

คุณสมบัติของ Gentamicin-impregnated Polymethylmethacrylate Beads ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ภายหลังกระบวนการทำไร้เชื้อซ้ำ

เมธีณท์ ปรมาทิกุล พ.บ., ว.ว.ศัลยศาสตร์ออร์โธปิดิกส์*
ดำรงค์ ฐานกุลศักดิ์ พ.บ., ว.ว.ศัลยศาสตร์ออร์โธปิดิกส์*
ศิริ ศิริมานะพงษ์ พ.บ., ว.ว.ศัลยศาสตร์ออร์โธปิดิกส์*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาคุณสมบัติของ Gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads ภายหลังผ่านกระบวนการทำไร้เชื้อซ้ำด้วยวิธีการอบแก๊ส ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* เปรียบเทียบกับ Gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads ใหม่

รูปแบบการวิจัย: การวิจัยเชิงทดลอง

กลุ่มตัวอย่าง: Gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads (GPMMA beads) จำนวน 24 เม็ด การวิจัยนี้ดำเนินการที่ภาควิชาศัลยศาสตร์ออร์โธปิดิกส์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร

วิธีดำเนินการวิจัย: นำ GPMMA beads มา แบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือกลุ่มควบคุม จำนวน 12 เม็ด และกลุ่มทดลอง จำนวน 12 เม็ด โดยนำกลุ่มทดลองไปผ่านกระบวนการทำไร้เชื้อด้วยวิธีการอบแก๊ส ethylene oxide ก่อน จากนั้นจึงนำ GPMMA beads ทั้งสองกลุ่มเข้าสู่ขั้นตอนการทดสอบความไวของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ต่อต้านจุลชีพด้วยวิธี diffusion method

ตัววัดที่สำคัญ: วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อโดยรอบเม็ดยาหน่วยเป็น มม. ที่เวลา 24, 72 และ 168 ชม. หลังการวาง GPMMA beads

ผลการวิจัย: ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยาในกลุ่มควบคุมที่เวลา 24, 72 และ 168 ชม. เท่ากับ 27.3 ± 1.5 , 29.2 ± 1.2 และ 29.5 ± 1.2 มม.ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยาในกลุ่มทดลองที่เวลา 24, 72 และ 168 ชม. เท่ากับ 29.5 ± 1.2 , 30.3 ± 1.4 และ 30.8 ± 1.0 มม. ตามลำดับ (p -value < 0.05)

สรุป: การนำ GPMMA beads มาผ่านกระบวนการทำไร้เชื้อซ้ำ ด้วยแก๊ส ethylene oxide พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดี

Abstract

Antimicrobial Susceptibility of Gentamicin-impregnated Polymethylmethacrylate Beads after Resterilization

Mason Porramatikul MD*

Damrong Tapanakulsak MD*

Siri Sirimanapong MD*

*Department of Orthopaedics Surgery, BMA Medical College and Vajira Hospital

Objective: To compare the antimicrobial susceptibility to *Staphylococcus aureus* of Gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads (GPMMA beads) before and after resterilization with ethylene oxide gas.

Study design: Experimental study (laboratory research).

Materials: A total of twenty four pieces of GPMMA bead were selected in this study. This study was conducted at Department of Orthopaedics Surgery, BMA Medical College and Vajira Hospital.

Methods: All GPMMA beads were equally divided into two groups: control and experimental groups. The experimental group was sterilized again with ethylene oxide gas before testing. The antimicrobial susceptibility was identified by diffusion method of Kirby-Bauer for both groups. Diameter of zone of inhibition was recorded and compared.

Results: In control group, the diameters of zone of inhibition at 24, 72 and 168 hrs were 27.3 ± 1.5 , 29.2 ± 1.2 , and 29.5 ± 1.2 mm respectively. In experimental group, the diameters of zone of inhibition at 24, 72 and 168 hrs were 29.5 ± 1.2 , 30.3 ± 1.4 and 30.8 ± 1.0 mm respectively. Statistical analysis demonstrated significant differences between two groups.

Conclusion: The antimicrobial susceptibility to *Staphylococcus aureus* of GPMMA beads after resterilization with ethylene oxide gas was not less than the new GPMMA beads.

Key words: gentamicin, polymethylmethacrylate, ethylene oxide, sterilization, *Staphylococcus aureus*

บทนำ

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่า Gentamicin – impregnated polymethylmethacrylate (GPMMA) สามารถใช้ในการป้องกันและรักษาภาวะติดเชื้อของกระดูก¹⁻⁷ และการผ่าตัดเปลี่ยนข้อเทียมได้ผลดี⁸⁻¹¹ โดยในปี 1970 Bucholz HW และ Engelbrecht H¹² และในปี 1972 Bucholz HW และ Gartmann HD¹³ ได้เริ่มนำยาปฏิชีวนะมาผสมกับ PMMA เพื่อใช้ในการรักษาภาวะติดเชื้อของกระดูก และ Klemm K ได้นำ Gentamicin ผสมใน polymethylmethacrylate (PMMA) ทำเป็นลักษณะลูกปัดและเชื่อมต่อกันด้วยลวดเป็นสาย มาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อเรื้อรังของกระดูก¹⁴ ต่อมาได้มีการวิจัยและผลิต GPMMA ออกมาในรูปแบบ bead chains ในปี 1976 โดย บริษัท Merck (Darmstadt, Germany) (รูปที่ 1) และได้มีการศึกษาอย่างต่อเนื่อง ทั้งใน *in vitro*¹⁵⁻¹⁹ และ *in vivo*^{15,17,20-24} ถึงคุณสมบัติของ GPMMA beads นี้ในแง่ของ antibacterial properties รวมถึงคุณสมบัติทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ อย่างไรก็ตามในการนำ GPMMA beads มาใช้ในการรักษาการติดเชื้อของกระดูก และข้อ ที่มีพื้นที่หรือช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อน้อย^{25,26} ได้แก่ บริเวณมือ นิ้วมือ ข้อเข่า และข้อเท้า มีความจำเป็นต้องตัดลวดที่เชื่อมระหว่าง beads และนำเพียงบางส่วนมาใช้ ทำให้มีส่วนของ GPMMA beads ที่เหลือไม่ได้ใช้ ประกอบกับ GPMMA beads ในปัจจุบันมีราคาสูงมาก จึงเป็นแนวคิดให้มีการนำ GPMMA beads ที่ไม่ได้ใช้นั้น มาผ่านกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำ เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลลงได้

ผู้วิจัยได้ทำการทบทวนวรรณกรรมและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องแล้วไม่พบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับการนำ GPMMA beads มาผ่านกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำ แล้วมาประเมินประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะประเมินว่า GPMMA beads ที่นำมาผ่านกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำด้วยวิธีอบแก๊ส ethylene oxide นั้นมีประสิทธิภาพลดลงจากของเดิมหรือไม่

วัตถุประสงค์และวิธีดำเนินการวิจัย

GPMMA beads^{20,27} ที่นำมาใช้ผลิตโดยบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี เนื่องจากมีข้อมูลทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ การปลดปล่อยยาปฏิชีวนะ ทั้งในหลอดทดลองและในคนอีกทั้งขนาดของ bead และความเข้มข้นของ gentamicin มีความเท่ากันทุกเม็ด

ลูกปัดที่ใช้มีลักษณะทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม. น้ำหนัก 0.2 กรัม แต่ละเม็ดมีปริมาณของยา gentamicin sulfate 7.5 มก. และเชื่อมต่อกันเป็นสายด้วยลวดโลหะเหล็กกล้าไม่เป็นสนิม จากนั้นนำ GPMMA beads เส้นใหม่มาตัดลวดโลหะเพื่อแยกแต่ละเม็ดออกจากกัน ภายใต้กระบวนการปลอดเชื้อและแห้ง จากนั้นจึงแบ่ง GPMMA beads ออกเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง

กลุ่มควบคุม

นำ GPMMA beads ใหม่ จำนวน 12 เม็ด เข้าสู่ขั้นตอนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยใช้ GPMMA 1 bead ต่อ 1 Mueller – Hinton agar plate

กลุ่มทดลอง

นำ GPMMA beads ใหม่ จำนวน 12 เม็ด มาผ่านกระบวนการทำไรเชื้อด้วยวิธีการอบแก๊ส ethylene oxide (gas sterilization) โดยใช้เครื่อง Steri-Vac 4 XL Gas sterilizer® (3M St. Paul, MN, USA) และใช้บรรจุภัณฑ์เป็นพลาสติกประเภทกับกระดาษ เพื่อนำเข้าเครื่องอบแก๊สที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลานาน 2.5 ชม. (warm cycle) จากนั้นนำมาผ่านกระบวนการระบายอากาศ (aeration) ประมาณ 8-12 ชม. หลังจากนั้นจึงนำ GPMMA beads ที่ผ่านกระบวนการทำกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำแล้ว ไปเข้าสู่ขั้นตอนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยใช้ GPMMA 1 bead ต่อ 1 Mueller – Hinton agar plate เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม

ขั้นตอนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ ใช้วิธี diffusion method ของ Kirby – Bauer ทำการทดสอบด้วยเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ซึ่งไวต่อยา gentamicin (รูปที่ 2) โดยเริ่มต้นด้วยการเจือจางเชื้อ *S.aureus* ATCC 25923 ในอาหารเหลว trypticase soybroth ปรับความขุ่นให้ได้ความขุ่นมาตรฐาน 0.5 McFarland ซึ่งจะมีเชื้อประมาณ 10^6 – 10^7 ตัวต่อ มล. นำเชื้อที่ได้ป้ายลงบนอาหารเพาะเชื้อ Mueller-Hinton agar ที่มีความหนา 4 มม. ให้ทั่วผิวน้ำ โดยใช้ GPMMA 1 bead ต่อ 1 Mueller-Hinton agar plate จากนั้นวาง GPMMA beads บนอาหารเพาะเชื้อตรงกลาง กดลงเบา ๆ ให้เม็ดติดกับอาหารเพาะเชื้อ (รูปที่ 3) หลังจากนั้นนำ plate เข้าตูบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง gentamicin ใน GPMMA beads จะกระจายออกมาแผ่เป็นรัศมีโดยรอบ โดยมีขนาดลดลงเป็นส่วน

กับระยะทางจากจุดเริ่มต้น โดยบริเวณที่แบคทีเรียถูกยับยั้งการเจริญเติบโตด้วยยาปฏิชีวนะจะไม่มีแบคทีเรียขึ้นที่บริเวณนั้น เกิดเป็นวงว่างรอบเม็ดยาเรียกว่าเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยา (zone of inhibition) ซึ่งแปลผลโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงว่างเป็น มม. โดยใช้ Vernier caliper ทำการเก็บข้อมูลที่ระยะเวลา 24, 72 และ 168 ชม. หลังการวาง GPMMA beads (รูปที่ 4)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

รายงานผลเส้นผ่าศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยา (diameter of zone of inhibition) เป็นค่าเฉลี่ย พิสัย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละกลุ่ม และใช้ independent t-test ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างสองกลุ่ม โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ < 0.05



รูปที่ 1 ลักษณะของ

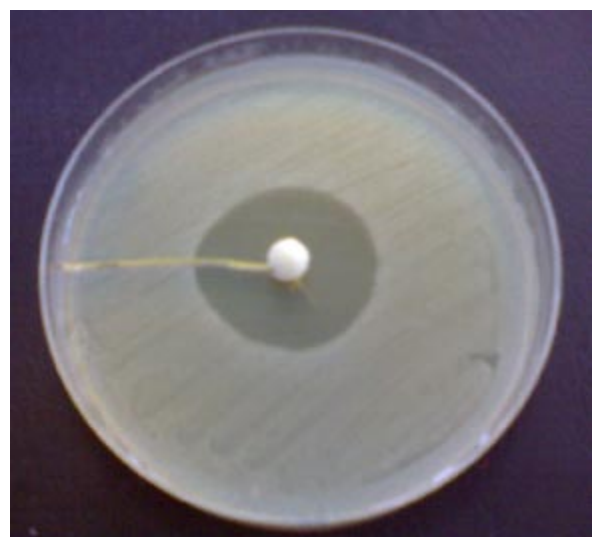
Gentamicin – impregnated polymethylmethacrylate bead



รูปที่ 2 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยใช้วิธี diffusion method ของ Kirby – Bauer



รูปที่ 3 Gentamicin – impregnated polymethylmethacrylate bead บน Mueller-Hinton agar plate ก่อนเข้าตู้บ่มเชื้อ



รูปที่ 4 Gentamicin – impregnated polymethylmethacrylate bead บน Mueller-Hinton agar plate ที่ 24 ชั่วโมงหลังเข้าตู้บ่มเชื้อ

ผลการวิจัย

จากการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะของทั้ง 2 กลุ่มพบว่าที่เวลา 24, 72 และ 168 ชม. ภายหลังการวาง GPMMA beads ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยาในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 27.3 ± 1.5 มม. (พิสัย 24.5–30.5), 29.2 ± 1.2 มม. (พิสัย 28.0–32.0) และ 29.5 ± 1.2 มม. (พิสัย

28.0–32.0) ส่วนค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยาในกลุ่มทดลอง เท่ากับ 29.5 ± 1.2 มม. (พิสัย 27.0–31.0), 30.3 ± 1.4 มม. (พิสัย 28.0–33.0) และ 30.8 ± 1.0 มม. (พิสัย 29.0–33.0) ซึ่งเมื่อนำค่าเฉลี่ยที่ได้ของทั้งสองกลุ่มมาเปรียบเทียบกัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เส้นผ่าศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยาของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่ระยะเวลา 24, 72 และ 168 ชั่วโมง

ระยะเวลา	เขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยา (มม.)		95%CI	p-value
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง		
24 ชม.	27.3 ± 1.5 (24.5–30.5)	29.5 ± 1.2 (27.0–31.0)	1.15 – 3.1	< 0.001
72 ชม.	29.2 ± 1.2 (28.0–32.0)	30.3 ± 1.4 (28.0–33.0)	0.1 – 2.1	0.032
168 ชม.	29.5 ± 1.2 (28.0–32.0)	30.8 ± 1.0 (29.0–33.0)	0.4 – 2.0	0.006

บทวิจารณ์

หลักการทั่วไปของการรักษาภาวะติดเชื้อของกระดูกและข้อ ภายหลังที่ได้รับการวินิจฉัยได้อย่างถูกต้องและรวดเร็วแล้ว ประกอบด้วย การให้ยาปฏิชีวนะที่ถูกต้องตรงตามเชื้อก่อโรค และการผ่าตัดเอาเนื้อเยื่อหรือกระดูกที่มีการติดเชื้อ หนอง เศษวัสดุ แปลกปลอม รวมทั้งเนื้อเยื่อหรือกระดูกที่ตายออกให้หมดหรือให้ได้น้อยที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการรักษาภาวะการติดเชื้อของกระดูกเรื้อรัง จำเป็นต้องมีการผ่าตัดเอาเศษกระดูกที่มีการตายหรือติดเชื้อออกให้หมด ซึ่งอาจจำเป็นต้องทำการผ่าตัดหลายครั้งจนทำให้เกิดช่องว่างของกระดูกและทำให้กระดูกส่วนนั้นสูญเสียความมั่นคงหรือผิดรูปไป ร่วมกับการนำหลักการของยาปฏิชีวนะเฉพาะที่ มาใช้เพื่อให้มีความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในบริเวณที่มีการติดเชื้อสูงพอที่จะฆ่าเชื้อก่อโรคได้ โดยที่ปริมาณยาในกระแสเลือดยังอยู่ในระดับต่ำ ซึ่งจะช่วยลดผลข้างเคียงของยาปฏิชีวนะลง^{4,5,6,24,28} นำมาซึ่งการใช้ antibiotic delivery systems^{4,17,27,29–31} เช่น GPMMA, GPMMA beads, biodegradable materials, implantable pumps เป็นต้น

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เลือกใช้ GPMMA beads เนื่องจากนิยมใช้เป็นที่พักยาหลายในเวชปฏิบัติ มีการพิสูจน์ทั้งในห้องทดลองและกับผู้ป่วยแล้วว่าได้ผลจริง อีกทั้งยังมีข้อมูลพื้นฐานทางด้านเภสัชวิทยาอย่างครบถ้วน ซึ่งจากผลของการวิจัยครั้งนี้พบว่า ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของเขตปราศจากเชื้อโดยรอบเม็ดยาในกลุ่มทดลองที่ผ่านกระบวนการทำไร้ออกซิเจนด้วย แก๊ส ethylene oxide มากกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อวัดผลที่ระยะเวลา 24, 72, 168 ชม. ซึ่งหมายความว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้ดี ไม่ได้ด้อยกว่า GPMMA bead เดิม แต่กลับพบว่า GPMMA beads ที่นำมาผ่านกระบวนการทำไร้ออกซิเจนด้วยแก๊ส ethylene oxide มีเขตปราศจากเชื้อรอบเม็ดยาที่กว้างกว่า ซึ่งบ่งบอกว่ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเป็นจากผลของแก๊ส ethylene oxide ที่ตกค้างอยู่ผิวของ GPMMA bead ซึ่งมีพื้นผิวเป็นรูพรุน อาจมีฤทธิ์ช่วยเสริมการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้

ในปัจจุบัน GPMMA beads จำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศ อีกทั้งมีราคาสูงมากและบางครั้งก็มีการขาดแคลน การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงเป็นเพียงจุดเริ่มต้นของแนวคิดในการนำ

antibiotic-PMMA beads ที่เหลือจากการรักษานำมาผ่านกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำเพื่อนำมาใช้ในการรักษาครั้งต่อไปได้ แต่อย่างไรก็ตามคงต้องมีการวิจัยที่ต่อเนื่อง โดยเฉพาะการทดสอบคุณสมบัติและคุณภาพของ antibiotic-PMMA beads ภายหลังจากผ่านกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำในแง่มุมอื่น เช่น การทดสอบที่เกี่ยวกับการปลดปล่อยของยาจาก antibiotic-PMMA beads และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาที่ออกมากับระยะเวลาที่ใช้ การนำมาใช้ในการรักษาทางคลินิก และกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำวิธีอื่น ๆ ว่าวิธีใดมีความเหมาะสมและปลอดภัยที่สุดเป็นต้น

สรุป

GPMMA beads มีประโยชน์และสามารถช่วยในการรักษาภาวะติดเชื้อของกระดูกและข้อได้ดี การนำ GPMMA beads มาผ่านกระบวนการทำไรเชื้อซ้ำด้วยแก๊ส ethylene oxide สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีไม่น้อยกว่า GPMMA beads ใหม่

เอกสารอ้างอิง

- Klemm KW. Gentamicin-PMMA chains (Septopal chains) for the local antibiotic treatment of chronic osteomyelitis. *Reconstr Surg Traumatol* 1988; 20: 11-35.
- Patzakis MJ, Mazur K, Wilkins J, Sherman R, Holtom P. Septopal beads and autogenous bone grafting for bone defects in patients with chronic osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 112-8.
- Haydon RC, Blaha JD, Mancinelli C, Koike K. Audiometric thresholds in osteomyelitis patients treated with gentamicin-impregnated methylmethacrylate beads (Septopal). *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 43-6.
- Klemm KW. Antibiotic bead chains. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 63-76.
- Blaha JD, Calhoun JH, Nelson CL, Henry SL, Seligson D, Esterhai JL Jr, et al. Comparison of the clinical efficacy and tolerance of gentamicin PMMA beads on surgical wire versus combined and systemic therapy for osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 8-12.
- Nelson CL, Hickmon SG, Harrison BH. Elution characteristics of gentamicin-PMMA beads after implantation in humans. *Orthopedics* 1994; 17: 415-6.
- Klemm K. The use of antibiotic-containing bead chains in the treatment of chronic bone infections. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 28-31.
- Buchholz HW, Elson RA, Engelbrecht E, Lodenkamper H, Rottger J, Siegel A. Management of deep infection of total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br* 1981; 63: 342-53.
- Torholm C, Lidgren L, Lindberg L, Kahlmeter G. Total hip joint arthroplasty with gentamicin-impregnated cement. A clinical study of gentamicin excretion kinetics. *Clin Orthop Relat Res* 1983; 181: 99-106.
- Salvati EA, Callaghan JJ, Brause BD, Klein RF, Small RD. Reimplantation in infection. Elution of gentamicin from cement and beads. *Clin Orthop Relat Res* 1986; 207: 83-93.
- Lindberg LT. Septopal chains in operations to exchange infected total hip arthroplasties. *Reconstr Surg Traumatol* 1988; 20: 47-54.
- Buchholz HW, Engelbrecht H. Über die Depotwirkung einiger Antibiotica bei Vermischung mit dem Kunstharz Palacos. *Chirurg* 1970; 41: 511-5.
- Buchholz HW, Gartmann HD. Infektionsprophylaxe und operative Behandlung der schleichenden tiefen Infektion bei der totalen Endoprothese. *Chirurg* 1972; 43: 446-53.
- Klemm K. Indication for and technic of gentamycin-PMMA-spheres insertion in bone and soft tissue defects. *Aktuelle Probl Chir Orthop* 1979; 12: 121-7.

15. Marks KE, Nelson CL, Lautenschlager EP. Antibiotic-impregnated acrylic bone cement. *J Bone Joint Surg Am* 1976; 58: 358–64.
16. Welch A. Antibiotics in acrylic bone cement. In vitro studies. *J Biomed Mater Res* 1978; 12: 679–700.
17. Hoff SF, Fitzgerald RH Jr, Kelly PJ. The depot administration of penicillin G and gentamicin in acrylic bone cement. *J Bone Joint Surg Am* 1981; 63: 798–804.
18. Bayston R, Milner RD. The sustained release of antimicrobial drugs from bone cement. An appraisal of laboratory investigations and their significance. *J Bone Joint Surg Br* 1982; 64: 460–4.
19. Seligson D, Popham GJ, Voos K, Henry SL, Faghri M. Antibiotic-leaching from polymethylmethacrylate beads. *J Bone Joint Surg Am* 1993; 75: 714–20.
20. Wahlig H, Dingeldein E, Bergmann R, Reuss K. The release of gentamicin from polymethylmethacrylate beads. An experimental and pharmacokinetic study. *J Bone Joint Surg Br* 1978; 60: 270–5.
21. Welch AB. Antibiotics in acrylic bone cement. In vivo studies. *J Biomed Mater Res* 1978; 12: 843–55.
22. Rodeheaver GT, Rukstalis D, Bono M, Bellamy W. A new model of bone infection used to evaluate the efficacy of antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate cement. *Clin Orthop Relat Res* 1983; 178: 303–11.
23. Wahlig H, Dingeldein E, Buchholz HW, Buchholz M, Bachmann F. Pharmacokinetic study of gentamicin-loaded cement in total hip replacements. Comparative effects of varying dosage. *J Bone Joint Surg Br* 1984; 66: 175–9.
24. Walenkamp GH, Vree TB, van Rens TJ. Gentamicin-PMMA beads. Pharmacokinetic and nephrotoxicological study. *Clin Orthop Relat Res* 1986; 205: 171–83.
25. Steinig HJ, Asche G. Gentamicin PMMA minichains in infections of the hand. *Unfallchirurgie* 1986; 12: 132–4.
26. Zimmer K. Use of mini-septopal in trauma surgery of the hand. Experimental and clinical studies. *Polim Med* 1996; 26: 3–57.
27. Nelson CL. The current status of material used for depot delivery of drugs. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 427: 72–8.
28. Nelson CL, Evans RP, Blaha JD, Calhoun J, Henry SL, Patzakis MJ. A comparison of gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate bead implantation to conventional parenteral antibiotic therapy in infected total hip and knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 96–101.
29. Calhoun JH, Mader JT. Treatment of osteomyelitis with a biodegradable antibiotic implant. *Clin Orthop Relat Res* 1997; 341: 206–14.
30. Wahlig H, Dingeldein E. Antibiotics and bone cements. Experimental and clinical long-term observations. *Acta Orthop Scand* 1980; 51: 49–56.
31. Elson RA, Jephcott AE, McGeachie DB, Verettas D. Antibiotic-loaded acrylic cement. *J Bone Joint Surg Br* 1977; 59: 200–5.