

คุณสมบัติของ Fosfomycin Polymethylmethacrylate Beads ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียภายหลังกระบวนการทำไร้เชื้อ

สมควร ภารศิริจิรา พ.บ., ว.ว. ศัลยศาสตร์ออร์โธปิดิกส์ กลุ่มงานออร์โธปิดิกส์ โรงพยาบาลอุดรธานี

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: Fosfomycin ที่ผสมกับ polymethylmethacrylate beads (FPMMA) สามารถใช้รักษาภาวะติดเชื้อของกระดูก การผสมแล้วใช้แต่ละครั้ง มักมี FPMMA เหลือ หากสามารถเก็บในภาวะไร้เชื้อเพื่อนำมาใช้ในภายหลัง ก็จะช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายได้ จึงเป็นแนวคิดในการทำการศึกษารเปรียบเทียบคุณสมบัติของ FPMMA ก่อนและหลังผ่านกระบวนการทำไร้เชื้อด้วยวิธีการอบแก๊ส (Ethylene Oxide sterilization) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *E. coli*, *Enterococcus* sp. และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยรูปแบบการวิจัยเป็นการวิจัยเชิงทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัย: ผสม Fosfomycin กับ PMMA แล้วปั้นเป็นเม็ดร่อนจนแข็งเต็มที่จำนวน 20 เม็ด แบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือกลุ่มควบคุมจำนวน 10 เม็ด และกลุ่มทดลองจำนวน 10 เม็ด โดยนำกลุ่มทดลองไปผ่านกระบวนการทำไร้เชื้อด้วยวิธีอบแก๊ส ethylene oxide ก่อน จากนั้นจึงนำทั้งสองกลุ่มเข้าสู่ขั้นตอนการทดสอบความไวกับเชื้อแบคทีเรีย MSSA, MRSA, *E. coli*, *Enterococcus* sp. และ *Pseudomonas aeruginosa* ในหลอดทดลองด้วยวิธี Modified Broth dilution วัดความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลอง หน่วยเป็น Mcfarland ที่ 24 ชม. หลังการเพาะเชื้อและใช้ independent t-test ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างสองกลุ่ม

ผลการวิจัย: MSSA, MRSA, *E. coli*, *Enterococcus* sp. และ *Pseudomonas aeruginosa* มีค่าเฉลี่ยความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อในกลุ่มควบคุม เท่ากับ 0.21 ± 0.02 , 0.58 ± 0.04 , 1.14 ± 0.10 , 0.32 ± 0.03 และ 0.36 ± 0.02 ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อในกลุ่มทดลองพบว่าเท่ากับ 0.02 ± 0.01 , 0.18 ± 0.02 , 1.20 ± 0.12 , 2.60 ± 0.25 และ 0.22 ± 0.02 ตามลำดับเช่นกัน ซึ่งเมื่อนำค่าเฉลี่ยของทั้งสองกลุ่มมาเปรียบเทียบกันพบว่า ค่าเฉลี่ยความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ MSSA, MRSA และ *Pseudomonas aeruginosa* ลดลง แต่เชื้อ *E. coli* และ *Enterococcus* sp. เพิ่มขึ้น โดยทุกเชื้อมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$)

สรุป: การนำ FPMMA มาผ่านกระบวนการทำไร้เชื้อด้วยแก๊ส ethylene oxide พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ MSSA, MRSA, และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดี แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และ *Enterococcus* sp. ไม่ได้

คำสำคัญ : การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรีย, เม็ดบดสีผสมยาปฏิชีวนะ

Antimicrobial Susceptibility of Fosfomycin Polymethylmethacrylate Beads after sterilization

Somkhuan Paradeerujira MD., Department of Orthopedics Surgery. Udonthani Hospital

Abstract

Objective: Fosfomycin Polymethylmethacrylate beads (FPMMA) can be used to treat bone infection. After each use, there was some FPMMA waste. If it can be kept in sterile condition for later use. It will save time and cost. The idea of the study is to compare the antimicrobial susceptibility to Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *E. coli*, *Enterococcus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* of FPMMA before and after sterilization with ethylene oxide gas. The study design is experimental study. (laboratory research)

Methods: Mixed fosfomycin with PMMA and moulded into beads. All FPMMA 20 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 density meter in McFarland unit for both groups. The result was recorded and compared.

Results: Mean turbidity of control group in broth with MSSA, MRSA, *E. coli*, *Enterococcus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* were 0.21 ± 0.02 , 0.58 ± 0.04 , 1.14 ± 0.10 , 0.32 ± 0.03 and 0.36 ± 0.02 respectively in experimental group MSSA, MRSA, *E. coli*, *Enterococcus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* were 0.02 ± 0.01 , 0.18 ± 0.02 , 1.20 ± 0.12 , 2.6 ± 0.25 and 0.22 ± 0.02 respectively. Statistical analysis demonstrated significant difference between two groups. (p -value < 0.05)

Conclusion: The antimicrobial susceptibility to MSSA, MRSA, and *Pseudomonas aeruginosa* were not less than the new FPMMA beads but *E. coli* and *Enterococcus* sp. were less than the new FPMMA beads after sterilization with ethylene oxide gas.

Key words: Fosfomycin, polymethylmethacrylate beads, ethylene oxide, sterilization, Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *E. coli*, *Enterococcus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa*.

บทนำ

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่า Antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate (APMMA) สามารถใช้ในการป้องกันและรักษาภาวะติดเชื้อของกระดูก¹⁻⁷ และการผ่าตัดเปลี่ยนข้อเทียมได้ผลดี⁸⁻¹¹ โดยในปี 1970 Bucholz HW และ Engelbrecht H¹² และในปี 1972 Bucholz HW และ Gartmann HD¹³ ได้เริ่มนำยาปฏิชีวนะมาผสมกับ Polymethylmethacrylate (PMMA) เพื่อใช้ในการรักษาภาวะติดเชื้อของกระดูก และ Klemm K¹⁴ ได้นำ Gentamicin ผสมใน PMMA ทำให้เป็นลักษณะลูกปัดและเชื่อมต่อด้วยลวดเป็นสาย มาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อเรื้อรังของกระดูก

APMMA สำเร็จรูปพร้อมใช้ ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน มีเฉพาะที่ใช้ Gentamicin ผสมกับ PMMA ทำให้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อโรคได้จำกัด และมีราคาแพง ในขณะที่เชื้อก่อโรคที่พบในปัจจุบันมีความหลากหลายและดื้อยามากขึ้น การผสม Antibiotic กับ PMMA พบว่าสามารถใช้ได้ผลดี¹⁵ เมื่อเลือกใช้ Antibiotic ที่เหมาะสม¹⁶ จากงานวิจัยพบว่า Antibiotic หลายชนิดสามารถนำมาผสมกับ PMMA ได้โดย Antibiotic นั้นยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อได้¹⁷ การใช้ APMMA แต่ละครั้งมักทำและใช้ทันที ปริมาณของ APMMA มักเหลือใช้และทิ้งไป หากสามารถนำมาใช้กับผู้ป่วยได้ ก็ช่วยลดระยะเวลาการเตรียมระหว่างผ่าตัด และประหยัดค่ารักษาพยาบาลได้

เชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยเมื่อมีการติดเชื้อในกระดูก ได้แก่ Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus (MSSA), Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), E. coli, Enterococcus sp. และ Pseudomonas aeruginosa และยาปฏิชีวนะ Fosfomycin ก็เป็นยาที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการใช้ผสมกับ PMMA คือทนความร้อนจาก PMMA ขณะผสมได้ดี ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในกระดูกได้เมื่อใช้ปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสม¹⁸ และไม่เกิดอันตรายต่อร่างกาย¹⁹ จึงเป็นแนวคิดให้มีการนำ Fosfomycin PMMA (FPMMA) ที่ผสมเองมาทดสอบ

คุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ใช้ทันทีเปรียบเทียบกับที่ผ่านกระบวนการทำไว้แล้ว

วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย

ใช้ผง Fosfomycin (Fosmicin®) 4 กรัม ผสมกับ PMMA (Simplex P®) โดยผสมใน bone cement powder จนเข้ากันดีก่อน แล้วเท bone cement liquid คนให้เข้ากันจนส่วนผสมเริ่มขึ้นรูปได้ จึงนำมาบรรจุในหลอดฉีดยา บีบออกให้ได้ปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร (รูปที่ 1) แล้วปั้นด้วยมือให้เป็นเม็ดกลม รोजนแข็งเต็มที่ แบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมจำนวน 10 เม็ด และกลุ่มทดลองจำนวน 10 เม็ด (รูปที่ 2) โดยนำกลุ่มทดลองไป ผ่านกระบวนการทำไว้แล้วด้วยวิธีอบแก๊ส ethylene oxide (รูปที่ 3)



รูปที่ 1 นำ Fosfomycin ที่ผสม PMMA แล้วมาบรรจุในหลอดฉีดยา บีบออกให้ได้ปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร



รูปที่ 2 เม็ด FPMMA beads หลังจากปั้นเป็นเม็ดกลม บรรจุในบรรจุภัณฑ์



รูปที่ 3 เม็ด FPMMA beads ที่ผ่านกระบวนการทำไ้เชื้อด้วยวิธีการอบแก๊ส Ethylene oxide แล้ว

กลุ่มควบคุม

นำ FPMMA10 เม็ดเข้าสู่ขั้นตอนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยใช้ FPMMA 1 เม็ด ต่อเชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด โดยมีแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ MSSA, MRSA, E. coli, Enterococcus sp. และ Pseudomonas aeruginosa ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Brain heart infusion broth

กลุ่มทดลอง

นำ FPMMA 10 เม็ดมาผ่านกระบวนการทำไ้เชื้อด้วยวิธีการอบแก๊ส Ethylene oxide (gas sterilization) ด้วยเครื่อง Etogo Model EO 450T-450L และใช้กับบรรจุภัณฑ์เป็นพลาสติกประเภทกับกระดาษเพื่อนำเข้าเครื่องอบแก๊สที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชม. หลังจากนั้นจึงนำ FPMMA ที่ผ่านกระบวนการทำไ้เชื้อแล้วไปสู่ขั้นตอนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดที่กำหนดไว้เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม

ขั้นตอนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะใช้วิธี Modified Broth dilution method โดยผสมเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ได้แก่ MSSA, MRSA, E. coli, Enterococcus sp. และ Pseudomonas aeruginosa ในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว Brain heart infusion broth ปรับความขุ่นให้ได้ความขุ่นมาตรฐาน 0.5 Mcfarland ซึ่งจะมีเชื้อแบคทีเรีย

ประมาณ 10^6 ตัวต่อลูกบาศก์เซนติเมตร นำ FPMMA 1 เม็ด ใส่ในหลอดทดลองด้วยวิธีปลอดเชื้อ นำหลอดทดลองเข้าตูบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. Fosfomycin ใน PMMA bead จะกระจายผ่านอาหารเหลวทุกทิศทางตามลักษณะทรงกลมของ FPMMA ทำให้ความขุ่นของอาหารเหลวในหลอดทดลองลดลง ตามจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ถูกยับยั้ง ซึ่งแปลผลโดยการวัดความขุ่นของอาหารเหลวในหลอดทดลองด้วยเครื่อง Densicheck plus (Biomérieux®) หน่วยเป็น Mcfarland ทำการเก็บข้อมูลที่ 24 ชม. หลังจากเข้าตูบ่มเชื้อครบ 24 ชม.

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

รายงานผลความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลอง หน่วยเป็น Mcfarland เป็นค่าเฉลี่ยและใช้ independent t-test ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างสองกลุ่ม

ผลการวิจัย

จากการทดสอบความไวของเชื้อทั้ง 5 ชนิด ต่อยาปฏิชีวนะของทั้งสองกลุ่มพบว่าภายหลังการใส่ FPMMA beads ค่าเฉลี่ยของความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองกลุ่มควบคุมที่มีเชื้อ MSSA และค่าเฉลี่ยความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองกลุ่มทดลองพบว่า ซึ่งเมื่อนำค่าเฉลี่ยที่ได้ของทั้งสองกลุ่มมาเปรียบเทียบกัน พบว่ากลุ่มทดลองที่มีเชื้อ MSSA, MRSA, และ Pseudomonas aeruginosa มีความขุ่นน้อยกว่ากลุ่มควบคุม แต่กลุ่มทดลองที่มีเชื้อ E. coli และ Enterococcus sp. มีความขุ่นมากกว่ากลุ่มควบคุมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความชื้นของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองของเชื้อแต่ละชนิด

เชื้อแบคทีเรีย	ความชื้น(Mcfarland)		95%CI	p-value
	กลุ่มควบคุม X (S.D.)	กลุ่มทดลอง X (S.D.)		
MSSA.	0.21 (0.02)	0.02 (0.01)	0.186-0.194	<0.05
MRSA.	0.58 (0.04)	0.18 (0.02)	0.396-0.404	<0.05
E. coli	1.14 (0.10)	1.20 (0.12)	0.064-0.056	<0.05
Enterococcus sp.	0.32 (0.03)	2.6 (0.25)	2.25-2.31	<0.05
Pseudomonas aeruginosa	0.36 (0.02)	0.22 (0.02)	0.136-0.144	<0.05

บทวิจารณ์

โดยทั่วไปมาตรฐานการรักษาภาวะติดเชื้อของกระดูกและข้อหลังจากที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วคือการให้ยาปฏิชีวนะที่ถูกต้องตามเชื้อก่อโรค และการผ่าตัดเอาเนื้อเยื่อหรือกระดูกที่มีการติดเชื้อหนองเศษวัสดุแปลกปลอมรวมทั้งเนื้อเยื่อหรือกระดูกที่ตายออกให้ได้มากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการรักษาภาวะการติดเชื้อของกระดูกเรื้อรัง จำเป็นต้องมีการผ่าตัดเอาส่วนกระดูกที่มีการตายหรือติดเชื้อออกให้หมด ซึ่งอาจจำเป็นต้องทำการผ่าตัดหลายครั้งจนทำให้เกิดช่องว่างของกระดูกและทำให้กระดูกส่วนนั้นสูญเสียความมั่นคงหรือผิดรูปไป ร่วมกับการนำยาปฏิชีวนะเฉพาะที่ มาใช้เพื่อให้ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในบริเวณที่มีการติดเชื้อสูงพอที่จะฆ่าเชื้อก่อโรคได้ โดยมีปริมาณยาในกระแสเลือดยังอยู่ในระดับต่ำซึ่งจะช่วยลดผลข้างเคียงของยาปฏิชีวนะลงส่งผลให้เกิดการใช้ antibiotic delivery system เช่น antibiotic PMMA beads, biodegradable material implantable pumps เป็นต้น

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เลือกใช้ PMMA ผสม Fosfomycin เนื่องจาก Fosfomycin มีคุณสมบัติเหมาะสมในการใช้ผสมกับ PMMA คือ สามารถทนความร้อนจาก PMMA ขณะผสมได้ดี ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในกระดูกได้ เป็นยาที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในเวชปฏิบัติ ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าค่าเฉลี่ยความชื้นอาหารเลี้ยงเชื้อในกลุ่มทดลองที่ผ่านกระบวนการทำไร้ออกด้วยแก๊ส ethylene

oxide ของเชื้อ MSSA, MRSA, และ Pseudomonas sp. น้อยกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งหมายความว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีไม่ด้อยกว่า FPMMA กลุ่มควบคุม แต่ค่าเฉลี่ยความชื้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ E.coli และ Enterococcus มากกว่ากลุ่มควบคุม หมายความว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไม่ได้ จึงมีความเสี่ยงที่จะติดเชื้อเพิ่มขึ้นได้ ซึ่งต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ในปัจจุบัน APMMA จำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศทั้งมีราคาสูงมากและบางครั้งก็มีการขาดแคลน และมีเฉพาะที่พสมยา Gentamicin การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงเป็นเพียงจุดเริ่มต้นของแนวคิดในการนำ FPMMA ที่คงเหลือจากการเปิดใช้เพื่อการรักษา นำมาผ่านกระบวนการทำไร้ออกเพื่อนำมาใช้ในการรักษาครั้งต่อไปได้ แต่ควรต้องมีการวิจัยที่มีการทดสอบคุณสมบัติและคุณภาพของ FPMMA ภายหลังจากผ่านกระบวนการทำไร้ออกในแง่มุมอื่นๆ เช่น การทดสอบที่เกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยของยาจาก antibiotic PMMA beads การใช้ยาปฏิชีวนะตัวอื่นและความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาที่ออกมากับระยะเวลาที่ใช้ การนำมาใช้ในการรักษาทางคลินิก และกระบวนการทำไร้ออกวิธีอื่นๆ ว่ามีวิธีใดมีความเหมาะสมและปลอดภัยที่สุด เป็นต้น

สรุป

Fosfomycin PMMA beads ที่ผ่านกระบวนการทำไร้ออกด้วยแก๊ส ethylene oxide สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ MSSA, MRSA, และ Pseudomonas aeruginosa ได้ดีแต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli, Enterococcus sp. ไม่ได้ และอาจเพิ่มความเสี่ยงการติดเชื้อดังกล่าวได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายอดิศักดิ์ แสงจันทร์คุ้ม นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ หัวหน้างานจุลชีววิทยาคลินิกกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ และ นายพิชัย สุขสบาย นักวิชาการสาธารณสุขชำนาญการ กลุ่มงานพัฒนาระบบบริการสุขภาพ

เอกสารอ้างอิง

1. Klemm KW, Gentamicin-PMMA chain (Septopal chains) for the local antibiotic treatment of chronic osteomyelitis. *Reconstr Surg Traumatol* 1988; 20:11-35.
2. Patzakis MJ, Muzar K, Wilins J, Sherman R, Holtom P. Septopal beads and autogenous bone grafting for bone defect in patient with chronic osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 112-8.
3. Haydon RC, Blaha JD, Mancinelli C, Koike K. Audiometric thresholds in osteomyelitis patients treated with gentamicin-impregnated polymethylmetacrylate beads (Septopal). *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 43-6.
4. Klemm KW. Antibiotic bead chains. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 295: 63-76.
5. 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.
6. Nelson CL, Hickmon SG, Harrison BH. Elution characteristic of gentamicin-PMMA beads after implantation in humans. *Orthopedics* 1994; 17: 415-6.
7. Klemm K. The use of antibiotic-containing bead chains in the treatment of chronic bone infections. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 28-31.
8. 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.
9. Torholm C, Lidgren L, Lindberg L, Kahlmeter G. Total joint arthroplasty with gentamicin-impregnated cement. A clinical study of gentamicin excretion kinetics. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 181: 99-106.
10. Salvati EA, Callaghan JJ, Brause BD, Klein RF, Small RD. Reimplantation in infection. Elusion of gentamicin from cement and beads. *Clin Orthop Relat Res* 1986; 207: 83-93.
11. Lindberg LT. Septopal chains in operations to exchange infected total hip arthroplasties. *Reconstr Surg Traumatol* 1988; 20: 47-54.
12. Buchholz HW, Engelbrecht H. ber die Depotwirkung einiger Antibiotica bei Vermischung mit dem Kunstharz Palacos. *Chirurg* 1970; 41: 511-5.
13. Buchholz HW, Gartmann HD. Infektionsprophylaxe und operative Behandlung der tiefschichtigen Infektion bei der totalen Endoprothese. *Chirurg* 1972; 43: 446-53.
14. Klemm K. Indication for and technic of gentamicin-PMMA- spheres insertion in bone and soft tissue defects. *Aktuelle Probl Chir Orthop* 1979; 12: 121-7.
15. Anthony A. et al. Effectiveness of local antibiotic delivery with an osteoinductive and osteoconductive bone graft substitute. *J Bone Joint Surg Am* 2005 Jan;87(1): 107-112.
16. Traub WH, Leonhard B. Heat stability of the antimicrobial activity of 62 antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 1995 Jan;35(1):149-54.
17. Marks KE, Nelson CL, Lautenschlager EP. Antibiotic-impregnated acrylic bone cement. *J Bone Joint Surg Am*. 1976 Apr;58(3):358-64.
18. Hanssen AD., Spanghel MJ.

Practical application of antibiotic loaded bone cement for treatment of infected joint replacements. Clin Orthop Relat Res 2004 Oct;(427):79-85.

19. Springer BD. et al. Systemic safety of high-dose antibiotic-loaded cement spacers after resection of an infected total knee arthroplasty. Clin Orthop Relat Res 2004 Oct;(427):47-51.