

Aloplastické materiály z pohledu jejich citlivosti ke kolonizaci bakteriemi

Alloplastic Materials and their Propensity to Bacterial Colonisation

R. BALLAY¹, I. LANDOR¹, F. RŮŽIČKA², P. MELICHERČÍK¹, J. TOMAIDES¹, D. JAHODA¹

¹ I. ortopedická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice Motol, Praha

² Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Fakultní nemocnice u Sv. Anny, Brno

ABSTRACT

PURPOSE OF THE STUDY

The alloplastic materials currently used for protective surface layers on implants were tested *in vitro* under microbiological laboratory conditions by contamination with microbial agents most frequently found in deep infection of total joint replacements. The objective was to find out how the resistance to bacterial colonisation was related to different surface finishes.

MATERIAL AND METHODS

Each of 14 samples of alloplastic material currently used in the manufacture of orthopaedic implants was inoculated with each of the group of microorganisms most frequently infecting joint replacements; these were *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*. At 24 hours of incubation, biofilms produced on sample surfaces were collected, stained with crystalline violet and assessed by spectrophotometry. The average value of biofilm absorbances (AV595) for the group of microorganism tested was taken as a basic characteristic of each material sample indicating its sensitivity to bacterial.

RESULTS

Of the metal materials with smooth surface finish, Vitalium (AV595, 0.368) showed the lowest affinity to microbial colonisation; next was titanium (AV595, 0.459) and steel (AV595, 0.505). A significant increase in sensitivity to bacterial colonisation was recorded in all types of surface finish of steel (AV595, 0.571) and in titanium alloy with a rough surface texture (AV595, 0.737 to 1.676); $p < 0.05$. Porous titanium surfaces significantly increased material affinity to colonisation.

DISCUSSION

Our study had certain limitations concerning *in vitro* evaluation of porous surfaces that have high affinity to bacterial colonisation. Porous titanium, and its hydroxyapatite layer in particular, considerably promotes osteoblast colonisation of the surface as well as implant osseointegration in the bone bed. Microorganisms therefore have no room for surface colonisation. Problematic may remain the surface parts outside contact with bone that keep their affinity to bacterial colonisation.

CONCLUSIONS

The material of choice for cemented implants is Vitalium which, of all metal surfaces, has the lowest sensitivity to bacterial colonisation. The materials of choice for cementless implants are titanium alloys. However, an osteoactive surface not in contact with bone remains a problem. On the one hand, its roughness and porosity are crucial to good osseointegration, on the other hand, its affinity to bacterial colonisation is high.

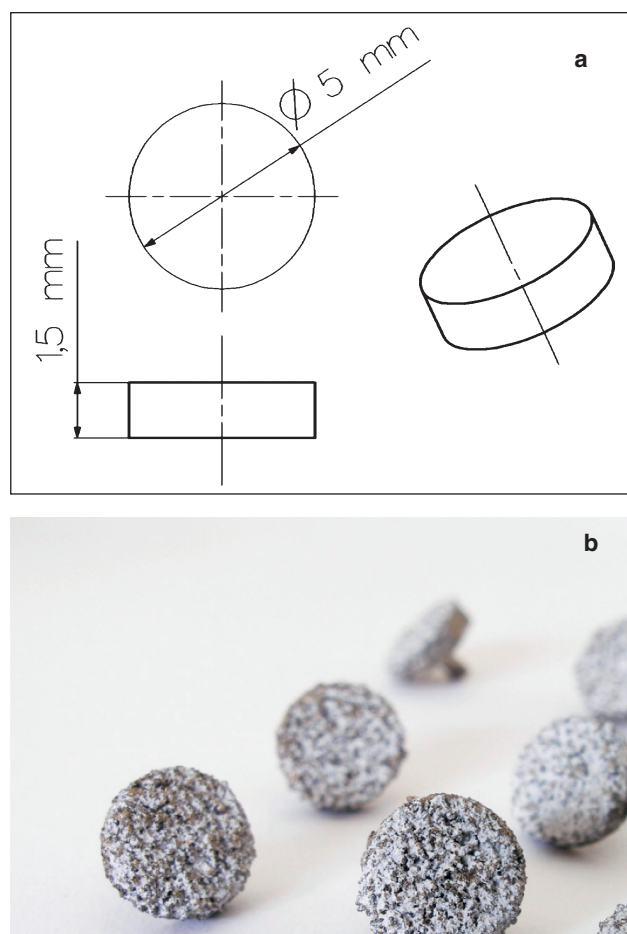
Key words: alloplastic material, biofilm, joint replacement infection.

ÚVOD

Hluboká infekce totální kloubní náhrady patří k nejobtížněji řešitelným komplikacím této jinak velmi úspěšné operace. Z dat Národního registru kloubních náhrad víme, že v České republice bylo v období 2003–2012 provedeno 1137 revizí endoprotéz pro infekční komplikaci (34). I přes dodržení všech perioperačních zásad aseptiky a antibiotickou profylaxi je incidence hluboké infekce kloubních náhrad 0,99% (8, 25). Infekční komplikace prodlužují hospitalizaci pacienta, který často podstupuje opakované chirurgické výkony (19, 33). Zmistowski uvádí až pětinašobné zvýšení mortality u pacientů po revizi kloubní náhrady pro infekční komplikaci (35). Musíme počítat i s nemalou ekonomickou zátěží, kde byly vyčísleny náklady na řešení jednoho případu reimplantace náhrady kyčelního kloubu pro infekci v průměru na 93 600 \$ (20). Již v roce 1987 Gristina popsal bakteriální kolonizaci povrchu implantátu (13). Následná tvorba biofilmu na povrchu implantátu je považována za klíčový moment patogeneze infekce kloubních náhrad (7). Je všeobecně známo, že různé materiály, z nichž se vyrábějí endoprotézy, mají různou citlivost k bakteriální kolonizaci. Vždy jsou však porovnávány jen některé vzorky s malým počtem mikrobiálních agens (2, 4, 11, 18). V literatuře jsme nenalezli komplexní výčet míry rizika u jednotlivých materiálů a jejich povrchových úprav v unifikovaném prostředí, abychom mohli porovnat citlivost těchto materiálů ve vztahu ke kolonizaci. Proto jsme se rozhodli otestovat v jednotných podmínkách mikrobiologické laboratoře *in vitro* nejčastěji užívané aloplastické materiály v obvyklých povrchových úpravách cílenou kontaminací mikrobiálními agens nejčastěji se vyskytujícími při hluboké infekci totální náhrady. Hlavní otázkou naší práce bylo zjistit, jak jsou aloplastické materiály primárně odolné vůči bakteriální kolonizaci při různých povrchových úpravách.

MATERIÁL A METODIKA

Pro zjišťování adhezivních vlastností bylo vybráno 14 materiálů resp. povrchových úprav, které jsou



Obr. 1. Zkoumané terčiky.

nejčastěji užívány při výrobě ortopedických implantátů (tab. 1). Pro testování byl materiál připraven jako disk o průměru 5 mm a výšce 1,5 mm (obr. 1a, b), který byl optimálně manipulovatelný v podmínkách mikrobiologické laboratoře. Všechny zkoumané materiálové vzorky byly vyrobeny firmou MEDIN Orthopaedics a dodány ve sterilní formě v ochranné fólii. Jejich výroba a následná sterilizace probíhala za standardních podmínek pro výrobu kloubních náhrad. Pro sledování schopnosti

Tab. 1. Přehled testovaných materiálů a jejich povrchových úprav. Hrubost, Ra (mm) měřena Hommel-Tester T 6000 (Hommel Werke GmbH, SRN)

	Materiál	Úprava povrchu	Ra (μm)
1	Slitina CoCrMo (ISO 5832-4) Vitalium	leštěný povrch	1
2	Slitina CoCrMo (ISO 5832-4)	kuličkováný matný	2
3	Slitina CoCrMo (ISO 5832-4)	leštěný, značený laserem	3
4	Slitina FeNiCr (ISO 5832/9)	leštěný povrch	1
5	Slitina FeNiCr (ISO 5832/9)	kuličkováný matný	2
6	Slitina FeNiCr (ISO 5832/9)	leštěný, značený laserem	3
7	Slitina Ti6Al4V (ISO 5832/3)	kartáčovaný povrch	2
8	Slitina Ti6Al4V (ISO 5832/3)	tryskaný Al2O3	4
9	Slitina Ti6Al4V (ISO 5832/3)	povrch anodizovaný (zelený)	2
10	Slitina Ti6Al4V (ISO 5832/3)	povrch anodizovaný (zelený), značený laserem	3
11	Keramika Al2O3 (ISO 6474)	jednostranně leštěný	0/2
12	Slitina Ti6Al4V (ISO 5832/3)	porézní nástřik hydroxylapatitit (HA)	5
13	Slitina Ti6Al4V (ISO 5832/3)	porézní nástřik	5
14	Polyetylen UHMWPE (ISO 5834/2)	leštěný povrch	2

tvořit biofilm na testovaných materiálech byly vybrány mikroby považované za nejčastější původce infekcí kloubních náhrad. Při revizích kloubních náhrad jsou *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis* identifikovatelná u 48 % až 56 % pozitivních nálezů (10). U dalších testovaných mikrobů *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* a *Escherichia coli* se frekvence výskytu pohybuje v rozmezí 3 % až 5 % pozitivních kultur (1, 31). Tyto mikroby zároveň patří i mezi nejčastější příčiny infekce kloubních náhrad na našem pracovišti (14, 15).

První testovanou bakterií byl *Staphylococcus epidermidis* CCM 7221 (Czech Collection of Microorganisms, CCM), původně klinický izolát č. A117 s deklarovanou schopností tvořit biofilm (30). Další testované bakterie, *Pseudomonas aeruginosa* FB44, a *Enterococcus faecalis* FB16, *Escherichia coli* FB42 a *Staphylococcus aureus* FB11, jsou původně klinické izoláty s ověřenou schopností tvořit biofilm (Sbírka mikroorganismů Mikrobiologického ústavu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): *Pseudomonas aeruginosa* FB44, a *Enterococcus faecalis* FB16, *Escherichia coli* FB42 a *Staphylococcus aureus* FB11. Kmeny byly uchovávány v kryozkumavkách s kryoprotektivním médiem (ITEST plus, Hradec Králové) při teplotě minus 76 °C. Před použitím byly zkumavky rozmrazeny, obsah byl očkovan na agar Müller-Hinton (Bio-Rad, Marnes La Coquette, France) a kultivován do druhého dne (18 hodin) při teplotě 37 °C.

Pro testování schopnosti tvořit biofilm byla pomocí denzitometru Densi-LA-Meter II (Pliva-Lachema, Brno) připravena suspenze testované bakterie ve fyziologickém roztoku o hustotě odpovídající stupni č. 1 McFarlandovy škály, který odpovídá $3,0 \times 10^8$ kolonie tvořících jednotek/ml. Jamky 24jamkových destiček (Nunc, Roskilde, Denmark) obsahující disk zkoumaného materiálu a 900 ml BHI bujónu (Brain Heart Infusion, HiMedia, Mumbai, India) s 50 mM glukózy byly inokulovány s 100 ml suspenze testované bakterie. Po 24 hodinách inkubace při 37 °C byl každý disk propláchnut ponořením a jemným tahem ve fyziologickém roztoku, aby se odstranily planktonické bakterie, které neulpěly na povrchu testovaného terčíku (Foster). Vrstva biofilmu vytvořená na povrchu disků byla fixována 24hodinovým sušením při 45 °C a následně barvena v 1 ml 1% roztoku krystalové violeti po dobu 20 min. Disky byly poté 3krát opláchnuty ve fyziologickém roztoku tak, aby se odstranilo přebytké barvivo a následně usušeny. Suché disky s obarvenou vrstvou biofilmu byly eluovány v jamkách 96jamkových destiček (GAMA Group, Trhové Sviny, CZ), obsahujících 150 µl 33% kyseliny octové, po dobu 20 minut na třepačce při 300 rpm. Vzhledem k tomu, že u některých vzorků bylo množství krystalové violeti v eluátu příliš velké na to, aby bylo možno přesně změřit hodnotu absorbance, byly všechny eluáty ředěny 1:4 roztokem 33% kyseliny octové. Poté bylo 100 µl naředěného eluátu přepipetováno do čistých jamek 96jamkové mikrotitrační destičky (GAMA Group, Trhové Sviny, CZ). Pomocí spektrofotometru Anthos Labtec Instruments 2001 reader (Labtec Instruments, Salzburg, Austria) byly změřené hodnoty absorbance (A) eluátu z jednotlivých vzorků při vlnové délce 595 nm (A595). Absorbance pozadí byla měřena při 690 nm (A690). Po odečtení hodnoty A690 od hodnoty A595 byla získána skutečná hodnota absorbance měřeného eluátu. Aby byl eliminován vliv rozdílné přirozené afinity krystalické violeti k testovaným materiálům, byla pro každý testovaný materiál provedena negativní kontrola. Tři terčíky od každého zkoumaného materiálu prošly zcela identickým postupem, který je uveden výše, bez přidání bakteriální suspenze. Při výpočtu výsledné absorbance AV595 byla průměrná hodnota absorbance negativních kontrol konkrétního materiálu byla odečtena od naměřených absorbancí eluátů při kvantifikaci biofilmu na povrchu daného materiálu.

Výsledná absorbance, $[AV595 = (A595 - A690) - (A0\ 595 - A0690)]$.

Tvorba biofilmu na konkrétním materiálu byla testována ve třech nezávislých pokusech, přičemž v každém pokusu byly jedním testovaným mikroorganismem inokulovány tři vzorky příslušného materiálu. Celkový průměr všech absorbancí získaný od všech mikrobů pro příslušný materiál byl brán jako základní charakteristika.

Výsledná absorbance, $[AV595 = (A595 - A690) - (A0\ 595 - A0690)]$.

Tvorba biofilmu na konkrétním materiálu byla testována ve třech nezávislých pokusech, přičemž v každém pokusu byly jedním testovaným mikroorganismem inokulovány tři vzorky příslušného materiálu. Celkový průměr všech absorbancí získaný od všech mikrobů pro příslušný materiál byl brán jako základní charakteristika.

Tab. 2. Tvorba mikrobiálního biofilmu na površích testovaných materiálů. Základem pro statistické hodnocení je Vitalium. Zvýrazněné vzorky mají proti Vitaliu významně větší citlivost ke kolonizaci $p < 0,05$

Materiál	Povrch	AV ₅₉₅ Ø	AV ₅₉₅ Min.	AV ₅₉₅ Max.	Sm.odch. •	Hodnota p
UHMWPE	leštěný	0,354	0,033	1,243	0,328	0,859
Slitina CoCrMo (Vitalium)	leštěný	0,368	0,005	1,859	0,420	x
Keramika Al ₂ O ₃	jednostranně leštěný	0,435	0,009	1,472	0,389	0,436
Slitina Ti6Al4V	anodizovaný	0,458	0,003	1,603	0,503	0,359
Slitina CoCrMo	kuličkový matný	0,503	0,027	2,330	0,582	0,210
Slitina FeNiCr	leštěný	0,505	0,017	2,213	0,582	0,205
Slitina Ti6Al4V	anodizovaný, značený laserem	0,534	0,004	2,317	0,564	0,116
Slitina Ti6Al4V	kartáčovaný povrch	0,548	0,036	2,619	0,666	0,128
Slitina CoCrMo	leštěný, značený laserem	0,551	0,003	1,872	0,512	0,067
Slitina FeNiCr	kuličkový matný	0,571	0,015	1,725	0,532	0,048
Slitina FeNiCr	leštěný, značený laserem	0,702	0,006	2,711	0,714	0,008
Slitina Ti6Al4V	tryskaný Al₂O₃	0,737	0,067	2,752	0,684	0,003
Slitina Ti6Al4V	porézní nástřik s HA	1,217	0,035	2,651	0,751	0,000
Slitina Ti6Al4V	porézní nástřik TiO₂	1,686	0,225	3,016	0,763	0,000

ristiku materiálu, případně jeho povrchové úpravy, ve smyslu jeho citlivosti ke kolonizaci. Za referenční materiál, se kterým byly porovnávány ostatní, byl zvolen vzorek s nejnižší průměrnou afinitou. Všechny výsledky byly statisticky testovány dvouvýběrovým nepárovým Studentovým t-testem s použitím programu Statistica 8 (StatSoft, Inc. Tulsa, Oklahoma, USA) na hladině významnosti 95 %.

VÝSLEDKY

Průměry naměřených hodnot a jejich charakteristiky u všech měřených vzorků ukazuje tabulka 2. Základem pro hodnocení byl výsledek absorbance leštěného Vitalia. Statisticky byl nalezen významný nárůst citlivost k infekci u jakékoli povrchové úpravy oceli a velkého zdrsnění titanové slitiny $p < 0,05$. Mezi titanovou slitinou a Vitaliem se srovnatelnými povrchovými úpravami nebyl prokázán statisticky významný rozdíl při sledování tvorby biofilmu na jejich površích. Při porovnání základních kovových materiálů v hladké povrchové úpravě mělo Vitalium nejnižší afinitu k adhezi a kolonizaci mikroorganismy, následuje titan a ocel. Statisticky však mezi nimi nenačázíme významný rozdíl. Všechny materiály se projeví jako velmi stabilní v parametru náchylnosti k infekci i při základních úpravách povrchu s menší hrubostí používaných v endoprotetice. Při porovnání materiálů podle jejich průměrné afinity v jejich nejhladší povrchové úpravě vykazoval nejnižší afinitu polyetylen (UHMWPE) a nejvyšší ocel. Statistickou analýzou však mezi nimi nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

Zcela jinak je tomu u povrchových úprav, které zvyšují porozitu povrchu. Tyto úpravy mají dnes zásadní význam u titanových implantátů, kde je hrubost povrchu důležitá pro lepší osteointegraci. Hrubší povrchy, více či méně porézní, jsou vytvářeny jednovrstevným nebo dvouvrstevným plazmatickým nástřikem. Porézně upravené povrchy byly porovnány proti hladkému anodizovanému titanu a ve všech případech byla afinita porézního povrchu statisticky významně větší (tab. 3). Dokonce se od sebe významně liší hrubé a porézní povrchy a porézní mezi sebou podle stupně porozity (tab. 4)

Tab. 3. Zvýšená citlivost ke kolonizaci titanových slitin s různou hrubostí a porozitou povrchu $p < 0,05$ (základem pro statistické hodnocení je slitina titanu s hladkým anodizovaným povrchem)

Materiál	$\bar{AV}_{95}$	Materiál	$\bar{AV}_{95}$	p
Ti6Al4V anodizovaný	0,458	Ti6Al4V tryskaný	0,737	0,030
		Ti6Al4V porézní nástřik HA	1,217	0,000
		Ti6Al4V porézní nástřik	1,686	0,000

Tab. 4. Statisticky významný rozdíl při porovnání hrubých a porézních povrchů slitiny titanu mezi sebou

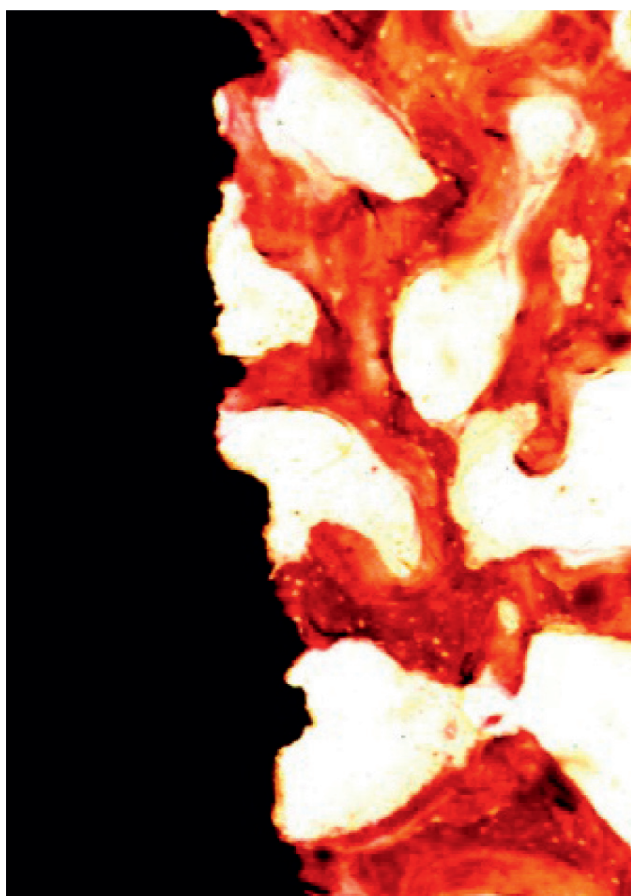
Materiál	$\bar{AV}_{95}$	Materiál	$\bar{AV}_{95}$	p
Ti6Al4V tryskaný	0,737	Ti6Al4V porézní nástřik HA	1,217	0,002
Ti6Al4V tryskaný	0,737	Ti6Al4V porézní nástřik TiO ₂	1,686	0,000
Ti6Al4V porézní nástřik HA	1,217	Ti6Al4V porézní nástřik TiO ₂	1,686	0,004

DISKUSE

Kolonizace povrchu biomateriálu mikroby je klíčovým momentem v patogeneze rozvoje infekce kloubních náhrad. Je to komplikovaný proces ovlivněný mnoha faktory, který doposud není do detailu objasněn (6, 9, 17, 23, 32). Naše výsledky ukázaly dobrou odolnost materiálů v základní úpravě vůči kolonizaci. Určitým překvapením se může zdát „odolnost“ polyetylen (UHMWPE), který dle klasické literatury, patří ve vztahu ke kolonizaci spíše mezi citlivější materiály (28). Jiná studie, ve shodě s našimi výsledky, uvádí preferenci *S. aureus* vytvářet biofilm na kovovém povrchu před UHMWPE (3). Tento náález potvrzuje i práce Barrera et al., kde při infekční komplikaci v oblasti implantované kloubní náhrady kolena, je kolonizace artikulační vložky (UHMWPE) mikrobiálním agens nejvyšší (12). Důležitým zjištěním je relativní odolnost kovových materiálů v odolnosti vůči kolonizaci při úpravách jejich povrchu do úrovně malé hrubosti. Nejméně odolnou je v tomto smyslu ocel, která v porovnání s leštěným Vitaliem nabývá při jakékoli úpravě vyšších hodnot afinity vůči kolonizaci.

Určitou limitací naší studie je hodnocení porézních povrchů *in vitro*, které vykazují zvýšenou citlivost ke kolonizaci. *In vivo* bude ve prospěch tohoto materiálu sloužit výhoda konceptu „*race for surface*“ (13). Porézní titan a zejména pak jeho hydroxyapatitová (HA) vrstva totiž značně akcelerují osídlení povrchu osteoblasty, a tak i osteointegraci implantátu do kostního lůžka (obr. 2). Po osteointegraci tohoto povrchu nemá již mikrobiální agens prostor tento povrch kolonizovat. Problémem mohou být části porézních povrchů, které zůstávají mimo kontakt s kostí a jejich afinita ke kolonizaci tudíž zůstává trvale vysoká. Ve shodě s dalšími autory (5, 12) se domníváme, že bakterie velmi rychle vyplňují porézní labyrint, kde chráněny glykokalyxovou vrstvou přežívají. Je třeba brát v úvahu i negativní vliv nesrovnatelně větší plochy porézního povrchu (5). Oga sice *in vitro* prokázal srovnatelnou afinitu ke kolonizaci u hydroxyapatitového nástřiku a hladkého titanu nicméně se jedná o povrch s minimální porozitou (27). Hydroxyapatitový nástřik, který jsme zkoušeli v naší studii, je kombinovaný tzn. na silně porézní základní vrstvu kysličníku titaničitěho je nástřikán hydroxyapatitový prášek s vysokým stupněm čistoty jako druhá vrstva (21, 22). Tak se porozita původní vrstvy o něco sníží, což se projevilo i významným snížením afinity ke kolonizaci v této studii.

Materiálem volby pro konstrukci cementovaných endoprotéz je Vitalium, které má zejména v leštěné úpravě vynikající odolnost proti kolonizaci. Horší integrační možnosti materiálu nejsou v tomto ohledu důležité, protože fixaci do kostního lůžka zprostředkovává kostní cement (polymethylmetakrylát). Výhodou užití kostního cementu je možnost jeho smíchání s antibiotiky. Cement pak slouží jako lokální nosič antibiotik, což zvyšuje ochranu implantátu vůči kolonizaci bakteriemi (16). Co však můžeme udělat pro zajištění titanových implantátů s porézními povrchy, které jsou dnes metodou volby u necementovaných aloplastik. Jak už bylo řečeno,



Obr. 2. Optimální vazba dvouvrstevného povrchu implantátu s nástríkem HA do kostního lůžka.

určité obranným mechanismem je sama rychlá integrace implantátu do kostního lůžka, kdy se vítězem závodu o povrch stává osteoblast. Navíc *in vivo* titan projevuje vynikající biokompatibilitu, kde měkké tkáně pevně adherují k implantátu, aniž by vznikl mrtvý prostor mezi implantátem a jeho vazivovým obalem, jak je tomu u materiálů z oceli. V tomto mrtvém prostoru se totiž bakterie bez vlivu obranných mechanismů volně šíří a množí (15). V současné době již existují různé druhy antimikrobiálních povrchů. Úprava povrchu implantátu ionty nebo nanočásticemi kovů vede ke zvýšení antibakteriální aktivity (24). Otázkou zůstává jejich cytotoxicita (26). Další možností je nanosení biokompatibilního hydrogelu schopného nést farmakologicky účinnou látku na povrch implantátu (29). Nyní pracujeme na formě nanovláknového nosiče, schopného se navázat na hrubý titanový povrch protézy. Osteokonduktivní kompozit nanovláken kolagenu s hydroxyapatitem bude schopen vyplnit mrtvý prostor mezi implantátem a kostním lůžkem a zároveň elucí antimikrobiálního agens chránit povrch implantátu před kolonizací. Tento povrch by mohl významně zvýšit rezistenci implantátu proti infekci.

ZÁVĚR

Materiály užívané ke konstrukci implantátu v základním leštěném provedení mají relativně dobrou odolnost proti

kolonizaci. Běžné úpravy, které nevedou k většímu zhrubnutí povrchu, tuto rezistenci významně nesnižují. Materiálem volby pro konstrukci cementovaných implantátů je Vitalium, které má z kovových povrchů nejnižší citlivost ke kolonizaci. Materiálem volby pro konstrukci necementovaných implantátů jsou dnes slitiny titanu. Problémem je osteoaktivní povrch, který není v kontaktu s kostním lůžkem. Jeho hrubost a porozita jsou zásadní pro dobrou osteointegraci, ale zároveň má vysokou afinitu ke kolonizaci bakteriemi.

Literatura

1. AGGARWAL, V. K., BAKHSHI, H., ECKER, N. U., PARVIZI, J., GEHRKE, T., KENDOFF, D.: Organism-profile in periprosthetic joint infection: pathogens differ at two arthroplasty infection referral centers in Europe and in the United States. *J. Knee Surg.*, 27: 399–406, 2014.
2. ARENS, S., SCHLEGEL, U., PRINTZEN, G., ZIEGLER, W. J., PERREN, S. M., HANSIS, M.: Influence of materials for fixation implants on local infection. *J. Bone Jt Surg.*, 78-B: 47–51, 1996.
3. BARTH, E., MYRVIK, Q. M., WAGNER, W., GRISTINA, A. G.: In vitro and in vivo comparative colonization of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* on orthopaedic implant materials. *Biomaterials*, 10: 325–328, 1989.
4. CORDERO, J., MUNUERA, L., FOLGUEIRA, M. D.: Influence of metal implants on infection: an experimental study in rabbits. *J. Bone Jt Surg.*, 76-B: 717–720, 1994.
5. CORDERO, J., MUNUERA, L., FOLGUEIRA, M. D.: The influence of the chemical composition and surface of the implant on infection. *Injury*, 27 (Suppl. 3): 1996.
6. COSTERTON, J. W., STEWART, P. S., GREENBERG, E. P.: Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284: 1318–1322, 1999.
7. COSTERTON, J. W.: Biofilm theory can guide the treatment of device-related orthopaedic infections. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 437: 7–11, 2005.
8. DALE, H., FENSTAD, A. M., HALLAN, G., HAVELIN, L. I., FURNES, O., OVERGAARD, S., PEDERSEN, A. B., KÄRRHOLM, J., GARELLICK, G., PULKKINEN, P., ESKELINEN, A., MÄKELÄ, K., ENGESÆTER, L. B.: Increasing risk of prosthetic joint infection after total hip arthroplasty. *Acta Orthop.*, 83: 449–458, 2012.
9. FOSTER, T. J., GEOGHEGAN, J. A., GANESH, V. K., HOOK, M.: Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nat. Rev. Microbiol.*, 12: 49–62, 2014.
10. GARVIN, K. L., HINRICHS, S. H., URBAN, J. A.: Emerging antibiotic-resistant bacteria: Their treatment in total joint arthroplasty. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 369: 110–123, 1999.
11. GÓMEZ BARRENA, E., MEDEL, F., MOLINA-MANSO, D., ORTIZ-PÉREZ, A., CORDERO-AMPUERO, J., PUÉRTOLAS, J. A.: Bacterial adherence to separated modular components in joint prosthesis: a clinical study. *J. Orthop. Res.*, 30: 1634–1639, 2012.
12. GRISTINA, A. G., COSTERTON, J. W.: Bacterial adherence to biomaterials and tissue. *J. Bone Jt Surg.*, 67-A: 264–273, 1985.
13. GRISTINA, A. G.: Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science*, 237: 1588–1595, 1987.
14. JAHODA, D., SOSNA, A., LANDOR, I., VAVŘÍK, P., POKORNÝ, D.: Kanalizovaný artikulovaný spacer – funkční implantát pro řešení náhrady kyčelního kloubu. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 71: 73–79, 2004.
15. JAHODA, D., SOSNA, A., LANDOR, I., VAVŘÍK, P., POKORNÝ, D.: Řešení infekce náhrady kolenního kloubu u pacientů s revmatoidní artritidou. *Čes. Revmatol.*, 8: 83–90, 2000.
16. JIRANEK, W.: Antibiotic-loaded cement in total hip replacement: current indications, efficacy, and complications. *Orthopedics*, 28 (Suppl.): 873–877, 2005.

17. KATSIKOGIANNI, M. G., MISSIRLIS, Y. F.: Interactions of bacteria with specific biomaterial surface chemistries under flow conditions. *Acta Biomater.*, 6: 1107–1118, 2010.
18. KINNARI, T. J., ESTEBAN, J., ZAMORA, N., R., FERNANDEZ1, LÓPEZ-SANTOS, CV., YUBERO, F., MARISCAL, D., PUERTOLAS, J. A., GOMEZ-BARRENA, E.: Effect of surface roughness and sterilization on bacterial adherence to ultra-high molecular weight polyethylene. *Clin. Microbiol Infect.*, 16: 1036–1041, 2010.
19. KRAAY M. J., GOLDBERG V. M., FITZGERALD S. J., SALATA M. J.: Cementless two-staged total hip arthroplasty for deep periprosthetic infection. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 441: 243–249, 2005.
20. KURTZ S. M., LAU, E., WATSON, H., SCHMIER, J. K., PARVIZI, J.: Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States. *J. Arthroplasty*, 27: 61–65, 2012.
21. LANDOR, I., VAVŘÍK, P., JAHODA, D., POKORNÝ, D., BALLAY R., SOSNA, A.: Dlouhodobé zkušenosti s kombinovaným hydroxyapatitovým povrchem ARBOND v osteointegraci implantátu. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 76: 172–178, 2009.
22. LANDOR, I., VAVŘÍK, P., SOSNA, A., JAHODA, D., HAHN, H. DANIEL, M.: Hydroxyapatite porous coating and the osteointegration of the total hip replacement. *Arch. Orthop., Trauma Surg.*, 127: 81–89, 2007.
23. LAVERTY, G., GORMAN, S. P., GILMORE, B. F.: Biomolecular mechanisms of staphylococcal biofilm formation. *Future Microbiol.*, 8: 509–524, 2013.
24. LEMIRE, J. A., HARRISON, J. J., TURNER, R. J.: Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat. Rev. Microbiol.*, 11: 371–384, 2013.
25. LINDEQUE, B., HARTMAN, Z., NOSHCHENKO, A., CRUSE, A.: Infection after primary total hip arthroplasty. *Orthopedics*, 37: 257–265, 2014.
26. MIJNENDONCKX, K., LEYS, N., MAHILLON, J., SILVER, S., VAN HOUT, R.: Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance. *Biomaterials*, 26: 609–621, 2013.
27. OGA, M., ARIZONO, T., SUGIOKA, Y.: Bacterial adherence to bioinert and bioactive materials studied in vitro. *Acta Orthop. Scand.*, 64: 273–276, 1993.
28. PETTY, W., SPANIER, S., SHUSTER, J. J., SILVERTHOM, C.: The influence of skeletal implants on incidence of infection. *J. Bone Jt Surg.*, 67-A: 1236–1244, 1985.
29. PITARRESI, G., PALUMBO, F. S., CALASCIBETTA, F., FIORICA, C., DI STEFANO, M., GIAMMONA, G.: Medicated hydrogels of hyaluronic acid derivatives for use in orthopedic field. *Int. J. Pharm.*, 449: 84–94, 2013.
30. RŮŽIČKA, F., HOLÁ V., VOTAVA M., TEJKALOVÁ R., HORVÁTH R., HEROLDOVÁ M., WOZNICOVÁ V.: Biofilm detection and the clinical significance of Staphylococcus epidermidis isolates. *Folia Microbiol.*, 49: 596–600, 2004.
31. SINHA, R. K.: Hip replacement: current trends and controversies. New York, Marcel Dekker 2002, 428.
32. STOODLEY, P., EHRLICH, G. D., SEDGHIZADEH, P. P., HALL-STOODLEY, L., BARATZ, M. E., ALTMAN, D. T.: Orthopaedic biofilm infections. *Curr. Orthop. Pract.*, 22: 558–563, 2011.
33. TOMS, A. D., DAVIDSON, D., MASRI, B. A., DUNCAN, C. P.: The management of peri-prosthetic infection in total joint arthroplasty. *J. Bone Jt Surg.*, 88-B: 149–155, 2006.
34. VAVŘÍK, P., LANDOR, I., POPELKA, S., FIALKA, R., HACH, J.: Hip joint replacements selected outputs and their analysis for the period 2003–2012. *Acta Chir. orthop. Traum. čech.*, 81 (Suppl.): 2014.
35. ZMISTOWSKI, B., KARAM J. A., DURINKA, J. B., CASPER, D. S., PARVIZI, J.: Periprosthetic Joint infection increases the risk of one-year mortality. *J. Bone Jt Surg.*, 95-A: 2177–2184, 2013.

Korespondující autor:

MUDr. Rastislav Ballay

I. ortopedická klinika I. LF UK

a FN Motol

V Úvalu 85

150 06 Praha 5

E-mail: ballayrastislav@gmail.com