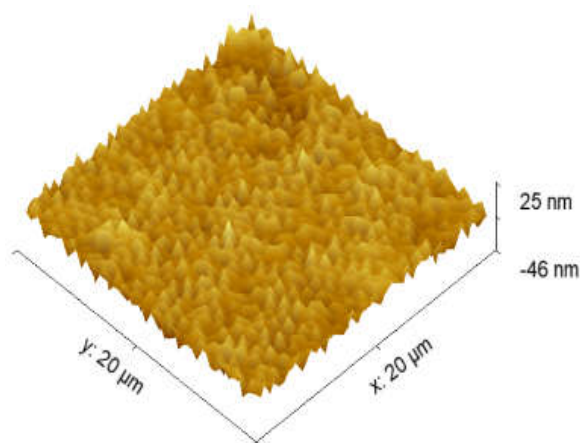
۳-۵- بررسی میزان زبری پوشش‌های ایجادشده و نقش زبری در چسبندگی سلول‌های سرطانی به آن‌ها

به‌طور کلی می‌توان گفت میزان صافی سطح ابزارها و تجهیزات پزشکی می‌تواند رابطه مستقیم با میزان بهبودی و سلامت یک فرد بیمار داشته باشد. برای مثال ابزارهای جراحی که برای برداشتن یا یک تومور سرطانی استفاده می‌شوند، زمانی که در تماس مستقیم با بافت تومور قرار می‌گیرند، مستعد چسبندگی

بر روی رفتار آنتی‌باکتریال پوشش شیشه فلز پایه زیرکونیوم حاوی عنصر مس، مشخص شد که یون‌های مس با آزاد شدن از سطح پوشش و ورود به محلول حاوی باکتری باعث تخریب و نابودی این دو نوع باکتری می‌گردد. در این پژوهش نرخ ضد میکروبی این پوشش بر علیه دو باکتری فوق‌الذکر حدود ۹۹ درصد گزارش شده است (۲۴) و یا در پژوهشی که در سال ۲۰۱۷ توسط لی و همکاران (۲۶) انجام شد، تأثیر مقدار نیتروژن در آلیاژ $Zr-Cu-Al-Ag-N$ بر رفتار آنتی‌باکتریال این پوشش در تماس با دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. مشاهده شد، برای تمامی پوشش‌ها و با درصدهای مختلف نیتروژن، سرعت آنتی‌باکتریال بالاتر از ۹۹ درصد بوده است. درحالی‌که برای فولاد زنگ نزن ۳۰۴ هیچ‌گونه توانایی ضد میکروبی وجود ندارد و تعداد باکتری‌های باقیمانده بسیار زیاد است (۲۶). و یا پژوهش انجام‌شده توسط سابرامانین و همکاران (۲۷)، در خصوص رفتار زیست‌سازگاری آلیاژ $Zr_{48}Cu_{36}Al_8Ag_8$ اعمال‌شده بر روی فولاد زنگ نزن ۳۱۶ کم‌کربن مشخص شد که پوشش‌های ایجادشده کاملاً در مقابل رشد دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس از خود مقاومت نشان داده‌اند. در سال ۲۰۱۹ توسط جابد و همکاران (۲۱)، رفتار آنتی‌باکتریال دو شیشه فلز لایه نازک پایه زیرکونیوم که یکی



شکل ۱۳- منحنی‌های زبری و تصویر سه‌بعدی تهیه‌شده از زیر لایه فولاد زنگ نزن ۳۱۶ در حالت کاملاً پولیش شده.



شکل ۱۴- منحنی زبری و تصویر سه‌بعدی تهیه‌شده از سطح پوشش اعمال‌شده بر روی زیر لایه فولادی.

زیر لایه فولاد زنگ نزن ۳۰۴ به‌صورت کاملاً پولیش شده و پوشش آلیاژی $Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ اعمال‌شده مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت.

در شکل‌های (۱۳) و (۱۴) منحنی‌های زبری و تصاویر تهیه‌شده از سطوح این نمونه‌ها توسط میکروسکوپ AFM آورده شده است.

نتایج حاکی از آن است که زبری سطح فولاد زنگ نزن ۳۱۶ در حالت کاملاً پولیش شده برابر با $Ra = 4/08 \text{ nm}$ و برای نمونه‌های پوشش داده‌شده برابر با $Ra = 2/11 \text{ nm}$ می‌باشد. این نشان می‌دهد اعمال پوشش باعث افزایش صافی سطح زیر لایه به میزان ۴۸ درصد گردیده است.

سلول‌های سرطانی به خود هستند. این سلول‌های سرطانی که اغلب زنده هستند، پس از چسبیده شده به این ابزارها، به بافت‌های سالم و طبیعی منتقل شده و به‌طور بالقوه باعث ایجاد تومورهای سرطانی جدید می‌شوند. بنابراین دست‌یابی به روش‌ها و یا راهکارهایی برای کاهش دادن میزان چسبیدن سلول‌ها به ابزارهای جراحی می‌تواند یکی از چالش‌های به‌روز و مطرح در مهندسی پزشکی به‌حساب آید. به‌طور خلاصه می‌توان گفت چسبیدن پلاکت‌ها و سلول‌های سرطانی نه‌تنها به ابزارهای جراحی می‌تواند مشکل‌آفرین باشد، بلکه می‌تواند با چسبیدن به تجهیزات تشخیصی و درمانی تشخیص متخصصین را نیز دچار مشکل کند. با توجه به اهمیت این موضوع، در این پژوهش میزان زبری سطح

نازک طراحی شده پایه زیرکونیوم با ترکیب شیمیایی $Zr_{30}Cu_{20}Al_{10}Ag_{10}Cr_{10}Si_{10}B_{10}$ به علت برخورداری از ساختار آمورف، صافی سطح بالا و پیوستگی خوب با زیر لایه، توانسته است رفتار آنتی باکتریال بسیار خوبی در مقابله با دو باکتری متداول بیمارستانی و مقاوم در برابر پنی سیلین، اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس از خود نشان دهد. نرخ آنتی باکتریال این پوشش در مقابله با این دو باکتری به ترتیب برابر ۹۷ و ۹۸ درصد به دست آمد. وجود یون های مس و نقره عامل اصلی خاصیت آنتی باکتریال این پوشش می باشند. یون های این دو عنصر به راحتی می توانند وارد سلول شده و با اتصال به پروتئین هایی که مسئول انتقال مواد به داخل و خارج سلول هستند، عملکرد آن ها را مختل کنند. از طرفی نتایج به دست آمده نشان می دهد که اعمال این پوشش، به دلیل دارا بودن ساختار آمورف باعث کاهش زبری سطح فولاد ۳۱۶، به میزان حدود ۵۰ درصد می گردد. چنانچه این پوشش بر روی ابزارهای جراحی ساخته شده از این آلیاژ اعمال گردد، می تواند نقش مهمی در کاهش میزان چسبندگی انواع پلاکت ها و سلول های سرطانی بر روی آن ها و در نتیجه انتقال آن از بافت های آسیب دیده به بافت های سالم، در حین هنگام برش بافت های معیوب گردد.

تشکر و سپاسگزاری

این تحقیق حمایت خاصی از مؤسسات عمومی، صنعتی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچ نوع تضاد منافی با شخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

لذا به نظر می رسد، چنانچه پوشش طراحی شده بر روی ابزارهای پزشکی تهیه شده از فولاد زنگ نزن ۳۱۶، حتی در حالت پولیش شده، اعمال گردد، این پوشش با کاهش حدوداً ۵۰ درصدی زبری سطح می تواند، به عنوان یک پوشش کارآمد، نقش مهمی در جلوگیری از عفونت های بعد از عمل جراحی و سلامت افراد داشته باشد.

لازم به ذکر است که نتایج به دست آمده در این پژوهش هم راستا با نتایج محققین قبلی می باشد. همان گونه که در مقدمه بیان شد قسمت عمده این تحقیقات بر روی تأثیر زبری بر میزان چسبندگی انواع سلول های پلاکتی انسان و حیوانی و انواع سلول های سرطانی متمرکز شده است (۱۷ و ۳۴-۲۹).

به عنوان نمونه تصاویر تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ارائه شده توسط چانگو همکاران (۳۶)، نشان می دهد که اعمال پوشش لایه نازک شیشه فلز $Zr_{53}Cu_{33}Al_9T$ با زبری $0.19 \mu m$ ، به علت صافی سطح بالا باعث کاهش چسبندگی سلول های سرطانی به پوشش شده است. نتایج حاکی از کاهش قابل ملاحظه تعداد هر سه نوع سلول سرطانی مری (SK-GT) (4)، سلول سرطانی پستان (MBA-MB-231) و سلول سرطانی روده بزرگ (WiDr) بر روی این پوشش پایه زیرکونیوم، نسبت نمونه های بدون پوشش، می باشد (۳۲). همچنین بررسی تصاویر میکروسکوپی نشان می دهد که میزان چسبندگی پلاکت های انسانی و پلاکت های خوک بر روی این پوشش آمورف به مراتب کم تر نمونه های بدون پوشش است. لازم به ذکر است که چسبندگی سلول های پلاکتی به عنوان اولین مرحله در تشکیل لخته های خون در نظر گرفته می شود.

۴- نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این پژوهش حاکی از آن است که آلیاژ لایه

واژه نامه

1. spark plasma sintering (SPS)
2. scanning electron microscope (SEM)
3. field emission scanning electron microscope (FESEM)

4. energy dispersive X-ray (EDX) spectroscopy
5. atomic force microscopy (AFM)
6. grazing incidence X-ray diffraction (GIXRD)

7. Staphylococcus aureus
8. Escherichia coli
9. phosphate buffered saline (PBS)
10. liquid culture
11. Muler_Hinton Agar

مراجع

1. Hyde FW, Alberg M, Smith K. Comparison of fluorinated polymers against stainless steel, glass and polypropylene in microbial biofilm adherence and removal. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 1997; 19:142–149. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900448>
2. Garg R, Gonuguntla S, Sk S, Iqbal MS, Dada AO, Pal U, Ahmadipour M. Sputtering thin films: Materials, applications, challenges and future directions. *Adv Colloid Interface Sci*. 2024; 330:103203. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103203>
3. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv*. 2009; 27:76–83. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>
4. Clement JL, Jarrett PS. Antibacterial Silver. *Met Based Drugs*. 1994; 1(5-6):467-82. <https://doi.org/10.1155/MBD.1994.467>
5. Borkow G, Gabbay J. Copper, An Ancient Remedy Returning to Fight Microbial, Fungal and Viral Infections. *Curr Chem Biol*. 2009; 3(3):272-278. <https://doi.org/10.2174/187231309789054887>
6. Borkow G, Gabbay J. Copper as a Biocidal Tool. *Curr Chem Biol*. 2005; 12(18): 2163-2175. <https://doi.org/10.2174/0929867054637617>
7. Grass G, Rensing C, Solioz M. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. *Appl Environ Microbiol*. 2011; 75(5):1541–1547. <https://doi.org/10.1128/AEM.02766-10>
8. Dallas P, Sharma VK, Zboril R. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Adv Colloid Interface Sci*. 2011; 166 (1–2):119-135. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.05.008>
9. Chu JP, Liu T-Y, Li C-L, Wang C-H, Jang JSC, Chen M-J, Chang S-H, Huang W-C. Fabrication and characterizations of thin film metallic glasses: antibacterial property and durability study for medical application. *Thin Solid Films*. 2014; 561:102–107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tsf.2013.08.111>
10. Truong VK, Lapovok R, Estrin YS, Rundell S, Wang JY, Fluke CJ, Crawford RJ, Ivanova EP. The influence of nano-scale surface roughness on bacterial adhesion to ultrafine-grained titanium. *Biomater*. 2010; 31:3674–3683. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.071>
11. Wang YB, Li HF, Cheng Y, Zheng YF, Ruan LQ. In vitro and in vivo studies on Ti-based bulk metallic glass as potential dental implant material. *Mater Sci Eng C*. 2013; 33:3489–3497. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.04.038>
12. Schroers J, Kumar G, Hodges TM, Chan S, Kyriakides TR. Bulk metallic glasses for biomedical applications. *JOM*. 2009; 61:21–29. <https://doi.org/10.1007/s11837-009-0128-1>
13. Howlett CR, Evans MDM, Walsh WR, Johnson G, Steele JG. Mechanism of initial attachment of cells derived from human bone to commonly used prosthetic materials during cell culture. *Biomater*. 1994; 15:213–222. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(94\)90070-1](https://doi.org/10.1016/0142-9612(94)90070-1)
14. Hallab NJ, Bundy KJ, O'Connor K, Moses RL, Jacobs JJ. Evaluation of metallic and polymeric biomaterial surface energy and surface roughness characteristics for directed cell adhesion. *Tissue Eng*. 2001; 7:55–71. <https://doi.org/10.1089/107632700300003297>
15. Lampin M, Warocquier-Clérout R, Legris C, Degrange M, Sigot-Luizard MF. Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. *J Biomed Mater Res*. 1997;36:99–108. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199707\)36:1<99::AID-JBM12>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199707)36:1<99::AID-JBM12>3.0.CO;2-E)
16. Deligianni DD, Katsala ND, Koutsoukos PG, Missirlis YF. Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength. *Biomater*. 2001; 22:87–96. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00174-5](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00174-5)
17. Bourassa MG, Cantin M, Sandborn EB, Pederson E. Scanning electron microscopy of surface irregularities and thrombogenesis of polyurethane and poly-ethylene coronary catheters. *Circulation*. 1976; 53:992–996. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.53.6.992>
18. Huang Q, Yang Y, Hu R, Lin C, Sun L, Vogler EA. Reduced platelet adhesion and improved corrosion resistance of superhydrophobic TiO₂-nanotube-coated 316L stainless steel. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015; 125:134–141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.11.028>
19. Etienne A, Der Loughian C, Apreutesei M, Langlois C, Cardinal S, Pelletier JM, Pierson JP, Steyer P. Innovative Zr-Cu-Ag thin film metallic glass deposited by magnetron PVD sputtering for antibacterial applications. *J Alloys Compd*. 2017; 707:155-161. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.12.259>
20. Chen HW, Hsu KCh, Chan YCh, Duh JG, Lee JW, Shian-Ching Jang J, Chen GJ. Antimicrobial properties of Zr-Cu-Al-Ag thin film metallic glass. *Thin Solid Films*. 2014; 561:98–101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tsf.2013.08.028>
21. Javed A, Mudassar Khan M, Camilleri J, Greenlee-Wacker M, Shabib I. Property optimization of Zr-Ti-

- X (X=Ag, Al) metallic glass via combinatorial development aimed at prospective biomedical application. *Surf Coat Technol.* 2019; 37225:278-287. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.05.036>
22. Rajan TS, Das M, Sasi Kumar P, Arockiarajan A, Subramanian B. Biological performance of metal metalloid (TiCuZrPd:B) TFMG fabricated by pulsed laser deposition. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2021; 202:111684. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111684>
23. Zhang E, Wang W, Liang D, Wei X, Zho Y, Chen Q, Zhou Q, Huang B, Shen J. Superior corrosion-resistant Zr-Ti-Ag thin film metallic glasses as potential biomaterials. *Appl Surf Sci.* 2024; 670:160712. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2024.160712>
24. Japanese Industrial Standards. Antimicrobial products test for antimicrobial activity and efficacy. JIS Z2801. Tokyo: Japanese Standards Association; 2000.
25. Chu J-H, Lee J, Chang C-C, Chan Y-C, Liou ML, Lee J-W, Jang, S-C, Duh J-G. Antimicrobial characteristics in Cu-containing Zr-based thin film metallic glass. *Surf Coat Technol.* 2014; 259:87-93. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2014.05.019>
26. Lee J, Liou M-L, Duh J-G. The development of a Zr-Cu-Al-Ag-N thin film metallic glass coating in pursuit of improved mechanical, corrosion, and antimicrobial property for bio-medical application. *Surf Coat Technol.* 2017; 310:214-222. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.12.076>
27. Subramanian B, Maruthamuthu S, Thanka Rajan S. Biocompatibility evaluation of sputtered zirconium-based thin film metallic glass-coated steels. *Int J Nanomedicine.* 2015; 10:17-29. <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S79977>
28. Subramanian B. In vitro corrosion and biocompatibility screening of Sputtered $Ti_{40}Cu_{36}Pd_{14}Zr_{10}$ thin film metallic glasses on steels. *Mater Sci Eng C.* 2015; 47:48-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.01>
29. George JN. Direct assessment of platelet adhesion to glass: a study of the forces of interaction and the effects of plasma and serum factors, platelet function, and modification of the glass surface. *Blood.* 1972; 40:862-874.
30. Vijayanad K, Pattanayak DK, Mohan TR, Banerjee R. Interpreting blood-biomaterial interactions from surface free energy and work of adhesion. *Trends Biomater Artif Organs.* 2005; 18:73-83.
31. Busch R, Strohbach A, Rethfeldt S, Walz S, Busch M, Petersen S, Felix S, Sternberg K. New stent surface materials: the impact of polymer-dependent interactions of human endothelial cells, smooth muscle cells, and platelets. *Acta Biomater.* 2014; 10: 688-700. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.015>
32. May RM, Magin CM, Mann EE, Drinker MC, Fraser JC, Siedlecki CA, Brennan AB, Reddy ST. An engineered micropattern to reduce bacterial colonization, platelet adhesion and fibrin sheath formation for improved biocompatibility of central venous catheters. *Clin Transl Med.* 2015; 4:9. <https://doi.org/10.1186/s40169-015-0050-9>
33. Dowling DP, Miller IS, Ardhaoui M, Gallagher WM. Effect of surface wettability and topography on the adhesion of osteosarcoma cells on plasma-modified poly-styrene. *J Biomater Appl.* 2011; 26:327-347. <https://doi.org/10.1177/0885328210372148>
34. Crear J, Kummer KM, Webster TJ. Decreased cervical cancer cell adhesion on nanotubular titanium for the treatment of cervical cancer. *Int J Nanomedicine.* 2013; 8:995-1001.
35. Chang CH, Lib CL, Yu CC, Chen YL, Chyntara S, Ming-Jen Chen JPC, Chang S-H. Beneficial effects of thin film metallic glass coating in reducing adhesion of platelet and cancer cells: Clinical testing. *Surf Coat Technol.* 2018; 344:312-321. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.03.040>
36. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 2008; 359:938-94. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0801082>