

# Monitoring vankomycinu uvolňovaného z kostních štěpů v pokuse in vitro

## In Vitro Assessment of Vancomycin Released from Bone Grafts

P. MELICHERČÍK<sup>1</sup>, D. JAHODA<sup>1</sup>, V. BARTÁK<sup>1</sup>, E. KLAPKOVÁ<sup>2</sup>, O. NYČ<sup>3</sup>, D. POKORNÝ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I. ortopedická klinika 1.LF UK a FN Motol, Praha

<sup>2</sup> Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>3</sup> Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Na práci dále spolupracovali: I. Landor<sup>1</sup>, A. Sosna<sup>1</sup>, T. Judl<sup>1</sup>

### ABSTRACT

#### PURPOSE OF THE STUDY

Infections of the musculoskeletal system present a serious problem in orthopaedic and trauma medicine because, typically, they are often recurrent and associated with the development of resistance to antibiotics. The aim of this study was to ascertain whether the local concentration of vancomycin released from cancellous bone grafts exceeded the minimum inhibitory concentration (MIC) for vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA  $\geq 16$  mg/L) during a 16-day *in vitro* experiment.

#### MATERIAL AND METHODS

Morselised grafts of spongy bone were selected as ideal local carriers of antibiotic. They were impregnated with vancomycin (Edicin®). Its concentration was assessed by Agilent 1200 high performance liquid chromatography coupled with a diode array detector (Agilent Technologies, USA). Morselised bone was impregnated with vancomycin at 0.1 g antibiotic per 10 g bone, and 20 samples each weighing 1 g were prepared. They were placed in test tubes with phosphate buffer at pH = 7.4 and maintained in a thermostat at 37 °C. During the 16-day period, buffer samples were taken at intervals and examined for vancomycin concentration by the above-described method.

#### RESULTS

During the whole experimental period, the level of released vancomycin was high above the MIC for VRSA. The maximum average concentration was obtained between day 2 and day 4 and it reached 507.68 mg/L. At this interval the vancomycin level was stable, because there was no significant difference ( $p > 0.005$ ) between the values of the 2nd and the 4th day. Then a gradual decrease in antibiotic levels was detected, with an average concentration of 332.29 mg/L recorded at 16 days.

#### DISCUSSION

Recently, the occurrence of methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections has been increasing as well as the risk of VRSA infections, and therefore our experiment was set up to assess the releasing properties of bone grafts impregnated with vancomycin. The levels of released vancomycin were much higher than the MIC for VRSA for the whole period of measurement. This finding is different from the results of an *in vitro* study by Witso et al., in which the vancomycin level dropped below the MIC after 2 weeks.

The decrease in vancomycin levels following its maximum values was greater than it had been expected although the samples were diluted only minimally. There are several explanations for this finding. However, from the clinical point of view it is important that, for a sufficiently long period, vancomycin is maintained at a level exceeding the MIC for VRSA.

#### CONCLUSIONS

In an *in vitro* experiment under conditions simulating a human internal environment, the elution of antibiotic from vancomycin-impregnated cancellous bone grafts was investigated. The local vancomycin concentrations much exceeded the MIC for VRSA for more than 2 weeks. The highest levels, i.e. the total vancomycin amount, were recorded at 2 to 4 days after carrier application. Based on the experimental results, vancomycin-loaded bone grafts can be recommended for local treatment of the musculoskeletal system infected with antibiotic-sensitive staphylococci, MRSA strains or possibly also for VRSA infections.

**Key words:** osteomyelitis, vancomycin, bone grafts, local carriers of antibiotics, VRSA, MRSA.

## ÚVOD

Infekce pohybového aparátu představuje vážný problém v ortopedii a traumatologii pro svůj typický průběh s recidivami a častý rozvoj rezistence. Navzdory zlepšující se prevenci, operační technice, pooperační péči a širší dostupnosti nově vyvinutých antibiotik s lepším průnikem do tkání, osteomyelitida stále patří mezi časté a vážné komplikace (2, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Právě rozvoj bakteriální rezistence vede k neustálému hledání dalších účinných antibiotik a také k novému využití antibiotik již v praxi zavedených, jak tomu bylo např. u vankomycinu. Vankomycin je glykopeptidové baktericidní antibiotikum izolované z mikrobiálního kmene *Amycolatopsis orientalis*. Jeho využití vzrostlo celosvětově koncem dvacátého století kvůli nárůstu methicillin/oxacillin rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (MRSA) a *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) (24). Právě z důvodu zvyšujícího se výskytu MRSA u chronicky a vážně nemocných pacientů je vankomycin aplikován stále častěji. Tento selekční tlak antibiotik na bakterie vede ke vzniku kmenů MRSA rezistentních na glykopeptidy (1). Clinical and Laboratory Standards Institute (USA) rozděluje vankomycin-rezistentní MRSA podle minimální inhibiční koncentrace (MIC) na vankomycin-intermediate, nebo-li středně citlivé *Staphylococcus aureus* (VISA, MIC: 4–8 mg/l), heterogenní kmeny VISA (hVISA, MIC > 4 mg/l) a na vankomycin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (VRSA, MIC 16 mg/l) (1, 3, 14).

Místní léčba infekcí pohybového aparátu lokálními nosiči antibiotik má celou řadu výhod oproti systémovému podávání antibiotik. Největším přínosem je možnost dosažení koncentrace antibiotik v místě zánětu vysoce přesahující MIC. Antibiotika tak působí i v avaskulárních zónách, bez zvýšení systémové toxicity. Antibiotikum pak může působit jak na zbývající planktonické formy bakterií, tak i na sesilní formy v biofilmu. Lokální nosiče antibiotik navíc vyplní „mrtvý prostor“ po odstraněných nekrotických tkání infekcí postižené kosti (15, 19).

Cílem naší práce bylo ověřit, jestli kostní štěpy jsou vhodným lokálním nosičem vankomycinu k místní léčbě osteomyelitidy. Zaměřili jsme se na eluční charakteristiky vankomycinu uvolňovaného z kostních štěpů. Kostní štěpy jsme zvolili pro jejich ideální vlastnosti. Jsou nejvíce přirozeným lokálním nosičem antibiotik používaným v ortopedii a traumatologii. Mají schopnost osteoindukce, osteointegrace a remodelace dle aktuálních místních potřeb operované kosti. V současné době jsou preferovány především spongiózní morselizované (namleté) kostní štěpy (4, 7, 19, 25, 27). Vzhledem k tomu, že stále častěji zaznamenáváme nárůst rezistence gram pozitivních bakterií na glykopeptidová antibiotika, prozatím především u koaguláza negativních stafylokoků, chtěli jsme ověřit, zda množství vankomycinu přesahuje i MIC pro VRSA po dobu šestnácti dnů experimentem provedeným *in vitro*.

## MATERIÁL A METODY

Pro experiment *in vitro* byly jako lokální nosiče antibiotik zvoleny morselizované spongiózní kostní štěpy impregnované vankomycinem (Edicin®). Každý z dvaceti vzorků byl připraven za sterilních podmínek. Kostní štěpy jsme získávali z hlavic kosti stehenní od pacientů, u kterých byla provedena náhrada kyčelního kloubu s jejich písemným souhlasem. Kostní štěpy získané během operace byly zbaveny fibrózní tkáně, chrupavky a kortikální vrstvy. Spongiózní kost jsme namleli standardním kostním mlýnkem (ProSpon, otvor struhadla 4,5 mm). Namleté kostní štěpy byly impregnovány po důsledném promísění prášku vankomycinu na 15 minut v poměru 10 g kostního štěpu a 0,1 g Edicinu®. Poměr 10 g kostního štěpu a 0,1 g Edicinu® jsme zvolili pro minimalizaci chyby ve stanovení koncentrací vankomycinu na podkladě předběžných měření. Hmotnost kostních štěpů a antibiotika jsme zvažili analytickými vahami. Z kostních štěpů impregnovaných vankomycinem jsme odebrali dvacet vzorků o hmotnosti 1 g. Aplikovali jsme je jednotlivě do sterilních čtverců, které jsme pevně utěsnili a vložili do zkumavek, do kterých jsme pipetou aplikovali fosfátový pufr (pH 7,4) o objemu 20 ml/l zkumavku, uzavřeli je a vložili do termostatu nastaveného na teplotu 37 °C. V daných intervalech po dobu 16 dnů jsme za sterilních podmínek vždy odebrali po předchozím jemném ručním promíchání zkumavky z každého vzorku 100 µl pufru a odebraný pufr jsme doplnili stejným množstvím nového pufrovacího roztoku. Tento postup, kdy jen doplňujeme množství odebraného pufru a celý ho neměníme, jsme zvolili proto, že dle našeho názoru tento způsob monitorace více odpovídá prostředí v organismu.

Z odebraných vzorků pufru byly postupně měřeny koncentrace uvolněného vankomycinu. Pro monitorování hladiny vankomycinu v mg/l jsme použili vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC) na přístroji Agilent 1200 s DAD detektorem (Agilent Technologies, USA). Stanovení bylo prováděno při laboratorní teplotě (21 °C). Použili jsme kolonu s reverzní fází (Purospher RP-18e, 125x3,5 mm, 5 µm, Merck). Mobilní fáze byla tvořena směsí acetonitril-voda-kys. fosforečnaná (8,5:91,5:0,125, v/v/v). pH bylo upraveno na hodnotu 2,8 triethylaminem. Průtok mobilní fáze byl 0,5 ml/min a detekce byla prováděna při 230 nm. Doba analýzy se pohybovala okolo 10 minut. Veškeré použité chemikálie byly HPLC kvality. Metoda byla nejprve validována pro měření exaktní formy vankomycinu z fosfátového pufru.

Výsledky byly statisticky zpracovány za pomoci programu Statistica 6.0. Statistické zpracování výsledků je znázorněno jako průměr a směrodatná odchylka z dvaceti nezávislých měření. Pomocí T-testu jsme porovnávali významnost rozdílu koncentrace mezi jednotlivými časovými intervaly.

## VÝSLEDKY

Již v první hodině měření jsme zaznamenali hladiny vankomycinu vysoce přesahující MIC pro VRSA, kdy

se uvolnilo cca 33 % impregnovaného vankomycinu z celkového množství. Poté je rychlost eluce od 1. do 4. hodiny pomalejší, ale podíl uvolněného vankomycinu v daném intervalu je téměř stejný. Od 5. hodiny po aplikaci nosiče se rychlost uvolňování antibiotika postupně zpomaluje. Po 12 hodinách od implantace jsme naměřili průměrné koncentrace uvolněného vankomycinu 420,98 mg/l, což odpovídá 84,2 % z nejvýše možné dosažitelné koncentrace vankomycinu v jednom vzorku. Maximální průměrné koncentrace uvolněného vankomycinu a zároveň jeho veškeré množství v okolním pufru jsme naměřili mezi 2.–4. dnem (tab. 1), přičemž koncentraci v tomto časovém intervalu lze považovat za ustálenou, neboť mezi oběma hodnotami nebyl statisticky významný rozdíl ( $p > 0,005$ ). Po dosažení maximální průměrné koncentrace vankomycinu (2.–4. den) jsme zaznamenali pokles jeho koncentrace do konce měření, tj. 16. dne, o 167,42 mg/l.

Jednotlivé průměrné koncentrace vankomycinu v mg/l (Mean), síla T – testu (T) a signifikace (významnost) (p value) mezi časovými intervaly jsou zaznamenány v tabulce 1. Grafické znázornění dynamiky uvolňování vankomycinu z kostních štěpů v jeho průměrných koncentracích je vyobrazeno v grafu 1.

## DISKUSE

Předpokladem úspěšné léčby osteomyelitidy lokálními nosiči antibiotik je dosažení vysokých koncentrací antibiotik v místě probíhající infekce po dostatečně dlouhou dobu k eradikaci přítomné bakteriální mikroflóry. K dispozici máme mnoho druhů antibiotik a lokálních nosičů použitelných v ortopedii a traumatologii. Problémem je cena, způsob a rychlost impregnace antibiotikem, biokompatibilita a spektrum citlivosti užitého antibiotika.

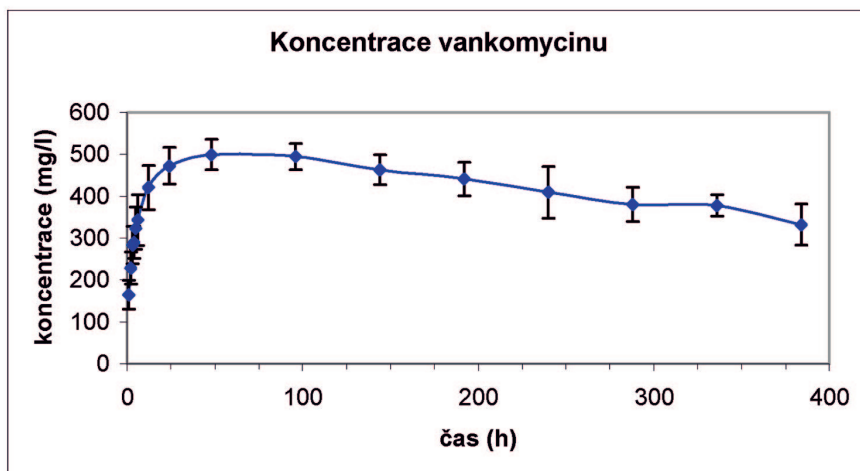
Pro náš experiment jsme zvolili kostní štěpy pro jejich vhodné vlastnosti, biokompatibilitu, schopnost osteoindukce, osteointegrace a remodelace dle aktuálních místních potřeb operované kosti postižené infektem a také pro jejich relativně snadnou dostupnost, cenu a všeobecně pozitivní zkušenosti uváděné v literatuře i na našem pracovišti (4, 5, 6, 7, 19, 25, 26, 27, 28, 29, 30). Z antibiotik se nám jako nejvhodnější jevil vankomycin, neboť se cenově i vlastnostmi zdá jako nejvýhodnější antibiotikum pro léčbu infekcí vyvolaných multirezistentními gram pozitivními bakteriemi, ze kterých se stává nový a závažný problémem v septické ortopedii. Navíc vankomycin v místní koncentraci až do 1000 mg/l nemá žádný nebo jen minimální efekt na replikaci osteoblastů (11). Koncentraci 1 g vankomycinu na 100 g kostního štěpu jsme zvolili na podkladě předchozích studií zabývajících se touto tematikou. Např. Buttaro doporučuje 1 g vankomycinu na 1 femorální hlavičci (6). V jiném experimentu použil 1 g vankomycinu na 300 mg štěpu (4). Tato koncentrace antibiotika je však zbytečně příliš vysoká. Metoda HPLC ke stanovení koncentrací antibiotika v pufovacím roztoku byla zvolena pro její vysokou specifitu a senzitivitu (8). Množství odebíraného vzorku pufru (100 µl) ke stanovení kon-

Tab. 1. Jednotlivé průměrné koncentrace vankomycinu v mg/l (Mean), síla T – testu (T) a signifikace (p value) mezi časovými intervaly (statistická významnost je dána hodnotou  $p > 0,005$ )

Čas (h)	Počet vzorků (N)	Průměr $\bar{X} \pm SD$	Rozpětí	T-test	p value
1	20	165,1 $\pm$ 34,6	116,6–265,3		
				8,532	0,000
2	20	228,3 $\pm$ 38,1	185,3–311,7		
				8,059	0,000
3	20	283,7 $\pm$ 44,6	211,3–360,5		
				0,479	0,637
4	20	289,3 $\pm$ 38,4	238,6–362,8		
				2,621	0,017
5	20	323,5 $\pm$ 50,5	250,6–419,6		
				4,510	0,000
6	20	343,2 $\pm$ 60,5	263,2–458,8		
				27,472	0,000
12	20	420,9 $\pm$ 53,1	340,1–524,6		
				13,866	0,000
24	20	472,9 $\pm$ 43,8	412,4–563,6		
				4,602	0,000
48	20	499,7 $\pm$ 36,2	456,7–571,2		
				0,987	0,336
96	20	494,6 $\pm$ 31,9	446,3–537,1		
				6,439	0,000
144	20	463,8 $\pm$ 35,9	403,3–533,9		
				1,905	0,072
192	20	441,6 $\pm$ 40,3	358,0–538,3		
				3,067	0,006
240	20	401,2 $\pm$ 61,8	240,7–456,5		
				1,434	0,167
288	20	380,4 $\pm$ 40,5	320,2–436,4		
				0,252	0,803
336	20	377,8 $\pm$ 25,7	322,9–427,1		
				4,209	0,000
384	20	332,3 $\pm$ 48,8	227,5–405,7		

centrace uvolněného vankomycinu v daných intervalech jsme zvolili proto, že tento způsob odběru více odpovídá modelu organismu v porovnání s odběrem celého pufru ze vzorku. Tento způsob odběru vzorku pufru navíc odhalil dlouhodobější změny v koncentracích vankomycinu vyloučeného do jen částečně propustného prostoru.

Podobnou práci zabývající se uvolňováním vankomycinu z kostních štěpů je práce Witseho. Ten ve svém in vitro pokusu uvádí nejvyšší rychlost nárůstu koncentrace antibiotika také v prvním měření, tj. v prvním dnu. Poté popisuje pokles koncentrací měřeného antibiotika. Po dvou týdnech uvádí hladinu vankomycinu už pod MIC (28). V jiné studii provedené in vivo Buttarem byla stanovována koncentrace vankomycinu z drenážní tekutiny. Maximální hladiny antibiotika byly naměřeny po 5–9 hodinách od aplikace kostního štěpu s antibiotikem (6). Witso v jeho experimentu použil morselizova-



Graf 1. Grafické znázornění dynamiky uvolňování vankomycinu z kostních štěpů v jeho průměrných koncentracích v daných časových intervalech.

ný spongiózní kostní štěp s vankomycinem také o hmotnosti 1 g aplikovaného do zkumavky s pufrovacím roztokem. V daných intervalech (první odběr po 1. dnu, další ve dvoudenním rozmezí) odebíral veškeré množství pufru, ze kterého měřil koncentraci antibiotika imunochemickou metodou (bioassay). Odebraný pufr vždy nahradil novým pufrovacím roztokem o stejném množství. Rozdíl v objemech odebíraného pufru a v odlišných intervalech měření u našeho experimentu a u pokusu provedeném Witsem má s největší pravděpodobností za následek odlišné charakteristiky dynamiky koncentrace vankomycinu. Odlišné metody pro stanovení hladiny vankomycinu (HPLC a bioassay) by neměly mít vliv na rozdílné výsledky měření.

Rozdílnost výsledků proti studii provedené *in vivo* Buttarem se dala předpokládat. Množství uvolněného vankomycinu bylo v jeho pokuse měřeno z drenážní tekutiny, tj. ne z uzavřeného kompartmentu jako v případě *in vitro* studie. Navíc Buttaro aplikoval vankomycin do osteomyelitického ložiska. Zásadní je však shoda Buttarových a Witsových výsledků s našimi v tom, že největší část antibiotika se uvolnila během prvního měření. Z toho vyplývá, že v situaci *in vivo* jsou nejvyšší hladiny vankomycinu dosaženy v prvních hodinách, poté se rychlost vylučování antibiotika zpomaluje. Podle naší studie by se ale i v 16. dnu pohybovaly hladiny vankomycinu nad MIC pro VRSA.

Jak je zmíněno výše, vankomycin je nejrychleji uvolňován z kostních štěpů v průběhu prvních hodin. K tomuto jevu s největší pravděpodobností dochází proto, že toto antibiotikum je při přípravě absorbováno především do povrchu nosiče. Také doba impregnace (15 min.) může být krátká.

Vzhledem k minimálnímu ředění během odběru pufru ze vzorků jsme zaznamenali takový pokles hladin vankomycinu po dosažení jeho maximálních hodnot, který by teoreticky bez vnějších vlivů neměl nastat. Jedním z vysvětlení by mohla být tepelná degradace vankomycinu na krystalické degradační produkty (CDP-1), jejichž množství se zvyšuje a koncentrace jeho aktivní formy (faktoru B) se snižuje. K termální degradaci vankomycinu dochází již při teplotě nad 20 °C. Degradační produkty vankomycinu postrádají antibakteriální

účinnost (24). V našem experimentu jsme však stanovovali pouze exaktní vankomycin bez rozlišení jeho aktivní formy a degradačních produktů. Navíc pokud bychom zaznamenali pokles aktivní formy vankomycinu, tak by podle studie provedené Somervilem byla koncentrace antibiotika ve 2. dni přibližně 45 mg/l. Tato koncentrace by ještě převyšovala MIC pro VRSA. Zůstává tedy otázkou proč od 2.–4. dne do konce měření dochází k poklesu koncentrace exaktního vankomycinu. Naskytá se několik hypotéz. Vankomycin je nejspíše spotřebováván jako substrát plísněmi či bakteriemi, které kontaminovaly vzorky. Může být také postupně rozkládán enzymy přítomnými v kostní tkáni nebo se vytváří molekula odlišná od CDP-1 a faktoru B a tudíž neidentifikovatelná jako exaktní vankomycin použitou metodou. Jednoznačná odpověď je zatím neznámá. Z provedeného pokusu se jeví, že následný pozvolný pokles hladin vankomycinu není způsoben pouze jeho termální degradací. Pro klinickou praxi je však podstatné, že i přes vlastnost vankomycinu vytvářet degradační produkty v závislosti na okolní teplotě a délce jejího působení, zůstává po určitou dobu zachována jeho účinná koncentrace převyšující MIC pro MRSA i VRSA.

## ZÁVĚR

Provedeným experimentem v *in vitro* podmínkách simulujících vnitřní prostředí organismu jsme ověřili eluční vlastnosti vankomycinu uvolňovaného z kostních štěpů. Potvrdili jsme, že lokální koncentrace vankomycinu vysoce přesahují MIC pro MRSA i VRSA déle než 2 týdny, nejvyšší průměrné hladiny vankomycinu a zároveň jeho veškeré uvolnění z kostního štěpu je dosaženo ve 2.–4. dni od aplikace nosiče.

Lze tedy konstatovat, že na podkladě laboratorních výsledků lze doporučit užití kostních štěpů s vankomycinem k místní léčbě zánětů pohybového aparátu způsobených infekcemi citlivými stafylokoky, rezistentními kmeny MRSA a MRSE a mohlo by být účinnou léčebnou metodou i pro infekci vyvolanou VRSA, případně dalšími gram pozitivními bakteriemi. Eluční vlastnosti *in vivo* a otázku tepelné degradace vankomycinu ověřujeme v další studii.



## Literatura

- APPELBAUM, P. C.: Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int. J. Antimicrob. Agents*, 30: 398–408, 2007.
- BAHRS, CH., MARSCHAL, M., WEISE, K., LINGENFELTER, E., DIETZ, K., HEEG, P., EINGARTNER, CH.: Acute Musculoskeletal Infection: Comparison of Different Methods for Intraoperative Bacterial Identification. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 73: 237, 2006.
- BERT, F., LEFLON-GUIBOUT, V., LE GRAND, J., BOURDON, N., NICOLAS-CHANOINE, M. H.: Emergence of vancomycin-dependent enterococci following glycopeptide therapy: case report and review. *Pathol. Biol. (Paris)*, 57: 56–60, 2009.
- BUTTARO, M., GONZÁLEZ DELLA VALLE, A. M., PINEIRO, L., MOCETTI E., MORANDI, A. A., PICCALUGA, F.: Incorporation of vancomycin-supplemented bone incorporation of vancomycin-supplemented bone allografts: radiographical, histopathological and immunohistochemical study in pigs. *Acta orthop. scand.*, 74: 505–13, 2003.
- BUTTARO, M., PUSSO, R., PICCALUGA, F.: Vancomycin-supplemented impacted bone allografts in revision total hip arthroplasty. Two stage revision results. *J. Bone Jt Surg.*, 87-B: 314–319, 2005.
- BUTTARO, M., GIMENEZ, M. I., GRECO, G., BARCAN, L., PICCALUGA, F.: High local levels of vancomycin without nephrotoxicity released from impacted bone allograft in 20 revision hip arthroplasties. *Acta Orthopaedica*, 76: 336–340, 2005.
- BUTTARO, M., COMBA, F., PICCALUGA, F.: Vancomycin-supplemented cancellous bone allografts in hip revision surgery. *Clin. Orthop.*, 461: 74–80, 2007.
- DOROTHY, W., BACKES, HODA, I., ABOLENEEN, JANICE, A., SIMPSON.: Quantitation of Vancomycin and its Crystalline Degradation Product (CDP-1) in Human Serum by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 16: 1281–1287, 1998.
- DŽUPA, V., NEJEDLÝ, A., ČECH, O.: Rekurentní osteomyelitida tibie po transportu kosti a její radikální interdisciplinární léčba. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 75: 387 – 391, 2008.
- DŽUPA, V., RYANTOVÁ, V., SKÁLA-ROSENBAUM, J., VYHNÁNEK, F., FRIC, M., GRILL, R., HORÁK, L., PAVELKA, T.: Infekční komplikace operační léčby zlomenin pánve. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 75: 293 – 296, 2008.
- EDIN, M., L., MICLAU, T., LESTER, G., E., LINDSEY, R., W., DAHNERS, L., E.: Effect of cefazolin and vancomycin on osteoblasts in vitro. *Clin. Orthop.*, 333: 245–251, 1996.
- GALLO, J., SAUER, P., DENDIS, M., LOVEČKOVÁ, Y., KOLÁŘ, M., ZAPLETALOVÁ, J., JANOUT, V.: Molekulární diagnostika infekcí kloubních náhrad. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 73: 85, 2006.
- GALLO, J., SMIŽANSKÝ, M., RADOVÁ, L., POTOMKOVÁ, J.: Porovnání léčebných postupů používaných v terapii infekce kloubních náhrad kyčle a kolena. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 76: 302–309, 2009.
- CHANG, S., SIEVERT, D. M., HAGEMAN, J. C., BOULTON, M. L., TENOVER, F. C., DOWNES, F. P., SHAH, S., RUDRIK, J. T., PUPP, G. R., BROWN, W. J., CARDO, D., FRIDKIN, S. K.: Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N. Engl. J. Med.*, 348: 1342–7, 2003.
- JAHODA, D., NYČ, O., POKORNÝ, D., LANDOR, I., SOSNA, A.: Antibiotika v prevenci infekčních komplikací u operací kloubních náhrad. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 73: 108, 2006.
- JAHODA, D., NYČ, O., POKORNÝ, D., LANDOR, I., SOSNA, A.: Linezolid v léčbě rezistentních grampozitivních infekcí pohybového aparátu. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 73: 329, 2006.
- JAHODA, D., NYČ, O., ŠIMŠA, J., KUČERA, E., HANEK, P., CHRZ, P., POKORNÝ, D., TAWA, N., LANDOR, I., SOSNA, A.: Výskyt pozdní hematogenní infekce kloubních náhrad v našem souboru a návrh systému prevence. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 74: 397, 2007.
- JAHODA, D., NYČ, O., ŠIMŠA, J., KUČERA, E., HANEK, P., CHRZ, P., POKORNÝ, D., TAWA, N., LANDOR, I., SOSNA, A.: Pozdní hematogenní infekce kloubních náhrad. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 75: 88–92, 2008.
- JAHODA, D., SOSNA, A., NYČ, O. et al.: Infekční komplikace kloubních náhrad. Praha, Triton 2008.
- JAHODA, D., POKORNÝ, D., NYČ, O., BARTÁK, V., HRMÁDKA, R., LANDOR, I., SOSNA, A.: Infectious complications of total shoulder arthroplasty. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 75: 422–8, 2008.
- KRBEC, M., ČECH, O., DŽUPA, V., PACOVSKÝ, V., KLÉZL, Z.: Infekční komplikace TEP kyčelního kloubu. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 71: 179–188, 2004.
- MEANI, E., ROMANO, C., CROSBY, L., HOFMANN, G.: *Infection and Local Treatment in Orthopedic Surgery*. US, Springer 2008.
- NEJEDLÝ, A., DŽUPA, V., ZÁHORKA, J., TVRDEK, M.: Využití muskulárního laloku při léčení infikovaných zlomenin a chronické osteomyelitidy v oblasti bérce a hlezna. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 74: 162, 2007.
- SOMERVILLE, A., L., WRIGHT, D., H., ROTSCHAFER, J., C.: Implications of Vancomycin Degradation Products on Therapeutic Drug Monitoring in Patients with End-Stage Renal Disease. *Pharmacotherapy*, 19: 702–707, 1999.
- WINKLER, H., JANATA, O., BERGER, C., WEIN, W., GEORGOPOULOS, A.: In vitro release of vancomycin and tobramycin from impregnated human and bovine bone grafts. *J. Antimicrob. Chemother.*, 46: 423–8, 2000.
- WINKLER, H., KAUDELA, K., STOIBER, A., MENSCHIK, F.: Bone grafts impregnated with antibiotics as a tool for treating infected implants in orthopedic surgery – one stage revision results. *Cell Tissue Bank.*, 7: 319–23, 2006.
- WINKLER, H., STOIBER, A., KAUDELA, K., WINTER, F., MENSCHIK, F.: One stage uncemented revision of infected total hip replacement using cancellous allograft bone impregnated with antibiotics. *J. Bone Jt Surg.*, 90-B: 1580–4, 2008.
- WITSO, E., PERSEN, L., LOSETH, K., BERGH, K.: Adsorption and release of antibiotics from morsolized cancellous bone. *Acta orthop. scand.*, 70: 298–304, 1999.
- WITSO, E., PERSEN, L., LOSETH, K., BENUM, P., BERGH, K.: Cancellous bone as an antibiotic carrier. *Acta orthop. scand.*, 71: 80–4, 2000.
- WITSO, E., PERSEN, L., BENUM, P., BERGH, K.: Cortical allograft as a vehicle for antibiotic delivery. *Acta Orthop.*, 76: 481–6, 2005.

MUDr. Pavel Melicherčík

I. ortopedická klinika 1. LF UK a FN Motol  
V Úvalu 84

150 00 Praha 5

Tel.: 00420 732 167 822

Fax: 00420 2 2443 3920

E-mail: pmeliche@seznam.cz

Práce vznikla za podpory VZ MZO 0064203-6604.