



Ortopedik deneysel enfeksiyon modelleri

Orthopedic experimental infection models

Akif Muhtar Öztürk, Baran Sarıkaya

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Ankara

Kas ve iskelet sistemi enfeksiyonları akut ve kronik zeminde seyreden, farklı enfeksiyon ajanlarından kaynaklanan enflamatuvar süreçlerdir. Bu hastalıkların doğal seyri pek çok farklı etken rol almakta; bu nedenle çok farklı hastalık tipleri ortaya çıkmaktadır. Bu süreçlerin anlaşılabilmesi ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için hastalık süreçlerini insanda görüldüğü formlarıyla taklit edebilen ve insan bedeni ile biyolojik benzerlikler gösteren deney hayvanları üzerinde geliştirilmiş deneysel modeller gereklidir. Henüz gereksinimleri tam olarak karşılayabilen deneysel modeller geliştirilememiş olsa da son yıllarda çok ciddi yol alınmıştır. Bu yazıda bugüne kadar kullanılan deneysel kas iskelet sistemi enfeksiyon modelleri gözden geçirilecektir.

Anahtar sözcükler: Deneysel osteomyelit; protez enfeksiyon modelleri; deneysel septik artrit.

Musculoskeletal system infections are acute or chronic inflammatory processes caused by various infectious agents. Since many different factors are involved in the natural course of these infections, many different disease types occur. In order to understand these disease processes and develop new treatment modalities, experimental models developed in experimental animals are required that mimic the disease processes with the forms seen in humans and show biological similarities with human body. Although until now no such experimental models could be developed that can totally meet the needs, significant advances have been established in the recent years. This manuscript reviews the experimental musculoskeletal system infection models that have been used to date.

Key words: Experimental osteomyelitis; infection models; septic arthritis.

Ortopedik enfeksiyonlar akut ve kronik zeminde seyreden farklı enfeksiyon ajanlarından kaynaklanan enflamatuvar süreçlerdir. Bu hastalıkların doğal seyri pek çok farklı etken rol almaktadır ve hastalıkların doğal süreci farklılıklar gösterir. Bu kadar farklı tipleri olan enfeksiyon süreçleri ile mücadelede yeni tedavi yöntemleri geliştirebilmek için, hastalıkları, insanda görüldüğü formlarıyla taklit edebilen ve insan bedeni ile benzer özelliklere yakın deney hayvanları üzerinde geliştirilmiş deneysel modellerde test etmek gerekmektedir.^[1] Bu yazıda bugüne kadar kullanılan deneysel enfeksiyon modelleri gözden geçirilecektir.

DENEYSEL OSTEOMİYELİT MODELLERİ

Osteomyelit insanlığın çok eski zamanlardan beri karşı karşıya kaldığı hastalıklardan biri olmasına rağmen,

hastalığın doğal seyri ve patolojisi, tanı ve tedavisinde bildiklerimiz hala çok sınırlıdır. Hastalığın kronik formlarında tedavi çoğu zaman başarısız olabilmekte, başka bölgelerin enfeksiyonlarında etkin olan antibiyotikler kronik kemik enfeksiyonlarında etkili olamamaktadır. Hastalığın çok farklı etkenlere bağlı ortaya çıkabilmesi ve değişik klinik şekillerinin olması bu konuda yapılan klinik çalışmaları güçleştirmektedir. İnsanlarda görülen osteomyelit formlarını taklit eden deneysel osteomyelit modelleri hastalığın anlaşılmasında ve yeni tedavi protokollerinin ortaya çıkmasında önemlidir.

Deneysel osteomyelit çalışmalarına ilk kez 18 yüzyıl sonunda başlanmış, ilk denemelerde intravenöz olarak bakteri enjeksiyonu ile osteomyelit yapılabileceği düşünülmüş, ancak bu denemelerde karşılaşılan yüksek mortalite oranları nedeniyle

• İletişim adresi: Dr. Akif Muhtar Öztürk, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 06500 Beşevler, Ankara.
Tel: 0312 - 202 55 28 Faks: 0312 - 212 90 08 e-posta: akifmuhtar@gazi.edu.tr

• Geliş tarihi: 16 Haziran 2010 Kabul tarihi: 23 Eylül 2010

denemelerde başarısız olmuştur.^[1] İlerleyen dönemlerde sklerotik bir madde olan %5 sodyum morrhuate kullanılarak insanda görülen formuyla kronik osteomyelitin deney hayvanlarında oluşturulabileceği gösterilmiştir.^[1] Andriole ise intramedüller yabancı cisim kullanılarak da uzun süreli kronik osteomyelit oluşturulabileceğini göstermiştir.^[2]

Deneyel osteomyelit oluşturmak için yapılan çalışmalar osteomyelit oluşturulabilmesi için intramedüller yerleştirilmiş yabancı bir cismin veya kemiğin canlılığını etkileyecek bir travmanın uygulanması gerektiğini göstermiştir. Yakın zamanda Schulz ve ark.^[3] tarafından intramedüller kemik iliği aspirasyonu sonrasında 0.1 ml sodyum morrhuate enjeksiyonu ve 106 koloni oluşturucu ünite bakteri enjeksiyonu ile deneklerin %100'ünde kronik osteomyelit oluşturulmuştur.^[1,3]

Çoğunlukla *Stafilokokus aureus* *Stafilokokus aureus* (*Staphylococcus aureus*; *S. aureus*) ile yapılan deneysel modeller dışında Johansson ve ark.^[4] tarafından anaerobik bakteriler ile de osteomyelit modeli oluşturulabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada ilginç olarak deneklerin inoküle edilmeyen taraflarında da osteomyelit gelişmiştir. Bu hematogen osteomyelit gelişiminin bu model ile mümkün olabileceğini gösterir.

Tavşanlar dışında sıçan tibialarında da sklerotik maddeler kullanılarak deneysel osteomyelit modelleri oluşturulmuştur.^[5] Öztürk ve ark.^[5] başka bir sklerozan madde olan polidokanol (aethoxysclerol) kullanarak sıçan tibialarında tekrarlanabilir kronik osteomyelit oluşturmuşlardır.

Osteomyelit modellerinde karşılaşılan sorunlardan biri de biyomateryaller üzerine yapışan bakterilerin oluşturduğu biyofilmlerdir. Biyofilm içinde yerleşen bakteri kolonilerinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişir ve bu direnç tedaviyi güçleştirir. Bu durum deney sırasında test edilen tedavi protokolünün etkinliği hakkında yorum yapılmasını güçleştirir. Spagnolo, sklerotik maddelerin kemik iliğinde oluşturduğu etkileri ve yabancı cisimler etrafında ortaya çıkan biyofilmlerin olumsuz etkilerini engellemek için fibrin pıhtı ve bakteri karışımını kullanarak osteomyelit oluşturmayı tercih etmiştir.^[1]

Sklerotik madde enjeksiyonu veya mekanik travma sonrası oluşturulan osteomyelit modelleri erişkinlerde görülen kronik osteomyeliti taklit etmede oldukça başarılıdır. Ancak çocuklarda görülen hematogen osteomyelit çalışmaları için farklı bir model tanımlamak gerekmiştir. Emslie ve Nade^[6] tavuklar üzerinde hematogen osteomyelit modeli tanımlamışlardır. Tavuklara kanat venlerinden yapılan *S. aureus* inokü-

lasyonundan sonra tavukların %96'sında hematogen osteomyelit oluşturabilmektedir. Bu yolla hematogen osteomyelitin doğal seyri takip edilebilir.

DENEY HAYVANI SEÇİMİ

Hayvan modelinin doğru seçilmesi çalışmadan beklenen sonucun alınabilmesi için gereklidir. Teorik olarak insan bedenini daha iyi taklit edebilmek için koyun, keçi, köpek gibi büyük deney hayvanları tercih edilmelidir. Büyük deney hayvanı kullanılmasının barınma yeri temini, bakım zorlukları ve yüksek maliyet gibi zorlukları vardır.^[1,7,8]

Mevcut literatür bilgileri ışığında; tavşanlar üzerinde kronik osteomyelit oluşturabilmek için seçilen kemiğe inokülasyondan önce sklerotik maddeler uygulanması ve yabancı cisim yerleştirilmesi gerekmektedir. Tavşan deneylerinin dezavantajları arasında deneklerin küçük olmalarından ötürü bazı cerrahi işlemlerin yapılmasında ortaya çıkan zorluklar, sklerotik ajan kullanılmasının gerekliliği ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine uygun olmamaları sayılabilir.^[1,7,8]

Sıçanlar birçok çalışma ile güvenilirliği ispatlanmış araştırmacıların tercih ettiği favori deney modellerinden biridir. Sıçanlar tavşanlara göre daha küçük canlılar olmaları nedeniyle, bakımları daha kolay, deney maliyetleri daha düşüktür. Sistemik antibiyotik tedavisine daha iyi tolerans gösterirler, ancak cerrahi işlem ebatları nedeniyle daha güçtür.^[1,7] Sıçanlarda deneysel omurga modeli ile de çalışmalar yapılabilir.^[9]

Fareler birçok hastalığın araştırıldığı canlılar arasındadır. Bu popülerlik farelerin birçok özelliklerinin de ortaya çıkmasına neden olmuştur. Örneğin farelerin vücut savunma sistemleri hakkında pek çok şey bilinmektedir. Osteomyelitin savunma sistemi üzerine etkileri ile ilgili çalışmalarda fare modelleri tercih edilmektedir. Fare modelleri ile osteomyelitin moleküler düzeydeki etkileri araştırılabilir. Rekombinant DNA ve RNA çalışmaları yapmak mümkündür.^[1,7,10] Costa ve ark.^[11] *Leishmania amazonensis* ile farelerde kronik osteomyelit modeli yapmışlardır.

Emslie ve Nade^[6] tarafından tavuklar üzerinde geliştirilen hematogen osteomyelit modeli ile büyüme plakları boyunca uzanan damar tünellerinin varlığı gösterilmiş, metafizer bölgedeki bir enfeksiyonun büyüme plağını geçerek epifiz kırıkdağını nasıl etkilediği bildirilmiştir. Kemiğe bir travma uygulanmaksızın oluşturulabilen, tekrarlanabilen ucuz ve etkin bir yöntem olarak bu model oldukça kullanışlıdır.

Köpeklerde osteomyelit oluşturma girişimi ilk olarak Deysine ve ark.^[12] tarafından 1976 yılında

yapılmıştır. Deysine ve ark.^[12] tibia arterlerini baryum sülfat enjeksiyonu ile izole etmiş, ardından arteryel olarak *S. aureus* enjeksiyonu yapmışlardır. Oluşan progresif osteomyelit hayvanların ölümüne neden olmuştur. Fitzgerald köpek tibialarında *S. aureus* ile inokülasyon yapıldıktan sonra polimetilmetakrilat (PMMA) kullanarak yabancı cisim inokülasyonu ile osteomyelit model tanımlamıştır. PMMA kullanılması enfeksiyon gelişme riskini 1000 koloni oluşturunca ünite *S. aureus* inokülasyonu ile bile artırmaktadır.^[13]

Köpek modelleri lokal antibiyotik kullanımının etkilerinin değerlendirilmesinde yardımcı olmuştur. Ayrıca köpeklerin birden fazla ameliyat olabilmeleri yabancı cisimlere bağlı gelişen osteomyelit formlarının incelenmesinde yararlı olmuştur.^[1,7] Bakım maliyetlerinin yüksek olması, köpek modellerinin dezavantajı olarak görülmektedir. Köpekler dışında koyunlar ve keçilerin de kullanıldığı büyük hayvan modelleri ile yapılmış osteomyelit modelleri vardır.^[14,15]

TANISAL YÖNTEMLER

Deneyisel osteomyelit modellerinin değerlendirilmesinde, klasik tanı yöntemleri ve modern tanisal yöntemler kullanılabilir. Klinik olarak konvansiyonel radyoloji, akut osteomyelit tanısında çok az bilgi verebilir, ancak kronik osteomyelit tanısında altın standarttır. Bunun nedeni hastalığın kronik formunda kemikte ortaya çıkan kalıcı yapısal değişikliklerdir. Deneyisel osteomyelit değerlendirilmesinde klasik radyoloji önemli bir yer tutar. Ancak birçok deneyisel osteomyelit çalışmasında radyolojik bulgular çalışmanın sonuçları üzerine anlamlı bir katkı yapamamıştır. Osteomyelit kemik üzerindeki yapısal etkilerinin geç ortaya çıkmasının, buna neden olduğu bildirilmiştir.^[16]

Oysa bunun nedenlerinden biri de deneyisel osteomyelit radyolojik değerlendirmesinde kullanılan değerlendirme yöntemlerinin temelindeki kurgu hatasıdır. Radyolojik değerlendirme sırasında diyafrizde genişleme, normal kemik yapısının bozulması, periost reaksiyonu, osteoliz, sekestr oluşumu, eklem efüzyonu ve yumuşak doku şişliği gibi radyolojik kriterler kullanılır.^[5,7,16,17] Kemik dokusunun enfeksiyona verdiği yanıt dinamik bir süreçtir ve yukarıda sıralanan kriterler bu dinamik sürecin farklı evrelerinde ortaya çıkar. Hastalığın farklı dönemlerinde bariz olarak belirginleşir ve bir sonraki evrede zayıflayabilir. Örneğin periost reaksiyonu ve yumuşak doku şişliği erken dönemde belirirken, diyafrizde genişleme, sekestr oluşumu, kemik yapısında bozulma geç dönem bulgularıdır. Bu kriterlerin bulunup bulunmaması ve şiddetlerinin değerlendirilmesi ile elde edilen tek bir

toplam puan hastalığın derecesini ve farklı deney grupları arasındaki farkları yansıtamaz. Bu nedenle radyolojik değerlendirme sırasında bu kriterler ayrı ayrı değerlendirilmeli ve gruplar arasında ayrı ayrı kıyaslanmalıdır.^[17]

Bu yorumu destekleyici bir görüş olarak sintigrafi yapılan değerlendirmelerin daha değerli olduğunu savunanlar olmuştur.^[18] Klasik radyoloji dışında kültür, bakteriyolojik çalışmalar, histopatolojik inceleme, galyum-67 (Ga67),-teknesyum 99 (Tc99m), ve indium (111In) işaretli lökosit sintigrafileri de kullanılabilir. Son dönemlerde florine-18 florodeoxyglucose (F-18 FDG) kullanılarak yapılan pozitron emisyon tomografisi (PET) çalışmaları ile tavşanlarda lokalize osteomyelitte çok hassas sonuçlar elde edilmiştir. 18F-FDG beyaz küreler tarafından kullanıldığından ve akut enfeksiyon bölgesinde tüketim yoğunlaşmaktadır.^[18]

BAKTERİ İNOKÜLASYONU

Deney sırasında kullanılan bakteriler insanda hastalık yapan etken ile benzer olmalıdır. Farklı bakteri türlerinin enfeksiyon oluşturabilme güçleri aynı değildir. Temel olarak osteomyelit oluşturabilmek için 10^4 - 10^6 koloni oluşturan birim *S. aureus* kullanılması yeterlidir. Deneyisel enfeksiyon modeli oluşturulurken kullanılacak bakteri tipi; deney modelinde kullanılacak antibiyotiklere hassas olmalı, özel olarak izole edilmiş bakteri kullanılmalıdır, bunun yanı sıra bakteri kolonisinin de deney sırasında erken dönemde kullanılacak antibiyotige direnç geliştirmesi gerekir. Bu nedenle "World Federations for Culture Collection"a kayıtlı bir merkezden bakterinin temin edilmesi faydalı olacaktır. Ülkemizde Ege Üniversitesi, İstanbul Üniversitesi, Muğla Üniversitesi, Tübitak Marmara Araştırma Merkezi ve T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfssıssıhha Merkezi'nde bu özelliklerde koleksiyonlar vardır.

DENEYSEL SEPTİK ARTRİT

Uzun yıllar deneyisel septik artritis oluşturmak için eklem içerisine patojen bakterinin enjeksiyonunun yeterli olacağı düşünülürdü. Ancak gerçekte, açık eklem yaralanmaları ile oluşan septik artritler dışında insanda görülen septik artritler hematogen olarak yayılan bakteriler ile oluşur. Bremel ve ark.^[19] sıçanlara kuyruk damarlarından *S. aureus* enjekte etmişler ve hematogen yolla artritis ve osteit oluştuğunu gözlemişlerdir. Çalışmada eklemlerde enfeksiyon oluşmasına yol açan bakterilerin kemik sialoprotein'ine bağlanma eğiliminde oldukları bildirilmiştir. Tissi ve ark.^[20] ise tip IV *S. agalactiae* kullanarak sıçanlarda deneyisel septik artritis modeli yapmışlardır.

PROTEZ ENFEKSİYONLARI

Protez enfeksiyonları, yapılan eklem artroplastisinin kaybedilmesine, hastanede kalış süresinin uzamasına veya amputasyona ve hatta hastanın ölümüne neden olabilir.^[7] 1975 yılında %6 olan protez sonrası enfeksiyon oranları 1993'de %1.2'ye düşmüştür. Ancak 2030 yılı itibariyle^[7] ABD'de yılda 3.8 milyon artroplastik ameliyatı yapılacağı ve yılda 266.000 protez enfeksiyonu ile karşılaşılacağı tahmin edildiği düşünüldüğünde sorunun ciddiyeti daha net anlaşılacaktır.

Protez enfeksiyon modelleri aslında yabancı cisim varlığında oluşan enfeksiyonlar olarak kabul edilmelidir. Deney tasarlanırken protez yapımında kullanılan yüzey ve materyal özelliklerine ve kemik enfeksiyonu tiplerine odaklanılmalıdır.^[7] Tasarlanan çalışmanın özelliklerine göre farklı implant biçimleri tercih edilebilir. Metal kablo, vida, silindir, doku kafesleri, plak, intramedüller çivi veya doğrudan protez şeklinde tasarımlar kullanılabilir. İmplant yüzeyi parlak yüzeyli olabileceği gibi poroz kaplı olarak da tasarlanabilir. Çimentosuz protez yüzeyini taklit edebilmek için silindir şeklinde tasarlanmış kafes yapılar kullanılabilir.^[17,21,22] İn vitro ve in vivo çalışmalar belli organizmaların biyomateryallere tercihi afinitelerinin olduğunu göstermiştir; *S. aureus*'ün metalik implantlara ve *S. epidermis*'in polimer varlığına afinitesi vardır. (Poliyeten astarlar, PMMA), Titanyum ve alaşımlar implant etrafında daha az fibröz reaksiyon oluşturur.^[23] İmplantta bağlı enfeksiyon risklerinin azaltılmasında ameliyat sırasındaki antibiyotik profilaksisinin uygulanması son derece önemlidir. Bu bilgi çerçevesinde antibiyotik yüklü implant uygulanması sonrasında antibiyotikğin lokal etkisinin incelendiği deneysel hayvan modelleri geliştirilmiştir. Osteomyelit oluşturulmuş sıçanlara gentamisinli ve gentamisinsiz intramedüller çivi (Kirschner teli) ve sistemik antibiyotik tedavisi uygulanmıştır. Antibiyotikli implantı olan sıçanlarda sonuçların daha iyi olduğu görülmüştür.^[24] Günümüzde protez enfeksiyonu olan hastaların, tek aşamalı veya iki aşamalı revizyon cerrahisinde de antibiyotik yüklü çimento kullanımıyla son derece başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Sonuç olarak, insanda görülen kas iskelet sistemi enfeksiyonlarını tam olarak taklit edebilen deney modelleri geliştirilememiştir. İdeal bir modelde deneklerin büyüklükleri cerrahi işlemlerin yapılabilmesine izin vermeli, biyolojik olarak denek insan vücudu ile aynı biyolojik mekanizmalara sahip olmalı ve insanda kullanılan antibiyotiklerin kullanılmasına olanak sağlamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Patel M, Rojavin Y, Jamali AA, Wasielewski SJ, Salgado CJ. Animal models for the study of osteomyelitis. *Semin Plast Surg* 2009;23:148-54.
2. Andriole VT, Nagel DA, Southwick WO. A paradigm for human chronic osteomyelitis 1973;55:1511-5.
3. Schulz S, Steinhart H, Muters R. Chronic osteomyelitis in a new rabbit model. *J Invest Surg* 2001;14:121-31.
4. Johansson A, Svensson O, Blomgren G, Eliasson G, Nord CE. Anaerobic osteomyelitis. A new experimental rabbit model. *Clin Orthop Relat Res* 1991:297-301.
5. Ozturk AM, Tabak AY, Aktekin CN, Altay M, Erdemli E, Karahuseyinoglu S, et al. Alendronate enhances antibiotic-impregnated bone grafts in the treatment of osteomyelitis. *Int Orthop* 2008;32:821-7.
6. Emslie KR, Nade S. Acute hematogenous staphylococcal osteomyelitis. A description of the natural history in an avian model. *Am J Pathol* 1983;110:333-45.
7. An YH, Kang QK, Arciola CR. Animal models of osteomyelitis. *Int J Artif Organs* 2006;29:407-20.
8. Norden CW. Lessons learned from animal models of osteomyelitis. *Rev Infect Dis* 1988;10:103-10.
9. Ofluoglu EA, Zileli M, Aydin D, Baris YS, Kuçukbasmacı O, Gonullu N, et al. Implant-related infection model in rat spine. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007;127:391-6.
10. Chadha HS, Fitzgerald RH Jr, Wiater P, Sud S, Nasser S, Wooley PH. Experimental acute hematogenous osteomyelitis in mice. I. Histopathological and immunological findings. *J Orthop Res* 1999;17:376-81.
11. Costa AA, Abreu AL, Gomes CM, Saldanha AC, Barral A, Costa JM, et al. Experimental model of chronic osteomyelitis caused by *Leishmania* (L) amazonensis. *Acta Trop* 2006;98:125-9.
12. Deysine M, Rosario E, Isenberg HD. Acute hematogenous osteomyelitis: an experimental model. *Surgery* 1976;79:97-9.
13. Fitzgerald RH Jr. Experimental osteomyelitis: description of a canine model and the role of depot administration of antibiotics in the prevention and treatment of sepsis. *J Bone Joint Surg [Am]* 1983;65:371-80.
14. Salgado CJ, Jamali AA, Mardini S, Buchanan K, Veit B. A model for chronic osteomyelitis using *Staphylococcus aureus* in goats. *Clin Orthop Relat Res* 2005:246-50.
15. Kaarsemaker S, Walenkamp GH, vd Bogaard AE. New model for chronic osteomyelitis with *Staphylococcus aureus* in sheep. *Clin Orthop Relat Res* 1997:246-52.
16. Mader JT, Stevens CM, Stevens JH, Ruble R, Lathrop JT, Calhoun JH. Treatment of experimental osteomyelitis with a fibrin sealant antibiotic implant. *Clin Orthop Relat Res* 2002:58-72.
17. Aktekin CN, Ozturk AM, Tabak AY, Altay M, Korkusuz F. A different perspective for radiological evaluation of experimental osteomyelitis. *Skeletal Radiol* 2007; 36:945-50.
18. Mäkinen TJ, Lankinen P, Pöyhönen T, Jalava J, Aro HT, Roivainen A. Comparison of 18F-FDG and 68Ga PET imaging in the assessment of experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus*. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005;32:1259-68.
19. Bremell T, Lange S, Yacoub A, Rydén C, Tarkowski A. Experimental *Staphylococcus aureus* arthritis in mice. *Infect Immun* 1991;59:2615-23.

20. Tissi L, Marconi P, Mosci P, Merletti L, Cornacchione P, Rosati E, et al. Experimental model of type IV *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus) infection in mice with early development of septic arthritis. *Infect Immun* 1990;58:3093-100.
21. Lucke M, Schmidmaier G, Sadoni S, Wildemann B, Schiller R, Stemberger A, et al. A new model of implant-related osteomyelitis in rats. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2003;67:593-602.
22. Lucke M, Wildemann B, Sadoni S, Surke C, Schiller R, Stemberger A, et al. Systemic versus local application of gentamicin in prophylaxis of implant-related osteomyelitis in a rat model. *Bone* 2005;36:770-8.
23. Gristina AG, Shibata Y, Giridhar G, Kreger A, Myrvik QN. The glycocalyx, biofilm, microbes, and resistant infection. *Semin Arthroplasty* 1994;5:160-70.
24. Schmidmaier G, Lucke M, Wildemann B, Haas NP, Raschke M. Prophylaxis and treatment of implant-related infections by antibiotic-coated implants: a review. *Injury* 2006;37 Suppl 2:S105-12.