



УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“
ВО СКОПЈЕ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ СКОПЈЕ



Даница Поповска

**ЕВАЛУАЦИЈА НА ВЛИЈАНИЕТО НА
ВАНКОМИЦИНОТ И МЕРОПЕНЕМОТ ВРЗ
МЕХАНИЧКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА
ПОЛИМЕТИЛМЕТАКРИЛАТЕН КОСКЕН
ЦЕМЕНТ**

Докторска дисертација

Скопје, 2025



„SS. CYRIL AND METHODIUS”
UNIVERSITY IN SKOPJE
MEDICAL FACULTY



Danica Popovska

Evaluation of the effect of vancomycin and meropenem on the mechanical properties of polymethylmethacrylate bone cement

Doctoral Dissertation

Skopje, 2025

Изразувам голема благодарност до мојот ментор, Проф. д-р Славчо Стојменски, за безрезервната поддршка во сите фази на докторските студии и подготовката на овој труд;

На Проф. д-р Милан Самарџиски, кој го препозна значењето на ова истражување и без кого тоа немаше ни да започне;

На Проф. д-р Виктор Гаврилоски од Машински факултет Скопје, за неговото трпение, помош, ентузијазам и експертиза во сите фази на спроведување на ова истражување;

На Проф. д-р Блажо Боев и лаборант Маја Делипетрева од Факултет за природни и технички науки, Универзитет „Гоце Делчев“ Штип, за нивната безусловна помош со материјални ресурси, време и знаење при испитувањата со скенирачкиот електронски микроскоп;

На колегите од Клиниката за Ортопедски Болести, чии сугестии и дискусии помогнаа во обликувањето на истражувањето;

На моите родители, Снежана и Бранко, кои секогаш мислат дека можам повеќе;

На моите втори родители, Ирина и Крум, за нивното трпение и поддршка;

И на мојот сопруг Бобан, за кого постојат само заеднички успеси, за неуморната морална потпора и за помошта при изведувањето на експериментите;

*На моите Лука и Ирина, кои ме
тераат да станам мајка каква што
заслужуваат.*

Даница Поповска

Евалуација на влијанието на ванкомицинот и меропенемот врз механичките карактеристики на полиметилметакрилатен коскен цемент

КУСА СОДРЖИНА

Вовед: Инфекцијата е една од најзначајните компликации на ендопротетската замена на зглобовите. Иако се работи за ретка компликација, со преваленца од 0,5% до 3%, нејзините последици се тешки и потенцијално може да доведе до смртен исход. Употребата на антибиотици во полиметилметакрилатен (ПММА) цемент како метод за локално доставување на високи дози на антибиотик во ендопротетиката е вообичаена пракса, која се користи за превенција на перипротетичните инфекции. Но, со зголемување на преваленцата на колонизација со мултирезистентни бактериjsки соеви, се појавува потреба од користење на нови типови на антибиотици во комбинација со ПММА. Еден од потенцијалните проблеми при употреба на антибиотици е нарушување на механичките карактеристики на коскениот цемент, кој се употребува за механичка фиксација на зглобните ендопротези.

Цели: Да се одреди влијанието на додавање на ванкомицин, меропенем и нивна комбинација врз механичките карактеристики на ПММА коскен цемент; Да се утврди дали испитуваните дози на овие антибиотици можат безбедно да се додадат во коскениот цемент при процедури на артропластика, без да се наруши механичкиот интегритет на цементот и со тоа на целата конструкција.

Материјал и методи: Спроведена е експериментална студија, во која се испитани механичките карактеристики на комерцијално достапен коскен цемент, со додадени меропенем и ванкомицин во форма на прашак, во формулации: само цемент; 2,5% меропенем; 2,5% ванкомицин, 1,25% ванкомицин + 1,25% меропенем; и 2,5% ванкомицин + 2,5% меропенем. За сите формулации се испитани максималната јакост на притисок, максималната јакост при свиткување и модулот на еластичност при свиткување според инструкциите во стандардот ISO5833:2002 по 24 часа од подготвување на примероците и по 28 дена стареење на примероци со инкубација на 37°C во Рингеров раствор, со што се имитираат физиолошките услови при имплантирање на цементот. Морфологијата на примероците тестирани со тестот на свиткување во 4 точки е анализирана со скенирачки електронски микроскоп.

Резултати: Додавањето на антибиотици во испитуваните формулации предизвика промени на испитуваните механички карактеристики на коскениот цемент. Сите испитувани формулации ги исполнуваат минималните критериуми за механичките карактеристики според стандардот ISO5833:2002 и можат да најдат клиничка примена како цементни формулации за фиксација на ендопротези. Ванкомицинот во поголема мера ги намалува механичките карактеристики на цементот и треба да се употребува со претпазливост, а меропенемот многу помалку влијае на нарушување на механичките карактеристики и може слободно да се употребува во дози од 1 g на 40 g ПММА при фиксација на ендопротези. Комбинацијата меропенем и ванкомицин во испитуваните дози е безбедна во однос на промена на механичките карактеристики на цементот.

Клучни зборови: коскен цемент, ПММА, ванкомицин, меропенем, механички карактеристики

Danica Popovska

Evaluation of the effect of vancomycin and meropenem on the mechanical properties of polymethylmethacrylate bone cement

ABSTRACT

Introduction: Infection is one of the most challenging complications of total joint replacement. Although rare, occurring in 0.5%-3% of cases, its consequences are debilitating and potentially fatal. The use of antibiotic – loaded polymethylmethacrylate (PMMA) bone cement is well established as a method of local delivery of high antibiotic doses for prevention of periprosthetic joint infection. But, with the increase of the prevalence of multiresistant bacterial strains in periprosthetic joint infections, there is a need for new types of antibiotics that would be used in antibiotic – loaded bone cements. Potential problem in introducing new antibiotics to the PMMA mixture is disruption of the mechanical properties of bone cement, which is intended for mechanical fixation of the joint implant.

Aim: To determine the mechanical characteristics of PMMA loaded with vancomycin, meropenem or combination of both antibiotics. To establish whether the tested formulations can be used in arthroplasty procedures without the mechanical integrity of the bone cement and the integrity of the entire construct being significantly affected.

Material and method: Compressive strength, bending modulus and bending strength were tested for commercially available PMMA bone cement loaded with 2,5% meropenem; 2,5% vancomycin, 1,25% vancomycin + 1,25% meropenem; and 2,5% vancomycin + 2,5% meropenem. Testing procedures were performed in compliance with international standard ISO5833:2002. Identical tests were repeated after cement samples aging for 28 days at 37°C in Ringer's solution in order to simulate aging in physiologic conditions after cement implantation. Morphology of 4 point bending samples was analysed after mechanical testing with scanning electron microscope.

Results: Compressive strength, bending modulus and bending strength of bone cement were affected by antibiotic loading. All tested groups met the mechanical characteristics requirement set by the international standard and may be considered for clinical use in arthroplasty procedures. Vancomycin exhibited greater influence on the tested mechanical properties and should be used with caution. Meropenem had lesser effect on these properties, allowing for more liberal use of the tested doses. Their combination is safe with regards to the mechanical properties of the bone cement.

Keywords: bone cement, PMMA, vancomycin, meropenem, mechanical properties

СОДРЖИНА

1.	ВОВЕД.....	7
1.1	ПРОБЛЕМОТ НА ИНФЕКЦИЈА ПРИ ПРОЦЕДУРИТЕ НА АРТРОПЛАСТИКА	7
1.1.1	<i>Биофилмот во патогенезата на перипростетичните инфекции</i>	8
1.2	АНТИБИОТИЦИ ВО ПРИМАРНА И СЕКУНДАРНА ПРЕВЕНЦИЈА НА ИНФЕКЦИИ ПРИ ПРОЦЕДУРИТЕ НА АРТРОПЛАСТИКА.....	9
1.2.1	<i>Периоперативна антибиотска профилакса</i>	10
1.3	КОСКЕНИОТ ЦЕМЕНТ КАКО НОСАЧ ЗА ЛОКАЛНА ДОСТАВА НА АНТИБИОТИК	10
1.3.1	<i>Хемиски состав на ПММА коскен цемент</i>	13
1.3.2	<i>Механички карактеристики на ПММА коскен цемент</i>	15
1.3.3	<i>Фармакокинетика на ослободувањето на антибиотикот од ПММА</i>	18
1.3.4	<i>Влијанието на антибиотикот врз механичките карактеристики на коскениот цемент</i>	18
1.3.5	<i>Избор на антибиотик за мешање со коскен цемент</i>	19
1.3.6	<i>Ванкомицин.....</i>	20
1.3.7	<i>Меропенем</i>	21
1.3.8	<i>Коскен цемент со двојна антибиотска комбинација</i>	23
1.4	УПОТРЕБА НА АНТИБИОТИК ВО АНТИБИОТСКИ ПММА СПЕЈСЕРИ ПРИ ТРЕТМАН НА ИНФИЦИРАНИ АРТРОПЛАСТИКИ	24
1.5	АНТИМИКРОБЕН ПММА КОСКЕН ЦЕМЕНТ БЕЗ АНТИБИОТИЦИ.....	24
2.	МОТИВ НА ИСТРАЖУВАЊЕ	26
3.	ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕ.....	27
4.	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ.....	28
4.1	ДИЗАЈН НА СТУДИЈАТА.....	28
4.2	ИСПИТУВАЊЕ НА МАКСИМАЛНАТА ЈАКОСТ НА ПРИТИСОК	29
4.3	ИСПИТУВАЊЕ НА МАКСИМАЛНАТА ЈАКОСТ НА СВИТКУВАЊЕ И МОДУЛОТ НА ЕЛАСТИЧНОСТ ПРИ СВИТКУВАЊЕ.....	32
4.4	МОРФОЛОШКА АНАЛИЗА НА ПРИМЕРОЦИТЕ ИСПИТУВАНИ СО ТЕСТ НА СВИТКУВАЊЕ ВО 4 ТОЧКИ.....	38
4.5	СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА	39
5.	РЕЗУЛТАТИ.....	41
5.1	ВРЕМЕ НА ПРЕМИНУВАЊЕ НА ЦЕМЕНТОТ ВО ТЕСТЕСТА СОСТОЈБА	41
5.2	РЕЗУЛТАТИ ОД ТЕСТИРАЊЕТО НА МАКСИМАЛНА ЈАКОСТ НА ПРИТИСОК.....	42
5.2.1	<i>Густина на испитуваните примероци</i>	42
5.2.2	<i>Максимална јакост на притисок</i>	43
5.3	РЕЗУЛТАТИ ОД ТЕСТОВИТЕ НА СВИТКУВАЊЕ ВО 4 ТОЧКИ	63
5.3.1	<i>Густина на испитуваните примероци</i>	63
5.3.2	<i>Одговор на испитуваните примероци на сили на свиткување</i>	65
5.3.3	<i>Модул на еластичност при свиткување (E)</i>	71
5.3.4	<i>Максимална јакост на свиткување (B)</i>	79
5.3.5	<i>Ефекти од инкубација врз модул на еластичност и максимална јакост на свиткување на коскен цемент без и со додадени антибиотици.....</i>	91
5.4	МОРФОЛОШКА АНАЛИЗА НА ПРИМЕРОЦИТЕ ТЕСТИРАНИ СО ТЕСТ НА СВИТКУВАЊЕ ВО 4 ТОЧКИ	98
5.4.1	<i>Морфолошка анализа на примероците тестирани по 24 часа</i>	98
5.4.2	<i>Морфолошка анализа на примероците тестирани по инкубација</i>	108

5.4.3	<i>Ефекти од инкубација</i>	114
6.	ДИСКУСИЈА	119
6.1	ВЛИЈАНИЕ НА НАЧИНОТ НА МЕШАЊЕ НА ЦЕМЕНТОТ ВРЗ НЕГОВИТЕ МЕХАНИЧКИ КАРАКТЕРИСТИКИ	128
6.2	ВЛИЈАНИЕ НА ИНКУБАЦИЈАТА ВРЗ МЕХАНИЧКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА КОСКЕНИОТ ЦЕМЕНТ	131
6.3	МОРФОЛОГИЈА НА КОСКЕНИОТ ЦЕМЕНТ ИЗМЕШАН СО АНТИБИОТИЦИ	137
6.4	МОДИФИКАЦИЈА НА МЕХАНИЧКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПММА КОСКЕН ЦЕМЕНТ СО ДОДАВАЊЕ НА ДРУГИ МАТЕРИЈАЛИ	145
7.	ЗАКЛУЧОЦИ	148
8.	КЛИНИЧКО ЗНАЧЕЊЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ	151
9.	РЕФЕРЕНЦИ	152
10.	ЛИСТА НА КРАТЕНКИ	165

1. ВОВЕД

1.1 Проблемот на инфекција при процедурите на артропластика

Артропластиката – ендопротетската замена на зглобовите, пред сè на колкот и коленото, е една од најчестите ортопедски операции. Бројот на примарни артропластики се очекува да расте со стареењето на популацијата. Како последица на ова, се очекува значително да се зголеми и бројот на процедури на ревизија на примарните импланти.

Инфекцијата, особено длабоката инфекција е една од најзначајните компликации на ендопротетската замена на зглобовите. Иако се работи за ретка компликација, со преваленца од 0,5% до 3%, нејзините последици се тешки и потенцијално може да доведе до смртен исход.¹ Кај артропластиката на коленото, инфекцијата е водечка причина за ревизија.² Со стареењето на популацијата, исто така се зголемува и бројот на пациентите со ризик фактори за постоперативна инфекција, како што се обезност и дијабет.³ Националниот регистар на зглобови на Обединетото Кралство покажал дека бројот на ревизии поради перипротетични инфекции пораснал од 140 во 2003 – тата, до над 1000 ревизии годишно во 2019, и покрај напорите насочени на намалување на инфекции.⁴ Данскиот регистар на зглобови покажал дека бројот на перипротетични инфекции може да е потценет за 33%.⁵

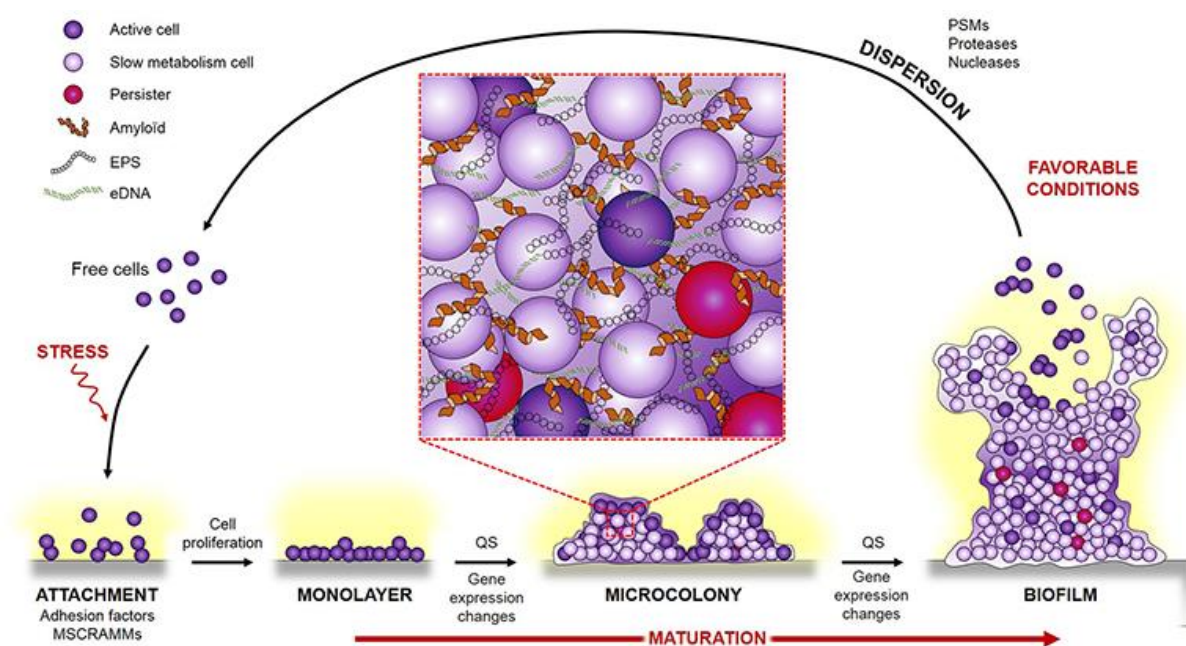
Дополнително на големиот морбидитет и морталитет кој го причинуваат перипротетичните инфекции, тие претставуваат значајно финансиско оптоварување на здравствените системи насекаде. Според студијата на Premkumar и соработниците, трошоците за лекување на перипротетичните инфекции во САД ќе станат 1,85 милијарди УСД до 2030 год, со континуиран раст кој се должи пред сè на зголемениот број артропластики, а не на зголемената инциденца на инфективните компликации.⁶ Други студии исто така го истакнуваат проблемот на економскиот товар од перипротетичните инфекции, со различни вредности во зависност од земјата и методологијата, но заедничко на сите е што ја истакнуваат важноста на превентивните стратегии во борбата со овие инфекции.⁶⁻⁸

Околу две третини од перипротетичните инфекции се предизвикани со интраоперативна инокулација на микроорганизми, а останатите со хематогена дисеминација или ширење per continuitatem. Во зависност од вируленцијата на овие микроорганизми, перипротетичните инфекции предизвикани со интраоперативна инокулација можат да се манифестираат рано (во тек на првите 4 недели од имплантацијата) или одложено (најчесто по 3 месеци до 3 години). Раните инфекции се предизвикани од високо вирулентни патогени, како *Staphylococcus aureus*, стрептококи и ентерококи, додека одложените најчесто се причинети од ниско вирулентни соеви, како што се коагулаза негативните стафилококи или *Cutibacterium* sp.⁹ Дополнителен проблем е тоа што овие инфекции во последно време сè почесто се предизвикани од високорезистентни бактериски соеви, како што е метицилин

резистентниот *Staphylococcus aureus* (MRSA), а во некои институции расте и преваленцата на мултирезистентни грам негативни бактерии.¹⁰

1.1.1 Биофилмот во патогенезата на перипростетичните инфекции

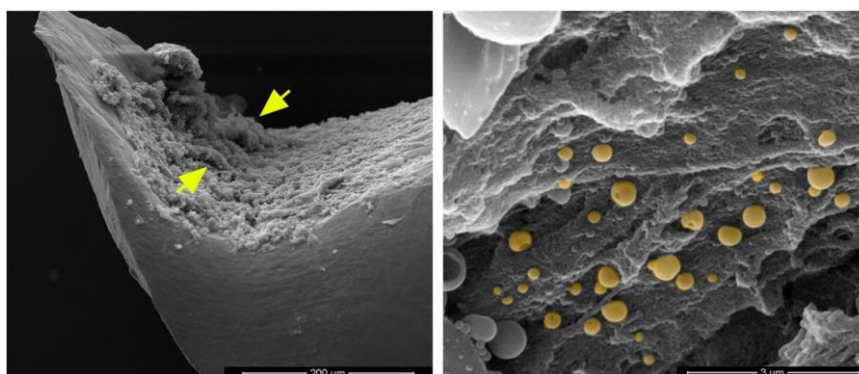
Кај ортопедските импланти, кои се однесуваат како туѓо тело, дури и мал број на бактерии можат да ја колонизираат површината. Најчесто, основен фактор кој ја отпочнува инфекцијата е моментот кога бактериите ќе ја нападнат површината на имплантот преку експресија на атхезивни протеини. Со тек на време оваа интеракција станува иреверзибилна поради бактериската продукција на екстрацелуларни соединенија (автоиндуктори кои делуваат како интер/интрабактериски сигнали) и секреција на комплексна смеса на соединенија и формирање на биофилм. Ваквите услови се погодни за раст и зреење на бактериски колонии и нивна дисперзија низ биофилмот, при што во него се создаваат шуплини за навлегување на хранливи материи.¹¹ (Слика 1-1)



Слика 1-1. Формирање на биофилм и „quorum sensing“. На сликата се прикажани четирите чекори во животниот циклус на биофилмот. Тој почнува со почетното прикачување на бактериите на имплантот (реверзибилна фаза) и се развива во иреверзибилно прикачување. Во овој период, иницијацијата на биофилмот е овозможена од атхезивни фактори, екстрацелуларна ДНК и протеази. Во следните фази се создава екстрацелуларен матрикс и биофилмот созрева. Во последните 2 чекори, постои меѓуклеточна комуникација помеѓу бактериските клетки, наречена quorum sensing (QS).¹² MSCRAMM – „microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules“; PSMs - phenol-soluble modulins; EPS – exopolysaccharides¹²

Во артропластиката биофилмот претставува комплекс од сесилни бактериски форми и екстрацелуларен полимерен матрикс, кој атхерира за имплантот. (Слика 1-2) Од овде, сесилните бактерии можат да се ослободат, да преминат во планктонска

форма и да најдат ново живеалиште. Бактериите во биофилмот од една страна механички се заштитени од продорот на одредени антибиотици во доволни концентрации, а од друга страна овие сесилни форми со мала репликативна активност се порезистентни на антибиотиците кои делуваат на фазите на репродукција. Минималните инхибиторни концентрации (МИК) на антибиотиците за сесилните бактерии се до илјада пати повисоки отколку за нивните планктонски форми, а тие се заштитени од одбранбените механизми на домаќинот со биофилмот.¹³ Затоа, во случаите на инфекција се потребни многу високи дози на парентерално администрирани антибиотици за да се постигне терапевтска концентрација во предел на имплантот. Овие дози се поврзани со системска токсичност и голем број несакани ефекти. Поради тоа, во ортопедската наука и пракса постојано се истражуваат алтернативни начини за достава на антибиотикот локално на местото на имплантите. Локалната апликација на антибиотик се смета за корисна и за превенција и за третман на ваквите инфекции.



Слика 1-2. Приказ на формирање на биофилм од *S. aureus* на ортопедски имплант *in vivo*. Титаниумски имплант отстранет од C57BL/6 глувци 45 дена по инфекција со *S. aureus* и обработен за анализа со скенирачки електронски микроскоп. Лево, формирањето на биофилм е видливо на конкавната површина на имплантот (оригинално зголемување 300x), при што е прикажана неправилната површина на биофилмот со структури во форма на кули (стрелки). Десно е прикажано поголемо зголемување на површината на биофилмот, што открива бројни коки расфрлани во матриксен материјал (оригинално зголемување 20000x). Сликата е псевдообоена за да ги потенцира коките на *S. aureus* (во златна боја).

1.2 Антибиотици во примарна и секундарна превенција на инфекции при процедурите на артропластика

Антибиотската терапија се користи за превенција на перипротетична инфекција и за третман кај инфицираните ендопротези.

1.2.1 Периоперативна антибиотска профилакса

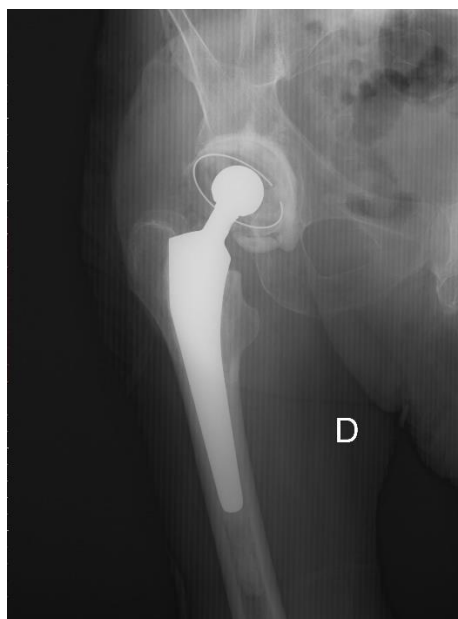
Периоперативната антибиотска профилакса се користи за да спречи интраоперативната контаминација со бактерии да се претвори во инфекција. За да биде ефикасна, потребно е добро темпирање, избор и дозирање на антибиотикот. Цефалоспорините од прва и втора генерација се препорачуваат во ортопедските упатства за антибиотска профилакса заради нивниот широк антимикиробен спектар, добриот безбедносен профил и лесното дозирање.¹⁴ Во студија која опфатила 29695 артропластики на колк и колено во една институција, Wyles и сор. утврдиле дека перипростетичните инфекции биле сигнификантно почести кога за профилакса биле употребени нецефалоспорински антибиотици.¹⁵ Ванкомицинот, кој сè почесто се користи како алтернатива на цефалоспорините, се покажал како помалку ефикасен во однос на нив во превенцијата на длабоките инфекции, за што делумно придонесува и неговото често субдозирање под препорачаните дози од 15mg/kg.¹⁶

За намалување на инциденцата на перипростетичните инфекции, предложени се и други режими на периоперативна антибиотска профилакса, како двојна антибиотска профилакса со додавање на аминогликозид – ванкомицин, или пак пролонгирање на периоперативната профилакса. Иако има студии кои ги покажуваат позитивните ефекти на ваквите режими, потребно е внимателно да се процени соодносот на користа со потенцијалните несакани ефекти за нивна примена.¹⁷

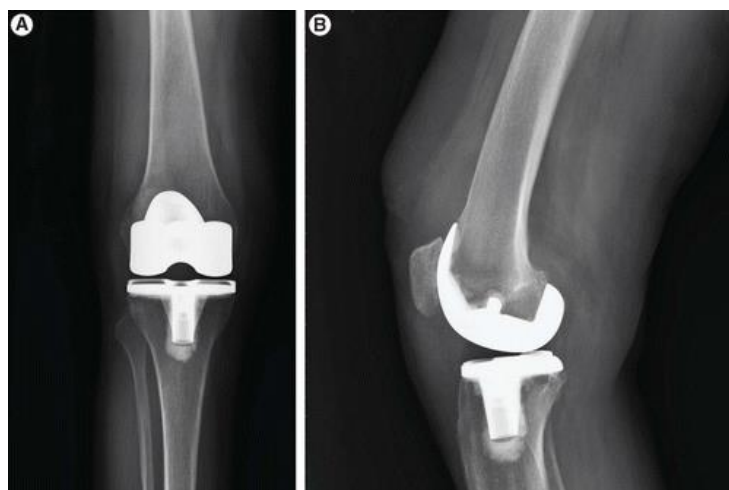
И покрај употребата на превентивната периоперативна профилакса, кај процедурите на тотална артропластика на зглобовите, одредени бактериски соеви, како *Staphylococcus* и *P. acnes* можат да формираат биофилм на површината на имплантот.¹⁸ Од овие причини, во полето на артропластиката фокусот е свртен кон локално и таргетирано антибиотско дејство. Во последните години постојат повеќе обиди за локална достава на антибиотик во предел на имплантот. Овие стратегии за локална апликација на антибиотикот вклучуваат антибиотска импрегнација на импланти со различни површини, ковалентно врзани комплекси антибиотик – титаниум, полиетилен со ултра висока молекуларна тежина со додаден витамин Е и коскен цемент со додаток на антибиотик.¹¹

1.3 Коскениот цемент како носач за локална достава на антибиотик

Коскениот цемент претставува полимер – полиметилметакрилат (ПММА), кој се користи за механичко поврзување на ендопротезата со коската при цементните артропластики (Слика 1-3, Слика 1-4). Ова настанува на тој начин што пред да се полимеризира и премине во цврста фаза, цементот навлегува помеѓу трабекулите на спонгиозната коска и создава механички композит од цемент и коска и ја поврзува коската со имплантот. Исто така, коскениот цемент се користи и за пополнување на коскени дефекти или мртов простор и во низа на други типови ортопедски интервенции.



Слика 1-3. Цементна ендопротеза на колк

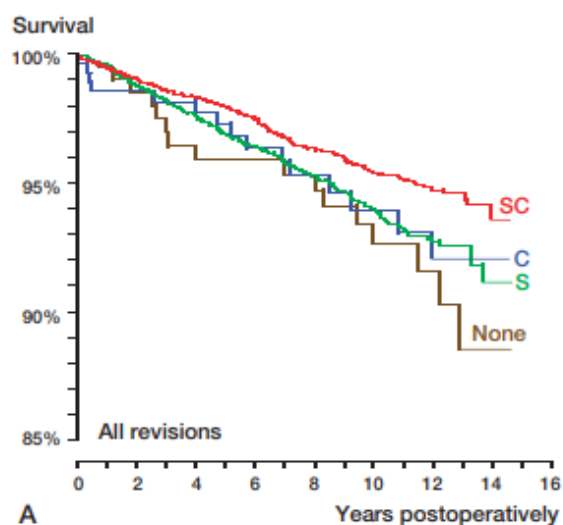


Слика 1-4. Цементна ендопротеза колено

Коскениот цемент има оптимална ригидност, што му овозможува да ги дистрибуира рамномерно силите кои делуваат врз коската. Тесната врска помеѓу цементот и коската и цементот и имплантот овозможува оптимално распоредување на стресот и напрегањата што се јавуваат на овие два интерфејса. Главната функција на цементот е да ги пренесува силите од коската на имплантот и обратно. За долготрајно преживување на имплантот, клучно е цементот оваа функција да ја задржи во големи временски раздобја. Доколку континуираните оптоварувања од надвор ја надминат способноста на коскениот цемент да ги пренесува и апсорбира силите, можно е настанување на негови фрактури од замор.

Додавањето на антибиотици во ПММА цементот започнало во 1969 година, кога Bucholz и Lodenkamper започнале истражувања за потенцијалот на ПММА да се користи како средство за апликација на лекови.¹⁹ Тие утврдиле дека гентамицинот е ефикасен во одржување на високи концентрации во тек на долг временски период и започнале да го користат за ревизии кај перипротетични инфекции и за профилакса кај примарна имплантација на ендопротези.

Употребата на антибиотици во ПММА цемент како метод за локално доставување на високи дози на антибиотик во ендопротетиката денес е вообичаена пракса. ПММА коскен цемент со гентамицин денеска е комерцијално достапен од бројни произведувачи и рутински се користи во ортопедските интервенции. Профилактичката употреба е зачестена по резултатите на студиите базирани на Норвешкиот регистар на артропластика, кои покажаа дека употребата на системски антибиотици заедно со ПММА со антибиотик при фиксација на ендопротезите кај тотална артропластика на колк води до помалку ревизии во однос на употребата само на системски антибиотик или само антибиотски коскен цемент.^{20,21} (Графикон 1-1) Повеќе студии покажуваат и дека ризикот за ревизија кај тотална артропластика е слична за цементни и бесцементни протези, но ризикот е поголем за цементните протези кај кои фиксацијата е извршена со коскен цемент без антибиотик.²²⁻²⁴



Графикон 1-1. Sox – прилагодени криви на преживување на ендопротези на колк со ревизии од сите причини. SC – антибиотска профилакса системски и во цементот; S – само системски; C – само во цементот; None – без антибиотска профилакса.

Репродуцирано со дозвола од ²¹, copyright © 2023, Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group, <http://www.tandfonline.com>

Но, со зголемувањето на преваленцата на мултирезистентни бактерии, ефикасноста на вообичаените формулации со гентамицин се намалува, поради што постои интерес за воведување на нови антибиотици.^{25,26} Проблем при користење на други антибиотици е нарушувањето на механичките карактеристики на цементот,

што претставува значаен предизвик кога цементот се користи за фиксација на ендопротеза на зглоб.²⁷

1.3.1 Хемиски состав на ПММА коскен цемент

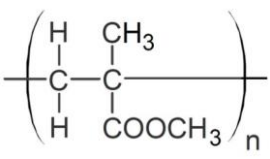
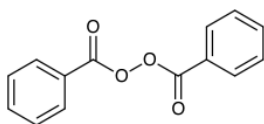
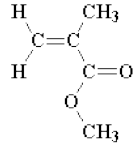
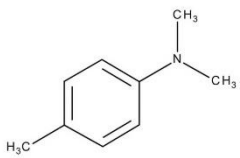
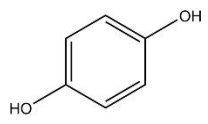
ПММА коскените цементи се двокомпонентни системи со течна и прашкаста компонента. Прашката компонента содржи ПММА и/или метакрилатни кополимери. Таа содржи бензоил пероксид (БПО) кој е иницијатор на полимеризацијата. Во неа е додадена и радиопаacificатор – циркониум диоксид (ZrO_2) или бариум сулфат ($BaSO_4$), а во одредени случаи и антибиотик, најчесто гентамицин. При полимеризација, радиопаacificаторот е рамномерно дистрибуиран во полимерниот матрикс, но не се интегрира во полимеризираните ланци. Во течната фаза главна состојка се метилметакрилатните (ММА) мономери (Слика 1-5). Овие мономери мораат да имаат способност за полимеризација, за што мораат да имаат двојна $C=C$ врска. Како активатор за формирање на нивни радикали, течната фаза содржи ароматичен амин, како што е N,N -dimethyl-p-toluidin – от (DmpT). Дополнително, таа содржи и инхибитор за спречување на прерана полимеризација во периодот на складирање, а некои цементи содржат и пигмент. Составните елементи се детално прикажани во Табела 1-1.

При мешањето на прашката и течната компонента, на собна температура започнува формирање на радикали од ММА мономерите. Прво настанува реакција помеѓу иницијаторот БПО и DmpT, при што, настанува разградување на БПО во редукциско – оксидативен процес со трансфер на електрони и создавање на бензоилни радикали со краток век. Овие радикали ја почнуваат полимеризацијата со тоа што се врзуваат за $C=C$ врската на ММА. Големiot број радикали овозможува создавање на голем број брзо растечки полимерни ланци.

На почетокот се создаваат голем број радикали, од кои брзо се генерираат брзо растечки полимерни ланци (Слика 1-5), кои достигнуваат молекуларни тежини од 100 000 до 1 000 000 g/mol. Со зголемување на вискозността на смесата, мобилността на мономерите се намалува, настанува рекомбинација на ланците, бројот на радикалите се намалува и полимеризацијата полака сопира.

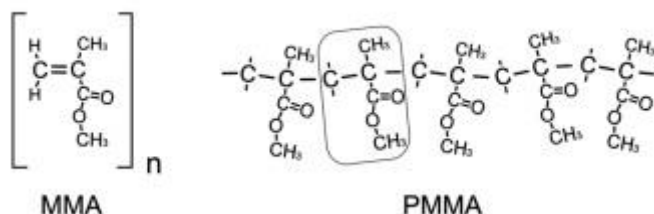
Полимеризацијата на радикалите е егзотермна реакција, која предизвикува зголемување на вискозността на смесата и раст на температурата. На секој мол ММА се ослободуваат 57kJ енергија. Ин витро се достигнуваат повисоки температури, но испитувањата покажале дека во предел на интерфејсот коска – цемент, максималните температури се движат од 40-46°C.²⁸

Табела 1-1. Состав и функција на компонентите на коскениот цемент

Компонента	Конституент	Име	Хемиска структура	Функција
Прашката компонента	Полимер	ПММА или ММА кополимери		Преформирани полимерни ланци во форма на зрнести микропартикли кои растат во присуство на активирани мономери
	Иницијатор	Бензоил пероксид		Иницијатор на полимеризацијата кој создава радикали што го промовираат растот на ланците
	Радиопацифikator	Бариум сулфат Циркониум диоксид	BaSO ₄ ZnO ₂	Овозможуваат набљудување со Ртг и дијагноза на разлабавување
	Адитиви	Антибиотик Боја Пластицизер Стврднувач	 Хлорофил Дициклохексил фталат	Спречува инфекција Подобра визуелизација при операција Зголемува вискозност Зголемува отпор
Течна компонента	Мономер	ММА		Основната единица на ПММА, која се активира во присуство на слободни радикали и ја промовира полимеризацијата
	Активатор	N,N-dimethyl-p-toluidin		Го активира бензоил пероксидот и овозможува создавање на радикали
	Инхибитор	Хидрокинон		Спречува прерана полимеризација при складирање
	Адитиви	Боја		Подобра визуелизација при операција

Коскениот цемент не се создава исклучиво од мономери, затоа што полимеризацијата би траела долго, намалувањето на волуменот би било големо, а генерирањето на топлина при егзотермната реакција би било неконтролирано. Волуменот на чисти ММА се намалува за 21% при нивна полимеризација. Со

користење на полимери во прашкастата компонента, ова смалување се редуцира на 6-7%, но порозноста на цементот го прави уште помало. Поради ова, рачно мешаните цементи го смалуваат волуменот во помала мера во однос на вакумски мешаните. Ова мало смалување на волуменот *ин vivo* се компензира со имбибиција со ткивна течност.



Слика 1-5. Хемиска структура на метилметакрилат (ММА) и полиметилметакрилат (ПММА)

Клинички фази во полимеризацијата на коскениот цемент

Вообичаено, при изведувањето на артропластика, двете компоненти се мешаат додека не добијат конзистенција на тесто, по што цементот се аплицира во обработената коскена шуплина, па имплантот се вметнува и полимеризацијата довршува *in situ*. Овој процес има неколку фази. Во **фазата на мешање**, прашкастата компонента се натопува со течната и се мешаат до постигнување на хомогеност. Во оваа фаза цементот е релативно течен, со ниска вискозност. Полимерите се малку и мобилни. Оваа фаза трае околу една минута. Во **фазата на чекање**, цементот достигнува соодветна вискозност преку физичко набабрување и пропагација на ланците. Цементот се трансформира во лепливо тесто. Се зголемува бројот на полимери и се намалува нивната подвижност. Следната фаза е **работна фаза**. Во оваа фаза цементот може да се аплицира во коскената шуплина и да се постави имплантот. Цементот не треба да биде леплив и неговата вискозност треба да е соодветна за поставување во соодветната локација. Во оваа фаза вискозноста се зголемува поради континуираната пропагација на полимерните ланци и започнува создавањето на топлина. Последната фаза е **фазата на стврднување**. Завршува примарниот раст на ланците и цементот се стврднува. Во оваа фаза се постигнува максимална температура.²⁹

1.3.2 Механички карактеристики на ПММА коскен цемент

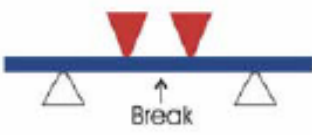
За цементот да ја извршува својата основна функција на трансфер на силите и оптоварувањата од имплантот на коската и обратно, тој мора да е компатибилен со околните ткива и да има соодветна јакост. Со оглед на тоа што силите кои се пренесуваат преку зглобот на колкот се високи (при од околу три пати повисоки од телесната тежина, до 8 пати повисоки при сопнување)³⁰, коскениот цемент е

подложен на големи оптоварувања и мора да функционира во релативно агресивната околина на телото.

Според податоците на Шведскиот Национален Регистер за Артропластика на Колк, најчестата причина за ревизија на тотална ендопротеза на колк е асептично разлабавување на имплантот.³¹ Со оглед на тоа што 93% од тоталните артропластики на колк во Шведска во испитуваниот период биле цементни, произлегува дека асептичното разлабавување е најчестата причина за пропаѓање на цементните импланти. Асептичното разлабавување кај една цементна артропластика настанува поради инсуфициенција на интерфејсот коска/коскен цемент или поради создавање на партикли од абеење (цемент, метал, полиетилен), кои во комбинација со хидрауличните ефекти во зглобот предизвикуваат остеолиза.

За карактеристиките на коскениот цемент да бидат контролирани, се користат меѓународни стандарди. Актуелниот стандард кој е во употреба е ISO5833:2002 Implants for surgery – Acrylic resin cements (импланти за хирургија – цементи од акрилна смола).³² Стандардот ги специфицира барањата за течната компонента (изглед, стабилност, точност на состав), за прашкастата компонента (изглед и точност на составот), за тестестата смеса (карактеристики на стврднување и интрузија), за пакувањето, како и одредени механички карактеристики на стврднатиот цемент (Табела 1-2).

Табела 1-2. Механички карактеристики на полимеризираниот коскен цемент според ISO5833:2002

Максимална јакост на притисок (MPa)	Модул на еластичност (MPa)	Максимално напрегање на свиткување (MPa)
≥ 70	≥ 1800	≥ 50
 тест на притисок	 Тест на свиткување во 4 точки	

Освен овие основни механички карактеристики, во телото цементот е подложен и на други типови сили, најчесто стрижни а поретко и сили на тензија. Испитувањата на голем број примероци од различни производители во низа различни студии утврдиле дека максималната затезна јакост на коскениот цемент е просечно 35.3 МПа, максималната јакост на смолкнување 42.2 МПа, максималната јакост на притисок 93.0 МПа, максималното напрегање на свиткување 64.2 МПа и модулот на еластичност 2552 МПа.^{33–35} Овие вредности варираат во однос на староста, порозноста, околината на чување на примерокот и други фактори. Ова значи дека

цементот е слаб при тензија, силен при компресија и има низок модул на еластичност во споредба со нерѓосувачки челик или кобалт – хром легура (200×10^3 МПа) или кортикална коска (20×10^3 МПа).³⁶ Поради ова, треба да се води сметка коскениот цемент да се постави на тој начин за оптоварувањето да биде со компресија секогаш кога е можно, како и да има поддршка од кортикална коска која ќе овозможи генерирање на компресивни сили и ќе ги ограничи затезните напрегања кои ги трпи цементот.

Коскениот цемент не е едноставен еластичен материјал, туку вискоеластичен полимер, поради што на долг рок се манифестираат и неговите вискоеластични својства – ползење (стеер), стрес релаксација и замор на материјалот.

Својството на ползење му дава на ПММА флексибилност во коската и овозможува бавна интрузија во шуплините на коската и по неговото стврднување. Затоа, ползењето има голема улога во оформувањето на интерфејсот коска/коскен цемент. Ползењето може да предизвика придвижување на цементот во различни правци. Стапката на ползење се намалува со стареење на цементот, а зависи од неговата околина и се зголемува со пораст на температурата и нивото на напрегање.³⁷

Стрес релаксацијата се дефинира како промена на стресот со тек на време при константно напрегање (деформација). Како и ползењето, се манифестира кај полимерите на телесна температура, за разлика од металите, кај кои се јавува над точката на топење. Молекуларниот процес кој предизвикува стрес релаксација е сличен како оној при настанување на ползењето. На стрес релаксацијата влијаат стареењето, условите од околината, температурата и нивото на напрегање. Таа настанува при сили на притисок, свиткување и истегнување. Во најголема мера со тек на време се намалуваат напрегањата при истегнување.

Заморот на материјалот е ефект од повторувани циклуси на оптоварувања под нивото на максималната јакост на тој материјал. Полимерите попуштаат под дејство на замор кога ќе се достигнат одреден број на циклуси на оптоварување. Со оглед на тоа што попуштањето под дејство на замор најчесто се јавува во точките со најголеми напрегања при истегнување, а ПММА има својство за брза стрес релаксација при истегнување, ова овозможува заштита на коскениот цемент во телот во фазите на повторувани оптоварувања при движење и фазите на одмор. Иако постои стандардизирана постапка за тестирање на заморот (ISO16402 – Implants for surgery – Acrylic resin cement- Flexural fatigue testing of acrylic resin cements used in orthopaedics)³⁸, постојат многу прашања по кои не е постигнат консензус во врска со методот и условите на ова тестирање и не постојат референтни вредности за овие карактеристики. При одење, пациентот ја подложува ендопротезата на колк во просек на 2 милиони циклуси оптоварување годишно.³⁹ Тестирањето со динамичко оптоварување поблиску ги имитира физиолошките услови во однос на конвенционалното статичко тестирање. Но, и ваквите тестови не го земаат во предвид периодот на стрес релаксација во периодите кога пациентот не е активен, а кои делумно го неутрализираат ефектот на заморот.

1.3.3 Фармакокинетика на ослободувањето на антибиотикот од ПММА

ПММА е нерастворлив во вода полимер, што во теорија би значело дека молекулите на лекови растворливи во вода содржани во неговата структура (во случајов антибиотици) не би требало да можат да се раствораат и ослободуваат и вакви лекови би се ослободувале само од површината која е во директен контакт со течноста. Но, ПММА има интринзична порозност, која се создава при мешањето на цементот и заробувањето на воздушни меурчиња во смесата, кои комплетно не се ослободуваат во тек на полимеризацијата. Оваа порозност е поголема при рачно мешање на цементот, а се намалува при мешање со вакуум. Се смета дека порозноста ја намалува јакоста на ПММА. Од друга страна, таа овозможува навлегување на течност и ослободување на лековите од длабочината на цементот со нивно растворање и дифузија. Во последно време се истражува потенцијалот на поразени материји (на пр. ксилитол или биоактивно стакло) да ја зголемат порозноста на ПММА и да го олеснат ослободувањето на антибиотикот, без значајно да ги нарушат механичките карактеристики. Самиот антибиотик исто така делува како поразен, па повисоките дози овозможуваат подобро ослободување на антибиотикот.

Ослободувањето на антибиотикот од ПММА започнува со почетно нагло растворање на антибиотикот од површината на цементот, која е во директен контакт со течноста. По ова следи постепено ослободување на лекот од длабочината на полимерот, кое почнува со апсорпција на течност во порите и растворање на лекот во таа течност. Од овде, лекот со дифузија се движи кон тивната течност околу ПММА зависно од концентрацискиот градиент. Повеќе студии кои ги мереле концентрациите на антибиотик ослободени од ПММА инкубиран во течност утврдиле дека најчесто антибиотикот се ослободува во мерливи концентрации во период од 30 дена. Утврдено е дека ослободувањето зависи од:⁴⁰

1. Молекуларните интеракции помеѓу антибиотикот и ПММА, кои е утврдено дека не создаваат проблеми, освен во специфични ситуации, како кај амфотерицин Б, кој се врзува за ПММА и не се ослободува (што се надминува со липозомски формулации);
2. Површината на ПММА која е во контакт со околната течност (поголема површина – поголемо нагло ослободување) и
3. Дали цементот е подложен на оптоварување или не.

1.3.4 Влијанието на антибиотикот врз механичките карактеристики на коскениот цемент

При додавање на антибиотик во ПММА цемент, тој се додава во прашкастата компонента пред додавањето на течната компонента. При процесот на полимеризација, антибиотикот најчесто не се вклучува во реакцијата, туку останува дисперзиран во полимерната смеса. Додадениот антибиотик ги менува механичките карактеристики на коскениот цемент. Ослабувањето на механичките карактеристики е право–пропорционално со количината на додадениот антибиотик. Според

искуствата на Ендо Клиниката во Хамбург, антибиотикот кој се инкорпорира рачно во цементот не смее да надмине удел од 10% во смесата, а потребни се истражувања за да се утврдат точните количини кои ќе обезбедат добро ослободување на антибиотикот и прифатлив губиток на механички карактеристики на ПММА цементот.⁴¹

Има голем број студии кои го испитувале влијанието на различни типови антибиотици врз со различни дози врз механичките карактеристики на цементот, при што најиспитуван е гентамицинот. Различни студии покажуваат различни ефекти на антибиотикот врз цементот, од незначителна промена на механичките карактеристики до сигнификантна редукција.⁴² Но, на овие различни резултати влијаат неколку фактори – типот на цемент, типот и количината на антибиотикот, начинот на мешање на антибиотикот и припрема на цементот и методологијата на тестирање. Ванкомицинот на пример, се разликува од гентамицинот по тоа што претставува анамфотерна супстанца со голема молекуларна тежина. Поради ова, може да делува на полимеризацијата на ПММА и да предизвика создавање на полимерни ланци со помала молекуларна тежина. Според истражувањата на Topoleski и сор, попуштањето на цементот со антибиотик започнува со формирање на антибиотски агломерати, кои делуваат како засилувачи на стресот.⁴³ Антибиотик со поголеми молекули, како ванкомицинот, може да го засили овој ефект.

Во литературата постојат контрадикторни резултати за механичките карактеристики на цементот со неговото стареење. Looney и сор. утврдиле дека јакоста на цементот се зголемува во првите 1-2 недели по стврднувањето.⁴⁴ Според Miola и сор., компресивната сила на цемент со антибиотик е поголема по 14 дена во однос на почетокот пред ослободување на антибиотикот.⁴⁵ Тие оваа појава ја објаснуваат со можната доцна полимеризација и стврднување и други процеси по стврднувањето. Од друга страна, Auye и сор. утврдиле намалена механичка сила и зголемен замор на ПММА цементот со тек на време.⁴⁶ Тие сметаат дека со стареењето на коскениот цемент, истовремено се одвиваат три процеси: во цементот се одвива тековна полимеризација, што му ја зголемува силата; неполимеризираниот мономери и други супстанции дифундираат надвор од цементот; водата и ткивната течност пенетрираат навнатре. Кај цементот со антибиотик, ослободувањето на антибиотикот е четвртиот процес, кој може да му ја намали механичката сила. Во ова истражување, ќе испитаме во колкава мера овој процес влијае на механичките карактеристики на цементот.

1.3.5 Избор на антибиотик за мешање со коскен цемент

Доза на антибиотик

Дозата на антибиотик која се става во цементот зависи од целта за која се користи. Таа е примарно определена од влијанието врз механичките карактеристики на цементот, наспроти терапевтската ефикасност. Во случаи кога цементот се користи во терапевтски цели, за лекување на инфекција, се препорачува да се додадат 3.6g

антибиотик на 40g ПММА за да се обезбедат терапевтски концентрации на лекот.⁴⁷ За профилактички ефект, се препорачува да се употреби ниска доза од 1g антибиотик на 40g цемент, што е помалку веројатно да ги наруши механичките карактеристики на цементот.⁴⁸

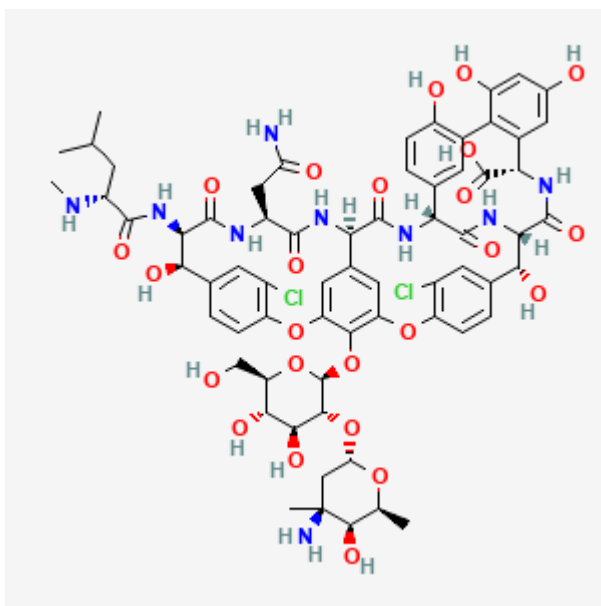
Карактеристики на антибиотикот

Сите антибиотици не се погодни за мешање со коскен цемент. Има низа на критериуми кои треба да бидат задоволени за антибиотикот успешно да се инкорпорира и подоцна да се ослободи од цементот:

1. Да биде стабилен на висока температура – полимеризацијата на ПММА е егзотермна реакција која произведува температура од 60°C – 80°C и може да предизвика деградација на антибиотикот.⁴⁹ Продуктите на деградација, кои настануваат при изложување на овие високи температури не смеат да бидат токсични соединенија.
2. Да биде во цврста форма – течните антибиотици се ослободуваат од цементот во високи концентрации, но значително ги нарушуваат механичките карактеристики на цементот, понекогаш до степен на негова физичка дезинтеграција.⁴⁷ Влијанието на антибиотиците во цврста форма треба да биде испитано, за да се гарантира дека е задоволен ISO стандардот за механичките карактеристики на цементот.
3. Да биде ефективен против микроорганизмите кои најчесто предизвикуваат перипротетични инфекции (да има широк спектар), особено против метицилин – резистентен *Staphylococcus aureus* (MRSA) и грам негативни аеробни бацили.⁵⁰
4. Да биде растворлив во вода – ослободувањето на антибиотикот од цементот зависи од пенетрирањето на околната ткивна течност во цементниот матрикс, големината и бројот на порите во цементот и растворливоста на антибиотикот.⁵¹
5. Да биде ефективен во мали дози - иако дозата на антибиотик која се додава во цементот (1g на 40g) е избрана за да се сочуваат механичките карактеристики на ПММА, оваа доза од различни антибиотици не е еквипотентна. 1 g гентамицин (чија интравенска доза е 240mg/24h) нема исто дејство како 1 g амоксицилин (со и.в. доза 3000mg/24h). Поради тоа, потребно е да се одберат антибиотици кои се ефективни во ниски дози.

1.3.6 Ванкомицин

Ванкомицинот е трицикличен гликопептиден антибиотик со бактерициден ефект, кој се остварува преку инхибиција на полимеризацијата на пептидогликаните во сидот на бактериската клетка. Оваа инхибиција го ослабнува сидот на клетката и предизвикува истекување на интрацелуларните компоненти, што резултира со смрт на бактериската клетка. Ванкомицинот делува само на грам – позитивни бактерии, и тоа MRSA, стрептококи, ентерококи и метицилин – осетлив *S. aureus* (MSSA).⁵²

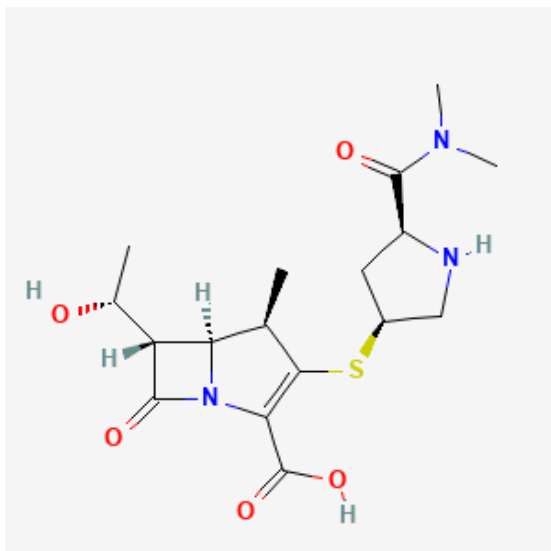


Слика 1-6. Хемиска структура на ванкомицин.

Ванкомицинонот (Слика 1-6) е молекула со слаб позитивен полнеж (формален 0) и молекуларна тежина од 1449.3 g/mol.⁵³ Тој е стабилен на температурите кои се создаваат при полимеризацијата на коскениот цемент и при изложување на овие температури неговата активност против *S. aureus* не се намалува.⁵⁴ Неговото ослободување од ПММА настанува со почетен наплив во првите четири часа, следено од нагло опаѓање до деветтиот ден и континуирано константно ослободување пред повторното постепено намалување до 30 – тиот ден.⁵⁵ Ваквото трифазно ослободување на антибиотикот од ПММА е типично за поголем број антибиотици и се должи на тоа што првичното нагло ослободување настанува од површината на ПММА, а подоцна со навлегување на ткивната течност во порите на цементот настанува ослободување на диспергираниот антибиотик од внатрешноста на цементот. Според студијата на Снир и сор., ванкомицин додаден во ПММА има минимална инхибиторна концентрација од 1,25 µg/mL за MRSA и *S. epidermidis*, 0,4 µg/mL за ванкомицин резистентни ентеробактерии (BPE) и 125 µg/mL за *E. coli* и *K. pneumoniae*, со време на инхибиција на раст 8 ± 0.5 дена за MRSA и 19 ± 1.9 дена за *S. epidermidis*, додека растот на BPE, *E. coli* и *K. pneumoniae* не бил инхибиран.⁵⁶

1.3.7 Меропенем

Меропенемот е антибиотик со широк спектар, кој спаѓа во групата на карбапенемите. Тој претставува карбапенемкарбоксилна киселина, со молекуларна тежина 383,5 g/mol. (Слика 1-7) Претставува прашкаста супстанција која е умерено растворлива во вода.⁵⁷



Слика 1-7. Хемиска структура на меропенем.

Бактерицидната активност на меропенемот се должи на инхибиција на синтезата на клеточниот сид. Меропенемот го поминува клеточниот сид на повеќето Грам – позитивни и Грам – негативни бактерии и се врзува за пеницилин – врзувачките протеини (ПВП). Најголем афинитет има за ПВП 2, 3 и 4 кај *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* и ПВП 1, 2 и 4 кај *Staphylococcus aureus*.⁵⁷

Меропенемот е отпорен на хидролиза од повеќето β – лактамази, вклучително и ESBL (Extended-spectrum beta-lactamases) и AmpC β – лактамази, но може да биде осетлив на карбапенемази, како што се метало - β – лактамаза, серин карбапенемаза и оксацил – линази со карбапенемазна активност. Но, за создавање на сигнификантна резистенција на меропенем, потребно е да има најмалку два механизми на резистенција, како намалена пермеабилност или прекумерна експресија на ефлуксни пумпи за лекот.⁵⁸

Меропенемот покажува добра активност против повеќе клинички релевантни ентеробактерии (*Citrobacter freundii*, *C. koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* и *Serratia marcescens*), вклучително и соевите кои продуцираат ESBL и AmpC. Добра активност има и против *Haemophilus influenzae* и *Neisseria meningitidis*, со 99-100% подложност на соевите. За *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и *Burkholderia cepacia* осетливоста е 71,5-76,4%. Меропенемот има добра активност и против Грам – позитивни бактерии, како што се метицилин – сензитивен *Staphylococcus aureus*, оксацилин – сензитивен *S. epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* и стрептококите од група вириданс, како и одредени анаеробни бактерии (*Clostridium difficile*, *C. perfringens*, and *Peptostreptococcus sp.* и *Prevotella sp.* осетливост 100%; *Bacteroides fragilis*, осетливост 89%).⁵⁸

Меропенемот има низок степен на деградација при изложување на високи температури и во цврста и во растворена форма. Според студијата на Schmid и сор., во процесот на полимеризација на коскениот цемент, настанува деградација на 7% до 29% од додадениот меропенем, во зависност од типот на употребениот цемент, што

укажува дека тој може да биде додаден во ПММА без сигнификантен губиток на активноста.⁵⁹

Galvez – Lopez и сор. евалуирале различни комбинации на ПММА со антибиотик и утврдиле дека кај повеќето се следи типичниот трофазен модел на ослободување со нагло ослободување во првите 24 часа, проследено со нагол пад во ослободувањето и финална фаза со стабилно ослободување со мал постојан пад до крај на експериментот. Тие нашле три различни профили на кинетика на ослободувањето. Ванкомицинот, гентамицинот, моксифлоксацинот и рифампицинот на почетокот постигнале повисок пик и имале константна кинетика во 30 – дневниот период. Меропенемот, даптомицинот, ертапенемот и цефотаксимот постигнале помал врв на почетокот и имале побрз пад на ослободувањето меѓу третиот и триесеттиот ден, но ослободените концентрации биле над минималните инхибиторни концентрации (МИК) за осетливите микроорганизми. Ампицилинот и цефепимот имале минимално ослободување, со концентрации пониски од МИК. Присуството на антибиотик не делувало сигнификантно на компресивната сила на цементот, која се задржала над 70МПа, освен за рифампицинот (42,9 МПа).⁵⁵

1.3.8 Коскен цемент со двојна антибиотска комбинација

Употребата на два антибиотика во коскениот цемент може да има синергистичко дејство, чиј механизам не е комплетно проучен. Се смета дека дел од ова дејство може да се припише на т.н. пасивен опортунизам.⁶⁰ Употребата на комбинација од два антибиотика во коскениот цемент води до повисоки стапки на ослободување на антибиотиците во споредба со употреба на истите поединечно. Се смета дека кога има два антибиотика, нивното ослободување создава во цементот повеќе пукнатини и празнини, што го зголемува ослободувањето и на преостанатите антибиотски честичи.⁶¹ Два антибиотика можат да имаат и синергистичко дејство, кое ја зголемува нивната бактерицидна ефикасност. Bertazzoni Minelli и сор. споредиле спејсери со гентамицин плус ванкомицин и спејсери само со гентамицин и покажале дека комбинацијата е поефективна во справувањето со инфекцијата од гентамицинот.⁶² Комбинацијата на аминогликозид (гентамицин или тобрамицин) со ванкомицин има синергистички ефект кој се задржува во коскениот цемент и при нивно ослободување во ткивата во активна форма.

Andollina и сор. ги испитувале карактеристиките на ослободување и бактерициден ефект на комбинација на ванкомицин и меропенем од ПММА цемент. Според оваа студија, ослободувањето на антибиотиците не се променило за комбинацијата во однос на употребата на поединечен антибиотик. Бактерицидната активност варираше во зависност од видот на микроорганизам. Бактерицидната активност против стафилококите била ефективна во сите формулации и дозно зависна. Ентерококите биле елиминирани и од поединечните формулации, но побрз одговор бил добиен кога се користела комбинација. Комбинацијата на меропенем и ванкомицин била ефективна во превенција на раст на *E. coli* и *Pseudomonas*.⁶³

Клиничките податоци исто така покажуваат дека употребата на двојна антибиотска комбинација може да биде поефективна во примарна и секундарна превенција на перипростетичните инфекции во однос на употребата на коскен цемент со еден антибиотик.^{64–66}

1.4 Употреба на антибиотик во антибиотски ПММА спејсери при третман на инфицирани артропластики

При третман на перипростетични инфекции, коскен цемент со антибиотик се користи како спејсер по вадење на ендопротезите во првата фаза на случаите на двофазен третман на перипростетичната инфекција. Двофазниот третман се смета за третман на избор кај напреднати перипростетични инфекции. Со оглед на тоа што спејсерите се привремено решение и овде цементот не се користи за трајна фиксација и долготрајно оптоварување, биомеханичките карактеристики на ПММА се помалку важни. Поради ова, овде можат да се користат поголеми концентрации на антибиотици. Во вакви случаи се прифатливи дози од 2g до 8g антибиотик на 40g ПММА за пролонгирано и ефективно ослободување на антибиотикот.⁶⁷ Вакви дози овозможуваат ослободување на антибиотик високо над минималните инхибиторни концентрации за повеќето патогени, почнувајќи од неколку часа па во тек на првите денови од имплантацијата.⁶² Паз и сор. утврдиле дека вакви високи дози ги нарушуваат биомеханичките карактеристики на спејсерот.⁶⁸ Иако има изолирани студии кои покажуваат дека ослободениот антибиотик има инхибиторно дејство и до 3 месеци по имплантацијата, генерално не се препорачува задржување на спејсерот над 8 недели, затоа што по овој период концентрацијата на антибиотикот во ПММА се намалува и концентрацијата на ослободениот антибиотик паѓа под минималните инхибиторни концентрации.⁶⁹

1.5 Антимикробен ПММА коскен цемент без антибиотици

Иако ПММА со антибиотици има низа предности во спречувањето и третманот на перипростетичните инфекции, постојат одредени проблеми кои тешко се надминуваат, како што се развојот на резистенција на достапните антибиотици, ограниченото ослободување на антибиотикот од цементот и нарушувањето на механичките карактеристики на цементот. Поради тоа, во последните години се прават истражувања за откривање на други материи со антимикробно дејство, кои би можеле да се инкорпорираат во ПММА со мала цитотоксичност, добар фамакокинетски профил на ослободување и без значајни негативни ефекти на механичките карактеристики на цементот.

Постојат поголем број *in vitro* студии кои истражуваат различни типови на антимикробни агенси додадени во ПММА, како што се различно формулирани сребрени нанопартикли, биоактивно стакло ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-Ag}_2\text{O}$)

обработено на различни начини, хитозан, кватернизиран етилен гликол диметакрилат пиперазин октил амониум јодид, органски пропилпарабенски нанопартикли, златни нанопартикли, графен оксид, N – acetyl – cysteine и други биоактивни материји. Повеќето од овие студии покажуваат добра инхибиторна активност против различни бактериски соеви, хомогена распределба на испитуваните нанопартикли низ ПММА, добра биокомпатибилност со остеоцитни и остеобластни култури и задоволителни механички карактеристики на вака обработениот ПММА. Дополнително, користењето на биоактивни супстанции, како графен, хитозан или биоактивно стакло доведува до одредени процеси на остеоинтеграција кои недостасуваат кај ПММА. Меѓутоа, нема доволно студии кои ги споредуваат овие задоволителни резултати со ПММА со антибиотик и кои би ги прикажале евентуалните предности на овие нови формулации. Голем број од студиите имаат различни ограничувања поради кои внимателно треба да се интерпретираат позитивните резултати.⁷⁰

Ин виво тестовите на модел на зајаци покажале дека сребрените наночестици имаат антиминобен ефект на цементната површина, но партиклите не се ослободувале од цементот и немале антиминобни ефекти во околината.⁷¹ Друга студија на модел на зајаци покажала дека ПММА со кватернизиран хитозан инхибирал настанување на инфекција по инокулација со МРСА и укажала дека кватернизираниот хитозан има потенцијал во спречување на инфекцијата ин виво.⁷²

Најдовме само една студија на луѓе, спроведена од Алт и соработниците.⁷³ Тие имплантирале спејсери од гентамицин – ПММА со и без сребрени нанопартикли кај 12 пациенти со перипростетични инфекции и утврдиле дека ваквите спејсери се безбедни од аспект на концентрацијата на сребро во крвта, урината и дренажната течност, но не можеле да донесат заклучоци во однос на ефикасноста во третманот на инфекцијата.

Иако досегашните испитувања за неорганските (особено сребрените нанонопартикли) и органските антиминобни агенци се ветувачки, потребни се понатамошни истражувања за да се утврдат карактеристиките на различните формулации и да се провери нивниот ин виво ефект. Комбинацијата на антибактериска и биоактивна фаза е особено привлечна, со оглед на тоа што овозможува поврзување со коскено то ткиво и ја ограничува атхезијата и пролиферацијата на бактериите. Овде особено треба да се проверат механичките карактеристики на таквиот композит, како и неговата ин виво ефикасност.

2. МОТИВ НА ИСТРАЖУВАЊЕ

Инфекцијата е една од најзначајните компликации на ендопротетската замена на зглобовите. Додавањето на антибиотици во коскениот цемент, кој се користи при цементните артропластики е веќе воспоставен начин за примарна и секундарна превенција на инфекција. Но, со појавата на инфекции со мултирезистентни бактериски соеви, се наметнува потребата од користење на понови генерации на антибиотици. Поновите студии покажуваат и дека комбинациите на два антибиотика во цементот можат да имаат синергистичко дејство при превенцијата на инфекцијата.

Додавањето на антибиотик во цементот предизвикува промена на неговите механички својства, кои ја обезбедуваат неговата основна функција – пренос на силите од коската на имплантот и обратно. Оваа промена зависи од типот на антибиотикот и неговата концентрација во цементот. Со ова истражување би сакале да додадеме нови сознанија за влијанието на ванкомицинот и меропенемот врз механичките карактеристики на коскениот цемент, со што би утврдиле колкави концентрации можат да се употребат и би создале упатства за безбедна употреба на овие антибиотици, како и нивна комбинација при процедурите на артропластика.

3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕ

1. Да се одреди влијанието на додавање на ванкомицин врз механичките карактеристики на ПММА коскен цемент.
2. Да се одреди влијанието на додавање на меропенем врз механичките карактеристики на ПММА коскен цемент.
3. Да се одреди влијанието на додавање на комбинација од ванкомицин и меропенем врз механичките карактеристики на ПММА коскен цемент.
4. Да се утврди дали испитуваните дози на овие антибиотици можат безбедно да се додадат во коскениот цемент при процедури на артропластика, без да се наруши механичкиот интегритет на цементот и со тоа на целата конструкција.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

4.1 Дизајн на студијата

Беше спроведена експериментална студија, во која беа испитани механичките карактеристики на комерцијално достапен коскен цемент Smart Set Endurance™ MV од производител DePuy Synthes, во кој беа додадени меропенем и ванкомицин во форма на прашак. За сите примероци беа употребени пакувања на коскен цемент од истата производна серија, со LOT 3684077.

Беа направени и тестирани следните формулации:

1. Само испитуваниот ПММА цемент - **група ПММА**
2. 40г ПММА со 1г ванкомицин – **група В 2,5%**
3. 40г ПММА со 1 г меропенем – **група М 2,5%**
4. 40г ПММА со 0.5г ванкомицин + 0.5г меропенем – **група ВМ 2,5%**
5. 40г ПММА со 1г ванкомицин + 1г меропенем – **група ВМ 5%**

За сите формулации беше испитана максималната јакост на притисок, максималната јакост на свиткување и модулот на еластичност при свиткување.

По инкубацијата испитуваните групи се означени со предзнакот **ИНК**.

Табела 4-1. Состав на Smart Set Endurance™ MV

Прашката компонента	Удел
Polymethyl Methacrylate (%w/w)	67,05
Methyl Methacrylate / Styrene Copolymer (%w/w)	21,10
Methyl Methacrylate / Methyl Acrylate Copolymer (%w/w)	-
Benzoyl Peroxide (%w/w)	1,85
Barium Sulphate (%w/w)	10,00
Течна компонента	
Methyl Methacrylate (%w/w)	98,00
N,N-Dimethyl-p-toluidine (%w/w)	≤ 2,00
Hydroquinone (ppm)	75

Smart Set EnduranceTM MV е коскен цемент со средна вискозност, со средно време на стврднување од 16,5 минути на 19°C. Тој претставува двокомпонентен систем, со течна и прашкаста компонента, чиј состав е прикажан во Табела 4-1. Течната компонента е стерилизирана со мембранска филтрација и спакувана во стерилна стаклена ампула. Прашката компонента е сместена во полиетиленска ќеса и е стерилизирана со гама зрачење.

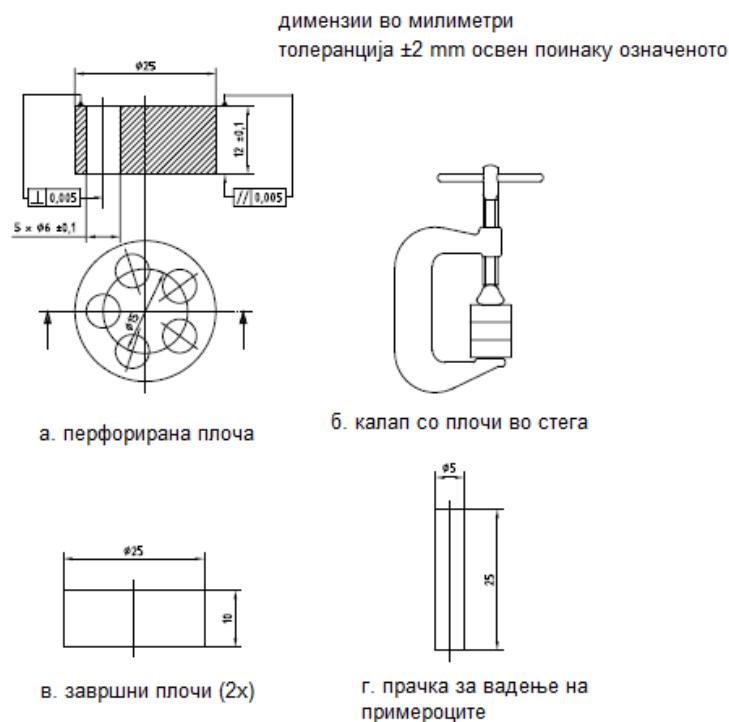
4.2 Испитување на максималната јакост на притисок

Тестовите беа направени според инструкциите во стандардот ISO5833:2002, Анекс Е.³² Според стандардот, минималната вредност на максималната јакост на притисок изнесува 70МПа.

За секоја група, беа подготвени по 18 примероци, од кои 9 беа предвидени за тестирање 24±2 часа по подготвувањето, а 9 за тестирање 28±2 дена по подготвувањето.

Од нерѓосувачки челик беа подготвени калапи за подготовка на примероците според спецификациите во стандардот ISO5833:2002, претставени на Слика 4-1. **Компоненти на калапот за подготовка на примероците за тестирање на максимална јакост на притисок**

Испитуваниот ПММА беше подготвен за леење во калапите според инструкциите на производителот. Мешањето на цементот и иницијалната полимеризација беше направена во стерилни услови, на температура од 23±1°C. Во групите со антибиотик, во прашката фаза од коскениот цемент беше додаден и измешан антибиотскиот прашок, а потоа се додаваше течната компонента од цементот. Кога веќе смесата не се лепеше на сува латекс ракавица без талк, коскениот цемент во фаза на тесто беше втиснат во претходно подготвени калапи од нерѓосувачки челик, кои беа притиснати со покровни плочи со стеги и оставени еден час за цементот да се стврдне, по што примероците беа обработени со абразивна хартија и извадени од калапите.



Слика 4-1. Компоненти на калапот за подготовка на примероците за тестирање на максимална јакост на притисок

Примероците за испитување на максималната јакост на притисок се цилиндри со дијаметар $6(\pm 0,1)$ mm и висина $12(\pm 0,1)$ mm. (Слика 4-2. А. Калапи за подготовка на примероци за тестирање. Б. Цилиндрични примероци со дијаметар 6mm и височина 12mm од групата ПММА. В. Примероци од групата ИНК В 2,5% по инкубацијата) Доколку имаше видливи дефекти на некој од цилиндрите, тие беа отстранети од групата за тестирање. Вкупно 4 вакви примероци беа отфрлени и не беа тестирани (по еден од ПММА и ВМ 5% и 2 примерока од ВМ 2,5%)



Б.



В.

Слика 4-2. А. Калани за подготовка на примероци за тестирање. Б. Цилиндрични примероци со дијаметар 6mm и височина 12mm од групата ПММА. В. Примероци од групата ИНК В 2,5% по инкубацијата

Групите предвидени за тестирање за 24 часа беа чувани на воздух, на температура од $23\pm 1^{\circ}\text{C}$.

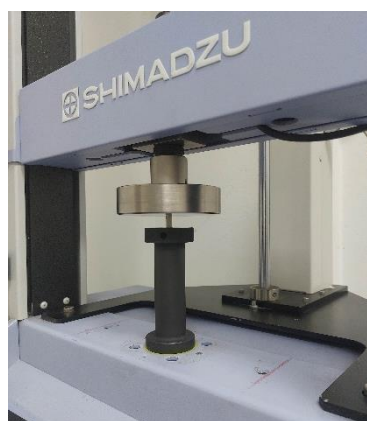
Групите предвидени за тестирање по четири недели беа ставени во затворени садови со 15mL Рингеров раствор и инкубирани на температура од $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ во тек на целиот период од 28 дена. На 7 дена беше правена замена на Рингеровиот раствор со нови 15mL раствор. Точно на 29-тиот ден по подготовката на примероците, тие беа извадени од инкубаторот, Рингеровиот раствор беше отстранет и примероците беа оставени да се сушат најмалку еден час пред тестирањето.

На сите примероци со шублер им беа измерени по два перпендикуларни дијаметри на две нивоа, односно вкупно четири дијаметри, од кои беше пресметан просечниот дијаметар и површина на цилиндрите. Сите примероци беа измерени на вага. За сите примероци беше пресметан волуменот и им беше одредена густината како однос на масата и волуменот.

Тестирањето на максималната јакост на притисок беше изведено со машина за испитување на материјали од марка SHIMADZU, тип AGS-X, со мерно подрачје 10 kN со брзина од 0.001-1000 mm/min, во лабораторијата за тестирање механички карактеристики на Машинскиот факултет при Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ Скопје. (Слика 4-3) Сите тестови беа изведени со стапка од 23 mm/min. Тестовите беа направени на температура од 23°C . За секој тестиран примерок беа собрани податоци за силата (N) и помест (деформација, mm) во временски интервали од 0,01s од почнувањето до завршувањето на тестот и од нив беа изведени вредностите за максималното напрегање во МПа (N/mm^2). На Слика 4-4 е претставен графикон на сила и помест во тек на тестирањето по 24 часа на примерокот бр. 4 од групата ПММА.



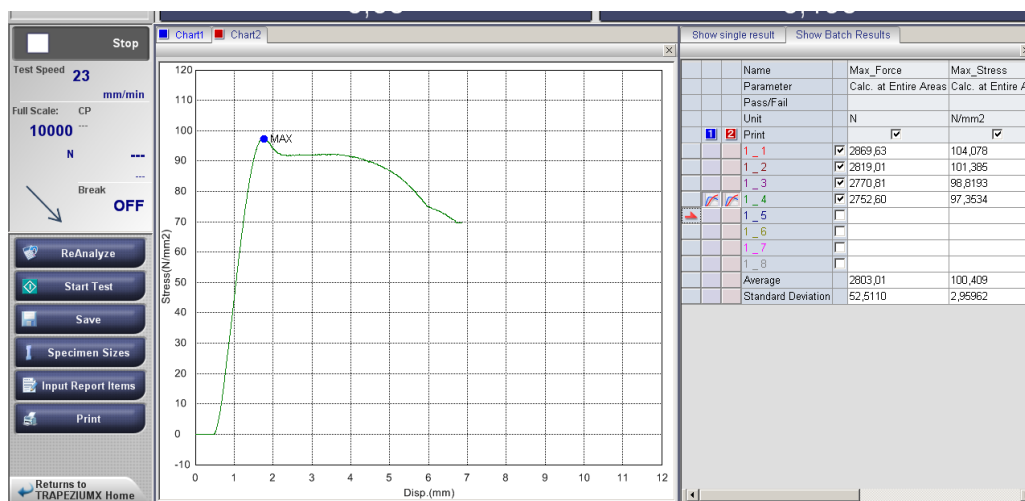
А.



Б.

Слика 4-3. А. Shimadzu AGS – X машина за тестирање материјали. Б. Примерок поставен за тестирање на максимална јакост на притисок.

Доколку во тек на тестирањето на примероците се појавеше девијација (на пр. излетување од машината пред постигнување на максималната сила), тој примерок беше отфрлен од анализата. Вакви примероци имаше вкупно 2, тестирани по 24 часа, по еден од групите В 2,5% и М 2,5%).

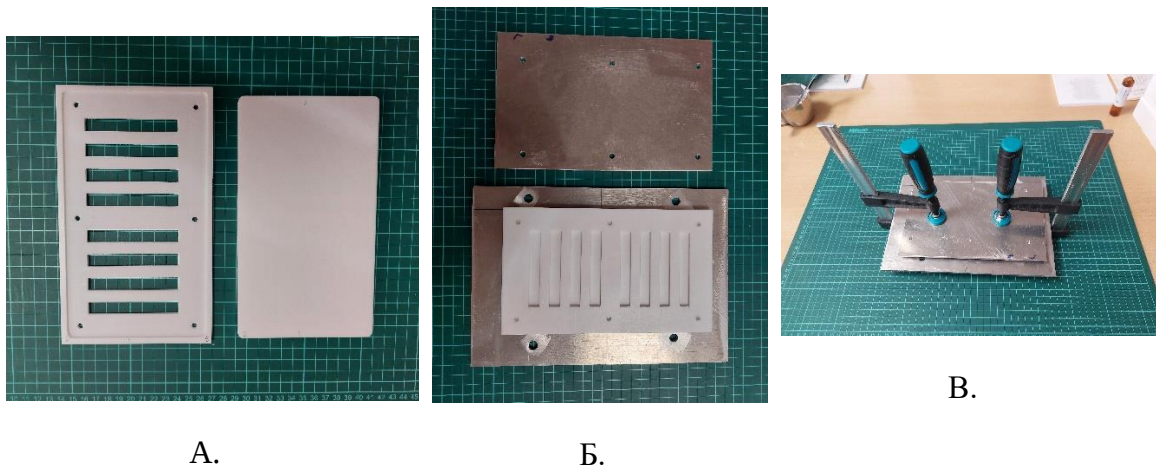


Слика 4-4. Графикон на сила и помест за примерок бр. 4 од групата ПММА.

4.3 Испитување на максималната јакост на свиткување и модулот на еластичност при свиткување

Тестовите беа направени според инструкциите во стандардот ISO5833:2002, Анекс Ф.³² Според стандардот, минималната вредност на максималната јакост на свиткување треба да изнесува 50 МПа, а модулот на еластичност треба да биде поголем или еднаков на 1800 МПа.

За подготовка на примероците за тестирање, беа направени калапи од тефлон (политетрафлуороетилен - ПТФЕ), со алуминиумски и тефлонски покровни плочи, кои беа обложени со полиестерска фолија. (Слика 4-5)



Слика 4-5. А. Тефлонски калап за 8 примероци. Б. Калап со алуминиумски покровни плочи. В. Полн калап притиснат со стеги, кој треба да стои еден час пред вадење на примероците.

За секоја група, беа подготвени по 20 примероци, од кои беше предвидено по минимум 8 да бидат тестирани 24 ± 2 часа по подготвувањето и 28 ± 2 дена по подготвувањето. Стандардот ISO5833:2002 предвидува тестирање 24 часа по подготовката, додека тестирањето по инкубација и подоцна добиените вредности не се опфатени со стандардот.

Испитуваниот ПММА беше подготвен за леење во калапите според инструкциите на производителот. Мешањето на цементот и иницијалната полимеризација беше направена во стерилни услови, на температура од $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Во групите со антибиотик, во прашкастата фаза од коскениот цемент беше додаден и измешан антибиотскиот прашок, а потоа се додаваше течната компонента од цементот. Кога веќе смесата не се лепеше на сува латекс ракавица без талк, коскениот цемент во фаза на тесто беше втиснат во претходно подготвени калапи, кои беа притиснати со покровни плочи со стеги и оставени еден час за цементот да се стврдне, по што примероците беа обработени со абразивна хартија до точните димензии и извадени од калапите. Примероците кои имаа дефекти во полнењето или отстапуваа многу од пропишаните димензии беа отфрлени и само правилните примероци беа употребени во испитувањето.

Примероците за испитување на максималната јакост на свиткување и модул на еластичност се призми со должина $75(\pm 0,1)$ mm, ширина $10(\pm 0,1)$ mm и дебелина $3,3(\pm 0,1)$ mm. (Слика 4-6)

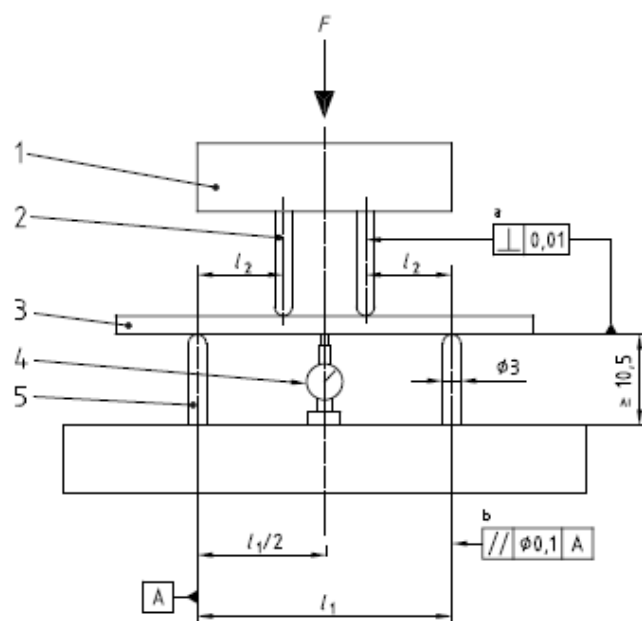


Слика 4-6. Примероците од групата ВМ 2,5%, подготвени за тестирање

Групите предвидени за тестирање за 24 часа беа чувани на воздух, на температура од $23\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Групите предвидени за тестирање по четири недели беа ставени во затворени садови со 40mL Рингеров раствор и инкубирани на температура од $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ во тек на целиот период од 28 дена. На 7 дена беше правена замена на Рингеровиот раствор со нови 40mL раствор. Точно на 29-тиот ден по подготовката на примероците, тие беа извадени од инкубаторот, Рингеровиот раствор беше отстранет и примероците беа оставени да се сушат најмалку еден час пред тестирањето.

На сите примероци со шублер им беше измерена должината. Ширината и дебелината им беа измерени на по три мерни места. Од овие вредности беше пресметана просечната дебелина и ширина. Сите примероци беа измерени на вага. За сите примероци беше пресметан волуменот и им беше одредена густината како однос на масата и волуменот.

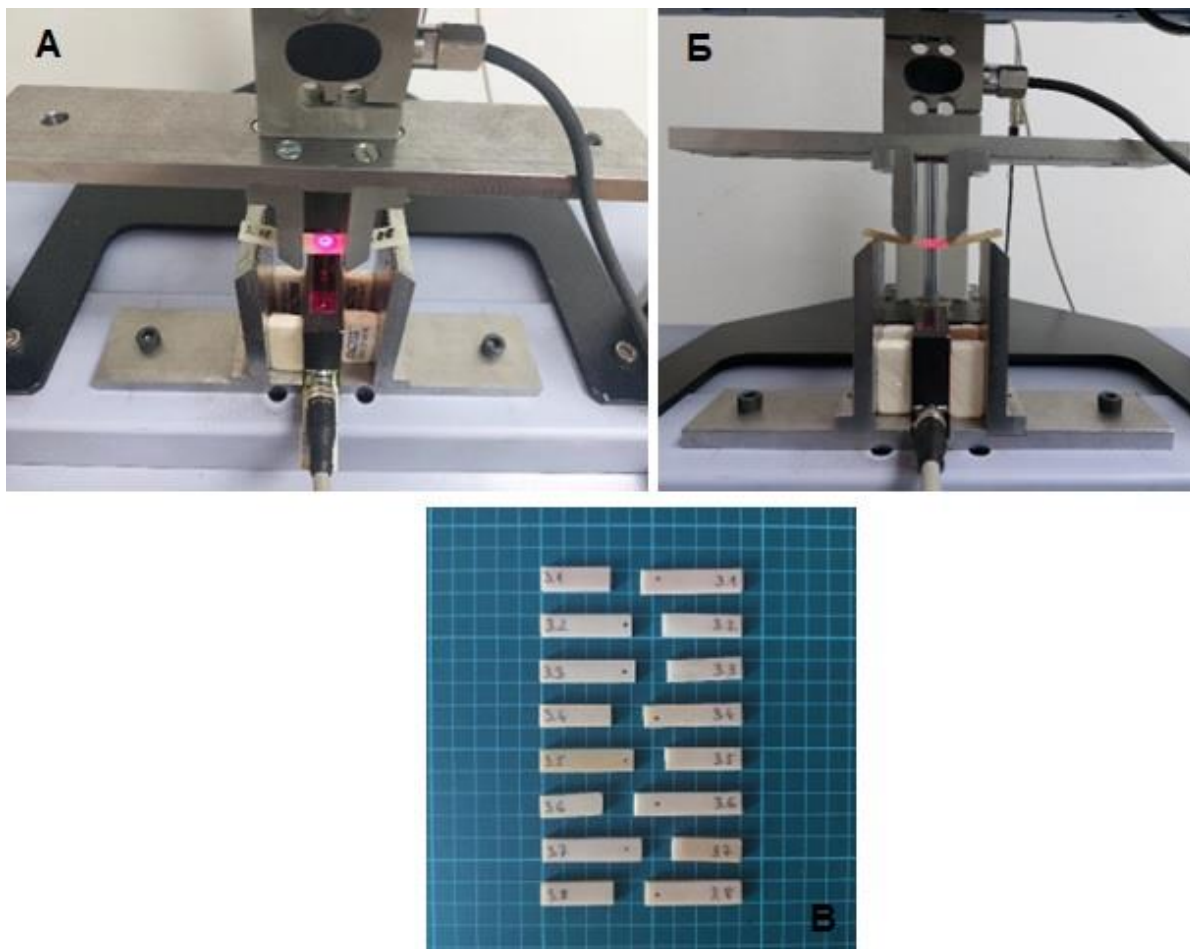


Легенда

- 1 централна преса
- 2 внатрешни точки на оптоварување
- 3 испитуван примерок
- 4 мерач на дефлексија
- 5 надворешни точки на оптоварување
- F сила
- l_1 растојание меѓу надворешните точки на оптоварување ($60 \pm 1 \text{ mm}$)
- l_2 растојание меѓу внатрешните точки на оптоварување ($20 \pm 1 \text{ mm}$)
- a сите точки на оптоварување
- b помеѓу точките на оптоварување

Слика 4-7. Шематски поставки на тестот и апаратот за изведување на тестот на свиткување во четири точки.

Тестирањето на максималната јакост на свиткување и модулот на еластичност беше изведено со машина за испитување на материјали од марка SHIMADZU, тип AGS-X, со мерно подрачје 10 kN со брзина од 0.001-1000 mm/min, во лабораторијата за тестирање механички карактеристики на Машинскиот факултет при Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ Скопје. (Слика 4-3, Слика 4-8) Сите тестови беа изведени со стапка од 5 mm/min. Дефлексијата беше мерена со сензор со точност од 10 nm. Тестовите беа направени на температура од 23°C. За секој тестиран примерок беа собрани податоци за силата (N) и помест (дефлексија, mm) во временски интервали од 0.01s од почнувањето до завршувањето на тестот и од нив беа пресметани вредностите за максималната јакост на притисок и модул на еластичност во МПа (N/mm^2). Шематските поставки на тестот и апаратот со поставен примерок за тестирање се претставени на Слика 4-7.



Слика 4-8. А. Примерокот В 2,5% бр.18 во тек на тестирање. Б. Тестирање на примерокот ИНК ВМ 2,5 бр.5. В. Примероците од групата ИНК М 2,5% по тестирањето.

Ваквите поставки на тестот со свиткување во 4 точки овозможуваат униформно дејство на силите на свиткување на целата површина на примероците помеѓу внатрешните точки на оптоварување.

Модулот на еластичност при свиткување се пресметуваше во мегапаскали по следната формула:

$$E = \frac{\Delta F a}{4 f b h^3} \cdot (3l^2 - 4a^2)$$

Каде:

f е разликата помеѓу дефлексиите при оптоварување од 15N и 50N, во mm;

b е просечната ширина на примерокот во mm;

h е просечната дебелина на примерокот во mm;

l е растојанието помеѓу надворешните точки на оптоварување (60mm);

ΔF е опсегот на оптоварување (50N-15N=35N);

a е растојанието помеѓу надворешните и внатрешните точки на оптоварување (20 mm).

Максималното напрегање на свиткување, B , се пресметуваше во МПа по следната формула:

$$B = \frac{3Fa}{bh^3}$$

Каде:

F е силата при кршење во Њутни;

b е просечната ширина на примерокот во mm;

h е просечната дебелина на примерокот во mm;

a е растојанието помеѓу надворешните и внатрешните точки на оптоварување (20 mm).

Во тек на тестирањето на примероците од групата В 2,5%, се покажа значителна разлика во однос на останатите групи во поглед на стандардната девијација, односно за поединечните примероци добивме резултати со голема варијабилност, кои не се очекуваат во експеримент со контролирани услови, што не беше случај со групите ПММА и М2,5%. Со оглед на тоа што единствениот фактор за кој сметавме дека може да влијае на појавата на вакво отстапување е ванкомицинот, ова испитување го повторивме со модифицирана постапка. Ванкомицинот употребен во ова истражување е прашак со крупни гранули во вид на снегулки, со димензии од по неколку милиметри. За повторуваното испитување овој ванкомицин го иситнивме до степен да нема крупни партикли поголеми од 1 mm, со толчење во тек на неколку минути. Потоа ја додадовме прашкастата компонента на цементот и ги мешавме рачно три минути, по што ја додадовме течната компонента и понатаму ја продолживме стандардната постапка.

Испитувањето на вака подготвените примероци даде резултати чии варијации беа слични со варијациите на останатите две групи, поради што вака подготвените примероци беа инкубирани, а групите ВМ 2,5% и ВМ 5% беа подготвени со ваква постапка.

Резултатите од испитувањето на двете групи В 2,5%, подготвени на различен начин и тестирани по 24 часа се вклучени во понатамошните анализи, за да го прикажеме ефектот од постапката на мешање на ванкомицинот. Првата подготвена група со голема стандардна девијација е означена со *В 2,5%. Дизајнот на студијата и ограничувањето на ресурсите не овозможија ваква група да биде тестирана по инкубација и при тестирање на максимална јакост на притисок.

4.4 Морфолошка анализа на примероците испитувани со тест на свиткување во 4 точки

Морфолошката анализа на испитаните примероци беше извршена во Лабораторијата за електронска микроскопија на Факултетот за природни и технички науки, Универзитет „Гоце Делчев“ Штип.

За испитувањата беше употребен електронски микроскоп за оптичко скенирање модел TESCAN VEGA3 LMU. (Слика 4-9) Електронскиот микроскоп за оптичко скенирање постигнува резолуција до 2 nm. Како извор на електрони користи Волфрамова жица (катода). Покрај детекторите за секундарни електрони (SE) и повратните електрони (BSE), овој микроскоп е опремен и со енергетско-дисперзивен спектрометар (EDS). EDS е поврзан со INCA 250 EDS софтвер. Може да детектира хемиски елементи од Be до Pu, амаксимална резолуција е 125 eV (мерена согласно ISO 15632:2002).



1. Извор на електрони
2. Колона
3. SE детектор
4. BSE детектор
5. IR камера
6. EDS детектор
7. Комора за примероци

Слика 4-9. Електронски микроскоп за оптичко скенирање модел VEGA3 LMU со основните составни компоненти.

За морфолошка анализа беа употребени по два примерока од секоја испитувана група пред и по инкубацијата. Примероците беа поставени на носачи, на кои беше залепена јаглеродна двострано леплива трака, на која се прицврстува примерокот. Примероците беа напарени со злато (Au). Потоа беа поставени во комората на микроскопот (Слика 4-10).



Слика 4-10. 6 примероци поставени во комората на микроскопот за тестирање.

Анализата на скршената површина се вршеше во висок вакуум, со BSE детекторот, а по потреба беше правена хемиска анализа во точка со EDS спектрометарот.

Беше извршена анализа на примероците со зголемување 30x, 200x и 800x, а по потреба и со поголемо зголемување.

4.5 Статистичка анализа

Статистичката анализа на податоците беше извршена со програмата XLSTAT (Lumivero (2024). XLSTAT statistical and data analysis solution. <https://www.xlstat.com/en>.)

Добиените податоци беа внесени во база на податоци во Excel. Нивната обработка беше извршена со стандардни дескриптивни и аналитички методи. Добиените резултати беа прикажани графички.

Нумеричките податоци беа анализирани со мерки на централна тенденција и со мерки на дисперзија на податоците.

Нормалната распределба на варијаблите беше испитана со тестот на Shapiro – Wilk. Во групите каде немаше нормална распределба, вредностите кои отстапуваат (outliers) беа испитани со Grubbs – ов тест и отстранети по соодветна процедура.

Хомогеноста на варијансите беше испитана со тестот на Levene.

Разликите помеѓу групите беа тестирани со анализа на варијанса (Fisher's ANOVA или Welch ANOVA, во зависност од хомогеноста на варијансите). За испитување на разликите помеѓу поединечните групи беше користен Tukey HSD (Honestly Significant Difference) post hoc тест кога беше исполнет условот за хомогеност на варијансите и Games – Howell post hoc тестот при хетерогени варијанси.

Ефектите од инкубацијата на примероците беа анализирани со t – тест за зависни примероци.

Нивото на статистичка значајност беше дефинирано на 5% ($\alpha=0,05$).

Резултатите се прикажани табеларно и графички. Резултатите од СЕМ анализата се прикажани како оригинални и обработени СЕМ микрографии.

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1 Време на преминување на цементот во тестеста состојба

Времето од моментот на истурање на течната во прашкастата компонента до преминување во тестеста состојба (моментот кога смесата престанува да се лепи на сува латекс ракавица без талк) за температура од 22°C е прикажано во Табела 5-1.

Табела 5-1. Време на премин на смесата во тестеста состојба со добиените вредности за z - тест на испитуваните групи во однос на ПММА.

Група	Време на премин во тестеста состојба	z	p
ПММА	4'49''		
М 2,5%	4'45''	0,02	0,492
В 2,5%	4'45''	0,02	0,492
ВМ 2,5%	4'33''	0,09	0,464
ВМ 5%	4'15''	0,19	0,4625

Разликите во времето на преминување во тестеста состојба помеѓу различните групи се минимални. Овие разлики беа тестирани со z-тест и не беа статистички значајни.⁷⁴ Додадените антибиотици во испитуваните дози не предизвикуваат значајни промени во времето на премин во тестеста состојба, односно не интерферираат со отпочнувањето на полимеризацијата.

5.2 Резултати од тестирањето на максимална јакост на притисок

5.2.1 Густина на испитуваните примероци

Вкупниот број на тестирани и анализирани примероци со нивната просечна густина се прикажани во Табела 5-2. Распределбата на податоците е тестиран со тестот на Shapiro – Wilk. Сите групи имаа нормална распределба по однос на густината.

Табела 5-2. Густина на примероците (mg/mm³) наменети за тестирање на максимална јакост на притисок

Испитувана група	Бр. на примероци	Минимум	Максимум	Аритметичка средина	SD	Shapiro-Wilk P value
ПММА	8	1,150	1,279	1,216	0,042	0,993
В 2,5%	8	1,090	1,239	1,187	0,047	0,246
М 2,5%	8	1,090	1,239	1,173	0,052	0,551
ВМ 2,5%	10	1,170	1,219	1,202	0,017	0,116
ВМ 5%	8	1,150	1,229	1,188	0,030	0,517
ИНК ПММА	9	1,170	1,258	1,223	0,026	0,607
ИНК В 2,5%	9	1,170	1,270	1,220	0,031	0,994
ИНК М 2,5%	8	1,150	1,268	1,213	0,040	0,793
ИНК ВМ 2,5%	8	1,140	1,268	1,204	0,042	0,975
ИНК ВМ 5%	8	1,179	1,269	1,223	0,031	0,089

Анализата на варијанса покажа дека нема значајни разлики во густината на примероците од различните групи (Табела 5-3), што укажува на хомогеноста на изработка на примероците. 18% од варијабилноста на густината може да се припише на додавањето на антибиотиците (коефициент на детерминација $R^2=0,182$).

Табела 5-3. ANOVA за густината на примероците за тестирање на максимална јакост на притисок

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	9,000	0,022	0,002	1,831	0,077	.
Error	74,000	0,099	0,001			
Corrected Total	83,000	0,121				

Computed against model $Y=Mean(Y)$

*Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1*

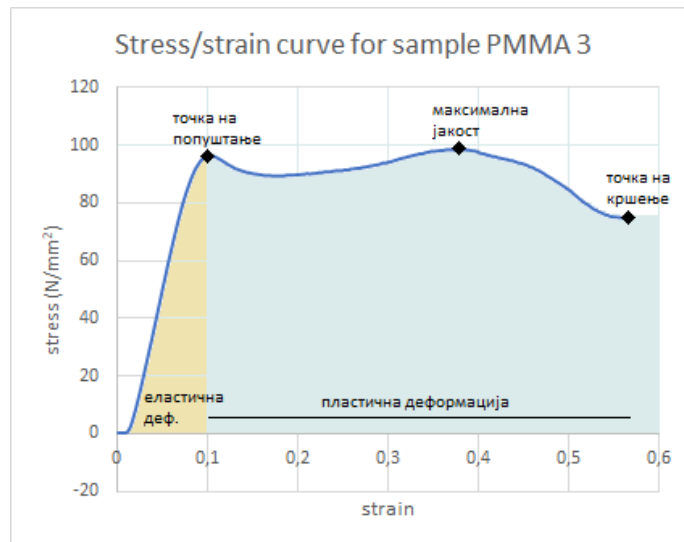
5.2.2 Максимална јакост на притисок

Табела 5-4 ја прикажува силата (N) употребена во тек на тестирање на примероците, од која понатаму е пресметана максималната јакост на притисок како однос помеѓу силата и површината на основата на цилиндарот (N/mm^2 , односно МПа).

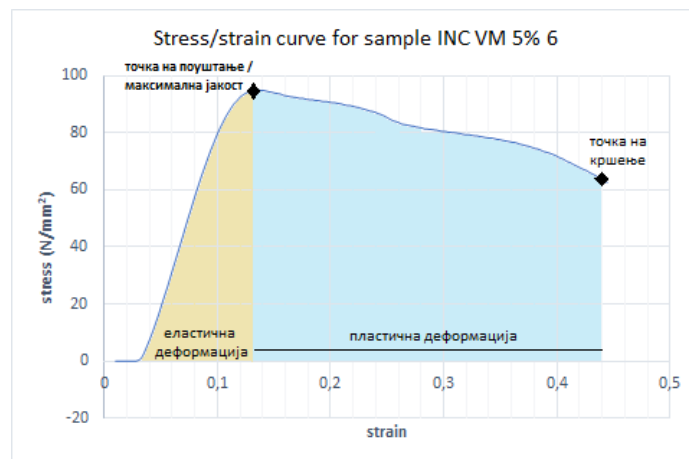
Табела 5-4. Вредности за силата (N) во точката на попуштање при тестирањето на максималната јакост на притисок.

Испитувани групи	Бр. на примероци	Минимум	Максимум	Аритметичка средина	SD
ПММА	8	2616,910	2869,630	2759,131	79,506
В 2,5%	8	2366,550	2646,500	2517,819	96,329
М 2,5%	8	2327,820	2595,320	2460,633	76,533
ВМ 2,5%	10	2474,620	2675,480	2543,867	60,954
ВМ 5%	8	2378,350	2530,960	2478,169	44,634
ИНК ПММА	9	2804,530	3173,360	2997,146	114,880
ИНК В 2,5%	9	2435,820	2923,160	2714,238	170,689
ИНК М 2,5%	8	2683,890	2874,070	2817,656	65,098
ИНК ВМ 2,5%	8	2686,600	2863,870	2777,875	59,842
ИНК ВМ 5%	8	2361,650	2770,270	2607,455	122,583

Stress/strain односот за примерокот бр. 3 од групата ПММА, како типичен пример за однесувањето на примероците на притисок, е претставен на Графикон 5-1. Првиот дел на кривата до точката на попуштање е линеарен и се однесува на еластичната деформација на примерокот. Кога ќе се достигне напрегањето на точката на попуштање, силата паѓа и започнува пластична деформација на примерокот, придружена со лесно покачување на стресот до точката на максимална јакост, по што настанува нагло деформирање на материјалот со пад на силата сè до кршењето на примерокот. Кај некои примероци точката на попуштање коинцидира со точката на максимална јакост, односно во тек на пластичната деформација на примерокот не се постигнува поголема сила од силата во точката на попуштање, како на пример кај примерокот бр. 6 од групата ИНК ВМ 5%. (Графикон 5-2) Анализите на примероците се направени со вредностите добиени во точката на попуштање, затоа што таа коинцидира или се јавува прва во однос на точката на максимална јакост.



Графикон 5-1. Stress/strain однос за примерок бр. 3 од групата ПММА

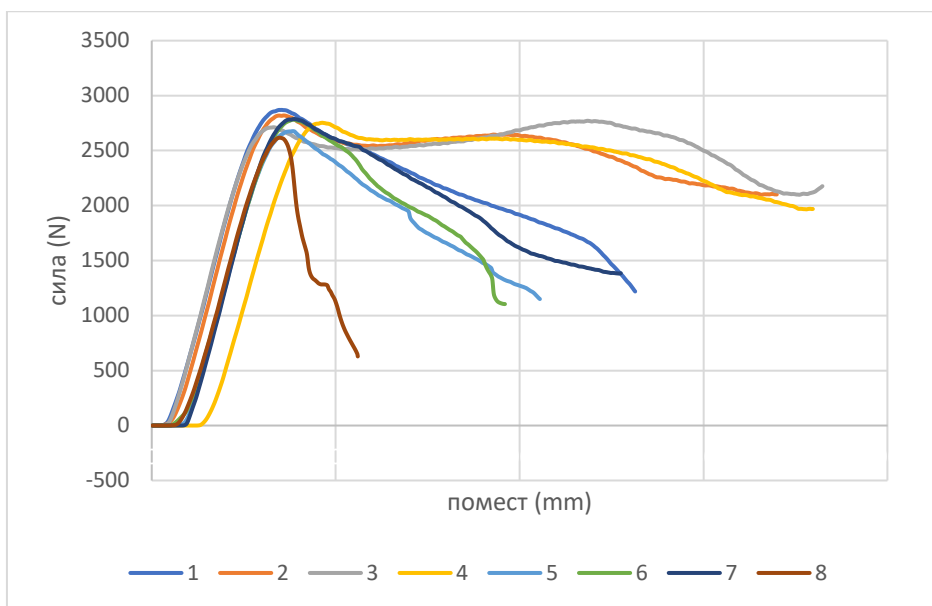


Графикон 5-2. Stress/strain однос за примерок бр. 6 од групата ИНК ВМ 5%

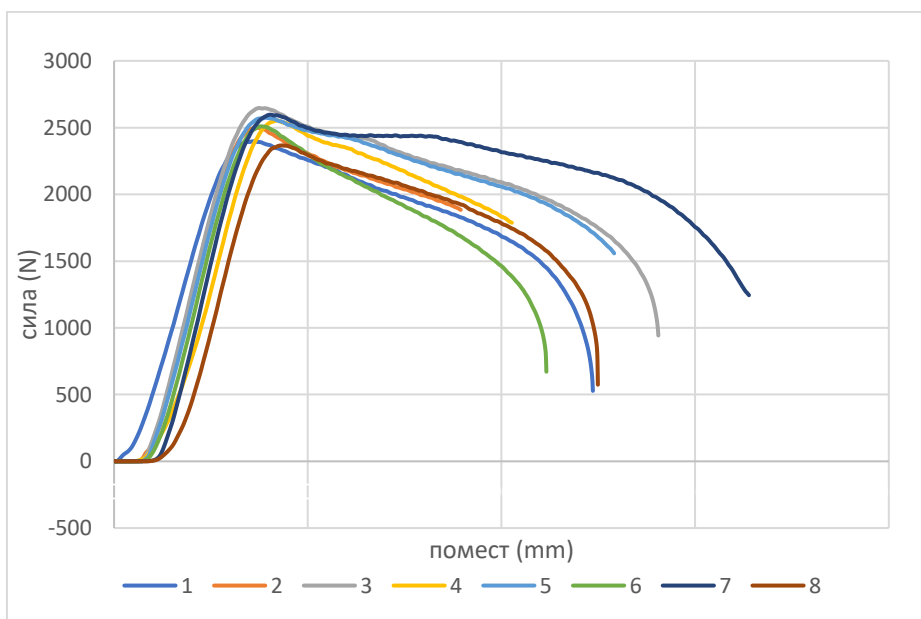
Максимална јакост на притисок на примероците тестирани 24 часа по подготовката

На графиконите 5-3 до 5-7 се претставени односот на силата и поместот за испитуваните примероци за сите испитувани групи пред инкубацијата. За сите испитувани групи, однесувањето на сите примероци е униформно во зоната на еластична деформација до точката на попуштање. Се забележуваат поголеми варијации помеѓу поединечните примероци во групите и помеѓу групите во зоната на пластична деформација. Сепак, карактеристиките на дуктилен полимер со голема цврстина и отпорност на кршење, претставени на графиконите, не се губат со додавање на антибиотик на коскениот цемент.

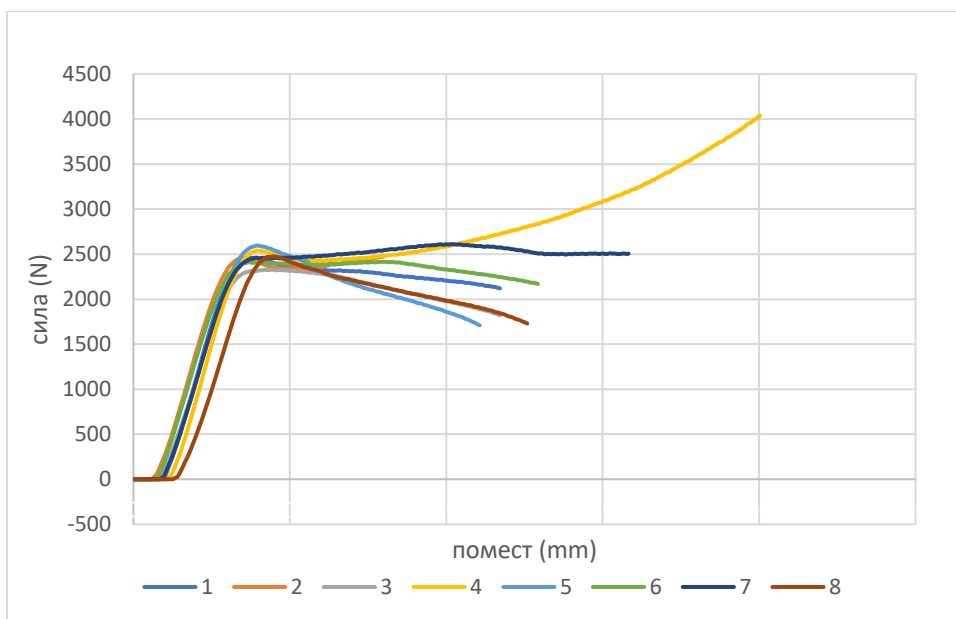
Графикон 5-3. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ПММА.



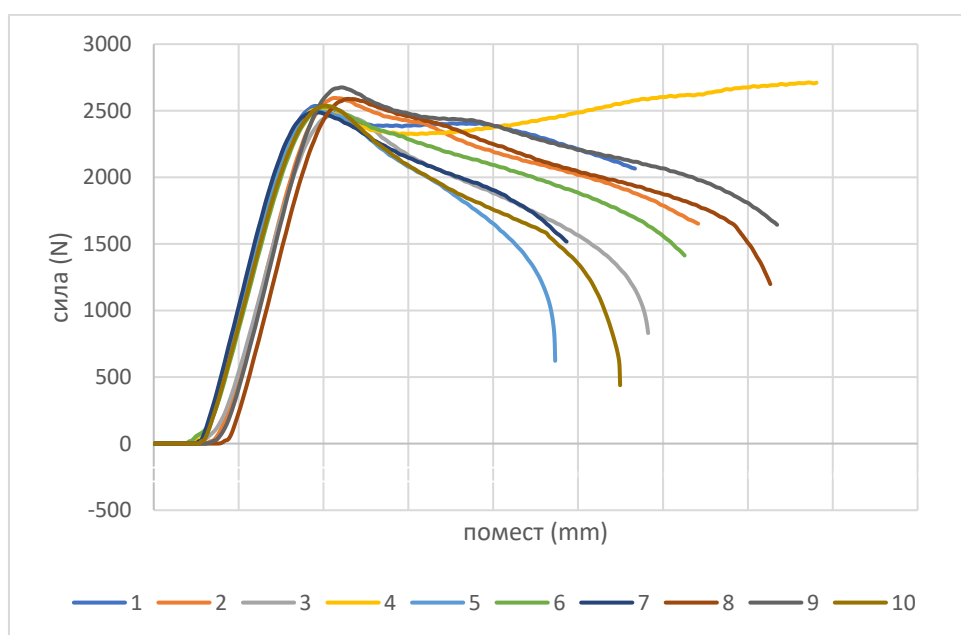
Графикон 5-4. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата В 2,5%.



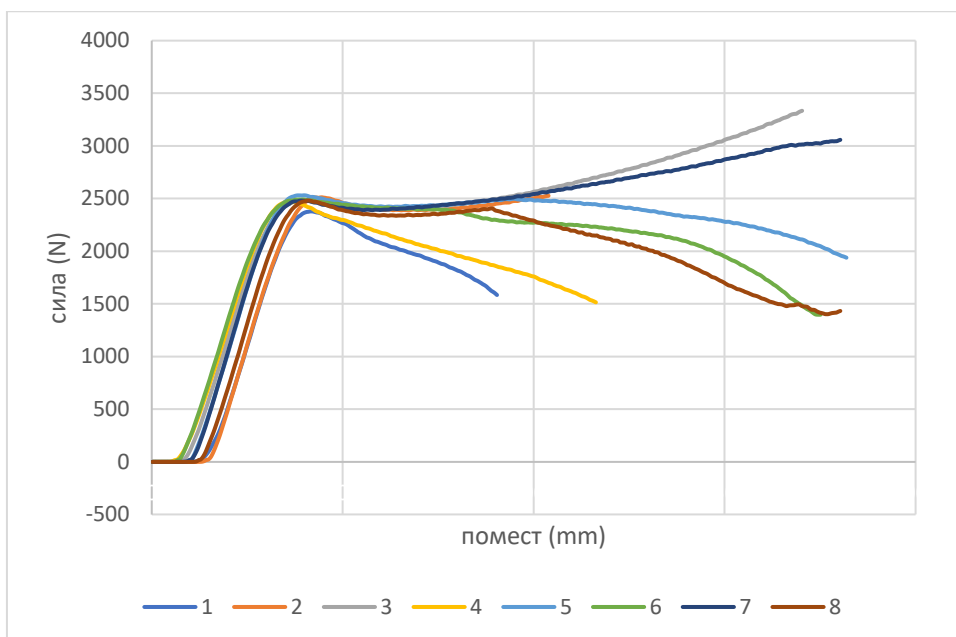
Графикон 5-5. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата М 2,5%.



Графикон 5-6. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ВМ 2,5%.



Графикон 5-7. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ВМ 5%.



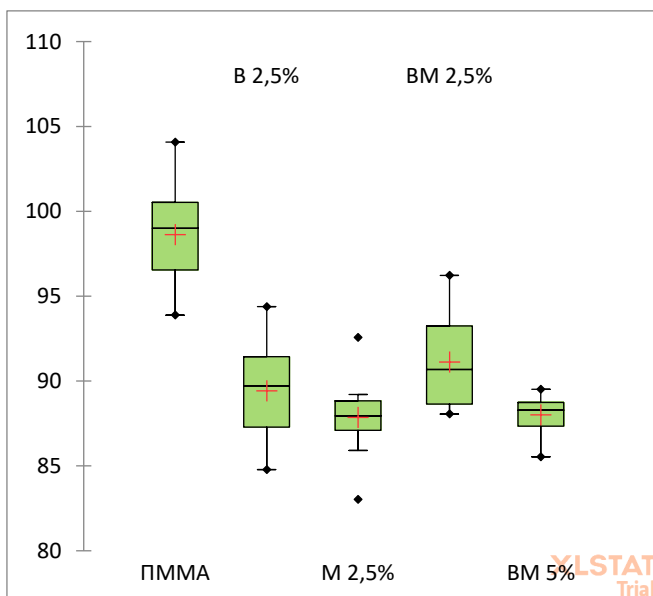
Податоците за вредностите за максималната јакост на притисок, мерките на централна тенденција, дисперзија и распределба на сите испитувани групи се прикажани во Табела 5-5 и Графикон 5-8. Сите испитувани групи имаат пониска максимална јакост на притисок од контролната ПММА.

Табела 5-5. Дескриптивни статистички податоци за вредности за максималната јакост на притисок: мерки на централна тенденција, дисперзија и распределба на сите испитувани групи

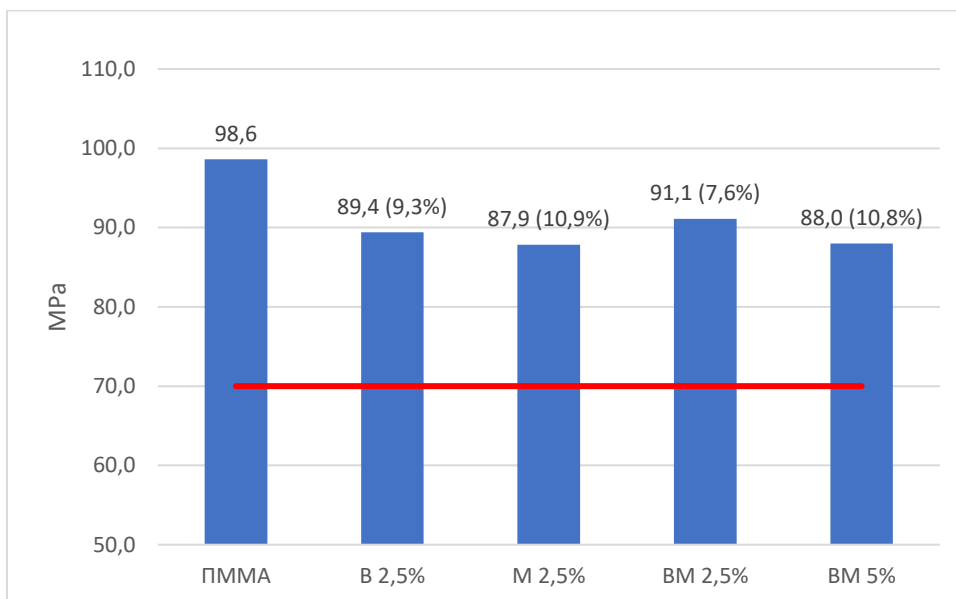
	ПММА	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
Број на примероци	8	8	8	10	8
Минимум	93,881	84,785	83,020	88,054	85,537
Максимум	104,078	94,386	92,560	96,223	89,514
Ранг	10,197	9,601	9,540	8,169	3,978
Прв квартал	96,544	87,293	87,105	88,642	87,344
Медијана	98,994	89,718	87,942	90,688	88,286
Трет квартал	100,519	91,432	88,838	93,246	88,744
Аритметичка средина	98,629	89,423	87,850	91,124	88,011
Варијанса (n)	10,589	10,384	6,543	7,140	1,539
Варијанса (n-1)	12,102	11,868	7,478	7,934	1,759
Стандардна девијација (n)	3,254	3,222	2,558	2,672	1,240

	ПММА	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
Стандардна девијација (n-1)	3,479	3,445	2,735	2,817	1,326
Коефициент на варијација (n)	0,033	0,036	0,029	0,029	0,014
Коефициент на варијација (n-1)	0,035	0,039	0,031	0,031	0,015
Skewness (Pearson)	-0,051	-0,078	-0,092	0,535	-0,616
Kurtosis (Pearson)	-0,914	-1,219	0,079	-0,934	-0,437
Standard error of the mean	1,230	1,218	0,967	0,891	0,469
Долна граница на СІ за просек (95%)	95,721	86,543	85,564	89,109	86,902
Горна граница на СІ за просек (95%)	101,537	92,303	90,136	93,139	89,119
Стандардна грешка на варијансата	6,469	6,344	3,997	3,740	0,940
Долна граница на СІ за варијанса (95%)	5,290	5,188	3,269	3,754	0,769
Горна граница на СІ за варијанса (95%)	50,131	49,160	30,977	26,442	7,285
Средно апсолутно отстапување	2,634	2,843	1,860	2,211	1,005

Графикон 5-8. Максимална јакост на притисок (МПа) на испитуваните групи, со приказ на просекот и минималните и максималните вредности.



Графикон 5-9. Просечни вредности на максималната јакост на притисок за групите тестирани по 24 часа во однос на минимално утврдената вредност од 70 МПа



Кај сите испитувани групи, максималната јакост на притисок е значително над вредноста од 70 МПа, определена како гранична со стандардот ISO5833 и претставена на Графикон 5-9 со црвена линија. (Student – ов t – тест за еден примерок, Табела 5-6). Процентите прикажани на Графикон 5-9 го претставуваат релативниот пад на максималната јакост на притисок во однос на ПММА.

Табела 5-6. Student – ов t – тест за еден примерок за разликите на максималната јакост на притисок и граничната вредност од 70 МПа.

	ПММА	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
95% confidence interval on the mean:					
	[95,721; 101,537]	[86,543; 92,303]	[85,564; 90,136]	[89,109; 93,139]	[86,902; 89,119]
Difference	28,629	19,423	17,850	21,124	18,011
t (Observed value)	23,277	15,947	18,463	23,716	38,414
t (Critical value)	2,365	2,365	2,365	2,262	2,365
DF	7	7	7	9	7
p-value (Two-tailed)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

Тестот на Шапиро – Вилк покажа дека сите испитувани групи имаат нормална распределба за максималната јакост на притисок. (Табела 5-7) Постои хомогеност на варијансите помеѓу групите (тест на Levene, Табела 5-8)

Табела 5-7. Тест на Shapiro - Wilk за вредностите на максимална јакост на притисок на испитуваните групи

Испитувана група	Shapiro-Wilk
ПММА	0,757
В 2,5%	0,655
М 2,5%	0,772
ВМ 2,5%	0,273
ВМ 5%	0,548
ИНК ПММА	0,363
ИНК В 2,5%	0,156
ИНК М 2,5%	0,065
ИНК ВМ	
2,5%	0,426
ИНК ВМ 5%	0,225

Табела 5-8. Тест на Levene за испитување на хомогеноста на варијансите за максимална јакост на притисок помеѓу групите тестирани по 24 часа.

Levene's test (Mean) / Two-tailed test:	
F (Observed value)	1,575
F (Critical value)	2,626
DF1	4
DF2	37
p-value (Two-tailed)	0,201
alpha	0,05

Разликите помеѓу испитуваните групи беа тестирани со анализа на варијанса (Fisher's ANOVA, Табела 5-9), при што утврдивме дека постои значајна разлика во вредностите на максималната јакост на притисок помеѓу испитуваните групи.

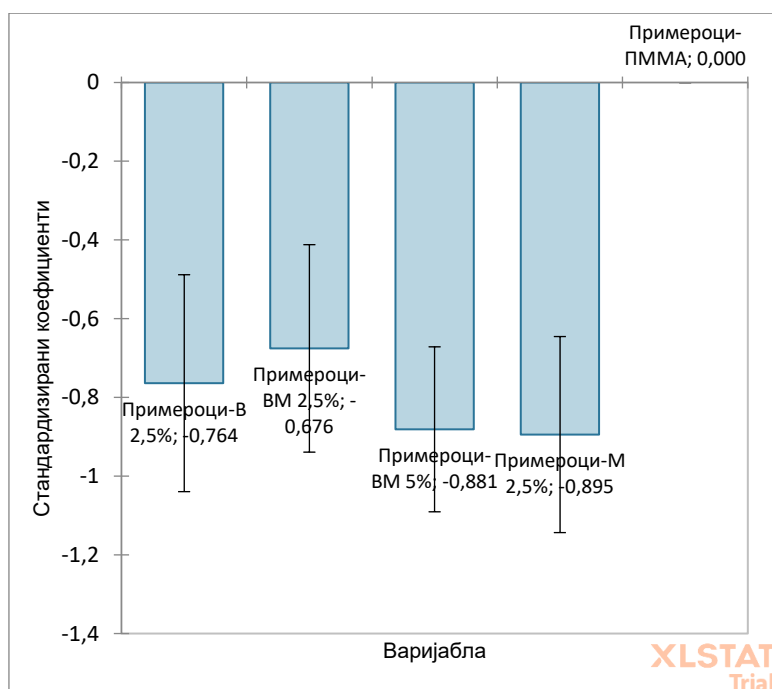
68% од варијабилноста на максималната јакост на притисок можат да бидат припишани на употребата на различните типови и смеси на антибиотици (коэффициент на детерминација $R^2 = 0,677$).

Табела 5-9. ANOVA за разликите на максималната јакост на притисок помеѓу испитуваните групи.

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	4,000	636,500	159,125	19,377	<0,0001	***
Error	37,000	303,851	8,212			
Corrected Total	41,000	940,350				
Computed against model $Y=Mean(Y)$						
Signification codes: $0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ^\circ < 1$						

Стандардизираниите коефициенти (Графикон 5-10) со прикажани 95% интервали на доверливост, укажуваат дека максималната јакост на притисок на коскениот цемент значително се намалува при додавање на ванкомицин и меропенем во различни дози и комбинации и ја прикажуваат големината на ефектот на додавањето антибиотици во ПММА.

Графикон 5-10. Y / Стандардизирани коефициенти со 95% CI од ANOVA за разликите на максималната јакост на притисок помеѓу испитуваните групи.



Post hoc анализата (Табела 5-10) покажа дека сите испитувани групи имаат значајно пониска максимална јакост на притисок во однос на контролната група (ПММА). Не беше детектирана значајна разлика помеѓу групите со различни типови и дози на антибиотици. Минималната значајна разлика изнесува 4,7 МПа.

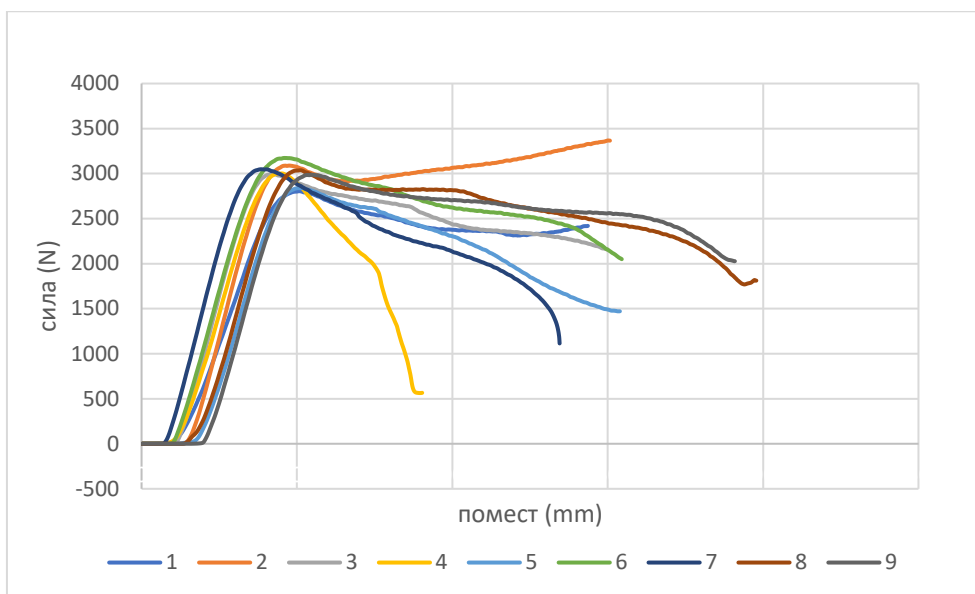
Табела 5-10. Tukey HSD анализа на разликите помеѓу групите со 95% CI (Y)

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
ПММА vs М 2,5%	10,779	7,277	2,867	<0,0001	Yes	6,754	14,804		
ПММА vs ВМ 5%	10,618	8,520	2,867	<0,0001	Yes	6,593	14,643		
ПММА vs В 2,5%	9,206	5,617	2,867	<0,0001	Yes	5,181	13,230		
ПММА vs ВМ 2,5%	7,505	5,194	2,867	<0,0001	Yes	3,480	11,530		
ВМ 2,5% vs М 2,5%	3,274	2,613	2,867	0,158	No	-0,751	7,299		
ВМ 2,5% vs ВМ 5%	3,113	3,231	2,867	0,196	No	-0,911	7,138		
ВМ 2,5% vs В 2,5%	1,701	1,185	2,867	0,745	No	-2,324	5,725		
В 2,5% vs М 2,5%	1,573	1,069	2,867	0,795	No	-2,452	5,598		
В 2,5% vs ВМ 5%	1,413	1,143	2,867	0,851	No	-2,612	5,437		
ВМ 5% vs М 2,5%	0,161	0,158	2,867	1,000	No	-3,864	4,185		
q studentized range statistic:			4,054						
Minimum significant difference:			4,721						

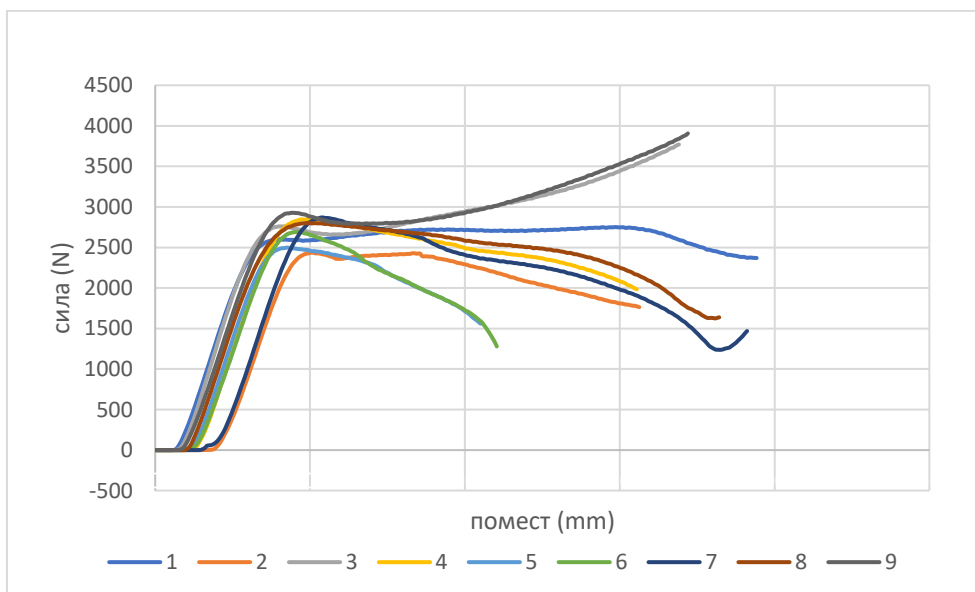
Максимална јакост на притисок на примероците тестирани по инкубација

На графиконите 5-11 до 5-15 се претставени односот на силата и поместот за испитуваните примероци за сите испитувани групи по инкубацијата. Повторно сите примероци во групите се однесуваат речиси идентично во зоната на еластична деформација, со поголема хетерогеност во зоната на пластична деформација.

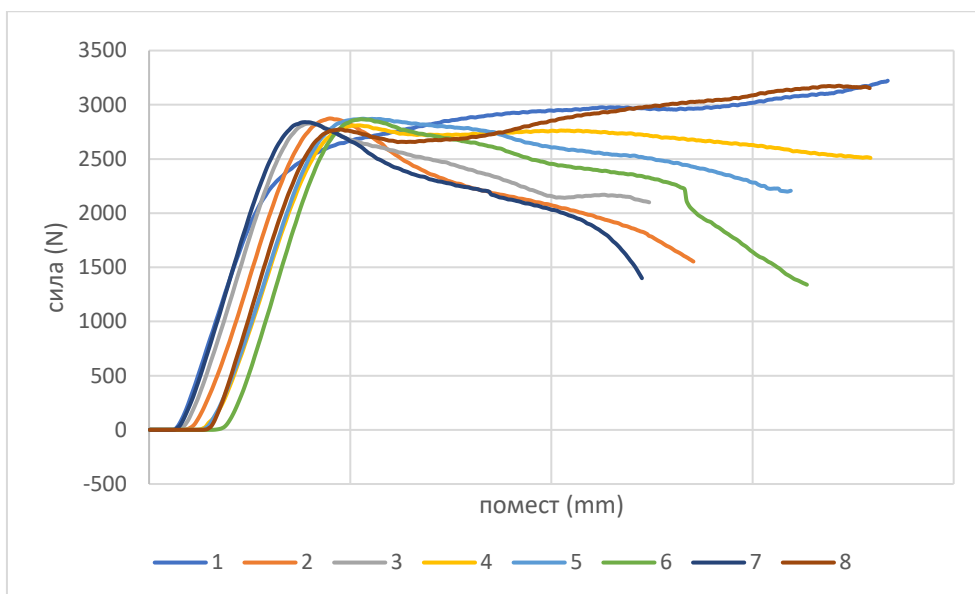
Графикон 5-11. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ИНК ПММА.



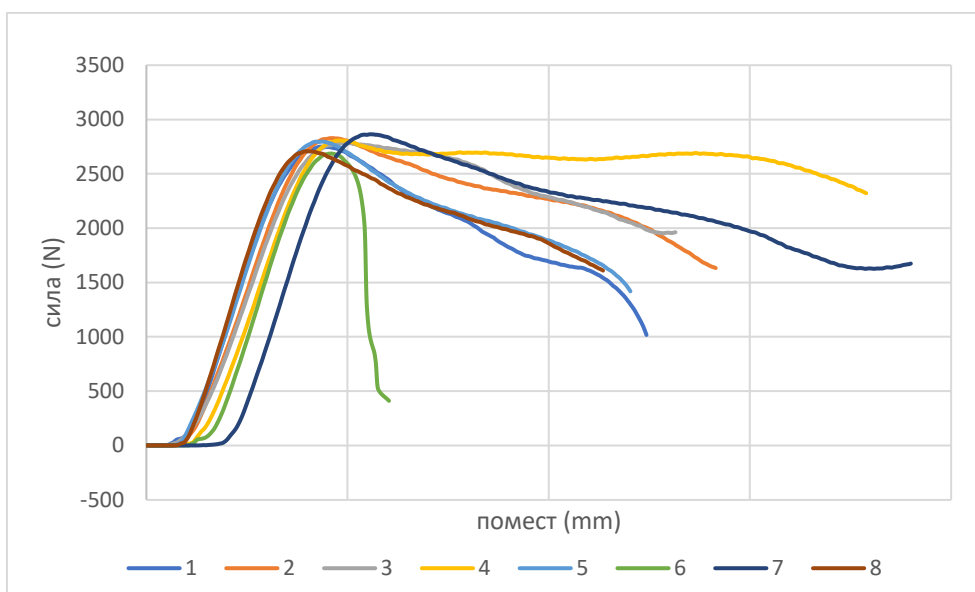
Графикон 5-12. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ИНК В 2,5%.



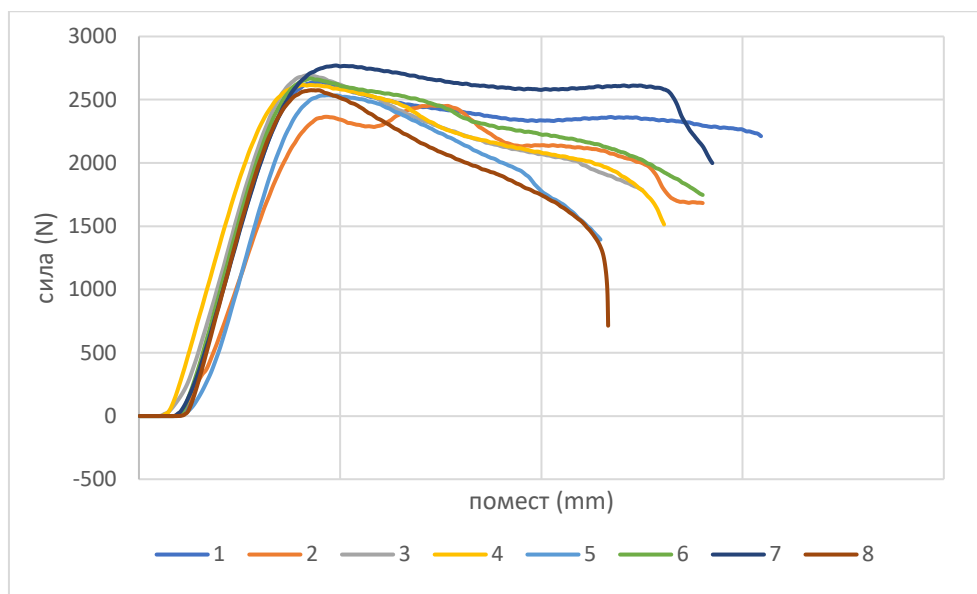
Графикон 5-13. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ИНК М 2,5%.



Графикон 5-14. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ИНК ВМ 2,5%.



Графикон 5-15. Однос помеѓу силата и поместувањето за примероците во групата ИНК ВМ 5%.



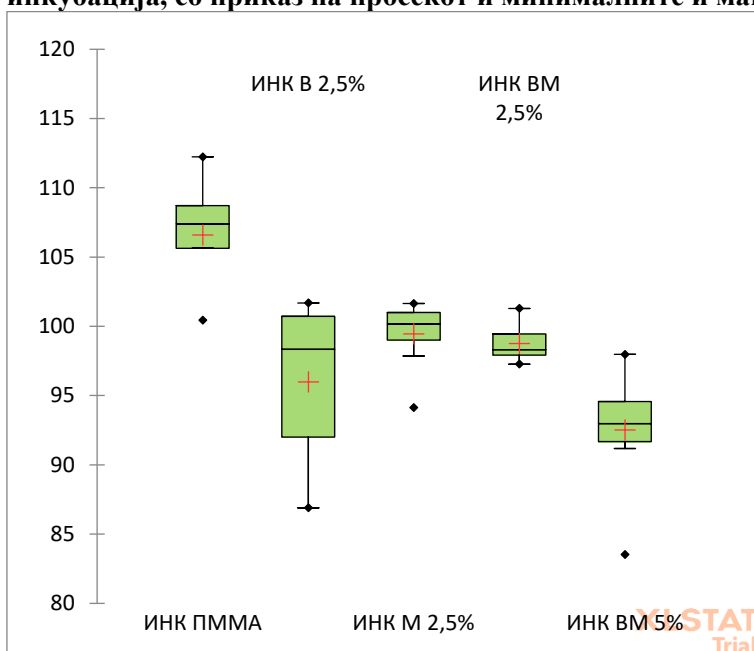
Табела 5-11. Декскриптивни статистички податоци за вредности за максималната јакост на притисок на групите тестирани по инкубација: мерки на централна тенденција, дисперзија и распределба на сите испитувани групи

Statistic	ИНК ПММА	ИНК В 2,5%	ИНК М 2,5%	ИНК ВМ 2,5%	ИНК ВМ 5%
Број на примероци	9	9	8	8	8
Минимум	100,433	86,897	94,137	97,264	83,526
Максимум	112,235	101,684	101,649	101,289	97,978
Ранг	11,802	14,787	7,512	4,025	14,452
Прв квартал	105,633	92,008	98,998	97,925	91,676
Медијана	107,397	98,349	100,161	98,320	92,974
Трет квартал	108,707	100,722	100,999	99,458	94,566
Аритметичка средина	106,587	95,981	99,452	98,753	92,504
Варијанса (n)	13,054	28,713	5,382	1,640	15,541
Варијанса (n-1)	14,685	32,302	6,151	1,874	17,762
Стандардна девијација (n)	3,613	5,358	2,320	1,280	3,942
Стандардна девијација (n-1)	3,832	5,684	2,480	1,369	4,214
Коефициент на варијација (n)	0,034	0,056	0,023	0,013	0,043
Коефициент на варијација (n-1)	0,036	0,059	0,025	0,014	0,046
Skewness (Pearson)	-0,495	-0,543	-1,314	0,746	-1,092
Kurtosis (Pearson)	-0,654	-1,236	0,663	-0,566	0,863
Стандардна грешка на просекот	1,277	1,895	0,877	0,484	1,490
Долна граница на CI за просек (95%)	103,641	91,612	97,378	97,608	88,981
Горна граница на CI за просек (95%)	109,532	100,349	101,525	99,897	96,028
Стандардна грешка на варијансата	7,343	16,151	3,288	1,002	9,494
Долна граница за варијанса (95%)	6,700	14,738	2,689	0,819	7,765
Горна граница за варијанса (95%)	53,897	118,555	25,479	7,762	73,575
Средно апсолутно отстапување	2,851	4,778	1,746	1,083	2,741

Табела 5-11 и Графикон 5-16 ги прикажуваат вредностите за максимална јакост на притисок на сите испитувани групи по инкубацијата, со мерките на централна тенденција и дисперзија. Максималната јакост на притисок се движи од 92,5 МПа за ИНК ВМ 5% до 106,6 МПа за контролната група ПММА. Сите групи со додаден антибиотик имаат пониска максимална јакост на притисок во однос на чистиот коскен цемент.

Тестот на Шапиро – Вилк покажа дека сите испитувани групи имаат нормална распределба за максималната јакост на притисок. (Табела 5-12) Не постои хомогеност на варијансите помеѓу групите (тест на Levene, Табела 5-13). Најмалку една од варијансите значајно се разликува од останатите.

Графикон 5-16. Максимална јакост на притисок (МПа) на испитуваните групи по инкубација, со приказ на просекот и минималните и максималните вредности.



Табела 5-12. Тест на Shapiro - Wilk за вредностите на максимална јакост на притисок на испитуваните групи по инкубација.

Испитувана група	Shapiro-Wilk
ИНК ПММА	0,363
ИНК В 2,5%	0,156
ИНК М 2,5%	0,065
ИНК ВМ 2,5%	0,426
ИНК ВМ 5%	0,225

Табела 5-13. Тест на Levene за испитување на хомогеноста на варијансите за максимална јакост на притисок помеѓу групите испитувани по инкубација.

Levene's test (Mean) / Two-tailed test:

F (Observed value)	3,383
F (Critical value)	2,626
DF1	4
DF2	37
p-value (Two-tailed)	0,019
alpha	0,05

Разликите помеѓу испитуваните групи беше тестирана со анализа на варијанса (Welch ANOVA, Табела 5-14), при што утврдивме дека постои значајна разлика во вредностите на максималната јакост на притисок помеѓу испитуваните групи.

Табела 5-14. ANOVA за разликите на максималната јакост на притисок помеѓу испитуваните групи по инкубација.

Analysis of variance (Y):

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	4,000	937,685	234,421	15,589	<0,0001	***
Error	37,000	556,404	15,038			
Corrected Total	41,000	1494,089				

Computed against model $Y = \text{Mean}(Y)$

Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Robust test of equality of means (Y):

Statistic	F	DF1	DF2	Pr > F
Welch statistic	12,855	4,000	17,436	<0,0001
Brown-Forsythe F-ratio	16,225	4,000	25,581	<0,0001

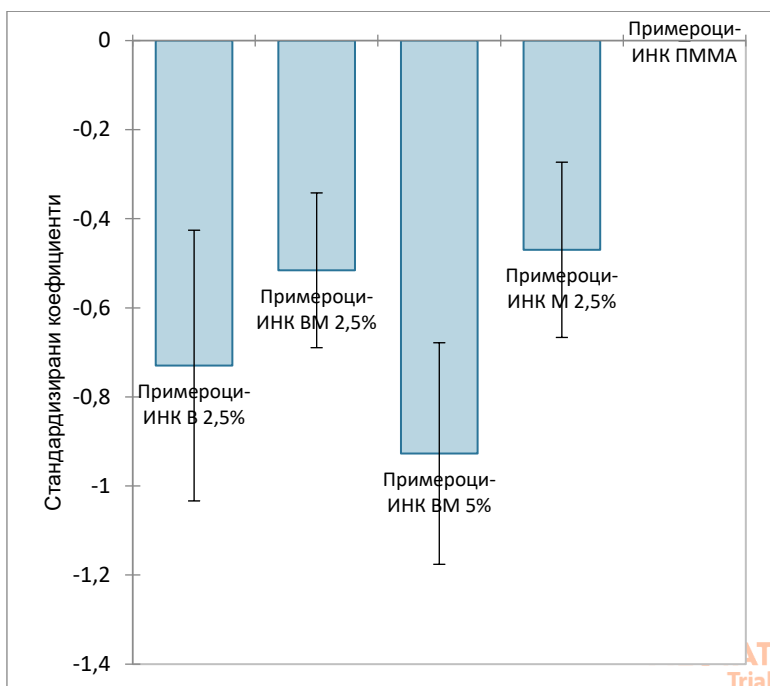
63% од варијабилноста на максималната јакост на притисок кај инкубираните примероци можат да бидат припишани на употребата на различните типови и смеси на антибиотици (коефициент на детерминација $R^2 = 0,628$).

Стандардизираниите коефициенти со прикажани 95% интервали на доверба, укажуваат дека максималната јакост на притисок на коскениот цемент значително се намалува при додавање на ванкомицин и меропенем во различни дози и комбинации. Графикон 5-17 ја прикажува големината на ваквиот ефект.

Поради хетероскедастичноста на варијансите (и со тоа на резидуалите) беше направен Games – Howell post hoc тест, кој покажа дека има значајни разлики во максималната јакост на притисок на контролната ПММА група со сите останати испитувани групи. Исто така, по инкубацијата, максималната јакост на притисок на ИНК М 2,5% е значително повисока во однос на онаа на ИНК ВМ 5%. Максималната јакост на притисок на ИНК ВМ 2,5% е статистички значајно повисока од максималната јакост на притисок на ИНК ВМ 5%. (Табела 5-15)

Резултатите укажуваат дека додавањето поголеми дози антибиотици предизвикува поголем пад на максималната јакост на притисок, при што ефектот на ванкомициот е поголем во однос на ефектот на меропенемот. Големината на оваа разлика е потенцирана со инкубацијата во тек на 28 дена, додека ефектите беа помали кај примероците тестирани по 24 часа.

Графикон 5-17. Y / Стандардизирани коефициенти со 95% CI од ANOVA за разликите на максималната јакост на притисок помеѓу испитуваните групи по инкубација.



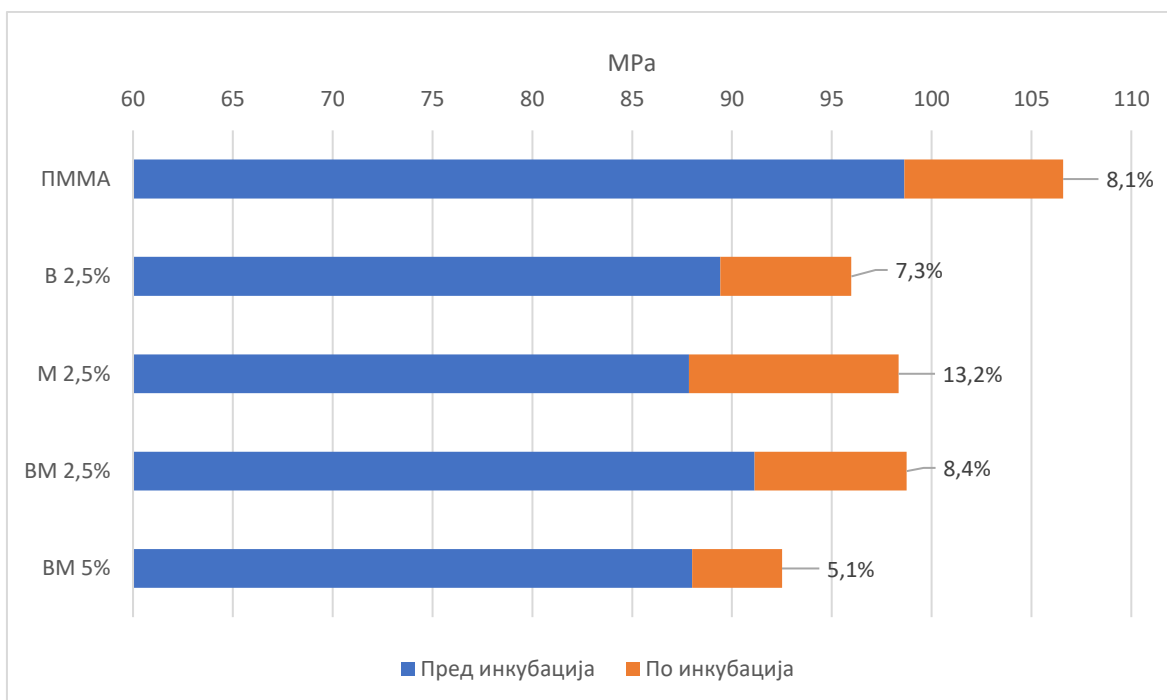
Табела 5-15. Games – Howell анализа на разликите помеѓу групите со 95% CI (Y)

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
ИНК ПММА vs ИНК ВМ 5%	14,082	7,175	3,107	<0,0001	Yes	8,290	19,874		
ИНК ПММА vs ИНК В 2,5%	10,606	4,642	3,115	0,003	Yes	3,814	17,398		
ИНК ПММА vs ИНК ВМ 2,5%	7,834	5,735	3,277	0,001	Yes	3,566	12,102		
ИНК ПММА vs ИНК М 2,5%	7,135	4,605	3,122	0,003	Yes	2,531	11,739		
ИНК М 2,5% vs ИНК ВМ 5%	6,947	4,018	3,218	0,013	Yes	1,680	12,214		
ИНК М 2,5% vs ИНК В 2,5%	3,471	1,663	3,224	0,491	No	-2,942	9,884		
ИНК М 2,5% vs ИНК ВМ 2,5%	0,699	0,698	3,239	0,953	No	-2,372	3,770		
ИНК ВМ 2,5% vs ИНК ВМ 5%	6,248	3,988	3,409	0,022	Yes	1,191	11,305		
ИНК ВМ 2,5% vs ИНК В 2,5%	2,772	1,418	3,360	0,633	No	-3,494	9,038		
ИНК В 2,5% vs ИНК ВМ 5%	3,476	1,442	3,099	0,612	No	-3,630	10,583		

Ефекти од инкубација врз максималната јакост на притисок на коскен цемент без и со додадени антибиотици

Инкубирањето на примероците од сите испитувани групи доведе до пораст на максималната јакост на притисок. Релативниот пораст е прикажан на Графикон 5-18 и се движи од 5,1% за групата ВМ 5% до 13,2% за М 2,5%. Овој релативен пораст е значително поголем во групата М 2,5% во однос на ВМ 5% ($z\text{-score}=1,892904873$, $p=0,02938$), а не се разликува значајно помеѓу останатите испитувани групи ($p>0,05$).

Графикон 5-18. Релативен пораст на максимална јакост на притисок по инкубација на примероците во Рингеров раствор во тек на 28 дена.



Т – тестот за зависни примероци, со кој ги споредивме вредностите на максималната јакост на притисок кај сите испитувани групи пред и по инкубација, покажа дека зголемувањето на максималната јакост на притисок предизвикано од инкубацијата е статистички значајно за сите испитувани групи (Табела 5-16). Инкубацијата на коскениот цемент на 37°C во Рингеров раствор во тек на 4 недели ја зголемува неговата максимална јакост на притисок, без разлика на додавањето на испитуваните формулации на антибиотици.

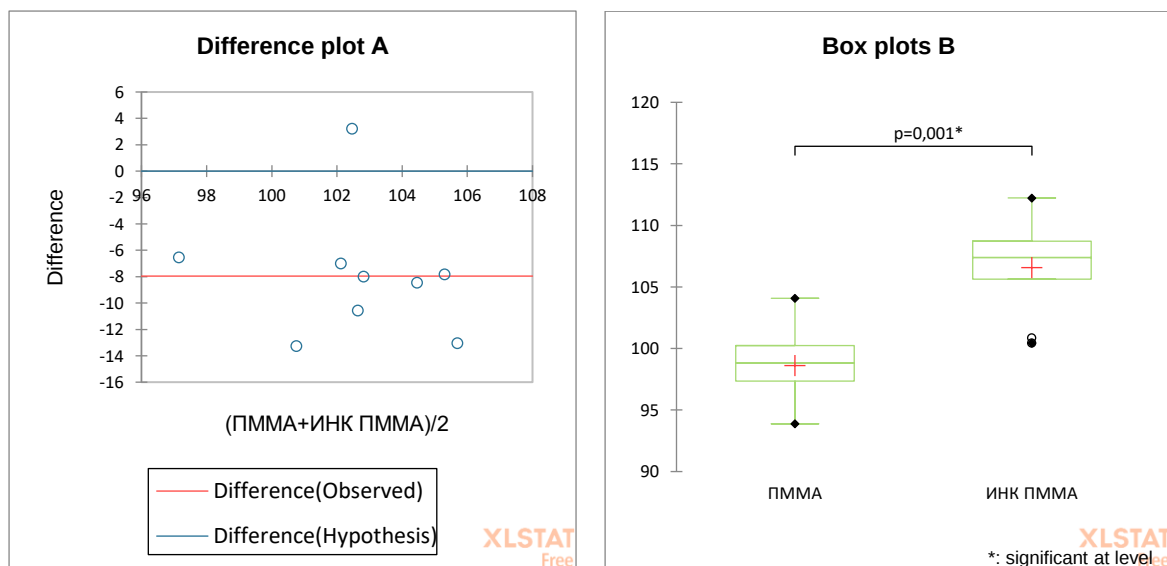
Табела 5-16. Т – тест за зависни примероци, со кој ги споредивме вредностите на максималната јакост на притисок кај сите испитувани групи пред и по инкубација.

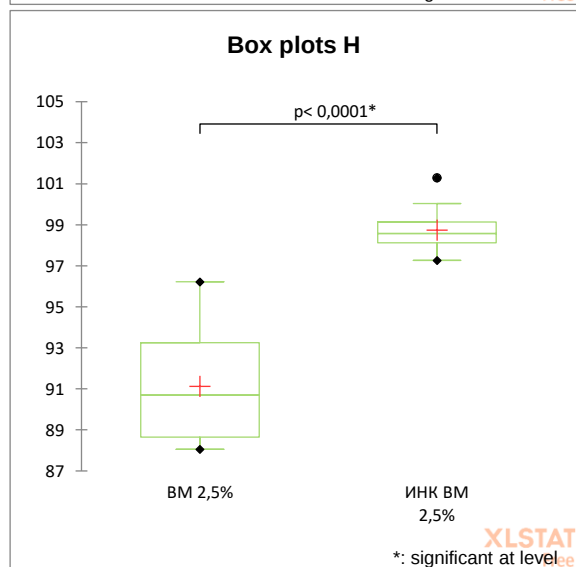
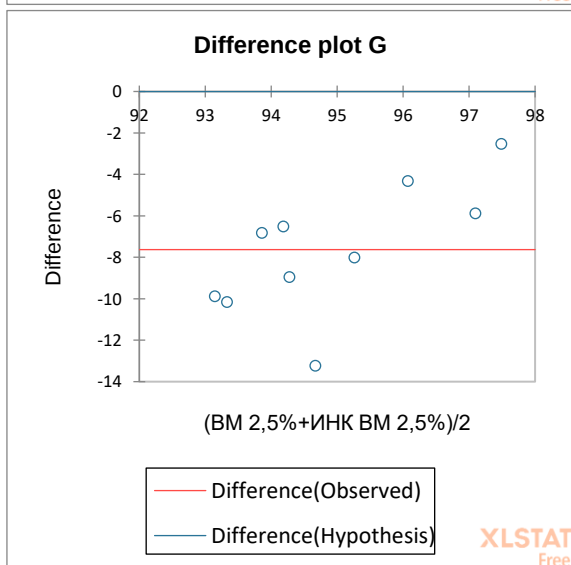
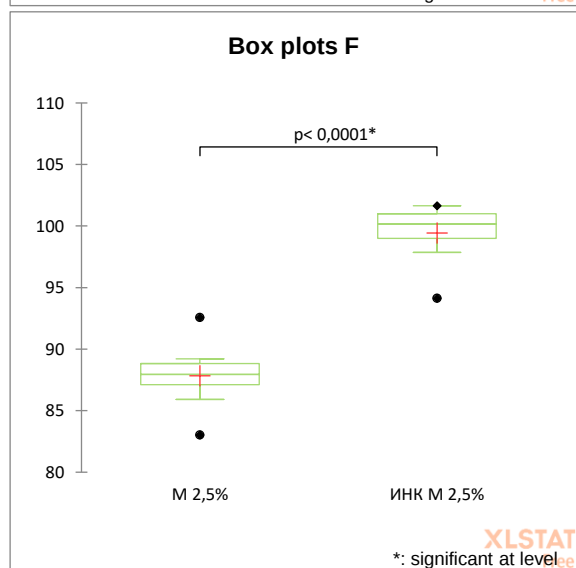
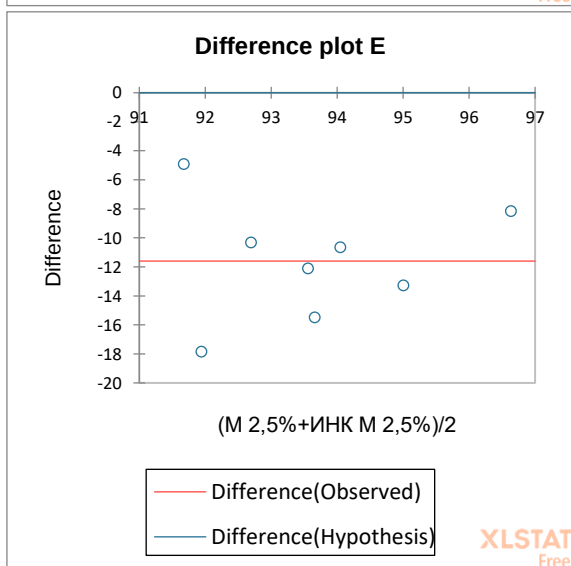
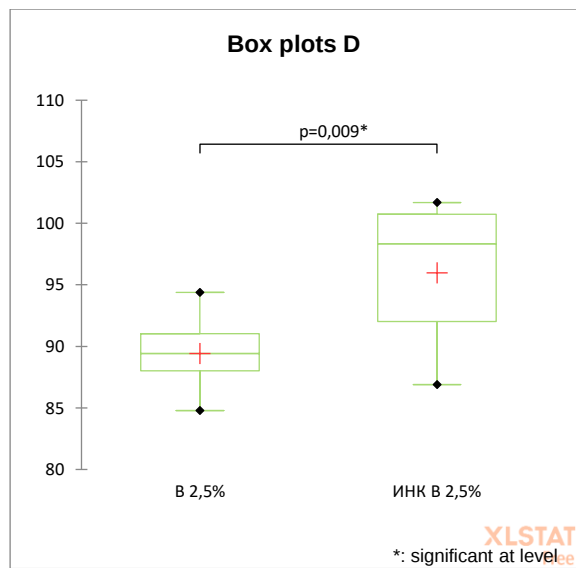
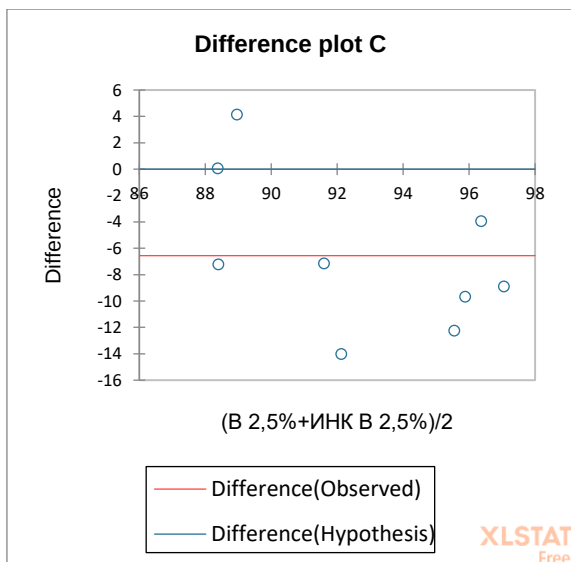
	ПММА	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
95% confidence interval on the difference between the means:					
	[-11,697; -4,218]	[-11,016; -2,099]	[-15,007; -8,196]	[-9,848; -5,409]	[-8,522; -0,465]
Difference	-7,958	-6,557	-11,601	-7,628	-4,494
t (Observed value)	-4,907	-3,391	-8,055	-7,775	-2,638
t (Critical value)	2,306	2,306	2,365	2,262	2,365
DF	8	8	7	9	7
p-value (Two-tailed)	0,001	0,009	<0,0001	<0,0001	0,034
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

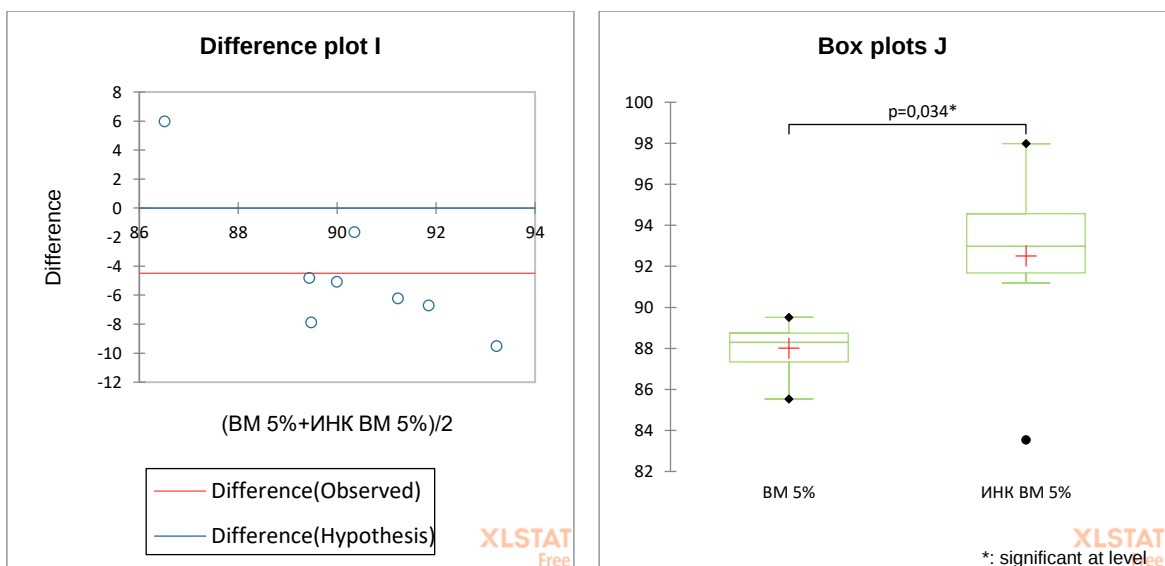
The number of degrees of freedom is approximated by the Welch-Satterthwaite formula

Графичкиот приказ на разликите (Графикон 5-19 А-Ј) на добиените вредности пред и по инкубацијата на испитуваните групи ја покажува големината на ефектот на инкубацијата врз максималната јакост на притисок.

Графикон 5-19 А-Ј. Графички приказ на разликите на максималната јакост на притисок помеѓу инкубираните и неинкубираните примероци од истите групи







5.3 Резултати од тестовите на свиткување во 4 точки

5.3.1 Густина на испитуваните примероци

Вкупниот број на тестирани и анализирани примероци со нивната просечна густина се прикажани во Табела 5-17. Број и густина на тестираните примероци со тест на свиткување во 4 точки.

Табела 5-17. Број и густина на тестираните примероци со тест на свиткување во 4 точки.

	Група	Бр. на примероци	Минимум	Максимум	Просечна густина (mg/mm ³)	Стандардна девијација
неинкубирани	ПММА	9	1,16	1,23	1,18	0,021
	*В 2,5%	9	1,16	1,21	1,19	0,017
	В 2,5%	9	1,13	1,22	1,17	0,023
	М 2,5%	9	1,16	1,23	1,20	0,023
	ВМ 2,5%	9	1,17	1,20	1,18	0,011
	ВМ 5%	9	1,18	1,22	1,20	0,012
инкубирани	ПММА	8	1,16	1,22	1,19	0,017
	В 2,5%	9	1,18	1,23	1,20	0,018
	М 2,5%	8	1,17	1,24	1,20	0,017
	ВМ 2,5%	9	1,17	1,25	1,21	0,025
	ВМ 5%	10	1,17	1,23	1,20	0,021

За да ја провериме униформноста на изработката на примероците, ја тестиравме правилноста на распределбата на густина внатре во групите со тестот на Шапиро – Вилк (Табела 5-18. Тест на Shapiro - Wilk за испитување на распределбата на податоците за густина на примероците за испитување со тест на свиткување на 4 точки.) Вредноста на p за сите испитувани групи е поголема од 0,05, што значи дека испитуваната варијабла следи нормална дистрибуција за сите групи.

Табела 5-18. Тест на Shapiro - Wilk за испитување на распределбата на податоците за густина на примероците за испитување со тест на свиткување на 4 точки.

Variable	Shapiro-Wilk p-value (Two-tailed)
ПММА	0,094
*В 2,5%	0,300
В 2,5%	0,338
М 2,5%	0,301
ВМ 2,5%	0,439
ВМ 5%	0,943
ПММА	0,355
В 2,5%	0,126
М 2,5%	0,861
ВМ 2,5%	0,761
ВМ 5%	0,425
alpha	0,05

Понатаму беше извршена анализа на варијанса, за да се провери дали помеѓу групите има разлика во густината. Анализата на варијанса покажа дека постојат значајни разлики во густината (Табела 5-19). Tukey (HSD) post hoc анализата покажа дека значајна разлика има само помеѓу групите ИНК ВМ 2,5% и ВМ 2,5% ($p=0,045$), како и ИНК МВ 2,5% и В 2,5% ($p=0,024$). Додавањето на антибиотик има ефект врз густината на примероците и 25% од варијабилноста на густината може да се припише на додадените антибиотици (коефициент на детерминација $R^2 = 0,254$ / $\eta^2=0,254$). Post hoc тестирањето не покажа разлика помеѓу другите парови неинкубирани/инкубирани примероци или воопшто помеѓу било која друга комбинација од групите.

Табела 5-19. ANOVA за разликите во густината на примероците за испитување со тест на свиткување во четири точки.

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	10,000	0,012	0,001	2,961	0,003	**
Error	87,000	0,036	0,000			
Corrected						
Total	97,000	0,048				

Computed against model $Y = \text{Mean}(Y)$

*Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1*

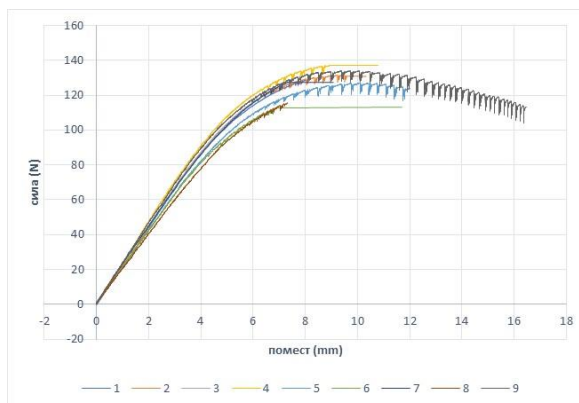
Овие анализи ја покажуваат униформноста и конзистентноста на изработка на примероците, што дополнително на контролираните услови на изработка и строго определени димензии со точност од ± 1 mm овозможуваат понатаму утврдените разлики да бидат припишани на испитуваниот фактор, односно видот и количината на додадениот антибиотик.

5.3.2 Одговор на испитуваните примероци на сили на свиткување

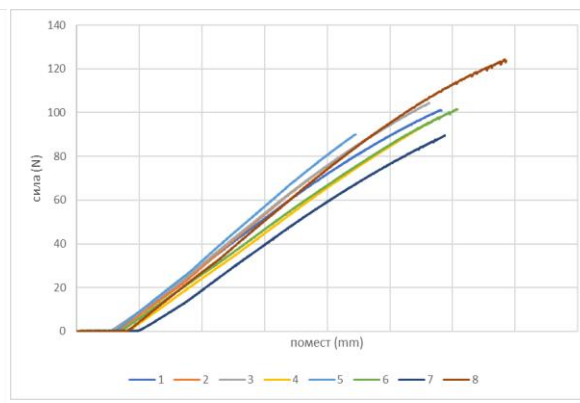
При вршењето на тестовите за свиткување во четири точки, за секој примерок резултатите со претставени со вредности за применетата сила и дефлексијата во секоја временска мерна точка, односно од 10000 до 30000 внеса за секој примерок, во зависност од карактеристиките.

На Графикон 5-20 е претставен односот помеѓу поместот и силата за сите примероци во групата ПММА до моментот на кршење на секој од примероците. Може да се забележи дека кривите за сите 9 примероци речиси се поклопуваат, односно сите примероци реагирале на приближно ист начин за исти вредности на силата. Овој однос не е праволиниски. Кривата достигнува едно плато, по кое примерокот се деформира без континуираниот пораст на силата додека не се скрши. Графикон 5-21 ја претставува збирната крива за сите примероци од групата ПММА. Инкубацијата предизвикува пад на косината на почетниот дел на кривата кој одговара на еластичната деформација, односно има поголемо поместување за единица промена на сила. Графикон 5-22 до Графикон 5-30 ги прикажуваат кривите за сите испитувани групи.

Графикон 5-20. Однос на силата и поместот за сите примероци од групата ПММА / ИНК ПММА.

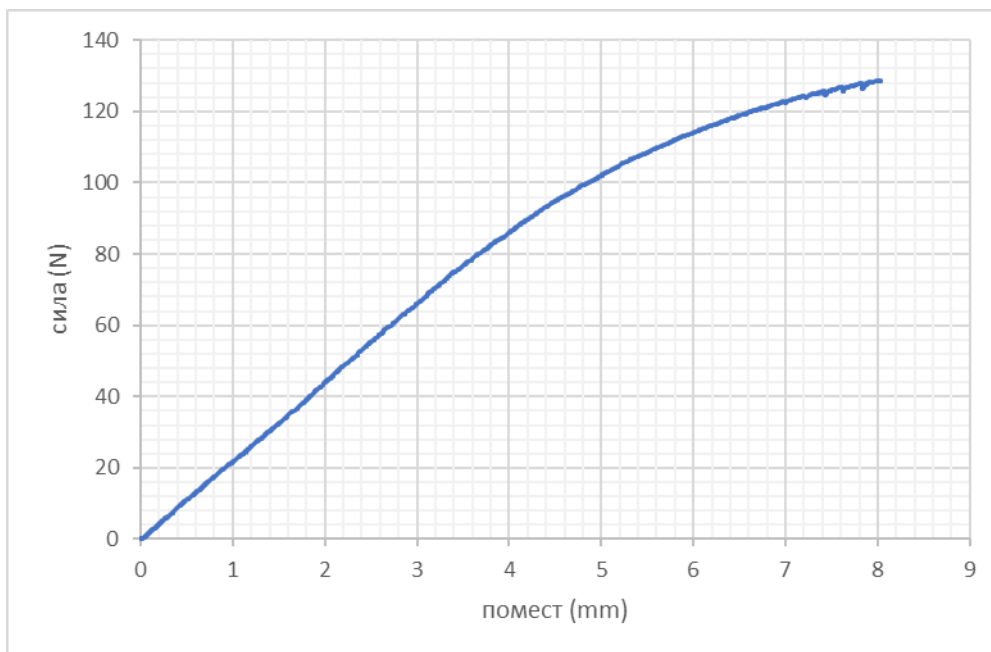


ПММА

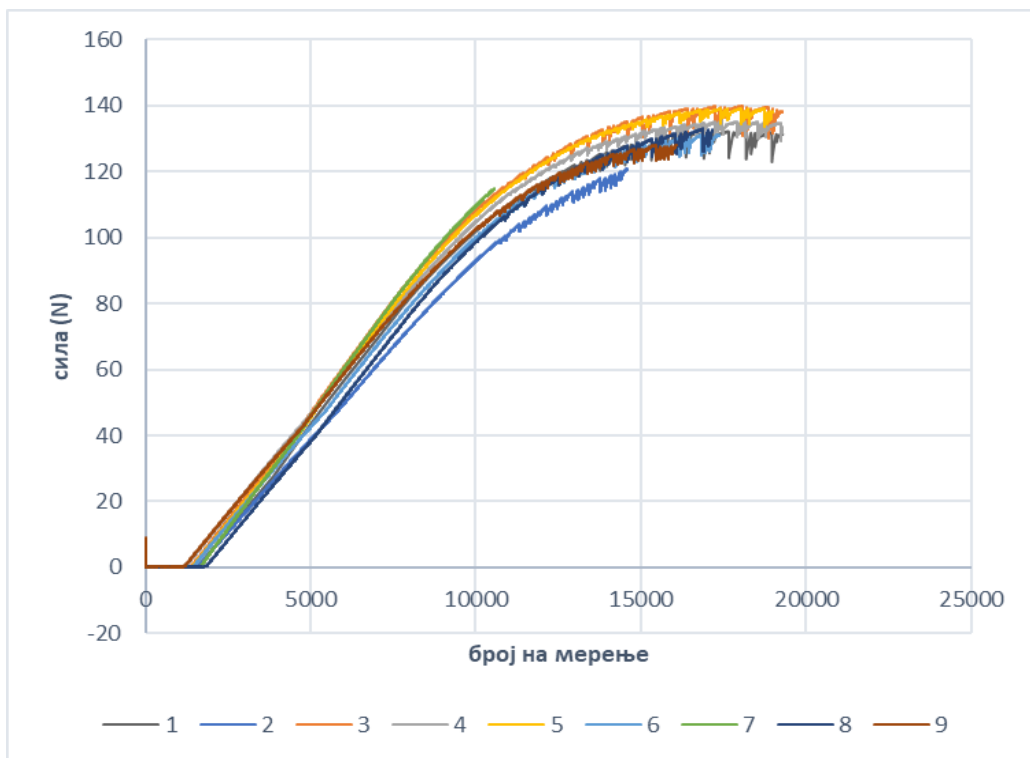


ИНК ПММА

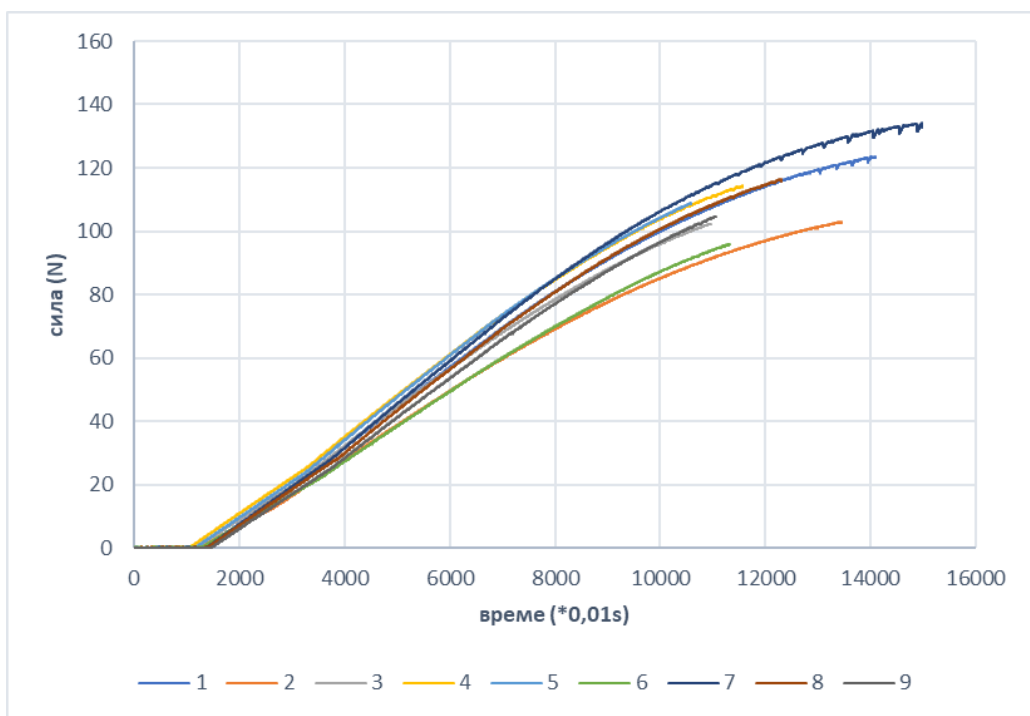
Графикон 5-21. Збирна крива за односот на силата и поместот за групата ПММА.



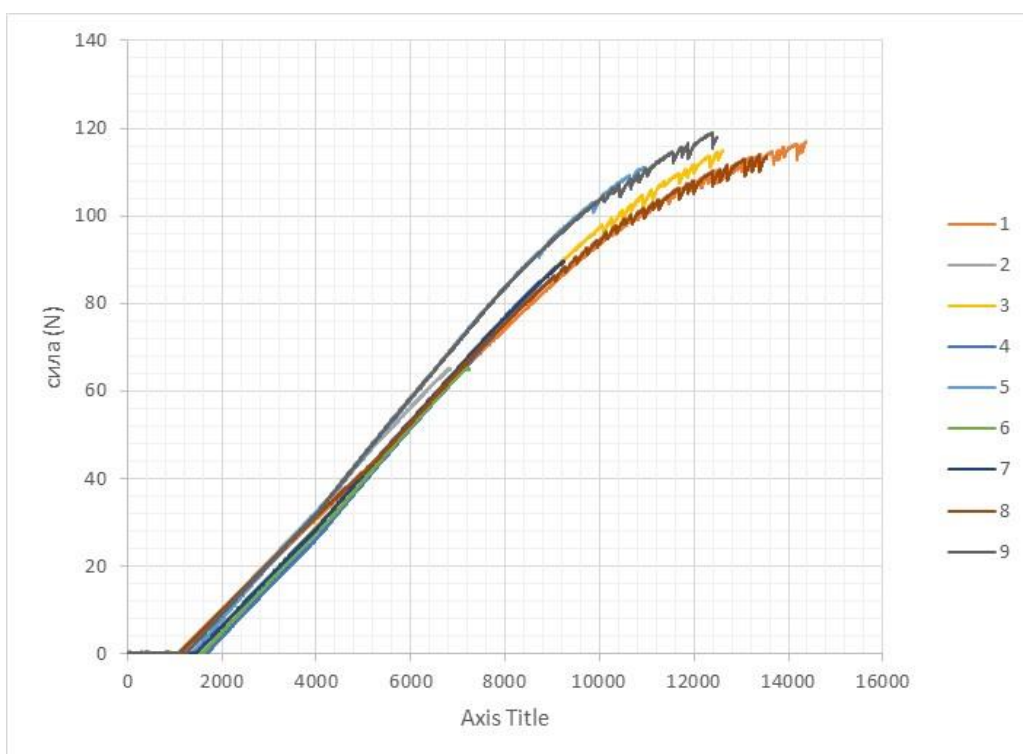
Графикон 5-22. Промена на силата во однос на времето за примероците од групата М 2,5%



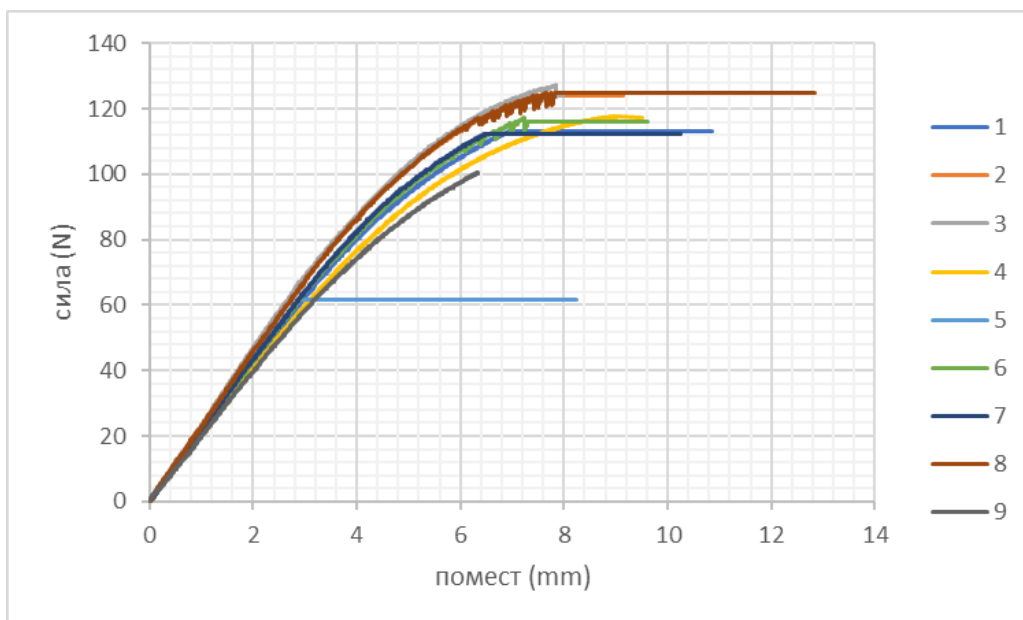
Графикон 5-23. Однос на силата и поместот за сите примероци во групата В 2,5%.



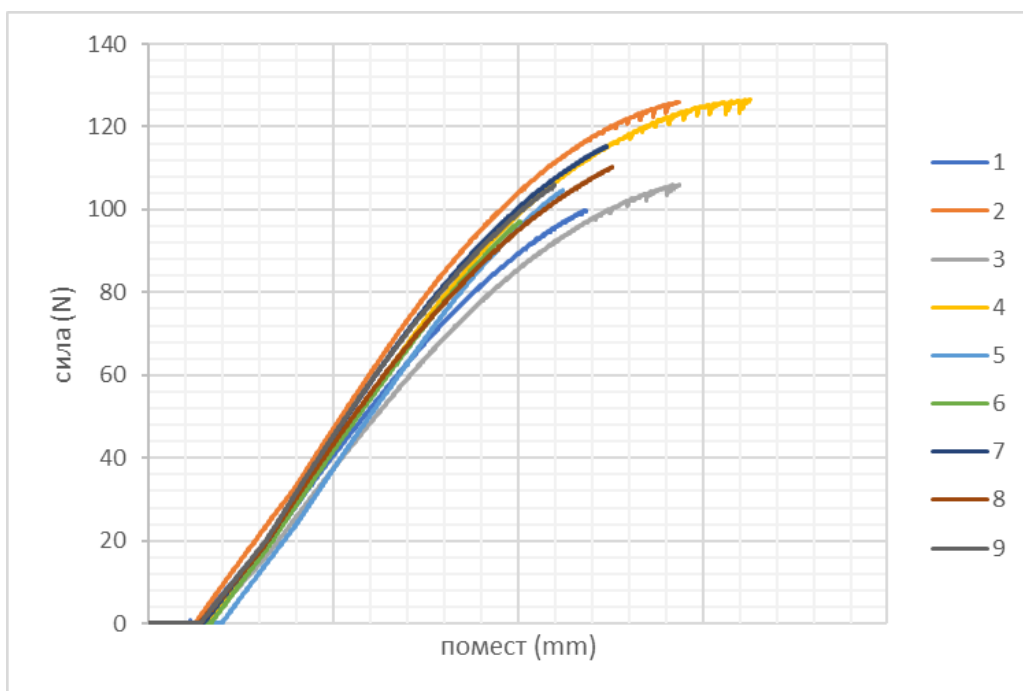
Графикон 5-24. Однос на силата и поместот за сите примероци во групата *В 2,5%.



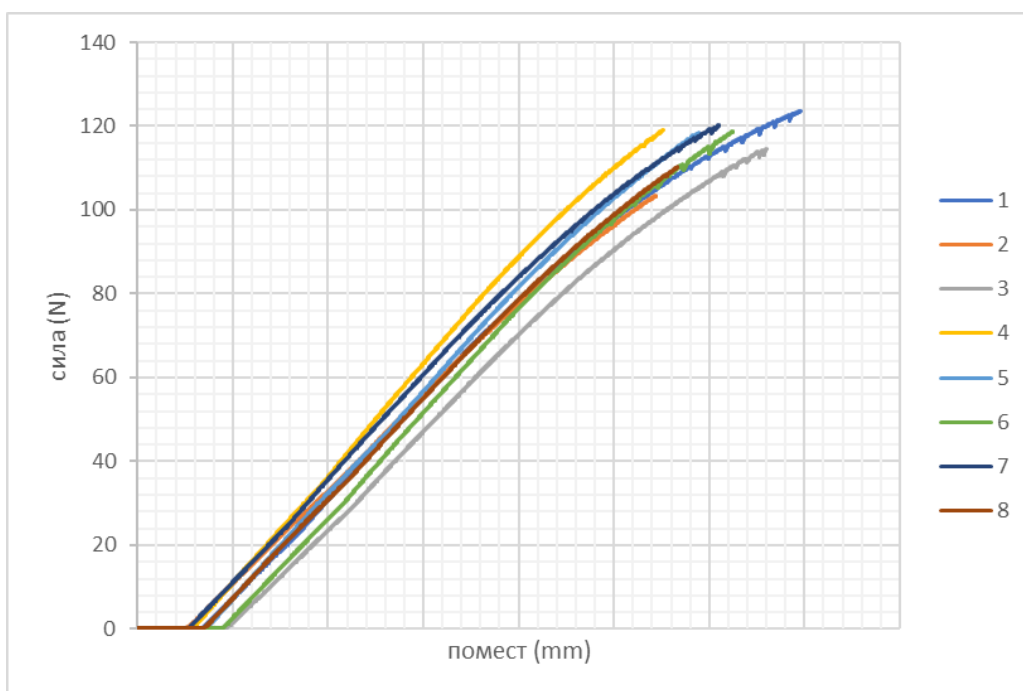
Графикон 5-25. Однос на силата и поместот за сите примероци во групата ВМ 2,5%.



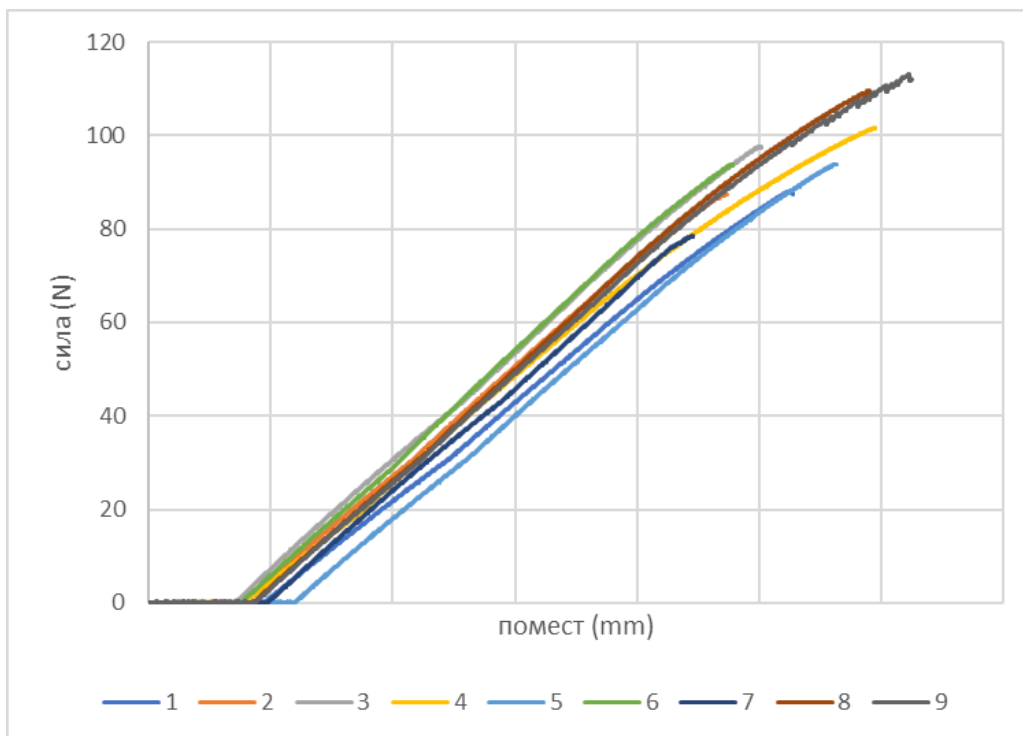
Графикон 5-26. Однос на силата и поместот за сите примероци во групата ВМ 5%.



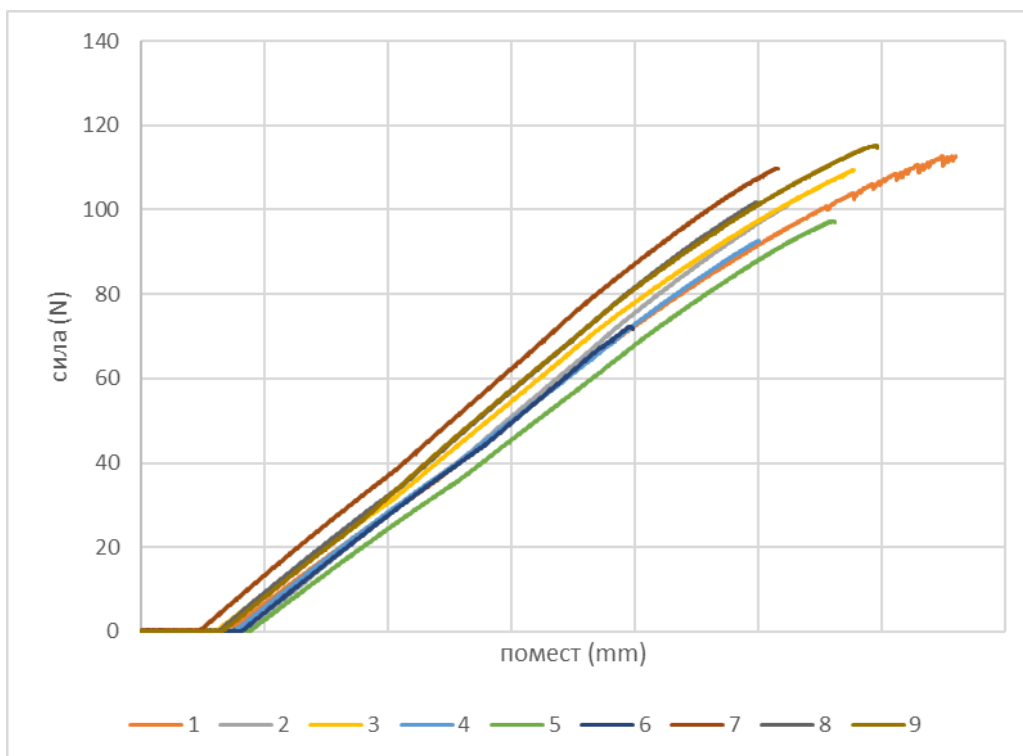
Графикон 5-27. Однос на силата и поместот за сите примероци во групата ИНК М 2,5%.



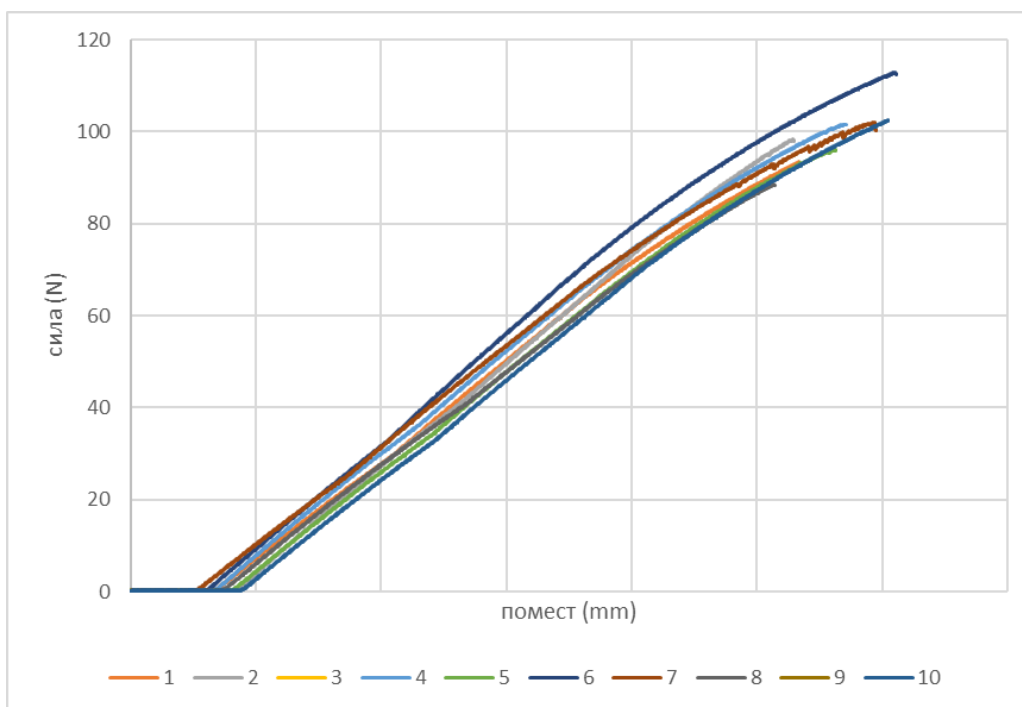
Графикон 5-28. Однос на силата и поместот за сите примероци во групата ИНК В 2,5%.



Графикон 5-29. Однос на силата и поместот за сите примероци во групата ИНК ВМ 2,5%.



Графикон 5-30. Однос на сила и помест за сите примероци во групата ИНК ВМ 5%.



5.3.3 Модул на еластичност при свиткување (E)

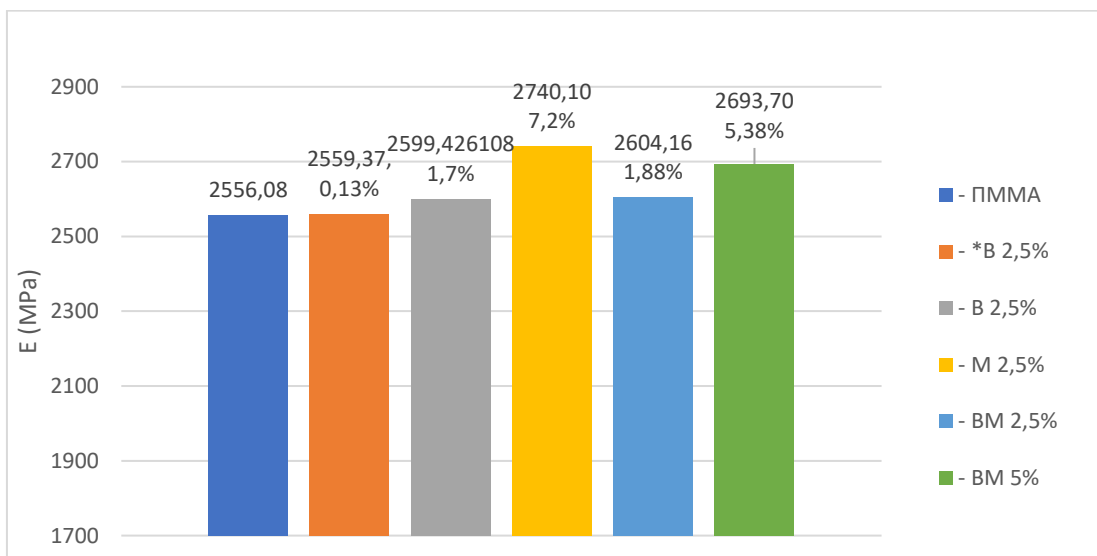
Добиените вредности на модулот на еластичност при свиткување за сите испитувани групи се претставени во Табела 5-20. Вредностите за сите испитувани групи се значително повисоки од предвидената вредност од 1800 MPa.

Табела 5-20. Вредности на модулот на еластичност при свиткување за сите испитувани групи.

Испитувани групи	Број на примероци	Модул на еластичност при свиткување (MPa)			
		Минимум	Максимум	Средна вредност	Стандардна девијација
ПММА	9	2291,366	2730,004	2556,077	128,607
* В 2,5%	9	2428,872	2693,685	2559,371	93,117
В 2,5%	9	2312,234	2937,746	2599,426	184,259
М 2,5%	9	2560,428	2992,747	2740,100	139,019
ВМ 2,5%	9	2504,633	2710,958	2604,157	75,561
ВМ 5%	9	2528,908	2844,672	2693,702	112,981
ИНК ПММА	8	2351,005	2670,561	2497,411	120,167
ИНК В 2,5%	9	2199,264	2544,756	2405,075	104,733
ИНК М 2,5%	8	2518,758	2788,706	2656,728	108,694
ИНК ВМ 2,5%	9	2269,463	2637,236	2486,233	127,837
ИНК ВМ 5%	10	2209,038	2477,375	2339,843	78,332

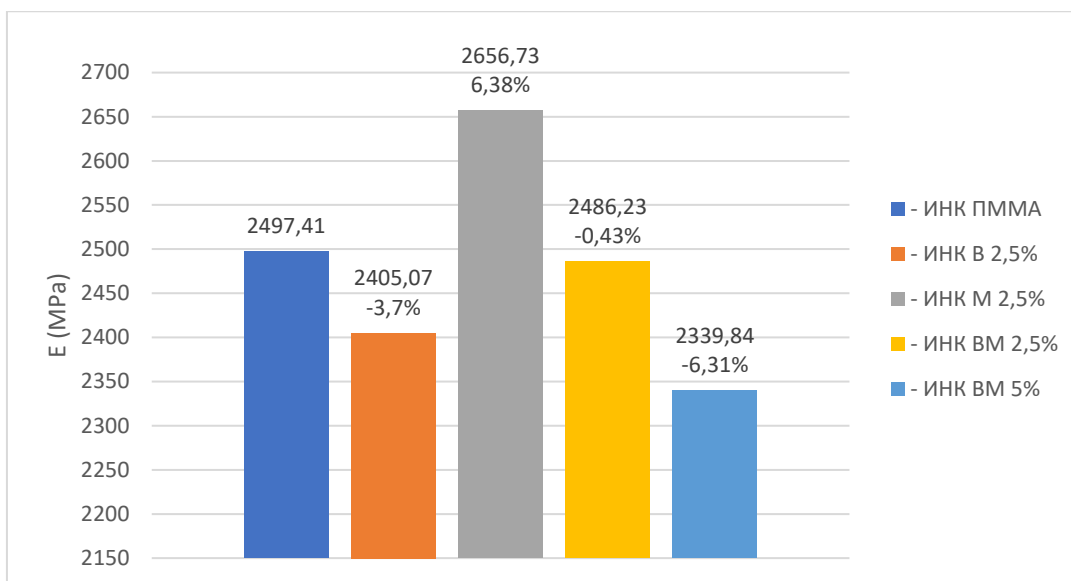
Сите испитувани групи пред инкубацијата имаа повисок модул на еластичност во однос на контролната група од чист ПММА. Највисок модул на еластичност имаше групата М 2,5% (2740,1 МПа). Зголемувањето беше минимално за групата *В 2,5% (0,13%), В 2,5% (1,7%) и ВМ 2,5% (1,88%) и значително повисоко за групите М 2,5% (7,2%) и ВМ 5% (5,38%). Овие вредности сликовито се прикажани на Графикон 5-31, каде почетна вредност на ординатата е минимално пропишаната вредност од 1800 МПа, а процентите го изразуваат релативниот пораст во однос на ПММА.

Графикон 5-31. Просечни вредности на модулот на еластичност за неинкубираните испитувани групи.



Инкубацијата доведе до промени во вредностите на модулот на еластичност, при што сите групи со додаден ванкомицин имаа понизок модул на еластичност при свиткување во однос на контролната ПММА, а групата со додаден чист меропенем – М 2,5% имаше повисока вредност за модулот на еластичност од ПММА (Графикон 5-32). Процентуалните вредности го означуваат релативниот пад или пораст во однос на групата ПММА.

Графикон 5-32. Просечни вредности на модулот на еластичност за инкубираните испитувани групи.



Распределбата на податоците ја тестиравме со тестот на Шапиро – Вилк. (Табела 5-21) Сите испитувани групи имаат нормална распределба, со оглед на тоа што за сите вредности на p е поголема од нивото на значајност $\alpha=0,05$.

Табела 5-21. Шапиро – Вилк тест за нормалност на распределба на податоците за модул на еластичност при свиткување.

E	Shapiro-Wilk	E	Shapiro-Wilk
ПММА	0,469	ИНК ПММА	0,526
*В 2,5%	0,808	ИНК В 2,5%	0,668
В 2,5%	0,691	ИНК М 2,5%	0,482
		ИНК ВМ	
М 2,5%	0,893	2,5%	0,247
ВМ 2,5%	0,500	ИНК ВМ 5%	0,977
ВМ 5%	0,486		

Анализа на вредностите на модулот на еластичност на групите тестирани по 24 часа

Во Табела 5-22 се прикажани вредностите за модулот на еластичност при свиткување за сите испитувани групи пред инкубацијата, со мерките на централна тенденција и варијабилност. Евидентно е дека групата *В 2,5% не е поваријабилна за вредностите на модулот на еластичност во однос на другите групи, нема големи

девијации во распределбата во однос на skewness (0,190) и има платикуртична дистрибуција (kurtosis -1,305).

Табела 5-22. Декриптивни статистички податоци за вредности за модул на елстичност при свиткување: мерки на централна тенденција, дисперзија и распределба на сите испитувани групи

Statistic	ПММА	* В 2,5%	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
Број на примероци	9	9	9	9	9	9
Минимум	2291,366	2428,872	2312,234	2560,428	2504,633	2528,908
Максимум	2730,004	2693,685	2937,746	2992,747	2710,958	2844,672
Ранг	438,638	264,813	625,512	432,319	206,325	315,764
Прв квартал	2523,782	2496,879	2547,799	2632,568	2533,241	2630,593
Медијана	2571,064	2529,679	2591,814	2731,123	2601,436	2688,707
Трет квартал	2642,758	2639,676	2690,345	2804,784	2644,020	2742,864
Аритметичка средина	2556,077	2559,371	2599,426	2740,100	2604,157	2693,702
Варијанса (n)	14702,022	7707,408	30179,122	17178,880	5075,099	11346,357
Варијанса (n-1)	16539,775	8670,834	33951,513	19326,240	5709,487	12764,651
Стандардна девијација (n)	121,252	87,792	173,721	131,068	71,240	106,519
Стандардна девијација (n-1)	128,607	93,117	184,259	139,019	75,561	112,981
Коефициент на варијација (n)	0,047	0,034	0,067	0,048	0,027	0,040
Коефициент на варијација (n-1)	0,050	0,036	0,071	0,051	0,029	0,042
Skewness (Pearson)	-0,792	0,190	0,213	0,433	0,019	-0,088
Kurtosis (Pearson)	0,154	-1,305	-0,294	-0,717	-1,268	-1,048
Стандардна грешка на просекот	42,869	31,039	61,420	46,340	25,187	37,660
Долна граница за просек (95%)	2457,221	2487,794	2457,792	2633,241	2546,075	2606,857
Горна граница за просек (95%)	2654,933	2630,947	2741,060	2846,960	2662,238	2780,547
Стандардна грешка на варијансата	8269,888	4335,417	16975,756	9663,120	2854,743	6382,326
Долна граница за варијанса (95%)	7546,144	3956,000	15490,113	8817,446	2604,909	5823,773
Горна граница за варијанса (95%)	60703,920	31823,504	124608,097	70930,742	20954,834	46848,543
Средно апсолутно отстапување	90,504	78,245	128,394	107,938	59,446	86,123

Хомогеноста на варијансите помеѓу групите беше потврдена со Levene – овиот тест (F (Observed value) 0,838; F (Critical value) 2,409; DF1 5; DF2 48; p-value (Two-tailed) 0,529; $\alpha=0,05$)

Разликите на коефициентот на еластичност при свиткување се статистички значајни за $p<0,05$ (Fisher's ANOVA, Табела 5-23)

Табела 5-23. ANOVA за разликите на модулот на еластичност при свиткување помеѓу испитуваните групи.

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	5,000	253014,214	50602,843	3,131	0,016	*
Error	48,000	775699,997	16160,417			
Corrected Total	53,000	1028714,211				

Computed against model $Y=Mean(Y)$

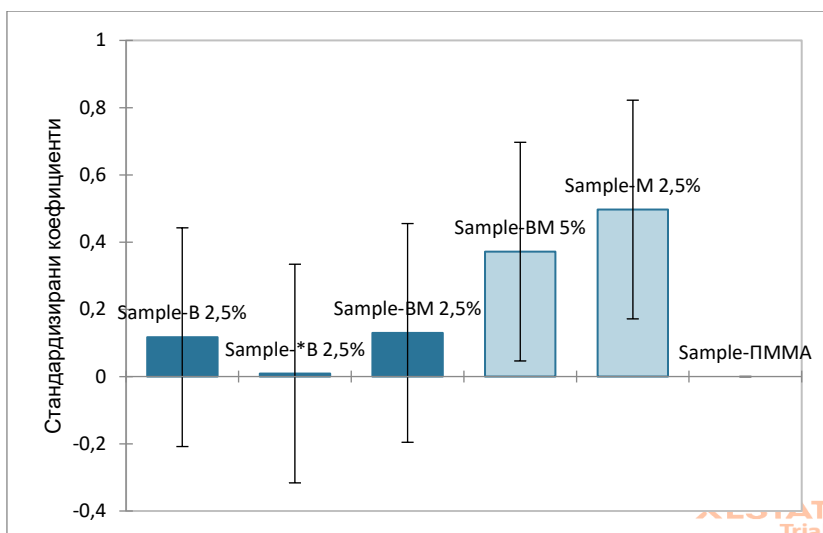
*Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1*

23% од варијабилноста на модулот на еластичност можат да бидат припишани на употребата на различните типови и смеси на антибиотици. Додавањето на антибиотик има голем ефект врз модулот на еластичност ($\eta^2=0,226$)

Стандардизирани коефициенти (

Графикон 5-33) со прикажани 95% интервали на доверба, покажуваат дека се очекува додавањето на 1g меропенем или по 1g меропенем и ванкомицин да предизвика значаен пораст на модулот на еластичност во однос на чистиот коскен цемент.

Графикон 5-33. Y / Стандардизирани коефициенти со 95% CI од ANOVA за разликите на модулот на еластичност при свиткување помеѓу испитуваните групи.



Пост хок тестовите ја потврдуваат значајната разлика помеѓу групите ПММА - М 2,5% и *В 2,5% - М 2,5%. Коскениот цемент со додаден 1g меропенем е значително поеластичен при свиткување во однос на чистиот полиметилметакрилат. Разликите на чистиот цемент со останатите групи не ја достигнуваат минималната значајна разлика, иако анализата на резидуалите укажуваше на можна значајна разлика помеѓу ПММА и ВМ 5% (Табела 5-24) Според Tukey (HSD) тестот, минималната значајна разлика во модулот на еластичност изнесува 177,9 МПа.

Табела 5-24. Tukey (HSD) / Анализа на разликите на модулот на еластичност при свиткување помеѓу испитуваните групи со интервал на доверба од 95% (Y)

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
М 2,5% vs ПММА	184,023	3,071	2,968	0,039	Yes
М 2,5% vs *В 2,5%	180,730	3,016	2,968	0,044	Yes
М 2,5% vs В 2,5%	140,674	2,347	2,968	0,196	No
М 2,5% vs ВМ 2,5%	135,943	2,268	2,968	0,227	No
М 2,5% vs ВМ 5%	46,398	0,774	2,968	0,971	No
ВМ 5% vs ПММА	137,625	2,297	2,968	0,216	No
ВМ 5% vs *В 2,5%	134,331	2,242	2,968	0,238	No
ВМ 5% vs В 2,5%	94,276	1,573	2,968	0,620	No
ВМ 5% vs ВМ 2,5%	89,545	1,494	2,968	0,669	No
ВМ 2,5% vs ПММА	48,079	0,802	2,968	0,966	No
ВМ 2,5% vs *В 2,5%	44,786	0,747	2,968	0,975	No
ВМ 2,5% vs В 2,5%	4,731	0,079	2,968	1,000	No
В 2,5% vs ПММА	43,349	0,723	2,968	0,978	No
В 2,5% vs *В 2,5%	40,055	0,668	2,968	0,985	No
*В 2,5% vs ПММА	3,293	0,055	2,968	1,000	No
q studentized range statistic:			4,197		
Minimum significant difference:			177,856		

Анализа на вредностите на модулот на еластичност на групите тестирани по инкубација

Мерките на централна тенденција, дисперзија и дистрибуција на вредностите на модулот на еластичност по инкубација на испитуваните групи се прикажани во Табела 5-25. Сите вредности се значително над вредноста од 1800 МПа и се движат во рангот од 2199 МПа за примерок од групата ИНК В2,5% до 2789 МПа за примерок од групата ИНК М 2,5%.

Табела 5-25. Декскриптивни статистички податоци за вредности за модул на еластичност при свиткување по инкубација: мерки на централна тенденција, дисперзија и распределба на сите испитувани групи

Statistic	ИНК ПММА	ИНК В 2,5%	ИНК М 2,5%	ИНК ВМ 2,5%	ИНК ВМ 5%
Број на примероци	8	9	8	9	10
Минимум	2351,005	2199,264	2518,758	2269,463	2209,038
Максимум	2670,561	2544,756	2788,706	2637,236	2477,375
Ранг	319,557	345,492	269,948	367,773	268,337
Прв квартал	2427,958	2339,637	2566,639	2431,909	2291,315
Медијана	2452,987	2427,120	2654,605	2525,447	2332,515
Трет квартал	2607,978	2474,470	2744,913	2584,910	2390,547
Аритметичка средина	2497,411	2405,075	2656,728	2486,233	2339,843
Варијанса (n)	12635,005	9750,169	10337,510	14526,512	5522,371
Варијанса (n-1)	14440,006	10968,940	11814,297	16342,326	6135,968
Стандардна девијација (n)	112,406	98,743	101,674	120,526	74,313
Стандардна девијација (n-1)	120,167	104,733	108,694	127,837	78,332
Коефициент на варијација (n)	0,045	0,041	0,038	0,048	0,032
Коефициент на варијација (n-1)	0,048	0,044	0,041	0,051	0,033
Skewness (Pearson)	0,296	-0,655	0,012	-0,699	0,120
Kurtosis (Pearson)	-1,424	-0,311	-1,730	-0,840	-0,650
Стандардна грешка на просекот	42,485	34,911	38,429	42,612	24,771
Долна граница за просек (95%)	2396,949	2324,570	2565,858	2387,969	2283,807
Горна граница за просек (95%)	2597,872	2485,579	2747,598	2584,497	2395,879
Стандардна грешка на варијансата	7718,508	5484,470	6315,007	8171,163	2892,523
Долна граница за варијанса (95%)	6312,467	5004,493	5164,635	7456,059	2903,033

Горна граница за варијанса (95%)	59815,304	40257,962	48938,747	59979,246	20450,277
Средно апсолутно отстапување	102,202	82,612	98,221	101,234	63,366

Хомогеноста на варијансите помеѓу групите беше потврдена со Levene – овиот тест (F (Observed value) 0,980; F (Critical value) 2,612; DF1 4; DF2 39; p-value (Two-tailed) 0,430; alpha 0,05).

Разликите на модулот на еластичност при свиткување помеѓу инкубираните групи се статистички значајни за $p < 0,05$ (Fisher's ANOVA, Табела 5-26)

Табела 5-26. ANOVA за разликите на модулот на еластичност при свиткување помеѓу испитуваните групи по инкубација.

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	4,000	494650,288	123662,572	10,542	<0,0001	***
Error	39,000	457493,957	11730,614			
Corrected						
Total	43,000	952144,246				

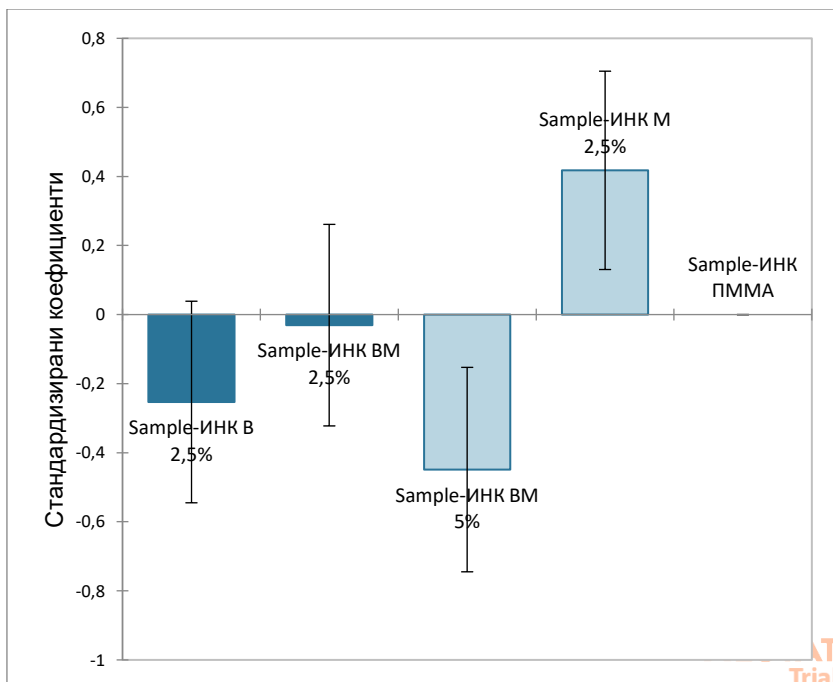
Computed against model $Y = \text{Mean}(Y)$

*Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1*

По инкубацијата, 52% од варијабилноста на модулот на еластичност може да биде припишана на употребата на различните типови и смеси на антибиотици, односно додавањето на антибиотикот има голем ефект врз модулот на еластичност и по период на инкубација од 4 недели ($\eta^2 = 0,520$).

Стандардизираниите коефициенти (Графикон 5-34) со прикажани 95% интервали на доверба, покажуваат дека додавањето на 1g меропенем или по 1g меропенем и ванкомицин има значаен ефект врз модулот на еластичност во однос на чистиот коскен цемент, при што модулот на еластичност на М 2,5% расте во однос на контролната група, а кај групата ВМ 2,5 % се намалува во однос на контролната група.

Графикон 5-34. Y / Стандардизирани коефициенти со 95% CI од ANOVA за разликите на модулот на еластичност при свиткување помеѓу испитуваните групи по инкубација.



По инкубацијата, post hoc тестовите покажуваат дека модулот на еластичност значајно се разликува помеѓу повеќе испитувани групи (Табела 5-27) Статистички значајни разлики не се детектирани помеѓу следните парови: ИНК ПММА vs ИНК В 2,5%; ИНК ПММА vs ИНК ВМ 2,5%, што значи дека на подолг рок, додавањето на 1 g ванкомицин или по 0,5 g ванкомицин и меропенем во коскениот цемент нема значајно влијание на модулот на еластичност. Додавањето на 1g меропенем значајно го зголемува модулот на еластичност, додека комбинацијата со по 1 g ванкомицин и меропенем предизвикува коскениот цемент да биде значително помалку еластичен во однос на чистиот цемент. Според Tukey (HSD) тестот, минималната значајна разлика во модулот на еластичност изнесува 154,9 МПа.

Табела 5-27. Tukey (HSD) / Анализа на разликите помеѓу испитуваните групи за модул на еластичност при свиткување по инкубација, со интервал на доверба од 95% (Y).

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
ИНК М 2,5% vs ИНК ВМ 5%	316,885	6,168	2,859	<0,0001	Yes
ИНК М 2,5% vs ИНК В 2,5%	251,653	4,782	2,859	0,000	Yes
ИНК М 2,5% vs ИНК ВМ 2,5%	170,495	3,240	2,859	0,020	Yes
ИНК М 2,5% vs ИНК ПММА	159,317	2,942	2,859	0,041	Yes
ИНК ПММА vs ИНК ВМ 5%	157,568	3,067	2,859	0,030	Yes
ИНК ПММА vs ИНК В 2,5%	92,336	1,754	2,859	0,414	No
ИНК ПММА vs ИНК ВМ 2,5%	11,178	0,212	2,859	1,000	No
ИНК ВМ 2,5% vs ИНК ВМ 5%	146,390	2,942	2,859	0,041	Yes

ИНК ВМ 2,5% vs ИНК В 2,5%	81,158	1,590	2,859	0,513	No
ИНК В 2,5% vs ИНК ВМ 5%	65,232	1,311	2,859	0,686	No
q studentized range statistic:			4,044		
Minimum significant difference:			154,852		

5.3.4 Максимална јакост на свиткување (В)

При тестирањето на максималната јакост на свиткување, групата означена со *В 2,5% имаше значително повисока варијанса од останатите до тогаш испитувани групи. Ова отстапување беше видливо уште при спроведувањето на тестовите и со оглед на контролираните експериментални услови, укажа на проблем во изработката на примероците за тестирање. Од тие причини, како што е опишано погоре во образложението на методот, беа контролирани одредени процеси при изработката на примероците. Резултатите од оваа група се вклучени и анализирани, примарно за споредба со групата В 2,5% изработена со тие контролирани процеси.

Добиените вредности на максималната јакост на свиткување за сите испитувани групи се претставени во Табела 5-28.

Табела 5-28. Вредности на максимална јакост при свиткување за сите испитувани групи и примероци

Испитувана група	Бр. на примероци	Minimum	Maximum	Аритметичка средина	SD
ПММА	9	59,399	70,824	65,147	3,820
*В 2,5%	9	33,566	64,479	51,700	11,221
В 2,5%	9	51,802	69,073	59,164	4,846
М 2,5%	9	59,071	72,670	68,277	3,918
ВМ 2,5%	9	32,478	65,542	58,587	9,785
ВМ 5%	9	53,137	66,792	58,732	4,553
ИНК ПММА	8	48,374	68,300	55,540	5,644
ИНК В 2,5%	9	40,610	60,271	51,007	5,525
ИНК М 2,5%	8	57,568	65,584	61,886	2,583
ИНК ВМ 2,5%	9	39,449	61,754	53,858	6,704
ИНК ВМ 5%	10	47,441	59,255	53,235	3,699

Од табелата е видлива значително поголемата стандардна девијација кај групата *В 2,5% (SD 11,221). Исто така, се забележува отстапување и во групата ВМ 2,5%, каде стандардната девијација изнесува 9,785, а минималната вредност (32,487 МПа) е далеку пониска од минималните вредности во сите останати групи, како и од средната вредност за таа група (51,700 МПа).

Распределбата на податоците ја тестиравме со тестот на Шапиро – Вилк. Сите испитувани групи имаат нормална распределба, освен групата ВМ 2,5% (Shapiro-Wilk test ВМ 2,5%: W 0,677; p-value (Two-tailed) 0,000; alpha 0,05).

Од оваа причина, направивме Grubbs – ов тест за откривање на вредности кои отстапуваат (outliers). Вредности кои отстапуваат беа детектирани во групите М 2,5%, и ВМ 2,5%, но само кај групата ВМ 2,5% откриениот резултат со отстапување имаше z – скор кој ја надминуваше критичната вредност на тестот G. (Табела 5-29, Графикон 5-35). Во табелата се прикажани само групите во кои беа детектирани вредности што отстапуваат. Поради ова, вредноста за максимална јакост на притисок за примерокот бр. 5 од групата ВМ 2,5% ја исклучивме од понатамошните анализи. По повторното тестирање на оваа група со исклучениот outlier со тестот на Шапиро – Вилк, таа имаше нормална распределба (Табела 5-30. **Тест на Shapiro - Wilk: нормална распределба на сите испитувани групи по отстранување на вредноста што отстапува.**) и сите понатамошни анализи на максималната јакост при свиткување се направени без оваа вредност. Вредноста што отстапува во групата М 2,5% е гранична, односно се поклопува со критичната вредност, а самата група има нормална распределба, поради што одлучивме оваа вредност да не ја исклучуваме од понатамошните анализи.

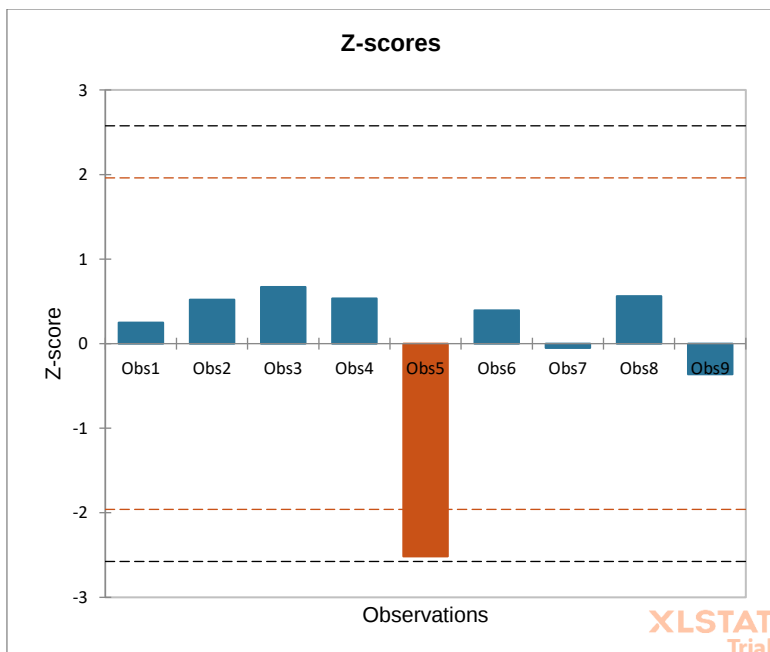
Табела 5-29. Grubbs - ов тест за детектирање на вредности кои отстапуваат (outliers).

Grubbs test for outliers /

Two-tailed test:

	ВМ 2,5%	М 2,5%
Value (MPa)	32,478	59,071
G (Observed value)	2,516	2,215
G (Critical value)	2,215	2,215
p-value (Two-tailed)	0,001	0,050
alpha	0,05	0,05

Графикон 5-35. Графички приказа на Grubbs - овиот тест за групата ВМ 2,5%, со z - скор за вредностите на максимална јакост на свиткување на сите испитувани примероци.



Табела 5-30. Тест на Shapiro - Wilk: нормална распределба на сите испитувани групи по отстранување на вредноста што отстапува.

Испитувана група	Shapiro-Wilk	Испитувана група	Shapiro-Wilk
ПММА	0,533	ИНК ПММА	0,163
*В 2,5%	0,213	ИНК В 2,5%	0,627
В 2,5%	0,681	ИНК М 2,5%	0,407
М 2,5%	0,129	ИНК ВМ 2,5%	0,347
ВМ 2,5%	0,155	ИНК ВМ 5%	0,873
ВМ 5%	0,164		

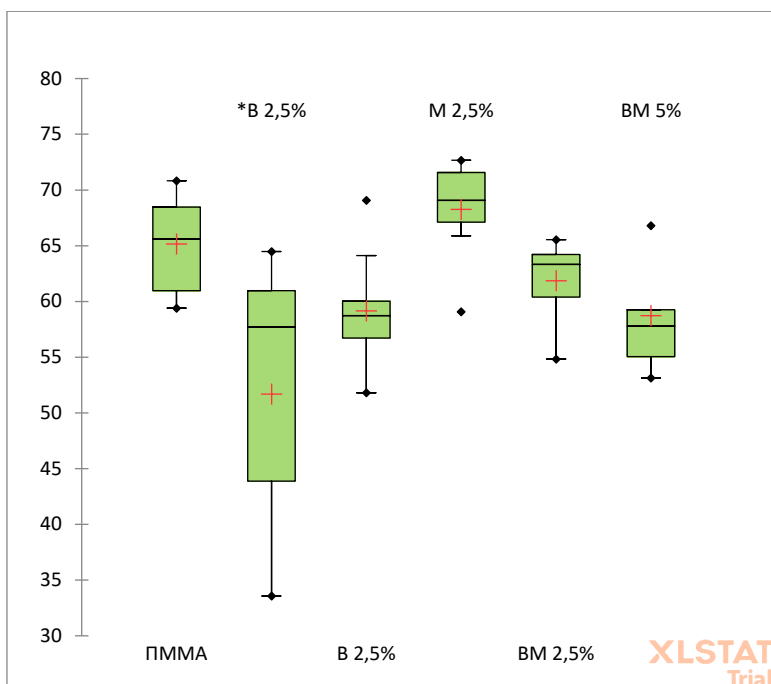
Анализа на вредностите на максималната јакост при свиткување (В) на групите тестирани по 24 часа

Во Табела 5-31 се прикажани квантитативните податоци кои ги опишуваат испитуваните групи, што сликовито е прикажано на Графикон 5-36. Мерките на дисперзија за групата *В 2,5% покажуваат поголема расеаност на податоците за оваа група, иако претходните испитувања покажаа правилна распределба на групата без outlier – и.

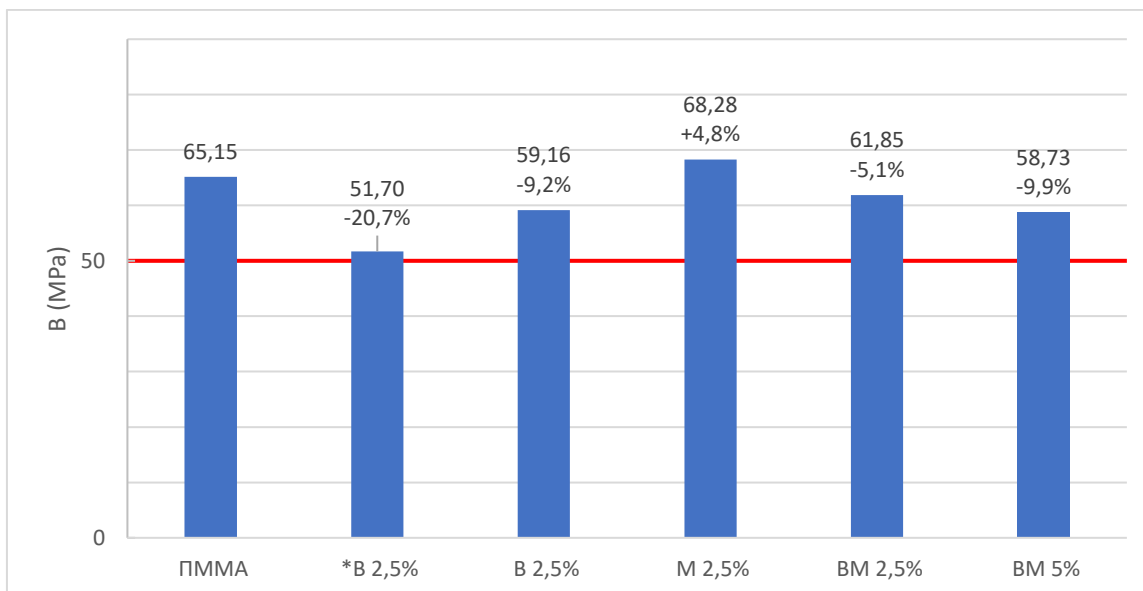
Табела 5-31. Декриптивни статистички податоци за вредности за максималната јакост при свиткување: мерки на централна тенденција, дисперзија и распределба на сите испитувани групи

Statistic	ПММА	* В 2,5%	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
Број на примероци	9	9	9	9	9	9
Минимум	59,399	33,566	51,802	59,071	54,825	53,137
Максимум	70,824	64,479	69,073	72,670	65,542	66,792
Ранг	11,425	30,913	17,272	13,598	10,718	13,656
Прв квартал	60,963	43,889	56,717	67,121	60,392	55,041
Медијана	65,586	57,701	58,736	69,077	63,329	57,784
Трет квартал	68,450	60,961	60,026	71,569	64,205	59,253
Аритметичка средина	65,147	51,700	59,164	68,277	61,851	58,732
Варијанса (n)	14,593	125,903	23,480	15,351	11,858	20,730
Варијанса (n-1)	16,417	141,641	26,415	17,270	13,552	23,321
Стандардна девијација (n)	3,820	11,221	4,846	3,918	3,444	4,553
Стандардна девијација (n-1)	4,052	11,901	5,140	4,156	3,681	4,829
Коефициент на варијација (n)	0,059	0,217	0,082	0,057	0,056	0,078
Коефициент на варијација (n-1)	0,062	0,230	0,087	0,061	0,060	0,082
Skewness (Pearson)	-0,174	-0,445	0,541	-1,152	-0,956	0,712
Kurtosis (Pearson)	-1,317	-1,413	-0,209	0,720	-0,403	-0,778
Стандардна грешка на просекот	1,351	3,967	1,713	1,385	1,302	1,610
Долна граница на CI за просек (95%)	62,032	42,552	55,214	65,083	58,773	55,020
Горна граница на CI за просек (95%)	68,261	60,848	63,115	71,472	64,928	62,444
Стандардна грешка на варијансата	8,209	70,820	13,207	8,635	7,244	11,660
Долна граница на CI за варијанса (95%)	7,490	64,623	12,052	7,879	5,924	10,640
Горна граница на CI за варијанса (95%)	60,254	519,848	96,947	63,383	56,139	85,592
Средно апсолутно отстапување	3,237	10,454	3,682	2,990	2,875	3,643

Графикон 5-36. Максимална јакост при свиткување (МРа) на испитуваните групи, со приказ на просекот и минималните и максималните вредности.



Графикон 5-37. Просечна максимална јакост на свиткување на групите испитувани пред инкубација во однос на граничната вредност од 50 МРа.



На Графикон 5-37 се претставени просечните вредности за максимална јакост при свиткување за сите испитувани групи тестирани 24 часа по подготовката. Вредностите претставени со процент го претставуваат релативниот пад или пораст на вредноста на максимална јакост при свиткување во однос на групата ПММА (100%).

Црвената линија ја означува вредноста од 50 МПа, дефинирана како гранична вредност во стандардот ISO 5833. Сите вредности се над оваа вредност, но просекот на групата *В 2,5% не се разликува значајно од граничната вредност од 50 МПа (t-test за еден примерок, Табела 5-32).

Табела 5-32. Т - тест за еден примерок за тестирање на разликите помеѓу граничната вредност од 50 МПа и испитуваните групи.

Variable	p-values
ПММА	<0,0001
*В 2,5%	0,340
В 2,5%	0,000
М 2,5%	<0,0001
ВМ 2,5%	<0,0001
ВМ 5%	0,000

Хомогеноста на варијансите помеѓу групите беше испитана со Levene – овиот тест, кој покажа дека најмалку една од варијансите значајно се разликува од другите (Levene's test (Mean) / Two-tailed test: F (Observed value) 8,483; F (Critical value) 2,413; DF1 5; DF2 47; **p-value (Two-tailed) <0,0001**; $\alpha=0,05$).

Разликите на максималната јакост при свиткување се статистички значајни за $p<0,05$ (Welch ANOVA, Табела 5-33) Максималната јакост при свиткување е намалена кај групите *В 2,5% за 20,64%; В 2,5% за 9,19%; ВМ 2,5% за 5,07% и ВМ 5% за 9,85%, а зголемена е во групата М 2,5% за 4,8%.

Табела 5-33. ANOVA за разликите на максималната јакост при свиткување помеѓу испитуваните групи.

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	5,000	1489,971	297,994	7,389	<0,0001	***
Error	47,000	1895,378	40,327			
Corrected Total	52,000	3385,349				

Computed against model Y=Mean(Y)

*Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1*

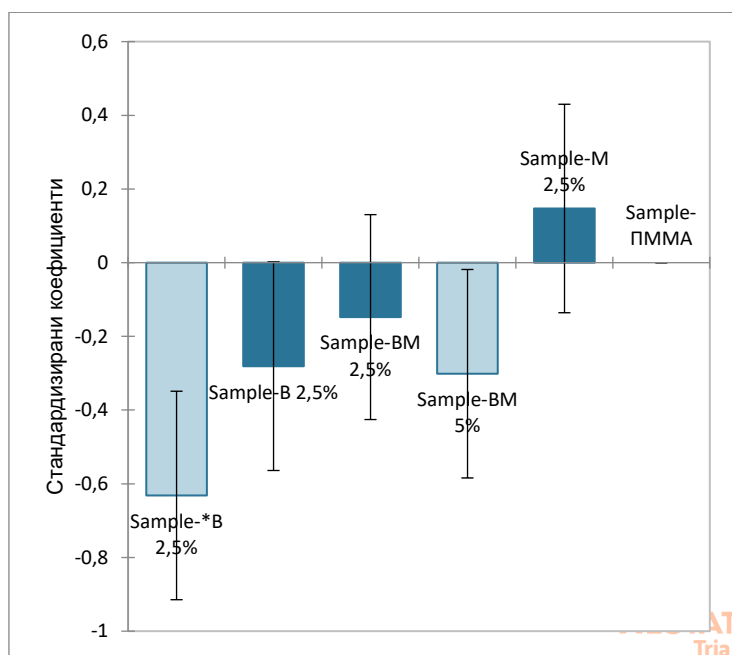
Robust test of equality of means (Y):

Statistic	F	DF1	DF2	Pr > F
Welch statistic	6,755	5,000	21,804	0,001
Brown-Forsythe F-ratio	7,512	5,000	20,673	0,000

44% од варијабилноста на максималната јакост при свиткување можат да бидат припишани на употребата на различните типови и смеси на антибиотици (коефициент на детерминација $R^2 = 0,440$).

Стандардизирани коефициенти (Графикон 5-38) со прикажани 95% интервали на доверба, укажуваат дека максималната јакост на свиткување значително се намалува при додавање на ванкомицин за групата *B 2,5%. Ефектот е значителен и за групата BM 5%, но во значително помал обем ($\beta -0,63$ наспроти $-0,3$).

Графикон 5-38. Y / Стандардизирани коефициенти со 95% CI од ANOVA за разликите на максималната јакост при свиткување помеѓу испитуваните групи.



Со оглед на хетероскедастичноста на резидуалите, беше направен Games – Howell post hoc тест, чии резултати се прикажани во Табела 5-34. Според овој тест, групата M 2,5% има значајно повисока максимална јакост на свиткување во однос на сите останати групи со антибиотици. Максималната јакост при свиткување на групите на коскен цемент со додадени антибиотици не се разликува значајно од максималната јакост при свиткување на чистиот коскен цемент.

Табела 5-34. Games – Howell анализа на поединечните разлики во максималната јакост при свиткување помеѓу групите со 95% CI (Y).

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
M 2,5% vs *B 2,5%	16,577	3,945	3,479	0,025	Yes	6,163	26,992		
M 2,5% vs BM 5%	9,545	4,495	3,231	0,004	Yes	-0,127	19,218		
M 2,5% vs B 2,5%	9,113	4,136	3,240	0,009	Yes	-0,586	18,811		
M 2,5% vs BM 2,5%	6,426	3,381	3,249	0,039	Yes	-3,599	16,452		
M 2,5% vs ПММА 2,5%	3,130	1,618	3,222	0,599	No	-6,516	12,777		
ПММА vs *B 2,5%	13,447	3,209	3,485	0,076	No	3,013	23,881		
ПММА vs BM 5%	6,415	3,053	3,234	0,070	No	-3,267	16,097		
ПММА vs B 2,5%	5,983	2,742	3,244	0,123	No	-3,729	15,694		
ПММА vs BM 2,5%	3,296	1,757	3,249	0,518	No	-6,730	13,323		
BM 2,5% vs *B 2,5%	10,151	2,431	3,496	0,235	No	-0,637	20,939		
BM 2,5% vs BM 5%	3,119	1,507	3,258	0,666	No	-6,934	13,171		
BM 2,5% vs B 2,5%	2,686	1,249	3,267	0,807	No	-7,393	12,766		
B 2,5% vs *B 2,5%	7,465	1,727	3,417	0,543	No	-2,765	17,694		
B 2,5% vs BM 5%	0,432	0,184	3,224	1,000	No	-9,218	10,083		
BM 5% vs *B 2,5%	7,032	1,643	3,436	0,591	No	-3,254	17,319		

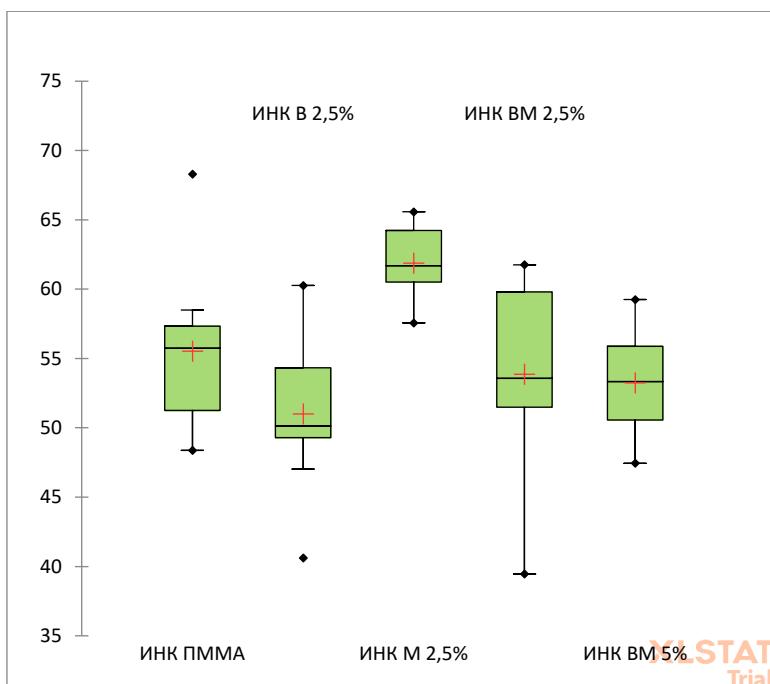
Анализа на вредностите на максималната јакост при свиткување (В) на групите тестирани по инкубација

Во Табела 5-35 се прикажани квантитативните податоци кои ги опишуваат испитуваните групи, што сликовито е прикажано на Графикон 5-39.

Табела 5-35. Декскриптивни статистички податоци за вредности за максималната јакост при свиткување кај групите по инкубација: мерки на централна тенденција, дисперзија и распределба на сите испитувани групи

Statistic	ИНК ПММА	ИНК В 2,5%	ИНК М 2,5%	ИНК ВМ 2,5%	ИНК ВМ 5%
Број на примероци	8	9	8	9	10
Минимум	48,374	40,610	57,568	39,449	47,441
Максимум	68,300	60,271	65,584	61,754	59,255
Ранг	19,926	19,661	8,016	22,304	11,814
Прв квартал	51,247	49,285	60,510	51,487	50,560
Медијана	55,742	50,124	61,691	53,568	53,332
Трет квартал	57,325	54,321	64,223	59,797	55,886
Аритметичка средина	55,540	51,007	61,886	53,858	53,235
Варијанса (n)	35,840	30,526	7,509	44,949	12,317
Варијанса (n-1)	40,960	34,342	8,581	50,568	13,686
Стандардна девијација (n)	5,987	5,525	2,740	6,704	3,510
Стандардна девијација (n-1)	6,400	5,860	2,929	7,111	3,699
Коефициент на варијација (n)	0,108	0,108	0,044	0,124	0,066
Коефициент на варијација (n-1)	0,115	0,115	0,047	0,132	0,069
Skewness (Pearson)	0,795	-0,030	-0,216	-0,818	0,013
Kurtosis (Pearson)	0,084	-0,420	-1,183	-0,162	-1,065
Стандардна грешка на просекот	2,263	1,953	1,036	2,370	1,170
Долна граница на CI за просек (95%)	50,189	46,503	59,437	48,392	50,589
Горна граница на CI за просек (95%)	60,890	55,512	64,335	59,324	55,882
Стандардна грешка на варијансата	21,894	17,171	4,587	25,284	6,451
Долна граница на CI за варијанса (95%)	17,906	15,668	3,751	23,071	6,475
Горна граница на CI за варијанса (95%)	169,670	126,042	35,547	185,593	45,612
Средно апсолутно отстапување	4,577	4,317	2,242	5,329	3,106

Графикон 5-39. Максимална јакост на свиткување (МРа) по инкубација на испитуваните групи, со приказ на просекот и минималните и максималните вредности.



Просекот на групите ПММА, М 2,5% и ВМ 5% е значајно над граничната вредност од 50 МРа, додека групите В 2,5% и ВМ 2,5% не се разликуваат значајно од оваа вредност (t-test за еден примерок, Табела 5-36).

Табела 5-36. Т - тест за еден примерок за тестирање на разликите помеѓу граничната вредност од 50 МРа и испитуваните групи по инкубација.

Variable	p-values
ИНК ПММА	0,028
ИНК В 2,5%	0,2056
ИНК М 2,5%	<0,00001
ИНК ВМ 2,5%	0,1423
ИНК ВМ 5%	0,0219

Кај групите инкубирани примероци, варијансите се хомогени (Levene's test (Mean) / Two-tailed test: F (Observed value) 1,200; F (Critical value) 2,612; DF1 4; DF2 39; p-value (Two-tailed) 0,326; $\alpha=0,05$).

Разликите во максималната јакост при свиткување кај инкубирани примероци се статистички значајни за $p<0,05$ (Fisher's ANOVA, Табела 5-37)

Табела 5-37. ANOVA на максималната јакост при свиткување по инкубација на испитуваните групи.

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F	p-values signification codes
Model	4,000	567,550	141,888	4,815	0,003	**
Error	39,000	1149,239	29,468			
Corrected						
Total	43,000	1716,790				

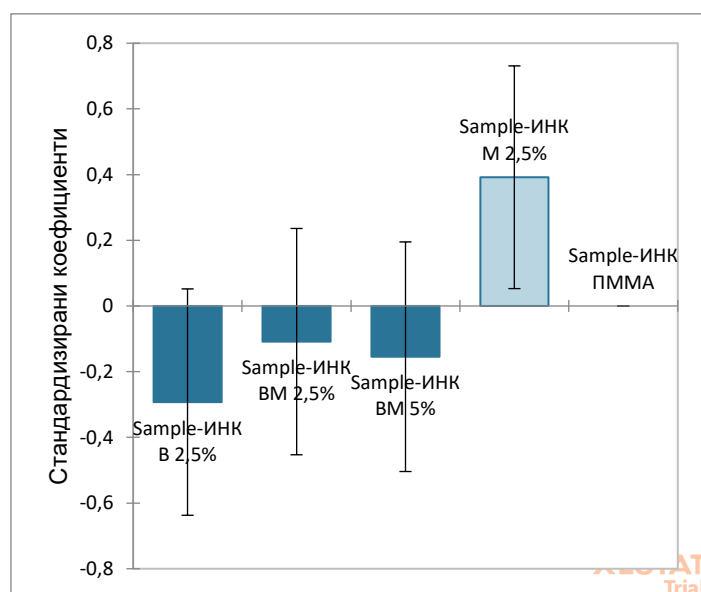
Computed against model $Y = \text{Mean}(Y)$

Signification codes: $0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ^\circ < 1$

По инкубацијата, 33% од варијабилноста на модулот на еластичност може да биде припишана на употребата на различните типови и смеси на антибиотици (коэффициент на детерминација $R^2 = 0,331$).

Стандардизираниите коефициенти (Графикон 5-40) со прикажани 95% интервали на доверба, покажуваат дека додавањето на 1g меропенем предизвикува значаен ефект врз максималната јакост при свиткување, со нејзин пораст на подолг рок во однос на чистиот ПММА ($\beta=0,392$, **$p=0,025$**). Вакви значајни ефекти не се детектирани за другите антибиотски комбинации.

Графикон 5-40. Y / Стандардизирани коефициенти со 95% CI од ANOVA за разликите на максималната јакост при свиткување помеѓу испитуваните групи.



Post hoc Tukey HSD тестот покажа дека групата M 2,5% има значајно повисока максимална јакост на свиткување во однос на сите останати групи со антибиотици, кои не се разликуваат значајно помеѓу себе. Додавањето на испитуваните

антибиотици во испитуваните количини не предизвикува статистички значајна промена на максималната јакост на свиткување во однос на чистиот коскен цемент, како што беше утврдено и кај неинкубираните примероци. (Табела 5-38) Минималната значајна разлика помеѓу групите изнесува 7,761 МПа.

Табела 5-38. Tukey HSD анализа на поединечните разлики во максималната јакост при свиткување помеѓу групите со 95% CI (Y).

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
ИНК М 2,5% vs ИНК В 2,5%	10,879	4,124	2,859	0,002	Yes	3,336	18,421		
ИНК М 2,5% vs ИНК ВМ 5%	8,650	3,359	2,859	0,014	Yes	1,287	16,013		
ИНК М 2,5% vs ИНК ВМ 2,5%	8,028	3,044	2,859	0,032	Yes	0,485	15,571		
ИНК М 2,5% vs ИНК ПММА	6,346	2,338	2,859	0,155	No	-1,415	14,107		
ИНК ПММА vs ИНК В 2,5%	4,532	1,718	2,859	0,435	No	-3,010	12,075		
ИНК ПММА vs ИНК ВМ 5%	2,304	0,895	2,859	0,897	No	-5,059	9,667		
ИНК ПММА vs ИНК ВМ 2,5%	1,682	0,638	2,859	0,968	No	-5,861	9,224		
ИНК ВМ 2,5% vs ИНК В 2,5%	2,851	1,114	2,859	0,798	No	-4,467	10,168		
ИНК ВМ 2,5% vs ИНК ВМ 5%	0,622	0,250	2,859	0,999	No	-6,510	7,754		
ИНК ВМ 5% vs ИНК В 2,5%	2,228	0,893	2,859	0,898	No	-4,904	9,360		

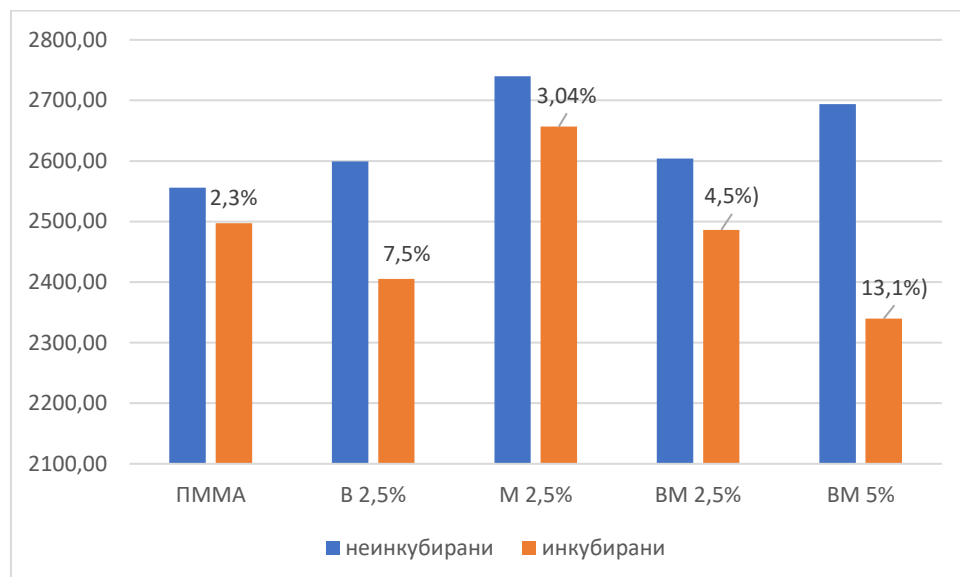
q studentized range statistic: 4,044

Minimum significant difference: 7,761

5.3.5 Ефекти од инкубација врз модул на еластичност и максимална јакост на свиткување на коскен цемент без и со додадени антибиотици

Влијание на инкубацијата врз модулот на еластичност при свиткување

Графикон 5-41. Просечен модул на еластичност, E (MPa)



На Графикон 5-41 е прикажано дека инкубацијата во тек на 4 недели предизвикала намалување на модулот на еластичност за сите испитувани групи, и тоа од 2,3% за чистиот коскен цемент до 13,1% за групата ВМ 5%. Овој релативен пад на модулот на еластичност е поголем кај В 2,5% (z-score -1,657554738, **p=0,04846**) и ВМ 5% (z-score = -2,759790951, **p=0,00289**) во однос на чистиот коскен цемент. Овие податоци, како и отсуството на значајни разлики во релативниот пад меѓу другите групи, укажуваат дека додавањето на ванкомицин има улога во значајното намалување на модулот на еластичност на коскениот цемент во тек на инкубација, што понатаму се покажа и преку резултатите на т – тестот за зависни примероци.

Т – тестот за зависни примероци, со кој ги споредивме вредностите на модулот на еластичност кај сите испитувани групи пред и по инкубација, покажа дека намалувањето на вредностите на модулот на еластичност при свиткување предизвикано од инкубацијата не е статистички значајно за групите ПММА и М 2,5%, а е значајно за сите останати групи (Табела 5-39)

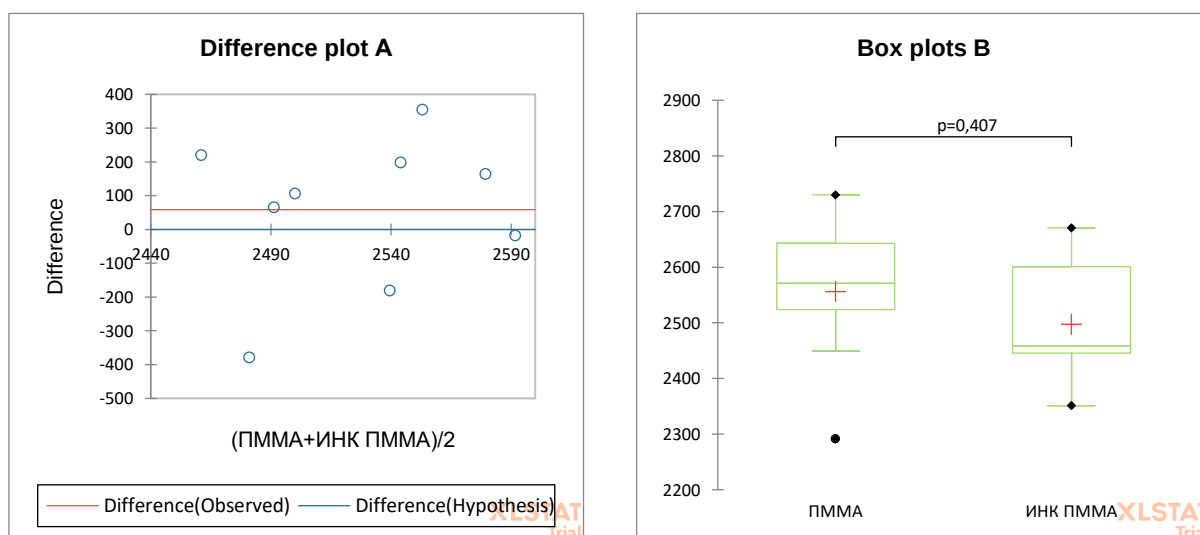
Табела 5-39. Т – тест за зависни примероци, со кој ги споредивме вредностите на модул на еластичност при свиткување кај сите испитувани групи пред и по инкубација.

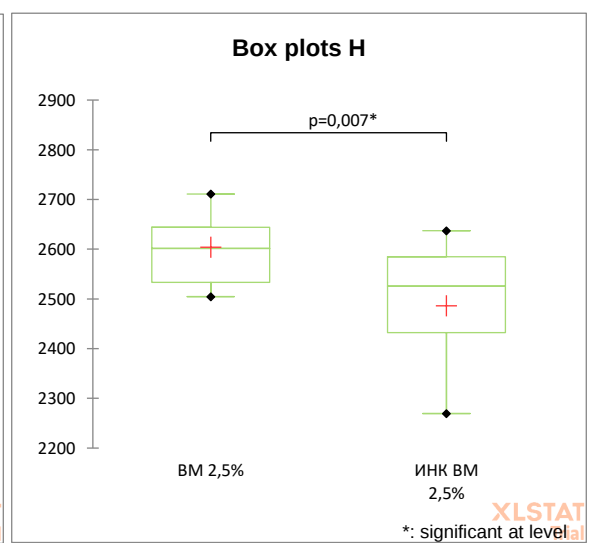
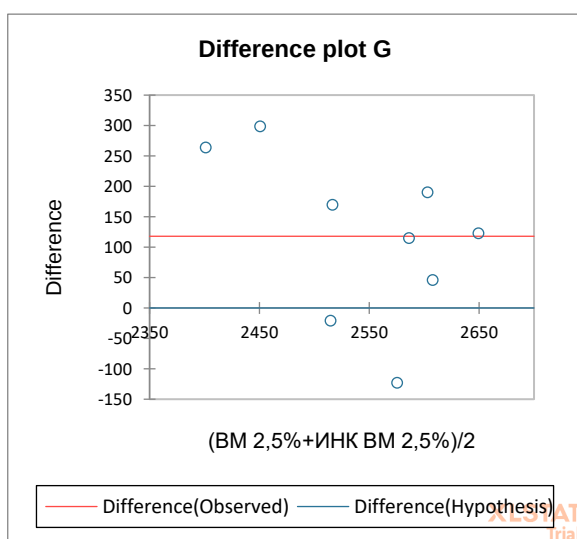
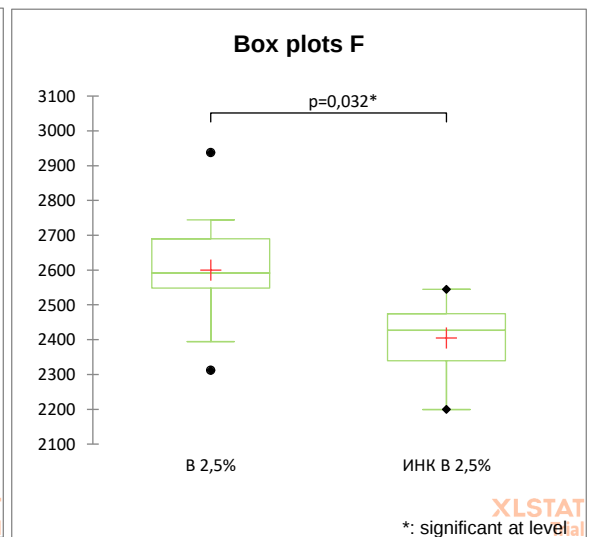
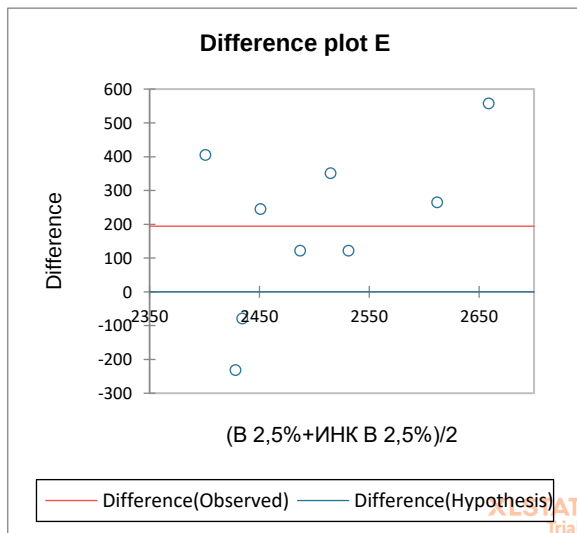
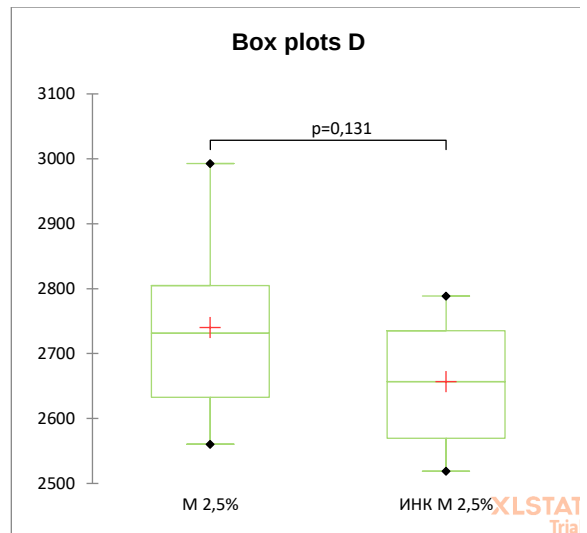
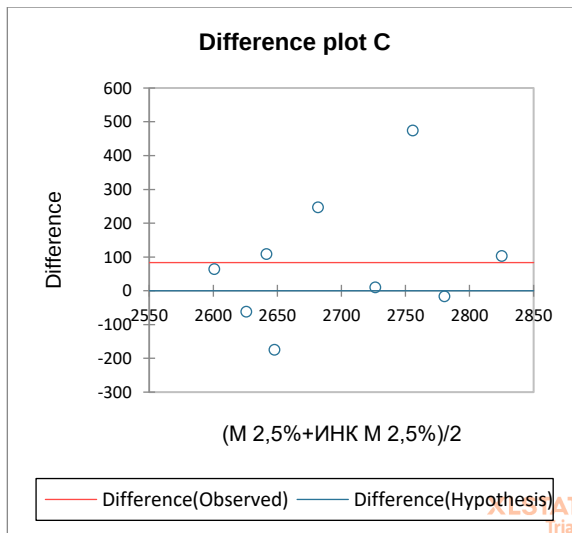
t-test for two paired samples / Two-tailed test:					
	ПММА	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
95% confidence interval on the difference between the means:					
	[-91,959; 209,293]	[14,930; 373,773]	[-18,769; 185,514]	[31,617; 204,230]	[254,434; 453,285]
Difference	58,667	194,351	83,373	117,924	353,859
t (Observed value)	0,786	2,391	1,328	2,634	10,032
Critical value	2,019	2,207	1,627	1,928	2,819
DF	8	8	8	8	9
p-value (Two-tailed)	0,407	0,032	0,131	0,007	<0,0001
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

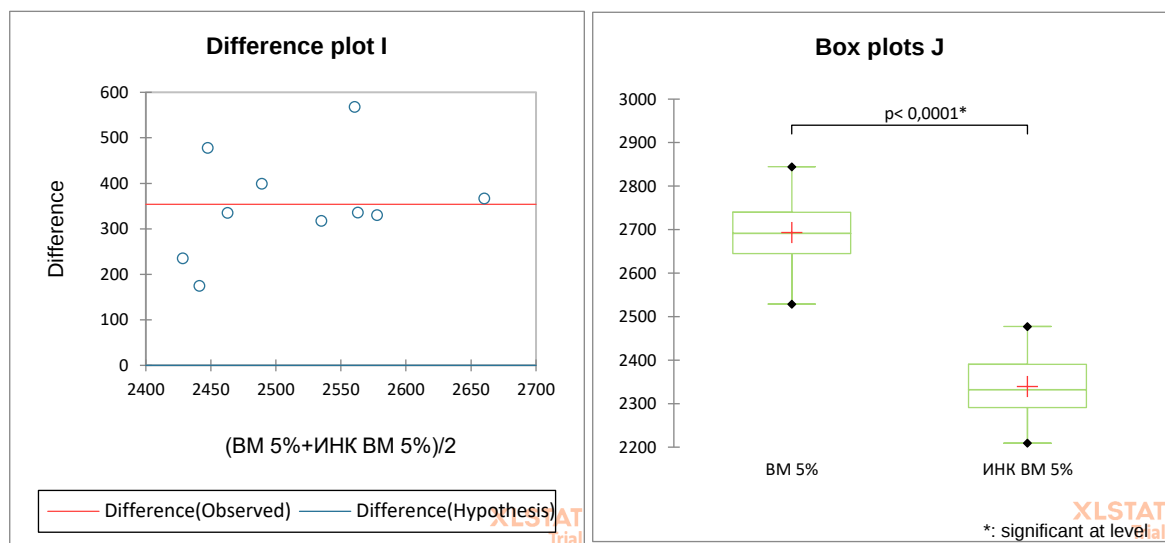
The number of degrees of freedom is approximated by the Welch-Satterthwaite formula

Графичкиот приказ на разликите (Графикони 5-42 А-Ј) на добиените вредности пред и по инкубацијата на испитуваните групи ја покажува големината на ефектот на инкубацијата врз модулот на еластичност при свиткување.

Графикони 5-42 А-Ј. Графички приказ на очекуваните и добиените разлики (difference plot) и разликите во средните вредности (box plot) на модулот на еластичност при свиткување помеѓу инкубираните и неинкубираните примероци од истите групи

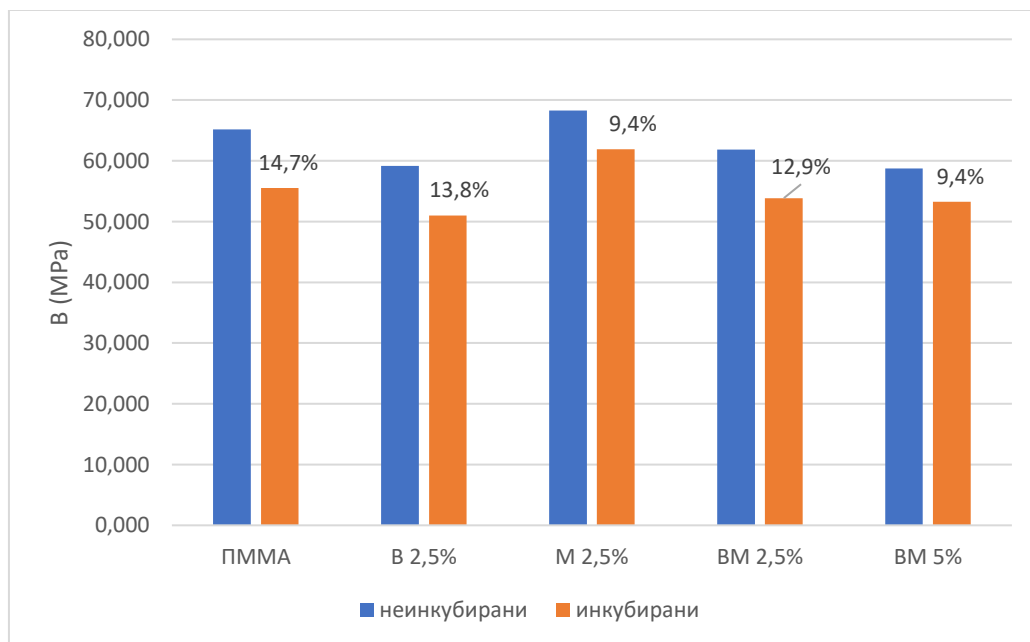






Влијание на инкубацијата врз максималната јакост при свиткување

Графикон 5-43. Просечна максимална јакост при свиткување, В (МПа)



Инкубацијата во тек на 4 недели предизвика пад на максималната јакост при свиткување кај сите испитувани групи. Овој пад се движеше од 9,4% за групите М 2,5% и ВМ 5% до 14,7% за чистиот ПММА. (Графикон 5-43) Нема статистички значајни разлики во вредностите на релативниот пад на максималната јакост на свиткување помеѓу групите ($p > 0,05$ за споредбите помеѓу сите парови).

T – тестот за зависни примероци, со кој ги споредивме вредностите на максималната јакост при свиткување кај сите испитувани групи пред и по инкубација, покажа дека намалувањето на вредностите на В предизвикано од инкубацијата не е статистички значајно за групата ВМ 2,5%, а е значајно за сите останати групи (Табела 5-40)

Табела 5-40. T – тест за зависни примероци, со кој ги споредивме вредностите на максималната јакост при свиткување кај сите испитувани групи пред и по инкубација.

t-test for two paired samples / Two-tailed test:

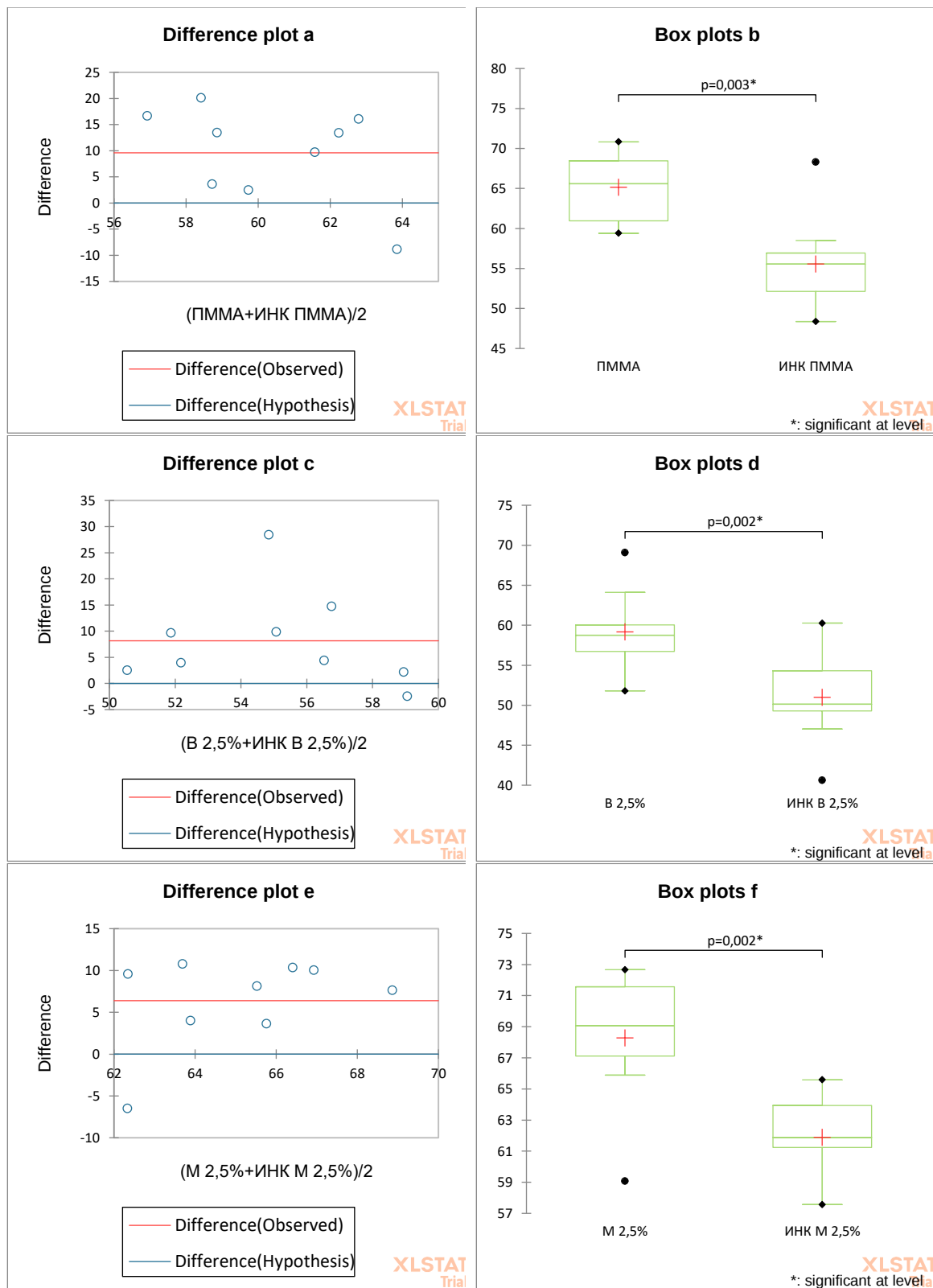
	ПММА	В 2,5%	М 2,5%	ВМ 2,5%	ВМ 5%
95% confidence interval on the difference between the means:					
	[2,683; 16,531]	[3,643; 12,672]	[2,783; 10,000]	[-0,254; 16,240]	[1,217; 9,776]

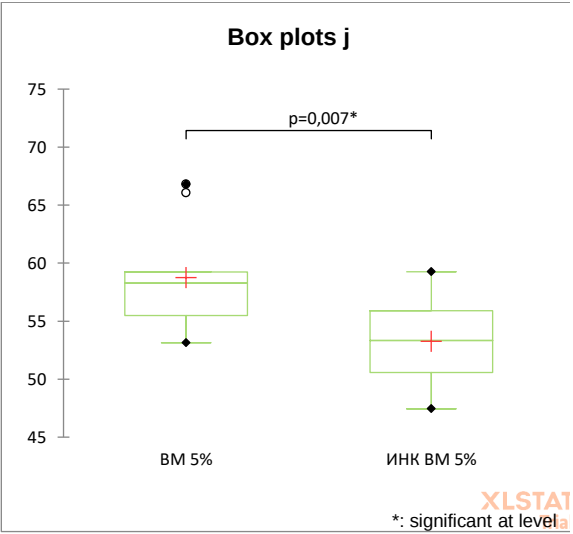
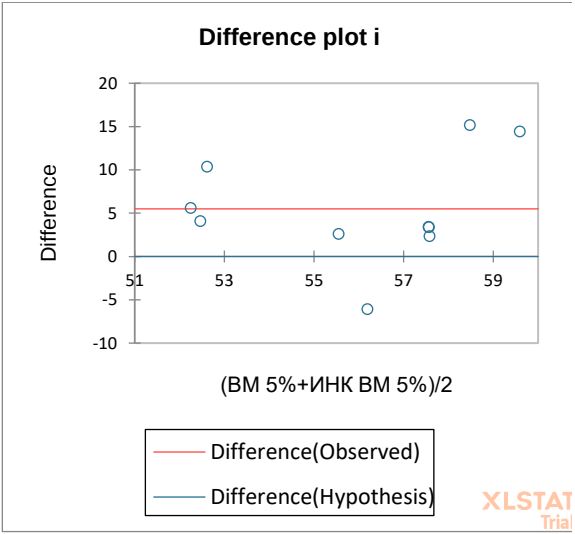
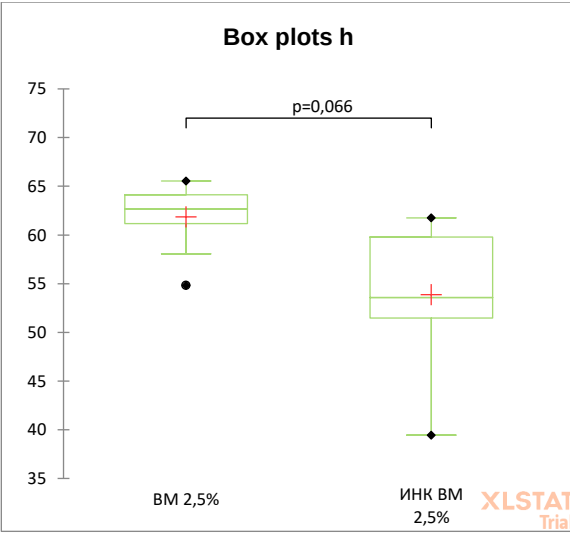
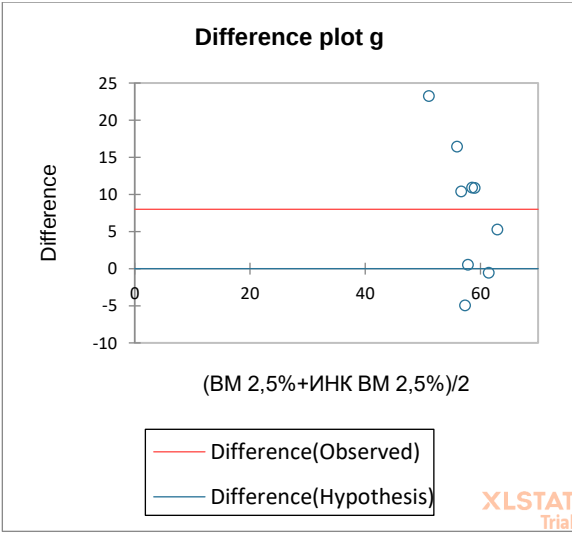
Difference	9,607	8,157	6,391	7,993	5,497
t (Observed value)	3,173	2,669	3,485	2,701	2,745
Critical value	2,287	1,477	1,967	2,786	2,137
DF	8	8	8	8	9
p-value (Two-tailed)	0,003	0,002	0,002	0,066	0,007
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

The number of degrees of freedom is approximated by the Welch-Satterthwaite formula

Графичкиот приказ на разликите (Графикони 5-44 а-ј) на добиените вредности пред и по инкубацијата на испитуваните групи ја покажува големината на ефектот на инкубацијата врз максималната јакост при свиткување.

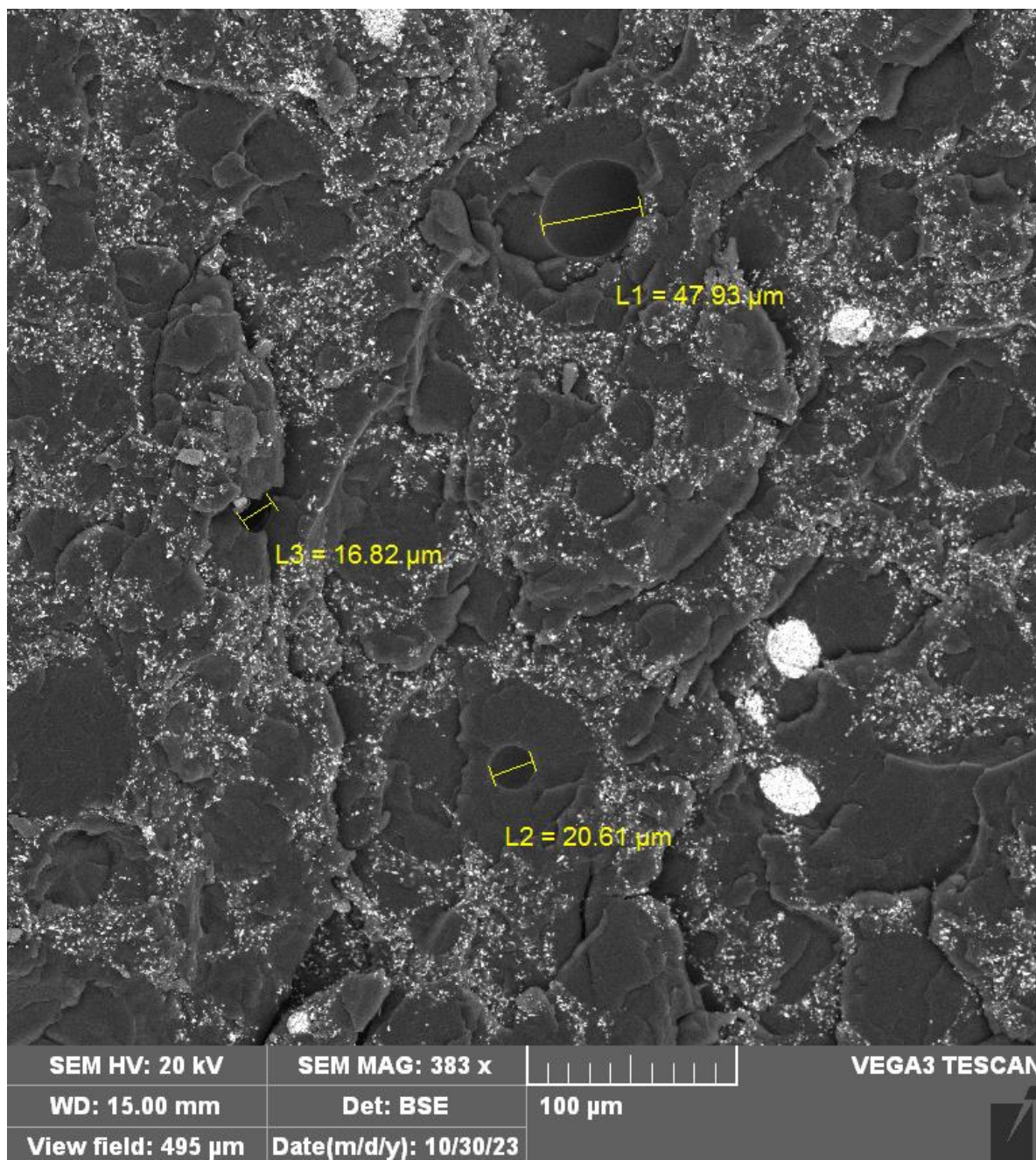
Графикони 5-44 а-ј. Графички приказ на очекуваните и добиените разлики (difference plot) и разликите во средните вредности (box plot) на максималната јакост при свиткување помеѓу инкубираните и неинкубираните примероци од истите групи.





5.4 Морфолошка анализа на примероците тестирани со тест на свиткување во 4 точки

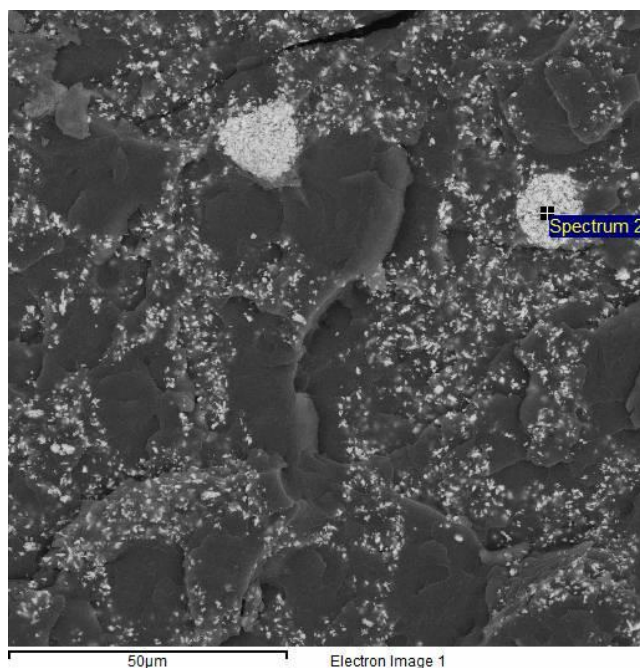
5.4.1 Морфолошка анализа на примероците тестирани по 24 часа



Слика 5-1. Површина на кршење на примерок од групата ПММА, со зголемување 383x.

Слика 5-1 ја прикажува скршената површина на неинкубиран ПММА примерок со зголемување 383x. Сивите облачести зони се зони на ПММА полимер, додека белите фини зрнести структури и покрупни грутки се BaSO_4 . Ова го потврдивме со EDS анализа (Слика 5-2). Во оваа зона на примерокот се видливи

неколку воздушни меурчиња и пори, со димензии од 16,82 μm до 47,93 μm . Димензиите на воздушните меурчиња, карактеристични за рачното мешање на цементот, се движат до 65 μm на прегледаните примероци. Бариум сулфатот не е рамномерно распореден низ полимерот, односно не се инкорпорира во структурата на полимерот, туку се наоѓа помеѓу зоните на полимеризиран метилметакрилат и не ги исполнува воздушните меурчиња. Поголемите бели кружни творби се агломерати на бариум сулфат.

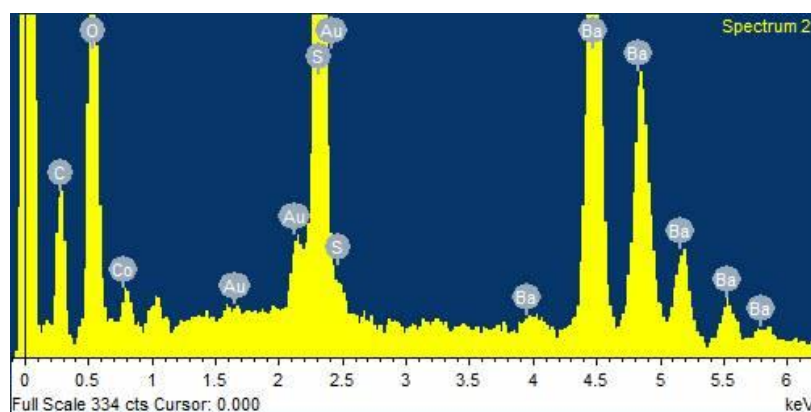


Spectrum processing :
No peaks omitted

Processing option : All elements analyzed (Normalised)
Number of iterations = 6

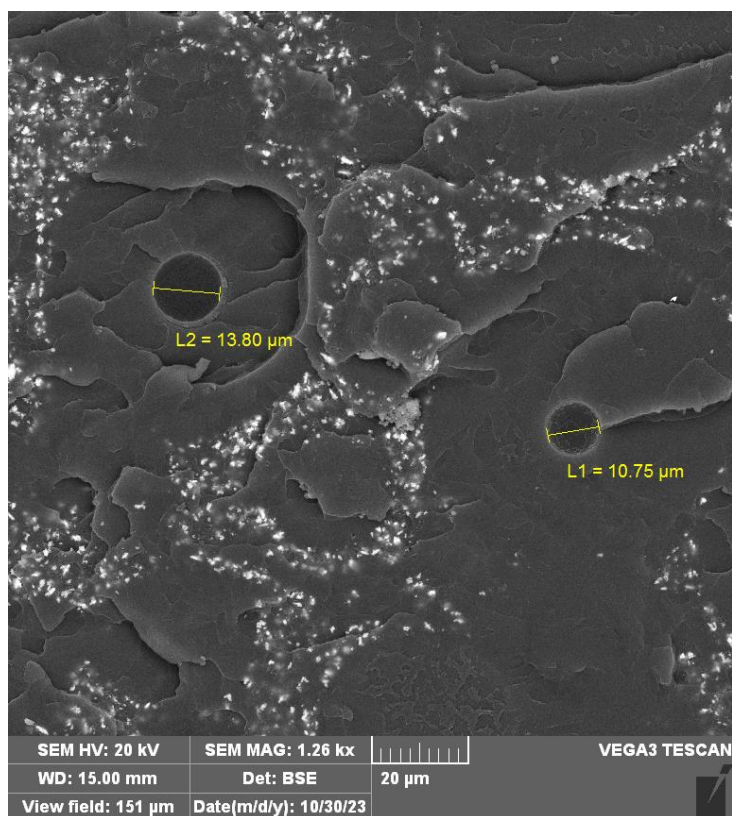
Standard :
C CaCO₃ 1-Jun-1999 12:00 AM
O SiO₂ 1-Jun-1999 12:00 AM
S FeS₂ 1-Jun-1999 12:00 AM
Co Co 1-Jun-1999 12:00 AM
Ba BaF₂ 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	Weight%	Atomic%
C K	24.03	41.71
O K	37.19	48.46
S K	7.93	5.16
Co K	-0.01	0.00
Ba L	30.86	4.68
Totals	100.00	

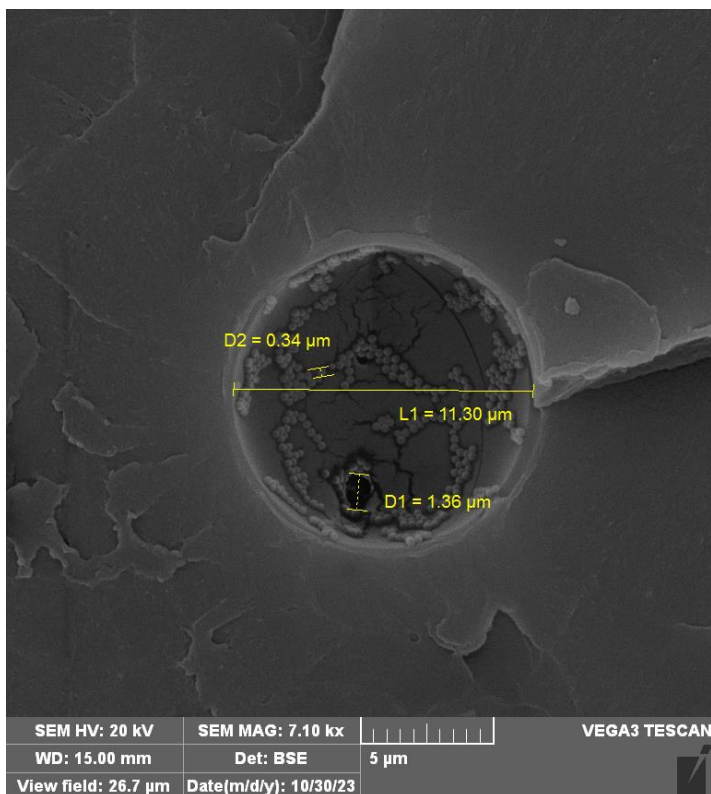


Слика 5-2. EDS анализа во точка (Spectrum 2) на површина од примерок од групата ПММА.

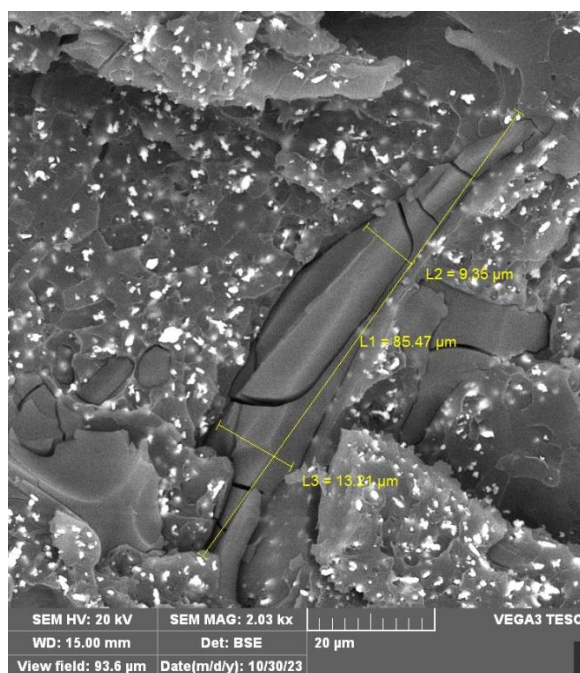
При поголеми зголемувања може да се види фината структура на полимерот. (Слика 5-3) Неполимеризирани мономери од метилметакрилат вообичаено не се забележуваат поради истата текстура со полимерот, но понекогаш можат да се детектираат во порите или воздушните меурчиња. (Слика 5-4)



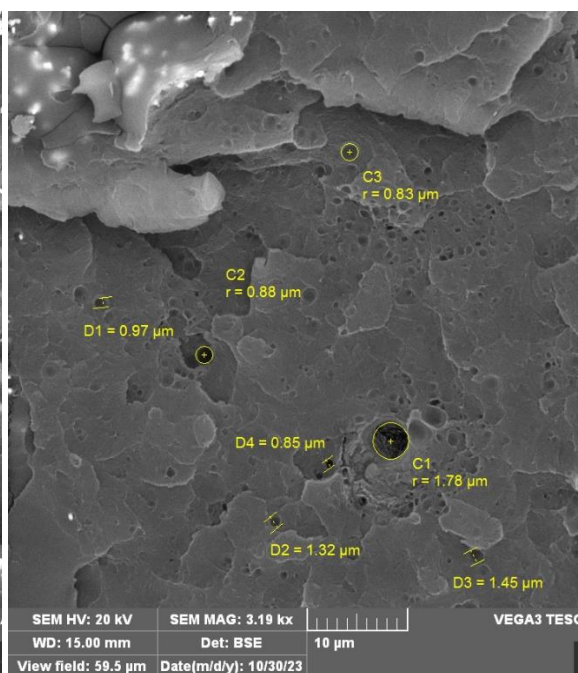
Слика 5-3. Скршена површина на ПММА примерок со зголемување 1260x со видливи воздушни меурчиња со измерени димензии (L1, L2).



Слика 5-4. Меурче во структурата на полимерот на скршената површина на примерок од групата ПММА, со дијаметар $L1=11,3\mu\text{m}$, во кое се видливи сфери – мономери на метилметакрилат, со дијаметар $D2=0,34\mu\text{m}$ и мрежа од фини пукнатини, како и мал отвор на дното.



А.



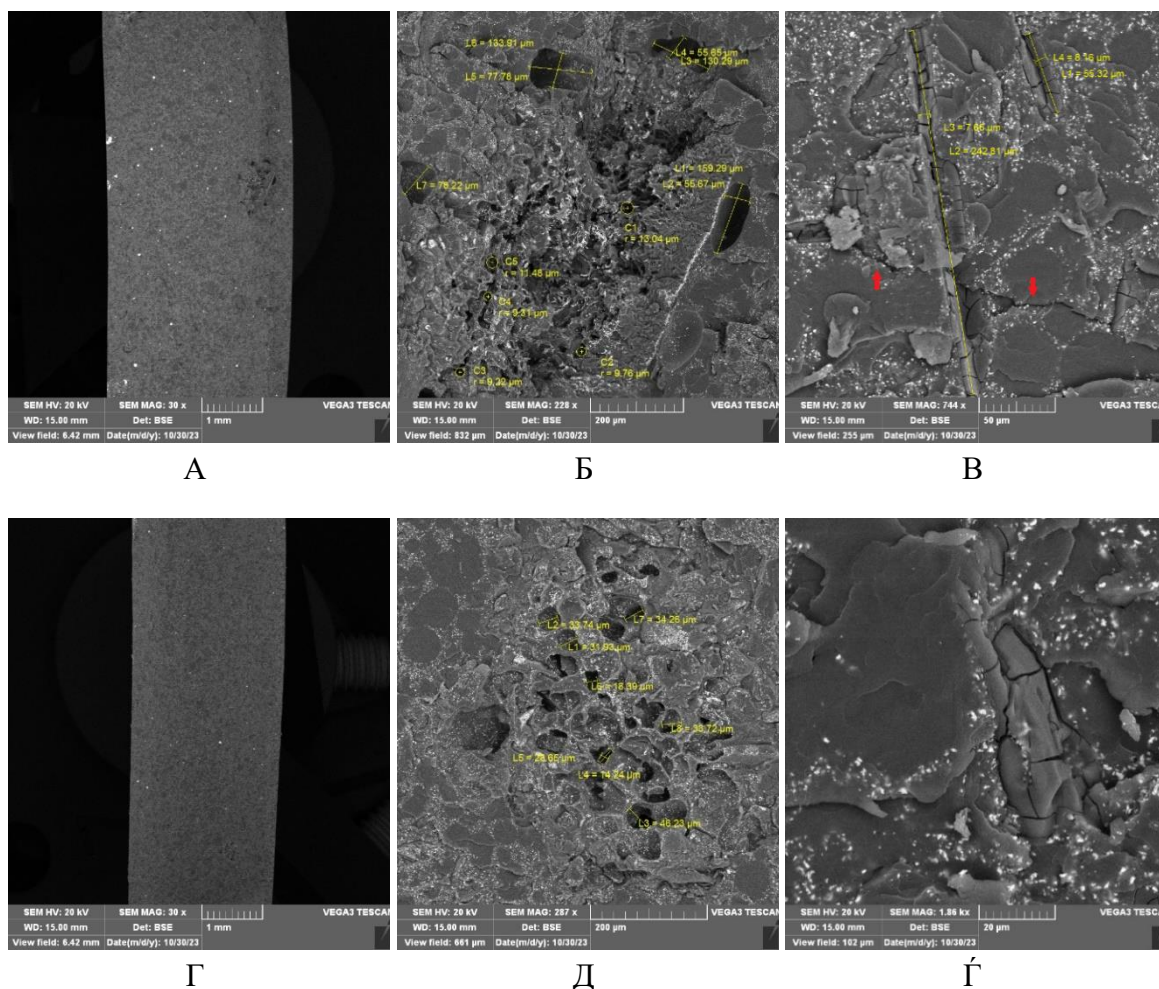
Б.

Слика 5-5. СЕМ микрографии на примерок од групата В 2,5%. А. Честица ванкомицин видлива на зголемување од 2000x. Б. Зона на микропорозност во структурата на полимерот на зголемување 3200x.

Слика 5-5 припаѓа на групата В 2,5%. На Слика 5-5 А се видливи гранулите од фино иситнет ванкомицин со пукнатини во структурата, кои не продолжуваат низ

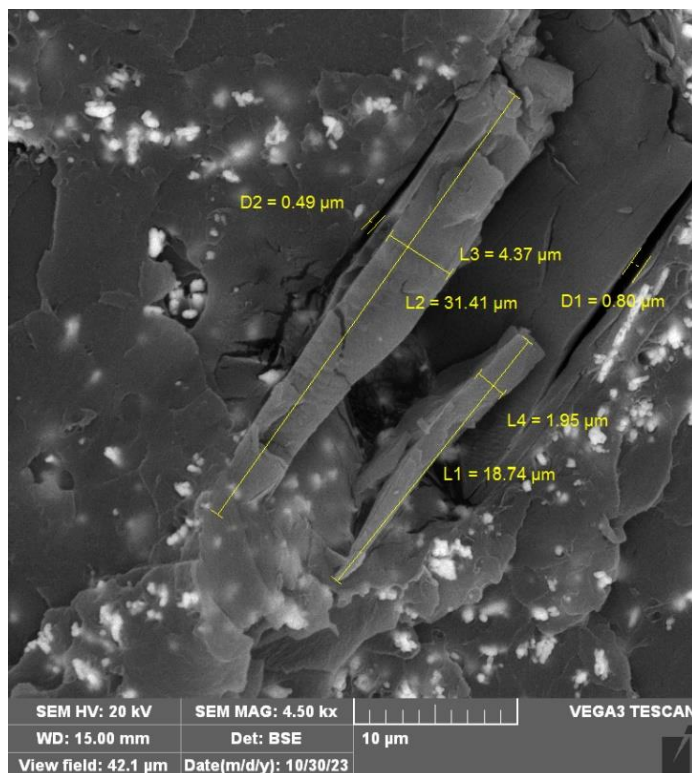
полимерот. На Слика 5-5 Б е прикажана зона од чист полимер без примеси на антибиотик, со изразена микропорозност. Вакви зони беа детектирани низ површината на примероците од групата В 2,5%, но не и кај чистиот ПММА.

На Слика 5-6 се прикажани разликите помеѓу групите *В 2,5% и В 2,5%. На зголемувањето 30x е видлива значително понехомогената структура на примерокот направен со покрупни гранули ванкомицин. Иако и двата примерока имаат зони кои се релативно хомогени, во зоната на порозност кај примерокот *В 2,5% се видливи пори со поголеми димензии и понеправилни форми (Б, Д). На Слика 5-6 В се видливи и пукнатини (црвени стрелки) низ полимерот кои ги поврзуваат соседните гранули ванкомицин, што укажува на можноста покрупните гранули да бидат концентратори на стрес. Иако количината на ванкомицин употребена во двете групи е идентична, присуството на вакви пукнатини помеѓу блиски соседни гранули на антибиотик индиректно укажува дека улога игра и нивното меѓусебно растојание, односно потенцијално количината на додаден ванкомицин и хомогеноста на неговата распределба.



Слика 5-6. СЕМ микрографии на примероци од групите *В 2,5% (А, Б, В) и В 2,5% (Г, Д, Ѓ). А, Г - зголемување 30x; Б,Д – зголемување 200+x; В – зголемување 744x; Ѓ – зголемување 1860x.

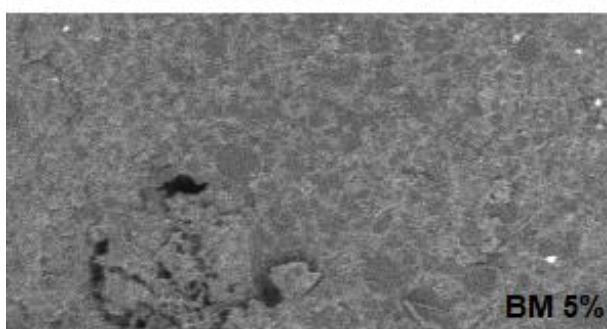
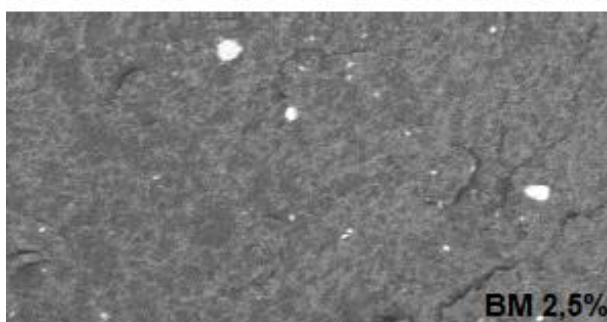
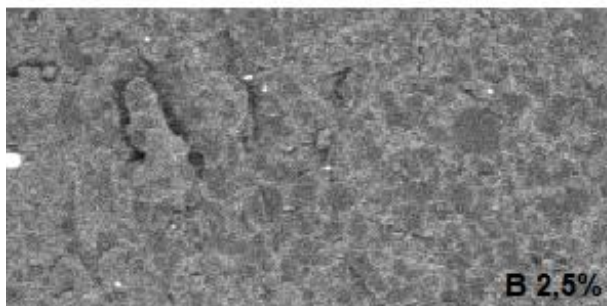
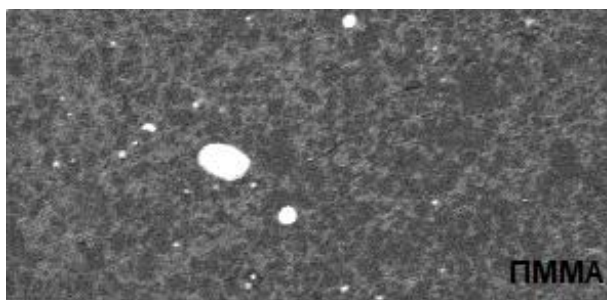
На Слика 5-7 се прикажани гранули од меропенем во примерок од групата М 2,5% со околниот полимер со нивните димензии и широчината на пукнатините кои ги одвојуваат антибиотикот и полимерот.



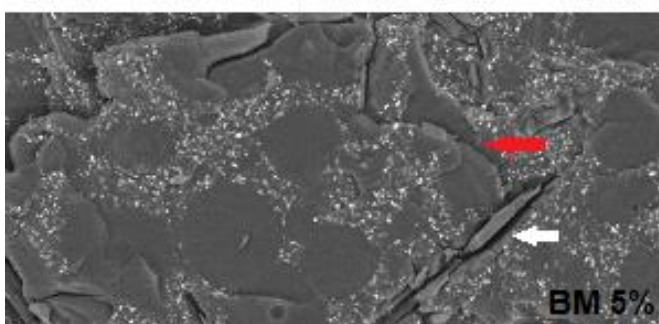
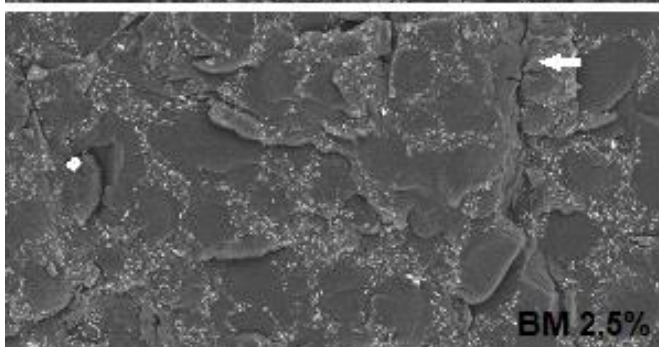
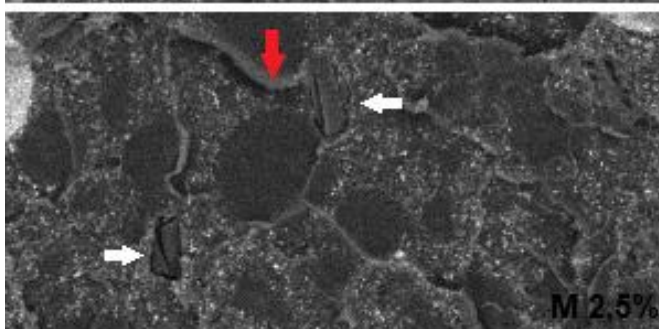
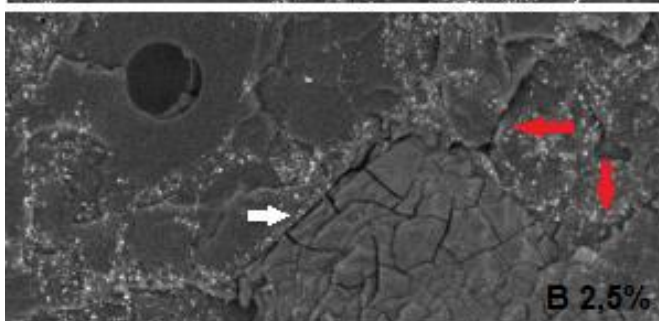
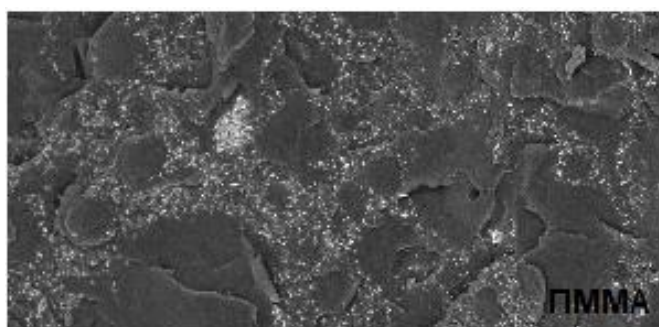
Слика 5-7. СЕМ микрографија на примерок од групата М 2,5% со прикажани две честици меропенем. Зголемување 4500х.

На Слика 5-8 се прикажани снимки на примерок од сите испитувани групи пред инкубацијата. Прикажана е скршената површина добиена при кршењето на примерокот при тестот на свиткување во четири точки со зголемување 30х. Сите испитувани групи имаат слична зрнеста структура. Забележливо е дека сите испитувани групи кои содржат ванкомицин имаат поголеми неправилности на скршената површина во однос на ПММА и М 2,5%. Слика 5-9 ги прикажува истите групи со зголемување 200х, на кое веќе се видливи антибиотските гранули, означени со бели стрелки. Гранулите на меропенемот се помали во однос на ванкомициноот. Видливи се бројни пукнатини на гранулите, за разлика од ПММА полимерот, кој покажува хомогена структура со ретки пукнатини. Овие пукнатини се генерално перпендикуларни на скршената површина. Реткоста на пукнатините на полимерот видливи на скршената површина укажува дека при оптоварувањето и кршењето на примероците, пукнатините кои се создаваат, пропагираат и водат до кршење на примерокот се генерално во рамнината на кршење или паралелни со истата. На сликите се забележуваат пукнатини во полимерот кои поаѓаат од антибиотските гранули, што значи дека тие можат да служат како концентратори на напрегање кои би предизвикале слабост на цементот во таа зона. Сепак, овие пукнатини не се чести и не се јавуваат по правило околу секоја гранула антибиотик. Пукнатините кои ги детектиравме, кои се перпендикуларни на скршената површина се од најмали, со

наноимензии (видливи на Слика 5-4) до максимална широчина од 6 μm . На дното на воздушните меурчиња се видливи пукнатини со димензии во нанометри. Со оглед на тоа што беа детектирани поголем број воздушни меурчиња во рамнината на кршење, значи дека таа поминува низ овие меурчиња. Немајќи можност во ова испитување да ја одредиме порозноста на испитуваните примероци и точната густина на меурчињата, не можеме да тврдиме дека тие претставуваат концентратори на напрегање кои го ослабуваат коскениот цемент.

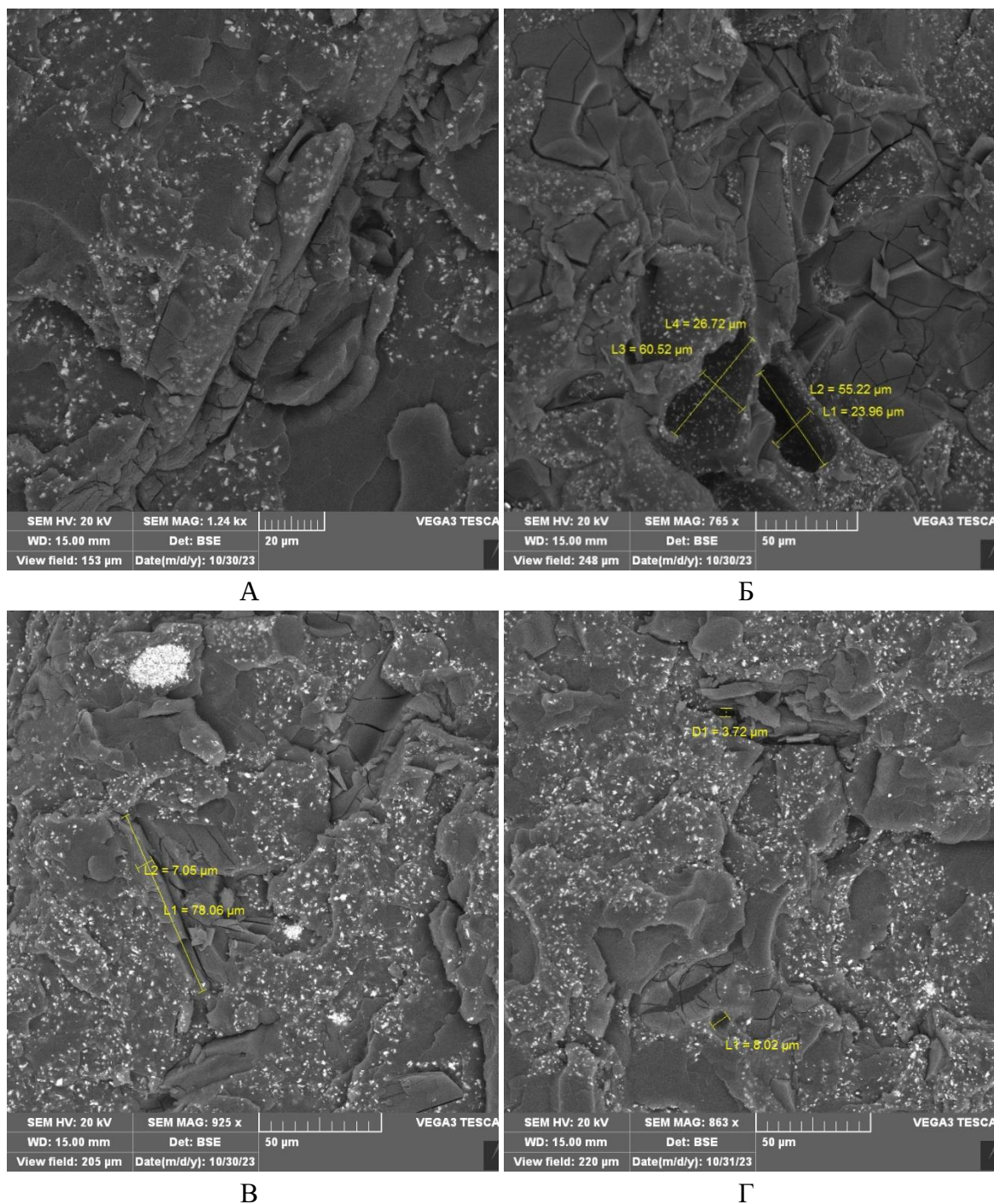


Слика 5-8. СЕМ микрографии на скршената површина на примероци од сите испитувани групи со зголемување 30x.



Слика 5-9. СЕМ микрографии на скршената површина на примероци од сите испитувани групи со зголемување 200x.

Скршените површини на групите ВМ 2,5% и ВМ 5% се значително понеправилни, со поголеми зони на пукнатини во однос на ПММА и М 2,5%, а донекаде слични со групата В 2,5%. На поголеми зголемувања овие неправилности се јасно видливи, иако се изолирани на дел од скршената површина на примерокот (Слика 5-10)



Слика 5-10. Бројни неправилности - празнини, пукнатини, фрагменти на скршената површина на примероци тестирани со тест на свиткување во 4 точки. А,Б - примероци од групата ВМ 2,5%. В, Г - примероци од групата ВМ 5%.

5.4.2 Морфолошка анализа на примероците тестирани по инкубација

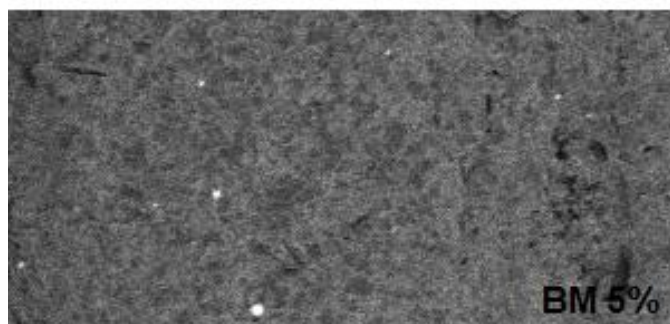
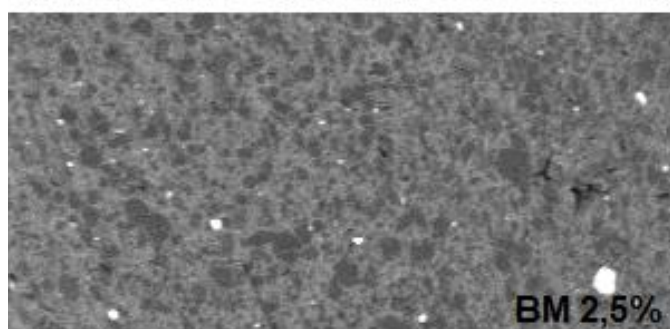
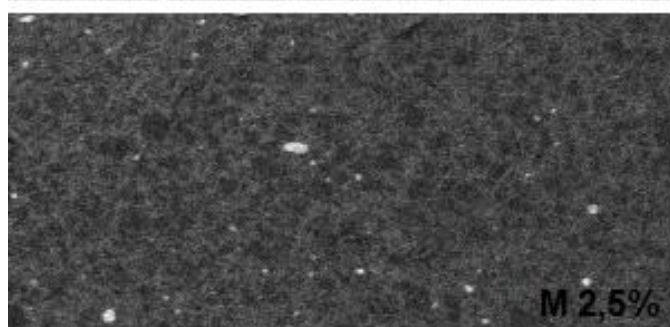
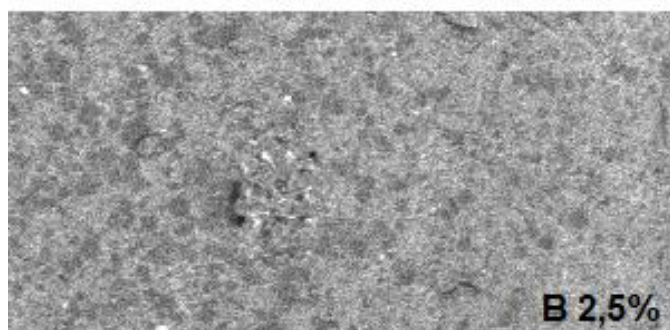
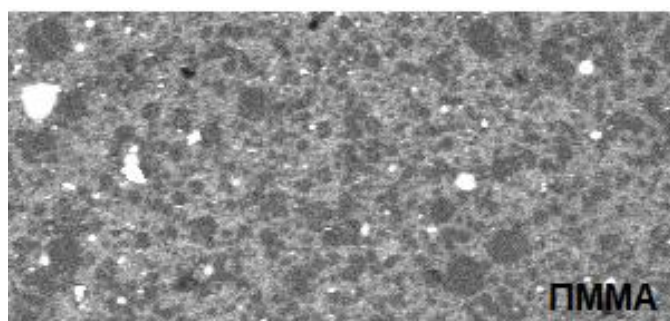
На Слика 5-11 и Слика 5-12 се прикажани примероци тестирани по инкубацијата, анализирани по скршената површина, со зголемување 30x и 200x. На зголемување 30x различните групи имаат слична структура, со нешто поголема порозност и неправилност на површината на примероците кои содржат ванкомицин. На зголемувањето 200x се видливи четириаглести шуплини (празни стрелки со бела линија) кои по форма одговараат на честиците меропенем кои беа детектирани во примероците пред инкубација, видливи на Слика 5-9, М 2,5% (означени со полна бела стрелка). Честиците од ванкомицин (полни бели стрелки) се присутни на скршената површина на примероците по инкубација.

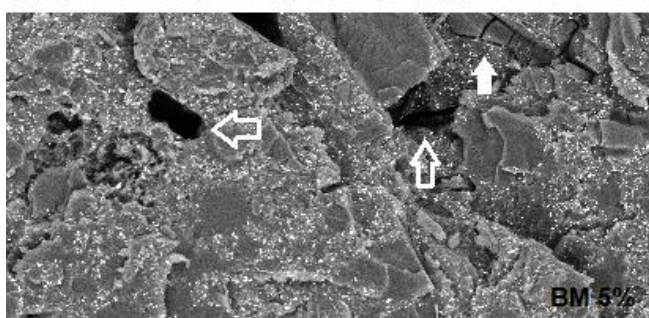
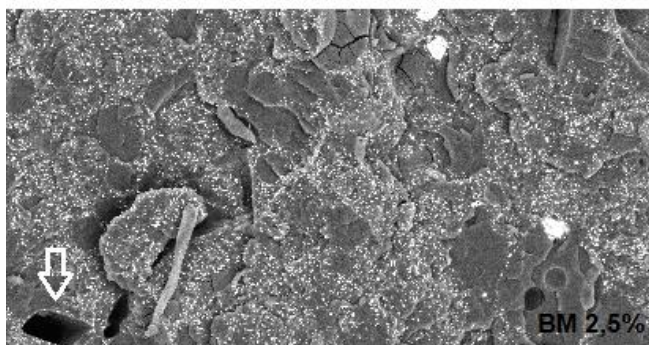
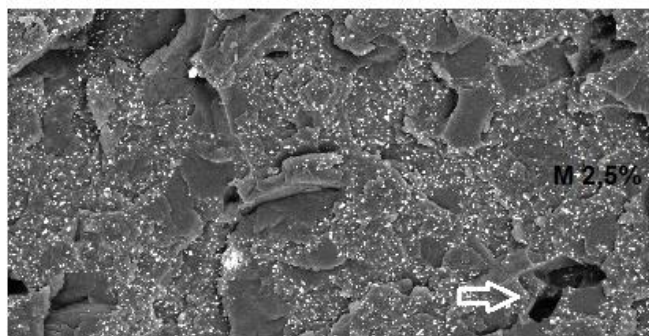
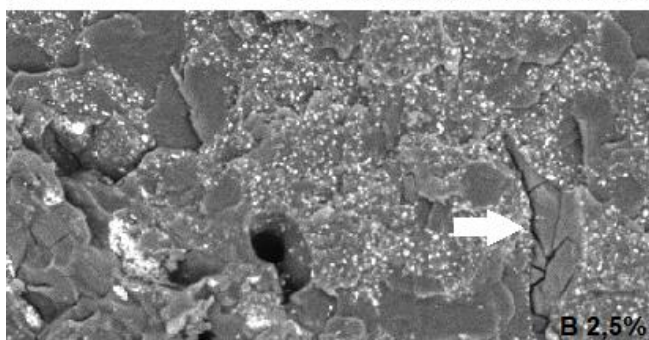
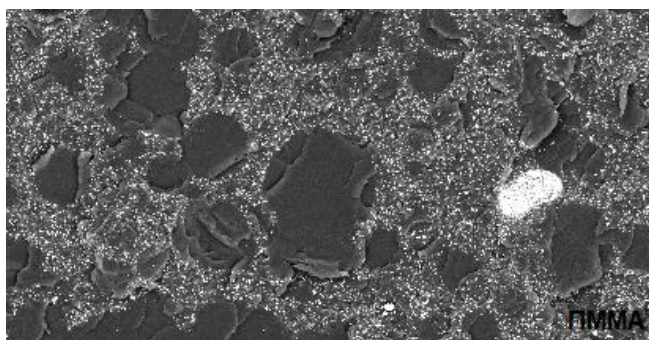
На Слика 5-13 од примерок од групата ИНК В 2,5% е прикажана честица ванкомицин (бели стрелки) со пукнатини (црвени стрелки), од кои едната ја поврзува со пора во примерокот.

Слика 5-14 направена од примерок од групата ИНК ВМ 2,5% покажува една поголема гранула од ванкомицин, од која радијално се шират бројни пукнатини (црвени стрелки), што повторно укажува на можноста овие гранули да бидат концентратори на напрегања кои предизвикуваат ослабување на цементот. Малите шуплини со измерени димензии (со жолта боја) по морфологијата одговараат на пори. Кај примероците од групата ИНК ВМ 5% беа детектирани зони со опсежни пукнатини во сите правци (Слика 5-15), какви што не беа детектирани во другите групи. Овие пукнатини се шират низ ПММА полимерот и не се во видлива врска со антибиотските честици. Кај некои од нив, но не сите, се забележува радијално ширење од централна пора. Измерената шуплина (жолти ознаки) по морфологија и димензии одговара на шуплина која била исполнета со меропенем. Дополнително, кај групата ИНК МВ 5% во близина на површината на примерокот се забележува нарушување на архитектониката во степен кој не беше забележан кај другите примероци. (

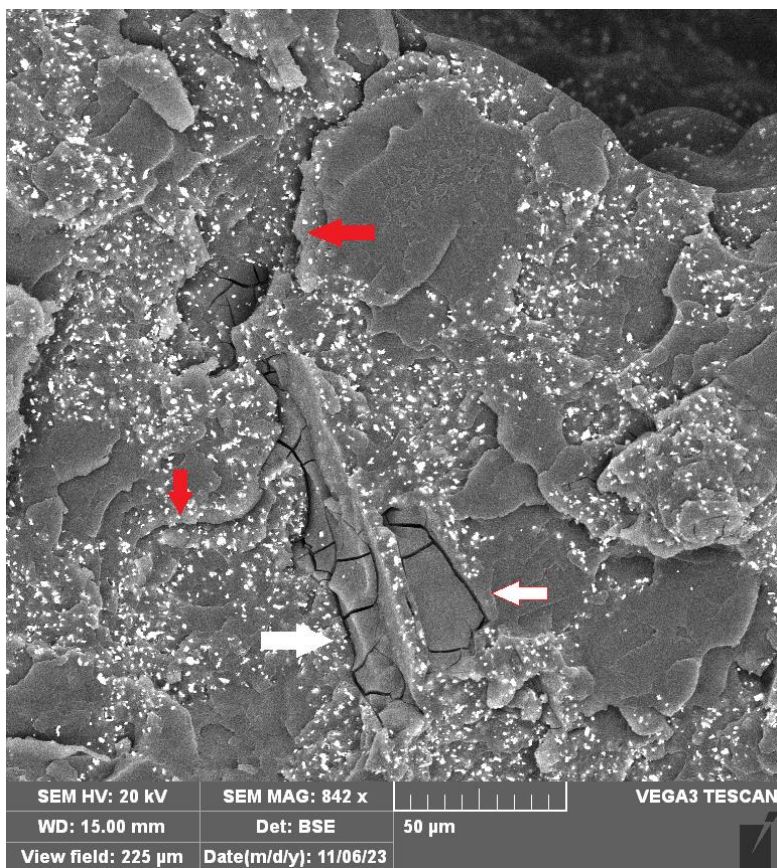
Слика 5-16)

Слика 5-11. СЕМ микрографии на скршената површина на примероци од сите испитувани групи по инкубација со зголемување 30х.

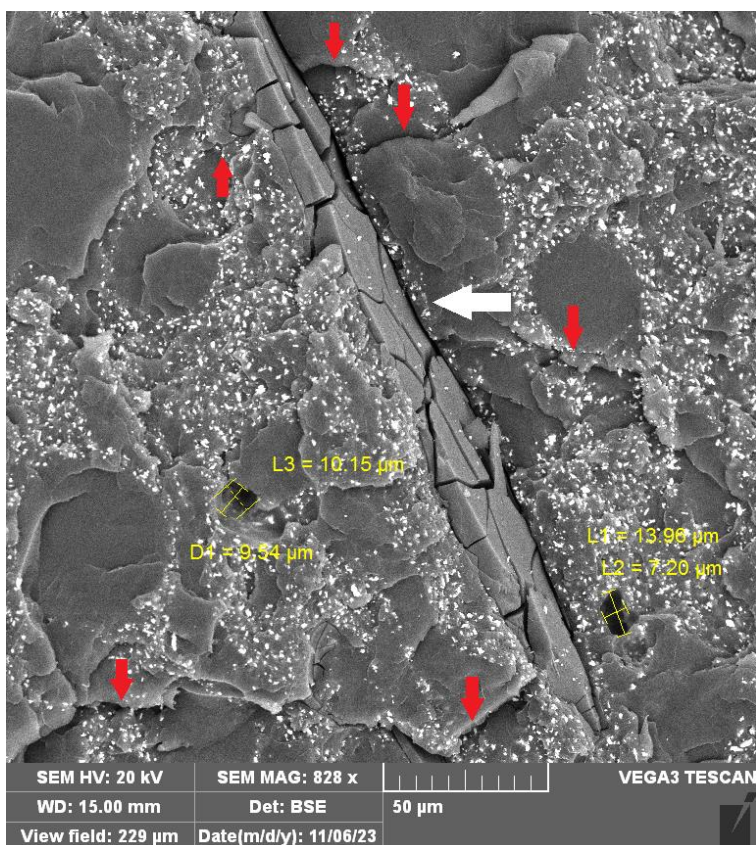




Слика 5-12. СЕМ микрографии на скршената површина на примероци од сите испитувани групи по инкубација со зголемување 200x. Полни стрелки: честици ванкомицин. Празни стрелки: празнини кои по морфологија одговараат на честиците меропенем видливи пред инкубацијата.

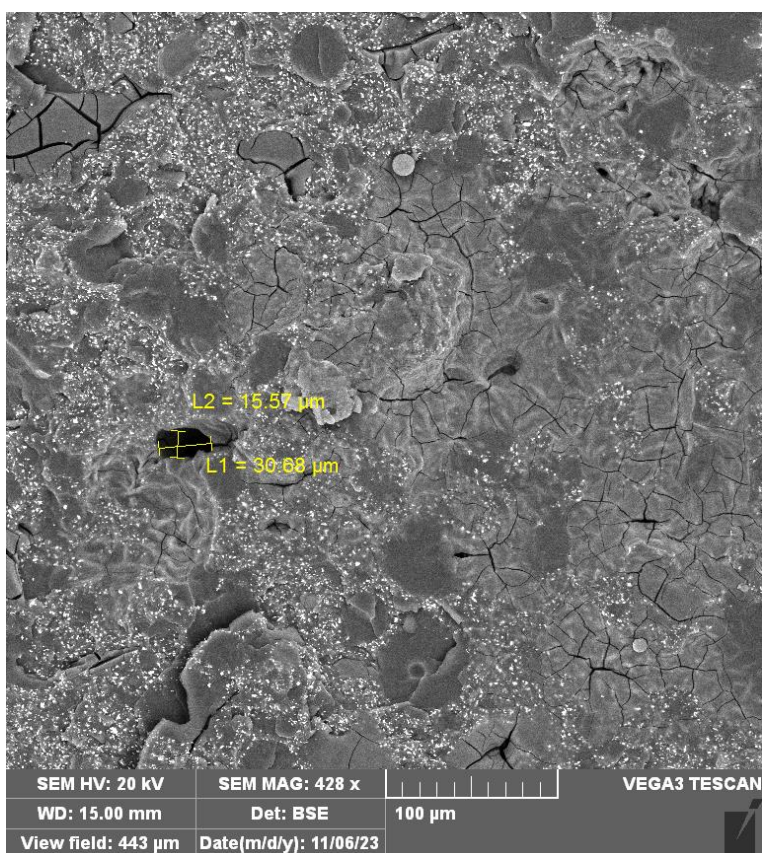


Слика 5-13. СЕМ микрографија на примерок од групата ИНК В 2,5%. Бели стрелки: честици ванкомицин. Црвени стрелки: пукнатини на скршената површина на примерокот.

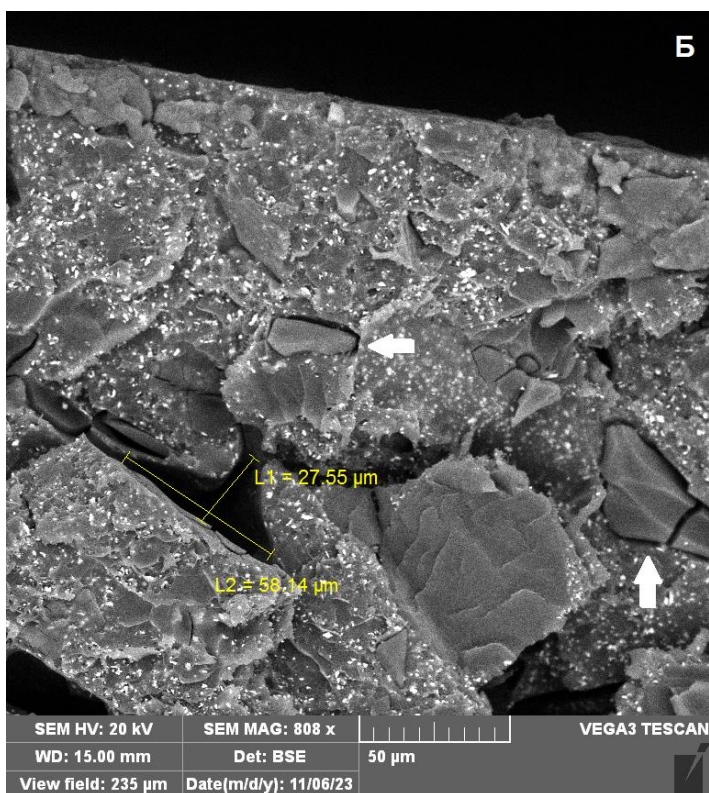
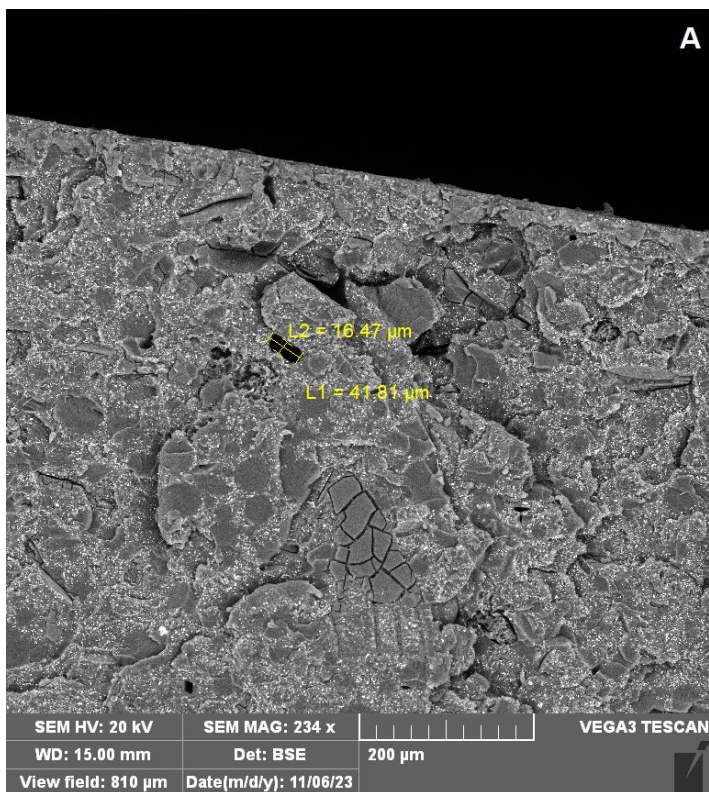


Слика 5-14. СЕМ микрографија на примерок од групата ИНК ВМ 2,5% со зголемување 828х.

Бела стрелка: честица ванкомицин. Црвени стрелки: пукнатини во полимерот. Жолта боја: Микропори со димензии.



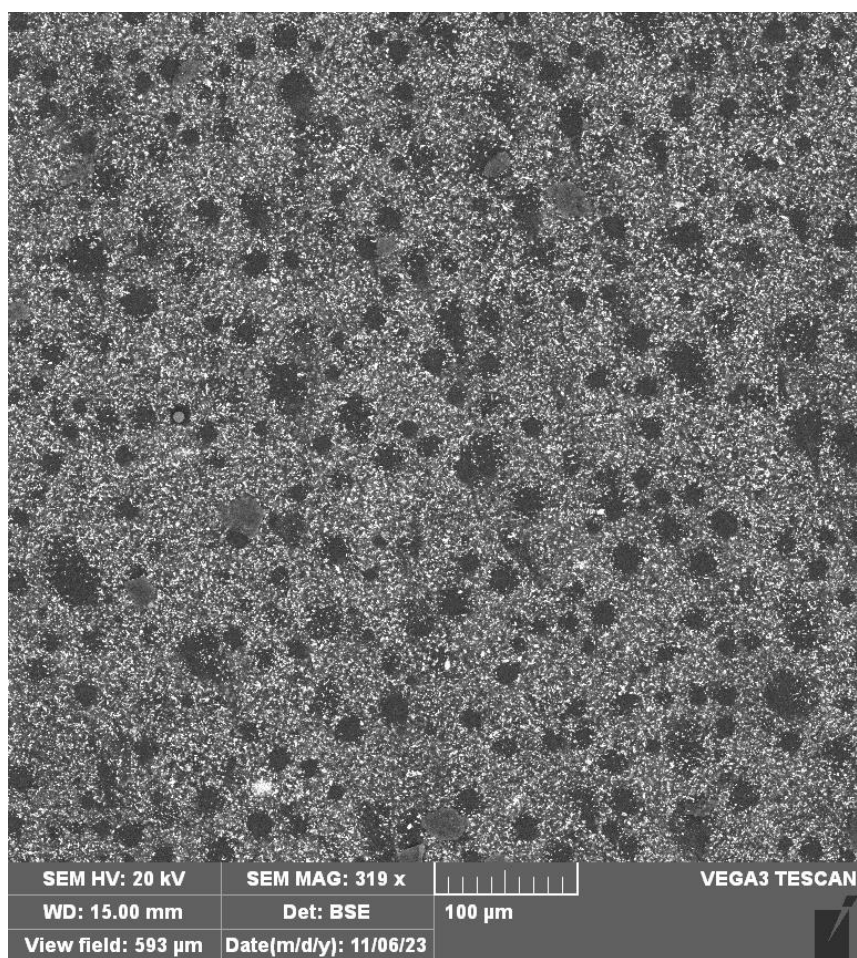
Слика 5-15. СЕМ микрографија на примерок од групата ИНК ВМ 5% со зголемување 428х. Бројни микропукнатини низ структурата на полимерот. Жолта боја: празнина која може да била исполнета со честица меропенем, со димензии.



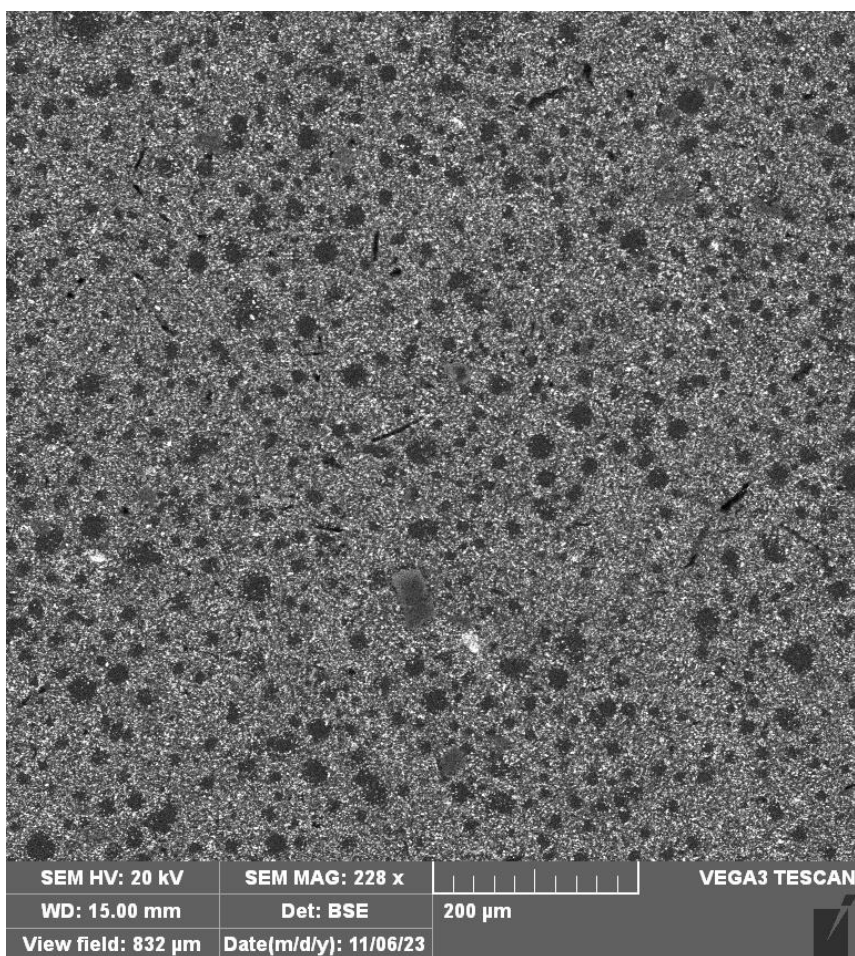
Слика 5-16. SEM микрографија на скршената површина на примерок од групата ИНК ВМ 5%, во близина на полираната површина на примерокот. А. Зголемување 234x. Б. Фрагмент од микрографијата А, со зголемување 808x. Бели стрелки: честици антибиотик.

5.4.3 Ефекти од инкубација

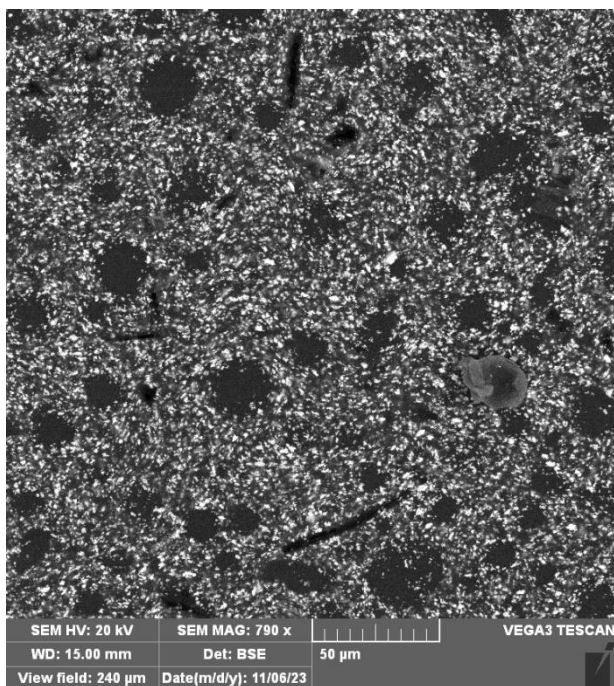
На Слика 5-17 е прикажана мазната полирана површина на примерок од групата ВМ 5%, додека Слика 5-18 ја прикажува мазната полирана површина на примерок од ИНК ВМ 5%. На сликата од инкубираниот примерок јасно се видливи бројни шуплини, кои одговараат на места на кои имало честици од антибиотик, кои се ослободиле од примерокот во тек на инкубацијата. На Слика 5-19 е прикажано поголемо зголемување од инкубираниот примерок (790x), при што јасно се гледа морфологијата на шуплините настанати на полираната површина. Игловидните шуплини одговараат на лежишта од честици на ванкомицин, додека четириаголните на лежишта од честици од меропенем.



Слика 5-17. СЕМ микрографија на мазна полирана површина на примерок од групата ВМ 5%.

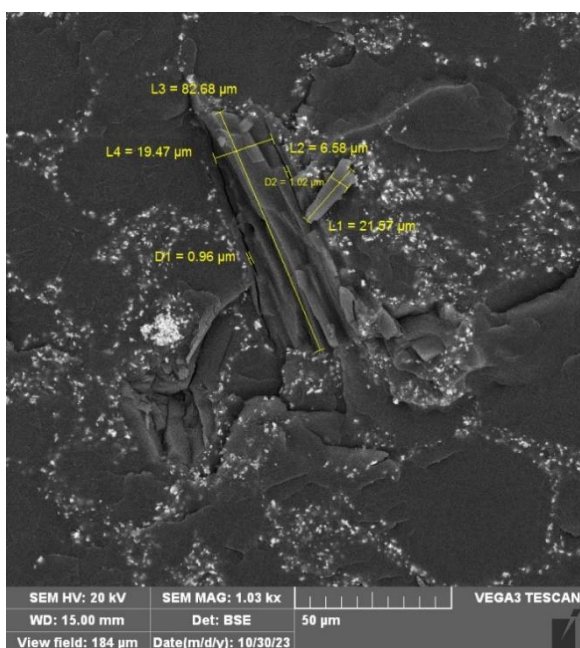


Слика 5-18. СЕМ микрографија на мазна полирана површина на примерок од групата ИНК ВМ 5% со зголемување 228х.

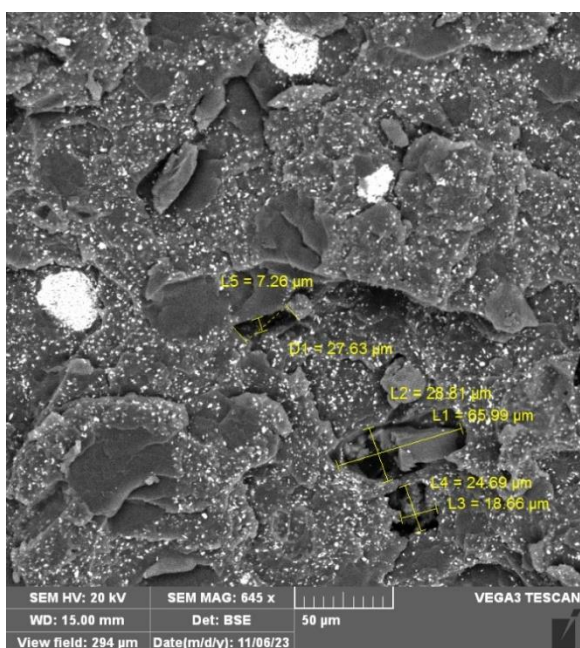


Слика 5-19. СЕМ микрографија на мазна полирана површина на примерок од групата ИНК ВМ 5% со зголемување 790х.

На Слика 5-20 се прикажани честици меропенем на скршената површина на неинкубиран примерок од групата М 2,5%. На Слика 5-21 се прикажани шуплини, од кои едната делумно е исполнета со фрагмент од честица меропенем во примерок од групата ИНК М 2,5%. Оваа појава на шуплини кои одговараат по форма и димензии на честиците меропенем детектирани во неинкубираните примероци е релативно униформна по целата скршена површина на испитаните примероци кои содржат меропенем и покажува дека меропенемот во голема мера се ослободува од тестираните примероци при инкубација во тек на 4 недели во Рингеров раствор.

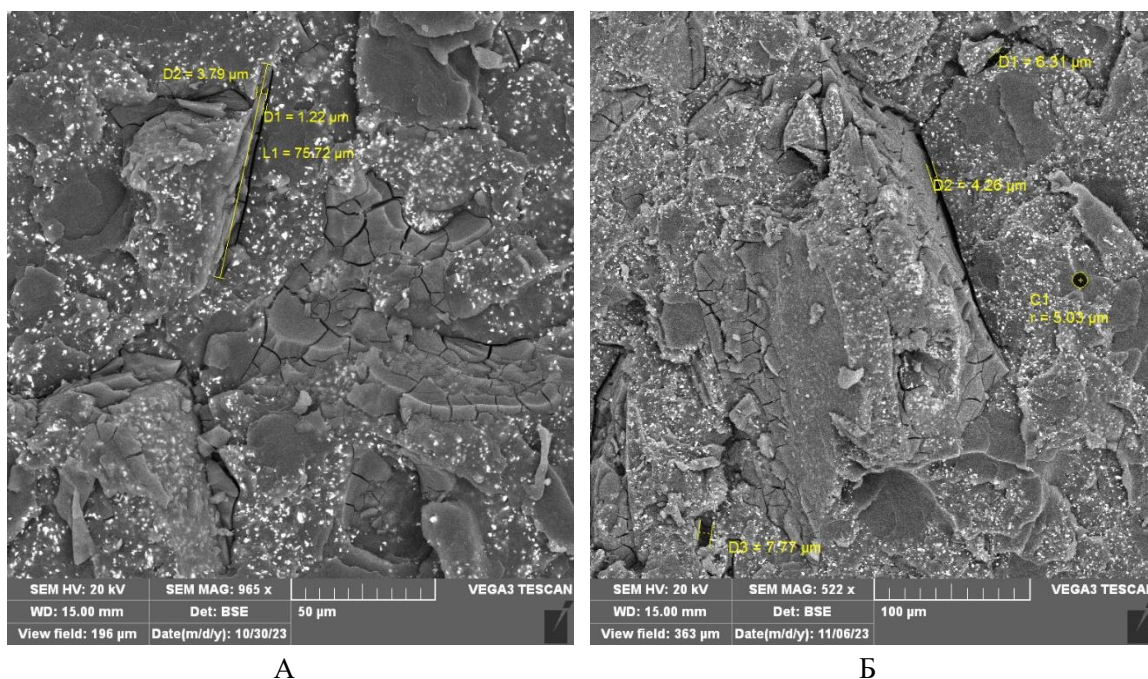


Слика 5-20. Приказ на честица меропенем опкружена со ПММА, со нејзините димензии. СЕМ микрографија од примерок од групата М 2,5%.

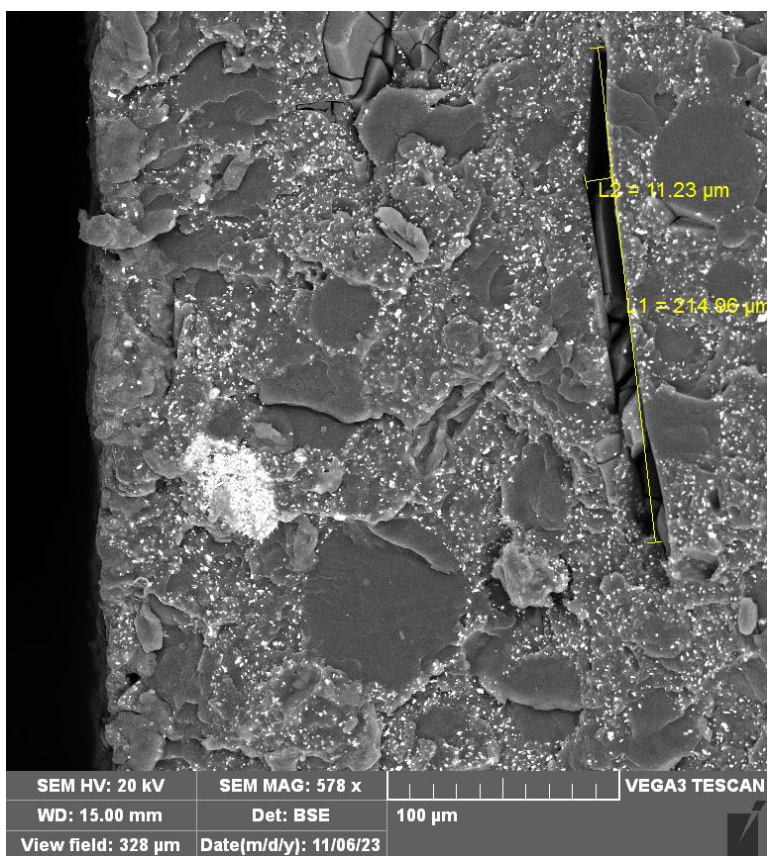


Слика 5-21. СЕМ микрографија на скршена површина на примерок од групата ИНК М 2,5%. Видливи шуплини со измерени димензии (жолта боја), кои по големина и форма одговараат на честици меропенем.

На Слика 5-22 се прикажани честици од ванкомицин од групите В 2,5% и ИНК В 2,5% (сликите А и Б се направени со различно зголемување). Честиците антибиотик на скршената површина кај сите примероци без исклучок се одделени со тесна пукнатина од околниот полимер. Тие не влегуваат во хемиска реакција со ПММА и не се инкорпорирали во полимерот. Овие пукнатини се конзистентно помали кај неинкубираните примероци (на пример $D1=1,22\mu\text{m}$ на сл. бр) во однос на инкубираните ($D2=4,26\mu\text{m}$). Ова укажува на намалување на волуменот на честиците антибиотик во тек на инкубацијата, што може да се објасни со нивно делумно растворање и ослободување. Друго објаснение за оваа појава е феноменот на собирање на цементот со негово стареење. Во близина на рабовите на примерокот овие пукнатини се поголеми, а детектиравме и шуплини кои многу малку или воопшто не се исполнети со ванкомицин, а по димензиите и формата одговараат на честиците ванкомицин (Слика 5-23) Овие големи шуплини ги детектиравме во примероците од групите ИНК ВМ 2,5% и ИНК ВМ 5%, но не и во ИНК В 2,5% или во неинкубираните примероци. Ваквиот наод индиректно покажува дека меропенемот може да стимулира поголемо ослободување на ванкомицинот во тек на инкубацијата.



Слика 5-22. Пукнатини помеѓу честиците ванкомицин и околниот полимер (димензии во жолта боја). А. Примерок од групата В 2,5% (зголемување 945x). Б. Примерок од групата ИНК В 2,5% (зголемување 522x).



Слика 5-23. СЕМ микрографија на примерок од групата ИНК VM5%, со приказ на шуплина делумно исполнета со супстрат, која по формата и големината одговара на честица ванкомицин. Лево на микрографијата е видлив работ на примерокот.

6. ДИСКУСИЈА

Настанувањето на перипростетичните инфекции по артропластика зависи од низа на фактори од пациентот, оперативната процедура и типот на патогени, од кои дел можат да се модификуваат. Една од главните превентивни мерки претставува антибиотската профилакса. Идеалната антибиотска профилакса сè уште не е утврдена, а претставува и менлива категорија со промената на ризик факторите кај сè пошироката популација која се подложува на вакви интервенции, промената на бактериската флора одговорна за овие инфекции, како и напредокот во сознанијата за оваа проблематика и технолошкиот напредок со создавање на нови генерации импланти и медицински уреди.

Периоперативната парентерална антибиотска профилакса е универзално прифатена без исклучок во светот, но постојат локални разлики во протоколите во однос на времетраењето, типот на антибиотикот, употребата на двојни антибиотици и евентуалната предоперативна деколонизација на МССА, МРСА и ЕСБЛ. Оваа парентерална употреба на антибиотици е поврзана со одредени несакани ефекти, како развој на резистентни бактериски соеви и системска токсичност.

Локалната употреба на антибиотик во форма на антибиотски коскен цемент е комплементарна стратегија на парентералната профилакса, при која се добиваат високи концентрации на антибиотик во пределот на зглобот, каде што најчесто и настанува примарната контаминација, со избегнување на системските токсични ефекти.

Употребата антибиотски коскен цемент е одомаќинета во Европските земји, особено во Скандинавија, каде што рутински се користи и во примарните процедури на артропластика. Во САД, FDA (Food and Drug Administration) има одобрено употреба на комерцијално подготвен антибиотски коскен цемент само за ревизиони процедури на артропластика по појава на перипростетични инфекции. Постојат бројни комерцијално достапни формулации на ПММА со гентамицин, а достапни се и комбинации со ванкомицин или клиндамицин, како и дуални комбинации со гентамицин и еден од овие два антибиотика. На Клиниката за Ортопедски Болести во Скопје антибиотски коскен цемент не се користи рутински кај сите примарни цементни артропластики. Комерцијален цемент со гентамицин се користи при примарна артропластика по индивидуална процена кај пациенти со висок ризик за инфекција и кај повеќето секундарни ревизиони артропластики. Искуството со додавање на ванкомицин е ограничено, а други антибиотици при артропластика според достапните информации до сега не се употребувани.

За безбедно и ефикасно додавање на различни антибиотици во коскен цемент, потребно е да се истражат повеќе аспекти – стабилноста и активноста на антибиотикот по додавање во цементот и неговата полимеризација со создавање на топлина; способноста на антибиотикот да се ослободи од цементот и концентрациите на антибиотик во околните ткива; промената на механичките карактеристики на

цементот по додавање на антибиотикот; ефектите на инхибиција на микроорганизмите и времетраењето на овие ефекти; ин vivo ефикасноста во спречување на настанување на инфекција и преживување на ендопротезата. Овие ефекти се испитувани во различни студии за различни антибиотици во поголема или помала мера.

Механичките карактеристики на коскениот цемент се значајни поради тоа што тој трпи оптоварувања при нормалното функционирање на ендопротезите, и тоа статички оптоварувања при стоене или седење и низа на динамички оптоварувања при различни движења. Максималните оптоварувања измерени кај импланти при обично одење се движат помеѓу 250% од телесната тежина (ТТ) за колкот и 260% за коленото. При симнување по скали, вредностите се 260% ТТ за колк и 350% ТТ за колено. При клекнување, силите на реакција се 150% ТТ за колк и 250% ТТ за колено.^{75,76} Напрегањата кои ги трпи цементот се движат од 3 – 11 МПа, во зависност од неговата дебелина и активноста која се врши.^{77,78}

Во оваа докторска дисертација ги испитавме механичките карактеристики (максимална јакост на притисок, максимална јакост при свиткување и модул на еластичност при свиткување) на коскен цемент со додадени ванкомицин, меропенем и нивна комбинација во различни дози. При испитувањето ги следевме инструкциите од стандардот ISO 5833, што овозможува интерпретација на добиените резултати во однос на општо прифатени стандардизирани вредности, како и споредба на резултатите со оние од други истражувања на оваа тема. Дополнително на ова, ги испитавме и ефектите на инкубација на ваквите формулации врз наведените механички карактеристики. Целта на ваквото тестирање беше поблизу да се имитираат условите во телото на кои е изложен цементот при имплантација и да се провери дали има значајни промени на однесувањето на цементот со антибиотици во вакви услови во однос на чистиот цемент.

Тестираните примероци ги прегледавме со СЕМ, што ни даде увид во морфологијата на цементот, распоредувањето и вклопувањето на антибиотските честички во полимерот, морфологијата на примероците по нивното кршење како и начинот на ослободување на антибиотикот од полимерот при инкубација.

При пребарувањето на литературата идентификувавме низа студии кои ја испитуваат оваа проблематика. Поновите студии, со испитуваниот цемент, антибиотик и методот на испитување се прикажани во Табела 6-1. Тие ги истражуваат ефектите на ниски и високи дози на антибиотици; според некои антибиотикот не ги нарушува механичките карактеристики, според други има значајни промени. Треба да се земе во предвид дека повеќе фактори, како што е марката на коскен цемент, количината на антибиотик, начинот на мешање на антибиотикот, подготовката и чувањето на примероците и методологијата на механичко тестирање придонесуваат за различни резултати. Овие фактори треба да се земат во предвид при интерпретација на резултатите и нивното клиничко значење.

Табела 6-1. Преглед на истражувања на механички карактеристики на коскен цемент со антибиотици.

Автори	Тип на коскен цемент	Испитуван антибиотик	Тип на тестирање	Коментар
Armstrong et al. (2002) ⁷⁹	Palacos R/LV/gentamycin CMW1/gentamycin	gentamycin vancomycin flucloxacillin	ISO 5833: тест на свиткување во 4 точки густина (kg/m ³)	
Duey et al. (2012) ⁸⁰	Simplex P	tobramycin vancomycin	ASTM F451: максимална јакост на притисок	ефект од инкубација
Bishop et al. (2018) ⁸¹	Palcos R	vancomycin	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки	инкубација 21 ден на 22°C
Galvez Lopez et al. (2014) ⁵⁵	PMMA medium viscosity bone cement (DePuy, Inc Warsaw, IN, USA)	vancomycin gentamycin daptomycin moxifloxacin rifampicin cefotaxime cefepime amoxicillin clavulanate ampicillin meropenem ertapenem	максимална јакост на притисок, ослободување, антимикробна активност	
Lee et al. (2016) ⁸²	Simplex P Osteobond Palacos R DepuyCMW	vancomycin од 3 различни производители	максимална јакост на притисок	споредба на различни производители
Kim et al. (2020) ⁸³	Simplex™ P	vancomycin	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки ASTM-D5045 fracture toughness Ослободување на антибиотик Антимикробна активност	Инкубација 21 ден на 22°C СЕМ
Kim et al. (2022) ⁸⁴	Palacos® R	telavancin	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки ASTM-D5045 fracture toughness	Дистрибуција на пори
Humez et al. (2023) ⁸⁵	PMMA PALACOS® R+G COPAL® G+V	daptomycin gentamycin vancomycin	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки	Висока цена на даптомицин
Dunne et al. (2008) ⁴²	Palacos® R	gentamycin	максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки	Високи дози
Gandomkarzadeh et al. (2020) ⁸⁶	PMMA	ciprofloxacin vancomycin	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки	Scientific reports Natur
He et al. (2002) ⁸⁷	Palacos® R	gentamycin	максимална јакост на притисок	
Lilikakis and Sutcliffe (2009) ⁸⁸	Palamed Palamed G	vancomycin	ISO 5833: максимална јакост на притисок	

Автори	Тип на коскен цемент	Испитуван антибиотик	Тип на тестирање	Коментар
	Copal (1 g gentamicin + 1 g clindamicin / 40 g)			
Paz et al. (2015) ⁶⁸	Palacos R + G	vancomycin cefazolin	mechanical properties	
Pelletier et al. (2009) ⁸⁹	Simplex P VersaBond	vancomycin flucloxacillin	ASTM F451: максимална јакост на притисок	Инкубација, микро КТ
Quinto et al. (2023) ⁹⁰	Palacos LV	tobramycin vancomycin	максимална јакост на притисок и истегнување	
Persson et al. (2006) ⁹¹	Cemex XL	vancomycin meropenem	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки замор	
Wang et al. (2021) ⁹²	Palacos LV	vancomycin meropenem	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки	
Schmidt-Malan et al. (2019) ⁹³	Simplex P	oritavancin vancomycin	ISO 5833: максимална јакост на притисок	Инкубација, 7,5% конц.
Sanz-Ruiz et al. (2018) ⁹⁴	PMMA	rifampicin микрокапсули	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки	
Laperche et al. (2024) ⁹⁵	PMMA	rifampin	ASTM F451: максимална јакост на притисок	во доза од 0,1 g
Cacciola et al. (2018) ⁹⁶	G3 Low Viscosity bone cement	tobramycin vancomycin gentamycin	ISO 5833: максимална јакост на притисок, тест на свиткување во 4 точки	тројна комбинација

При испитувањето на максималната јакост на притисок, утврдивме дека сите испитувани формулации со додаден антибиотик имаат статистички значајно пониска максимална јакост на притисок при тестирањето по 24 часа во однос на чистиот ПММА. Но, сите испитувани формулации имаат изразено и значајно повисоки вредности за максималната јакост на притисок во однос на минимално дефинираната граница од 70 МПа со стандардот.

При тестирањето со свиткување во четири точки, утврдивме дека додавањето на испитуваните формулации на антибиотици во ПММА предизвика зголемување на модулот на еластичност на коскениот цемент. Сите испитувани групи имаа вредности на модул на еластичност при свиткување високо над минимално утврдената вредност од 1800 МПа. Додавањето на 1 g ванкомицин предизвика незначителен пораст на модулот на еластичност од 1,7%, додека додавањето на истата количина меропенем предизвика значаен пораст на модулот на еластичност од 7,2%. Нивната комбинација предизвика помал пораст на модулот на еластичност (5,38%), што укажува дека влијанието на комбинацијата на антибиотици се манифестира преку посложени интеракции во однос на просто натрупување на нивните ефекти.

Максималната јакост при свиткување на сите испитувани групи беше значително над одредениот минимум од 50 МПа, освен за групата *В 2,5%, каде вредноста беше незначително над минимумот. Притоа, кај сите испитувани групи со

додаден ванкомицин имаше пад на максималната јакост на свиткување во однос на контролата (5,07% - 20,64%), додека во групата со додаден чист меропенем имаше пораст на максималната јакост при свиткување од 4,8%. Анализата на варијанса покажа дека нема статистички значајна разлика помеѓу чистиот ПММА и групите со додадени антибиотици, но постои значајна разлика помеѓу групата со чист меропенем и сите останати групи со антибиотици. Вредностите укажуваат дека додавањето на меропенемот до некаде го неутрализира намалувањето на максималната јакост при свиткување на ПММА предизвикано од ванкомицинот.

Galvez – Lopez и сор.⁵⁵ го испитувале ослободувањето на антибиотикот, антимикробната активност и максималната јакост на притисок за коскен цемент со антибиотици прикажани во Табела бр., со концентрација од 1g на 10g ПММА и 2g на 10g ПММА, што се концентрации до 4 пати повисоки од оние употребени во нашата студија. Тие утврдиле дека коскениот цемент со додаден антибиотик се однесувал слично како чистиот ПММА, како еластичен полимер кај кој се создавале пукнатини до комплетно уништување на примерокот. Според ова истражување, максималната јакост на притисок за сите формулации била над 70 МПа, освен кај додадениот рифампицин, каде што не надминала 42,9 МПа. Примероците со додаден рифампицин биле екстремно еластични. Тие не се скршиле и ја повратиле нивната првобитна висина по прекинувањето на дејството на силата на притисок. Не биле тестирани формулации со амоксицилин/калвулонат и ампицилин, затоа што претходно утврдиле дека овие антибиотици не се ослободувале од цементот и имале незначителна антимикробна активност.

Што се однесува до употребата на рифампицинот во превенцијата и третманот на перипростетичните инфекции, во последните години тој добива на популарност како системска терапија при третманот на перипростетичните инфекции поради добрите резултати, особено при ДАИР (Debridement, Antibiotics, Implant Retention) процедурите.⁹⁷ Меѓутоа, не се употребува како додаток во ПММА, затоа што тој екстремно ја забавува неговата полимеризација и го оневозможува употребувањето дури и во ситуации кога не се неопходни максимални механички перформанси на цементот, како на пример кај подготовка на спејсери.⁹⁸ Laperche и сор. ја тестирале максималната јакост на притисок на ПММА со додаден рифампин во мали дози од 30 mg до 200 mg на 40 g ПММА и утврдиле дека примероците од 100mg/40g задржувале прифатливи механички карактеристики, при тоа манифестирајќи бактериска инхибиција во период до 24 часа.⁹⁵ Тие не испитале други карактеристики освен максималната јакост на притисок, ниту пак дали антибактериската активност на овие ниски концентрации на антибиотик се одржува подолго од 24 часа. Sanz-Ruiz и сор. испитувале додавање на микроенкапсулирани формулации на рифампицин во ПММА, при што утврдиле дека микрокапсули со алгинат значително ги подобруваат механичките карактеристики на цементот во однос на додавањето на чист рифампицин.⁹⁴ Додавањето на чист рифампицин предизвикало 30% пад на максималната јакост на притисок и 18% пад на модулот на еластичност во однос на контролата, додека кај микроенкапсулираниот овие вредности биле 14% пад на максималната јакост на притисок и несигнификантен пад на модулот на еластичност

при свиткување. Сепак, треба да се има во предвид дека и во ова испитување тестираните дози на рифампицин се значително пониски во однос на оние кои се користат при испитување на други антибиотици (1.25% w/w).

Pelletier и соработниците ги испитувале ефектите на комбинација на ванкомицин и флуфлоксацилин врз максималната јакост на притисок на коскен цемент во дози од 1g+1g/40g ПММА и 3g+3g/40g ПММА.⁸⁹ Во нивната студија, и двете формулации имале максимална јакост на притисок над минимумот од 70 МПа. Тие испитувале 2 типа цемент, при што за VersaBond и двете формулации имале пониска максимална јакост на притисок во однос на чист цемент, додека кај Simplex P, само повисоката доза значајно се разликувала. Ваквите разлики помеѓу различни марки коскен цемент и антибиотик од различни производители ги испитувале и Lee и сор.⁸² Тие испитувале ослободување на антибиотик и максимална јакост на притисок за 4 марки ПММА и 3 марки ванкомицин, во дози 1g ванкомицин / 40 g ПММА и 4 g/40 g. Утврдиле дека најголемо кумулативно ослободување на антибиотик има во комбинацијата Lyo-Vancin/PALACOS, а најмало Vanco/Simplex P (65% повисоко кај помалата доза на антибиотик и 458% повисоко кај поголемата). Максималната јакост на притисок не била значајно компромитирана во ниту една група со ниска доза на ванкомицин, но во групите со 4 g ванкомицин се јавила значајна редукција на јакоста по инкубација од 5% (Vanco/SimplexP) до 38% (стерилен ванкомицин во CMW). Резултатите од оваа студија укажуваат дека марката на антибиотик и коскен цемент можат да влијаат на ослободувањето на антибиотикот и механичките карактеристики на цементот. Во друга студија, Lilikakis и Sutcliffe ја испитувале максималната јакост на притисок на ПММА со различни дози на ванкомицин.⁸⁸ Тие заклучиле дека Palamed G и Coral цементите со формулации од 2,5% и 5% ванкомицин треба да се сметаат за безбедни, додека додавањето на 10% ванкомицин ги менува механичките карактеристики на цементот при компресија до степен да биде небезбеден за клиничка употреба. Дополнително, тие заклучиле дека примероци со исти концентрации на антибиотик, но различни процедури на подготовка можат да имаат значајно различни механички карактеристики.

Кај сите овие студии е заедничко тоа што разликите во максималната јакост на притисок при додавање на пониски дози на ванкомицин (до 5%) помеѓу различните марки и начини на подготовка не се значајни, а разликите стануваат поизразени и статистички значајни за примероците каде што е употребена висока доза на антибиотик.

Armstrong и сор. испитувале густина, модул на еластичност при свиткување и максимална јакост при свиткување на коскени цементи Palacos R/LV и CMW 1 со и без фабрички додаден гентамцин, на кои им додале или флуфлоксацилин или ванкомицин во доза од 0,5g (1% w/w). Тие утврдиле дека некои од формулациите со антибиотик имаат значајно пониска густина од Palacos R (подготовката била направена со мешање со вакуум). Овој наод се разликува од наодите на нашето испитување, каде што не најдовме статистички значајни разлики во густината помеѓу испитуваните групи, иако употребивме 2 до 4 пати повисоки дози на антибиотици во

однос на ова истражување. Модулот на еластичност на сите формулации е значително понизок во однос на контролата, што е во спротивност со нашите наоди. Ова може да се должи на разликите во марката на испитуваниот цемент, употребените антибиотици или начинот на мешање (рачно мешање во нашето истражување). Исто така, сите формулации, со различни цемента се споредени со Palacos R, а не со истиот фабрички тип цемент без антибиотик. Во ова истражување максималната јакост при свиткување на сите формулации била над границата од 50 МПа, но формулациите со фабрички гентамицин и додаден ванкомицин биле несигнификантно над оваа граница, а значително под вредностите за контролниот Palacos R.

Kim и соработниците ги испитувале механичките карактеристики, ослободувањето и антибактериската активност на Simplex™ Р со додаден ванкомицин во дози од 0,125g, 0,25g, 0,5 g, 1g и 2g на 40g цемент, кои ги испитувале по инкубација од 21 ден во пуфериран фосфатен раствор.⁸³ Тие утврдиле дека модулот на еластичност при свиткување не бил значително променет, но додавањето на ванкомицин значително ја намалило максималната јакост при свиткување. Примероците со 0,5 g и поголема доза на ванкомицин не биле статистички над ISO 5833 минимумот од 50 МПа. Деградацијата на максималната јакост при свиткување била поголема во однос на претходна студија на истата група, каде што под истите услови бил тестиран Palacos® цемент.⁸¹ Според овие автори, намалувањето на максималната јакост при свиткување се должи на намалувањето на јакоста на истегнување во комбинација со зголемена порозност на материјалот. Овие резултати до некаде се реплицирани и во нашето истражување, каде што по инкубација од 28 дена на 37°C, максималната јакост при свиткување примероците со додаден 1g ванкомицин имаа максимална јакост на свиткување која беше незначително над границата од 50 МПа, иако овие вредности не се разликуваа значајно ниту од контролата од чист Smart Set Endurance™ MV. Во студијата на Kim и сор.⁸³ немало значајна редукција на максималната јакост на притисок, освен во групата со 2 g ванкомицин, каде што имало 10% редукција. Во студијата на Bishop, редукцијата била поизразена (22%), а вредностите за максималната јакост на притисок биле под 70 МПа и за групата со 1 g ванкомицин.^{81,99} Вредностите на падот на максималната јакост на притисок повторно се слични со резултатите добиени по инкубација во нашето истражување, каде во групата со 1g ванкомицин имавме намалување на максималната јакост на притисок од 9,95% во однос на чистиот цемент, иако вредностите во сите групи и пред и по инкубацијата беа значајно над минимумот од 70 МПа. Во овие студии е испитана и цврстината (fracture toughness) на испитуваните групи, при што и двете студии утврдиле пораст на цврстината од 14% – 19% со додавање на антибиотик, што го објаснуваат со ефект на намалување на пропагацијата на пукнатините поради зголемената порозност. При испитувањето на ослободувањето на антибиотикот и инхибицијата на бактерискиот раст, овие студии утврдиле дека дозите од 0,5 g се само делумно ефикасни во инхибиција на бактерискиот раст на *S. aureus*, при што ослободувањето и бактериската инхибиција биле поизразени за Palacos® цементот.

Persson и сор. ги испитувале механичките карактеристики на Cemex XL коскен цемент со додаден 1,25% ванкомицин, 2,5% ванкомицин и 1,25% меропенем+1,25% ванкомицин, по истата методологија која ја користевме за тестирањето по 24 часа.⁹¹ Тие утврдиле дека додавањето на вакви дози на антибиотици нема значаен ефект врз максималната јакост на притисок. Додавањето на овие формулации антибиотици значајно влијаело на максималната јакост на свиткување и модулот на еластичност при свиткување ($p < 0,001$) и овие разлики биле значајни помеѓу сите групи, освен помеѓу групите со 1,25% ванкомицин и групата со комбинација 1,25% ванкомицин + 1,25% меропенем. Овие две групи имале вредности за максимална јакост при свиткување над минимумот од 50 МПа, за разлика од групата 2,5% ванкомицин, чии вредности биле под стандардот. Вредностите за модулот на еластичност за сите групи биле над минимумот од 1800 МПа. Вредностите од овие испитувања се прикажани во Табела 6-2. Во ова истражување Persson и соработниците го испитале и заморот за овие формулации и утврдиле дека единствено групата со 2,5% ванкомицин значајно се разликува од чистиот ПММА.

Табела 6-2. Максимална јакост на притисок и свиткување (МПа) на тестираните примероци коскен цемент во истражувањето на Persson и сор.⁹¹

	Максимална јакост на притисок	Максимална јакост при свиткување	Модул на еластичност при свиткување
Контрола	102 (4)	59 (4)	2,528 (89)
1.25 VA	100 (3)	52 (3)	2,266 (117)
1.25 VA + 1.25 ME	98 (3)	51 (4)	2,304 (57)
2.50 VA	98 (4)	46 (3)	2,132 (55)

Тестирање на ефектите на ванкомицин и меропенем врз коскен цемент е вршено и во понова студија од Wang и сор.⁹² Тие ги тестирале ефектите на високи дози од 2 g, 4g и 6 g ванкомицин и меропенем (не и нивна комбинација) врз механичките карактеристики на Palacos LV коскен цемент, користејќи идентична методологија за тестовите по 24 часа како нашето истражување. Смесата подготвена со 6 g ванкомицин била прашкаста, полимеризацијата не била адекватна и не можело да се оформат примероци погодни за тестирање, што коинцидира со нашите искуства од претходни обиди да подготвиме коскен цемент со високи дози ванкомицин. Останатите формулации биле тестирани за максимална јакост на притисок, а бидејќи вредностите за примероците со ванкомицин биле под минималната вредност од 70 МПа, понатаму не биле тестирани со тестот на свиткување во 4 точки. Добиените вредности во оваа студија се прикажани во Табела 6-3.

Од прикажаните вредности во Табела 6-3 е видно дека ванкомицинот во овие испитувани дози значајно ги нарушува механичките карактеристики на коскениот цемент, додека меропенемот и во високи дози не предизвикува вакви нарушувања. Напротив, во студијата на Wang и соработниците, примероците во кои имало додадено 4 грама меропенем имале највисоки вредности за сите испитувани категории, и тоа повисоки во однос на контролата.

Табела 6-3. Максимална јакост на притисок, на свиткување и модул на еластичност при свиткување (MPa) на сите формулации на коскен цемент со антибиотици.⁹²

Примероци	Максимална јакост на притисок	Максимална јакост на свиткување	Модул на еластичност при свиткување
A0	93.28 ± 3.84*	64.12 ± 4.56*	2402.74 ± 122.37*
A2	97.39 ± 3.66*#	67.85 ± 4.05*#	2465.22 ± 140.95*
A4	101.19 ± 1.31#	70.69 ± 1.27#	2473.28 ± 71.05*
A6	94.44 ± 2.90*	65.28 ± 2.45*	2416.19 ± 137.63*
B2	68.61 ± 4.91	/	/
B4	56.76 ± 5.19	/	/
F	138.56	4.57	0.50
P	<0.001	0.01	0.69

- * или #: Не е статистички значајно помеѓу групите со ист знак ($P > 0.05$).
- A2, A4, A6 – примероци со меропенем од 2, 4 и 6 g меропенем соодветно; B2, B4 – примероци со 2 и 4 g ванкомицин

Тие го испитувале и ослободувањето на меропенемот од примероци со овие концентрации, инкубирани на 37°C во физиолошки раствор и утврдиле дека меропенемот нагло се ослободувал во првите 48 часа, а потоа неговото ослободување постепено се намалувало, но било непрекинато во период од 24 дена.

Вредностите за механичките карактеристики на коскениот цемент со додадени ванкомицин и меропенем во студиите на Persson⁹¹ и Wang⁹² покажуваат тренд на однесување на коскениот цемент со овие антибиотици сличен на нашите резултати. Ванкомицинот во поголема мера ги нарушува механичките карактеристики и безбедно може да се додаде во помали дози (0,5g до 1g, во зависност од истражувањата), што е покажано и со останатите погоре наброени истражувања. Меропенемот, од друга страна, нема големо негативно влијание на механичките карактеристики и може безбедно да се додава и во поголеми дози во коскениот цемент. Според нашето истражување, во одредени случаи, комбинацијата ванкомицин + меропенем може дури и да биде механички подобра во однос на додавањето на чист ванкомицин во истата доза.

Разликите во добиените вредности можеме да ги припишеме на користењето на различните марки цемент и антибиотици, како и одредени разлики во дизајнот на испитувањата кои се неминовни. Во овие две испитувања, мешањето на антибиотикот со прашкастата компонента на цементот е направена со специјален миксер за прашкасти материи, додека ние мешањето го спроведовме рачно. Понатаму мешањето на прашкастата и течната компонента во овие студии е вршено рачно според инструкциите на производителот, како во нашето испитување.

Humez и соработниците ги испитувале ефектите на додавање на даптомицин во коскен цемент со гентамицин. Тие тествале додавање на дози од 0,5g, 1g и 1,5g и утврдиле дека сите дози ги задоволуваат барањата за механички карактеристики од ISO и DIN стандардите. Но, додавањето на 0,5 g во 40g ПММА немало антиминобна активност, за разлика од повисоките дози. Тие заклучиле дека ПММА цемент со 1,5 g даптомицин е најдобар во однос на ослободување на антибиотикот и ефективността, со добри механички перформанси. Според нив ПММА цемент со 0,5g гентамицин и 1,5 g daptomycin може да биде добра алтернатива на комерцијално достапниот Coral® G+V (гентамицин + ванкомицин) за третман на перипростетични инфекции предизвикани од ВРЕ.⁸⁵ До слични резултати дошол и Lewis, кој заклучил дека оптимална доза на даптомицин која треба да се додаде во 40 g ПММА е 1,36 g.¹⁰⁰ При тоа, треба да се има во предвид дека една ваква доза даптомицин чини 780 евра, додека препорачаната доза од 3 g за додавање во спејсери чини приближно 1500 евра.¹⁰¹

Во студија во која ги испитувале механичките карактеристики и ослободувањето на ванкомицин од коскен цемент со тројна антибиотска комбинација на ванкомицин, тобрамицин и гентамицин во различни дозни комбинации од вкупно 2g до 11g, Sacciola и сор. утврдиле дека со зголемувањето на дозите на другите антибиотици, ослободувањето на ванкомицинот се зголемува до двојно. Меѓутоа, за највисоките дози максималната јакост на притисок била под 70 МПа, модулот на еластичност при свиткување бил над 1800 МПа, додека максималната јакост при свиткување за сите испитувани групи е под 50 МПа, вклучително и на групата која содржела само 2g ванкомицин.⁹⁶

6.1 Влијание на начинот на мешање на цементот врз неговите механички карактеристики

Наједноставен начин за подготовка на коскениот цемент е рачно мешање на прашкастата и течната компонента. При оваа процедура, меурчиња воздух остануваат заробени во смесата, што предизвикува одреден степен на порозност, дури и кај цементите со ниска вискозност. За да се надмине овој проблем, правени се обиди за мешање со центрифугирање или вибрации, со неконзистентни резултати за механичките карактеристики на вака добиениот цемент.³⁷ Приближно во истиот период е воведена и техниката на мешање на цементот со вакуум и оваа техника се покажала како значително подобра, затоа што овозможува намалување на порозноста и зголемување на јакоста на цементот, во различни степени во зависност од користениот систем за мешање.¹⁰² Порите и празнините во цементот се предизвикани од воздухот во прашкастата компонента. Овој воздух останува заробен во цементот при мешањето, а со вакуумските системи делумно се отстранува. Конвенционалното рачно мешање на цементот предизвикува порозност од 5-16%, а вакуумското мешање 0,1-1%.¹⁰³ Порозноста се смета дека е главна причина за намалување на јакоста на цементот и појава на замор.

Додека мешањето со вакуум се смета дека ја намалува порозноста и ги подобрува механичките карактеристики на цементот, може да предизвика намалено ослободување на антибиотик од него. Askew и сор. испитувале механички карактеристики, порозност и ослободување на антибиотик од примероци ПММА со ванкомицин и тобрамицин, мешани рачно и со вакуум.¹⁰⁴ Тие утврдиле дека кај контролата без антибиотици, примероците мешани со вакуум имале 40% поголема максимална јакост на свиткување во однос на рачно мешаните. Но, немало значајни разлики во максималната јакост на свиткување помеѓу ниту една од групите со додадени антибиотици во однос на рачно и мешање со вакуум. Мешањето со вакуум пет пати ја намалило порозноста. Додавањето на антибиотик не ја променило значајно порозноста во однос на контролата за рачно мешаните примероци, додека кај мешаните со вакуум двојно ја зголемило.

Laine и сор. испитувале три начини на додавање на 1 g ванкомицин во 40g ПММА во вакуум миксер: со претходно просејување на антибиотикот и додавање во прашкастата компонента, без просејување и додавање во прашкастата компонента и просејување и додавање во течната компонента.¹⁰⁵ Тие сметале дека просејувањето ќе даде порамномерна дистрибуција на антибиотикот и подобри механички карактеристики на цементот. Примероците со непросеан ванкомицин навидум имале поголема порозност од останатите, но при механичкото тестирање овие автори утврдиле дека контролната група е значајно појака од групите со просеан ванкомицин, но не и од групата со непросеаниот. Ваквите резултати овие автори ги објаснуваат со можноста при хомогената распределба на антибиотикот да има порамномерно ослабување на полимерот, додека при нехомогената распределба, да се задржуваат поголеми зони на неослабнат полимер, што и дало подобри резултати на механичките тестови.

Frew и сор. споредиле префабрикуван цемент со гентамицин и ванкомицин (CopalG+V) со цемент со гентамицин (CopalR+G) на кој рачно му додале 2g ванкомицин. Тие го испитувале ослободувањето на антибиотикот и утврдиле дека рачното додавање на ванкомицин значајно го зголемува ослободувањето и на ванкомицинот и на гентамицинот во однос на комерцијално подготвениот цемент.¹⁰⁶ Овде не се испитувани механичките карактеристики на овие формулации. Во друга студија која го испитувала ослободувањето на гентамицин и тобрамицин од примероци добиени со 4 начини на мешање (суспензија на антибиотикот во течниот мономер; истурање во прашкастата компонента и директно додавање на мономерот; мешање со прашкастата компонента рачно; мешање со прашкастата компонента со миксер) не била утврдена предност на некој од овие споменати начини на мешање во однос на ослободувањето на антибиотикот, ниту пак биле утврдени дефинитивни разлики помеѓу овие рачно направени формулации и комерцијално достапните идентични формулации, кои биле користени како контроли.¹⁰⁷

Друга студија ги испитувала ефектите на рачно брзо и бавно мешање на цементот и додавање на ванкомицин во прашкастата, течната фаза и во тестестата

фаза. Според оваа студија, рачното брзо мешање и додавањето на антибиотикот во тестестата фаза овозможуваат негово поголемо ослободување.¹⁰⁸

При испитување на додавање на висока доза ванкомицин (10g) на коскен цемент на три начини (истолчен ванкомицин во прашкастата компонента со рачно мешање, истолчен ванкомицин во прашкастата компонента со мешање со миксер и крупни гранули во тестестата смеса по мешање на двете компоненти), Miller и сор. утврдиле дека додавањето на антибиотикот во тестестата смеса овозможува значајно поголемо негово ослободување, но и значаен пад на максималната јакост на притисок (36 МПа).¹⁰⁹ Другите две формулации имале максимална јакост на притисок од 56 МПа, што е значајно под минимално утврдената вредност од 70 МПа, но овие автори не наведуваат проблеми во полимеризацијата на цементот и изработка на примероци за овие високи дози на додаден ванкомицин.

Во нашето истражување, антибиотиците ги додававме во прашкастата компонента, ги мешавме до видлива рамномерна дисперзија во неа и потоа го додававме течниот мономер. Меропенемот, како фин прав рамномерно се распределуваше во прашкастата компонента. Гранулите на ванкомицинот, со димензии и над 5 mm, грубо ги раздробивме до поситни гранули и на тој начин ги поготвивме првите примероци за тестирање, кои подоцна ги означивме како група *В 2,5%. Значи, оваа група содржеше примероци подготвени на тој начин што го истуриравме ванкомицинот, по грубо дробење од неколку секунди ја додадовме прашкастата компонента и по мешање од 30-тина секунди го додадовме течниот мономер и продолживме со подготовката според опишаниот протокол. Меѓутоа, при тестирањето на овие примероци по 24 часа, во група со 9 примероци ние добивме резултати за максимална јакост при свиткување од 33,57 МПа до 64,48 МПа, со стандардна девијација од 11,22. Оваа група, иако со нормална распределба, имаше значително поголема варијабилност од претходно тестираните ПММА (ранг 59,4 – 70,82 МПа, SD 3,82) и М 2,5% (ранг 59,07 – 72,67 МПа, SD 3,92). Поради ова, го модификувавме изработувањето на примероците со ванкомицин во сите групи кои го содржат: гранулите ванкомицин со шпатула ги ситневме до честиици не поголеми од 1 mm, потоа ја додававме прашкастата компонента и ги мешавме континуирано рачно три минути пред да ја додадеме течната компонента. На ваков начин, за групата В 2,5% добивме резултати за максимална јакост при свиткување од 51,8 МПа до 69,07 МПа, со SD 4,85.

Со оглед на тоа што примарната цел на ова истражување не беше тестирање на ефектите од различни процедури на мешање на цементот, не бевме во можност да тестираме примероци од групата *В 2,5% по инкубација или за максимална јакост на притисок, ниту пак различни начини на мешање за групите ВМ 2,5% и ВМ 5%.

Групата *В 2,5% имаше просечна максимална јакост на свиткување од 51,7 МПа, која статистички не се разликува значајно од минимално утврдената вредност од стандардот од 50 МПа, односно имаше примероци со вредности под минималната. За разлика од неа, групата В2,5% имаше просечна максимална јакост при свиткување од 59,16 МПа, при што сите испитувани примероци имаа вредности над минималната

од 50 МПа. Но, при анализата на варијанса, со post hoc Games Howell – овиот тест, не беше утврдена статистички значајна разлика помеѓу максималната јакост при свиткување на оваа група и другите групи, освен групата М 2,5%.

Што се донесува до модулот на еластичност при свиткување, групата *В 2,5% имаше помала стандардна девијација во однос на другите групи и имаше најмал пораст во однос на контролата, но статистички значајно не се разликуваше од групата В 2,5% или другите групи, освен од М 2,5%. Овој резултат може да биде објаснет со теоријата на Laine и сор,¹⁰⁵ според кои при погрубото мешање на цементот остануваат поголеми зони чист непроменет полимер, кој ги задржува своите механички карактеристики. Меѓутоа, иако еластичноста на овој полимер е слична со онаа на чистиот ПММА, максималната јакост при свиткување зависи и од големината и дистрибуцијата на порите и празнините, кои се поголеми кај *В 2,5% (види сл.) и кои конечно ја намалуваат неговата максимална јакост. Добиените вредности за максимална јакост на оваа група се гранични, но донекаде непредвидливи и со голема варијабилност. Од тие причини препорачуваме при додавањето на ванкомицин во коскен цемент при артропластика, да се следи процедурата во која тој фино ќе биде истолчен и детално измешан со прашкастата компонента, за подобри механички карактеристики. Во случаи кога коскен цемент се користи за спејсери, пополнување на празнини или други примени каде што не се неопходни максимални механички перформанси, може да се користат и неситнети партикли од ванкомицин, кои можеби подобро ќе се ослободуваат од цементот во однос на фино иситнетиот прашок. За вакви примени, може да се размислува и за додавање на антибиотикот триесетина секунди по мешање на прашкастата и течната компонента, односно по отпочнување на полимеризацијата.

6.2 Влијание на инкубацијата врз механичките карактеристики на коскениот цемент

По вградувањето на коскениот цемент во телото, тој е подложен на влијанијата на агресивна околина – изложен е на дејството на ткивната течност, на температура од 37°C во тек на повеќегодишни периоди, често со децении. Ова го забрзува неговото стареење и го ослабува врзувањето ендопротеза – цемент – коска и води до разлабавување на протезата и потреба од ревизија и реимплантација. Кај цементните артропластики, цементот е компонентата која ја одредува трајноста на конструктот. Повеќе теории тврдат дека на асептичното разлабавување на имплантите му претходи уништување на коскениот цемент.^{110–112} Има проценки дека над 25% од ендопротетските импланти покажуваат знаци за асептично разлабавување.^{113,114}

Постојат повеќе студии кои покажуваат промена на механичките карактеристики на коскениот цемент при негово стареење во вода, Рингеров раствор, плазма, крв или други раствори. Овие студии ги истражувале ваквите промени во временски периоди од неколку часа до повеќе години.^{115–117}

Повеќе автори го испитувале *in vivo* однесувањето на коскениот цемент. Hughes и сор. покажале дека долготрајната имплантација на цементот е поврзана со намалување на неговата молекуларна тежина кај примероците извадени од колкови, но не и од колена.¹¹⁸ Некои автори редукцијата на молекуларната тежина на цементот ја поврзуваат со редукција на механичките карактеристики и замор на материјалот.¹¹⁹ Hughes и Bettencourt сметаат дека цементот деградира преку прекини во полимерниот синџир и хидролиза на естер групите, што ја менува ПММА молекулата со тек на време.^{118,120} Oonishi и сор. покажале дека максималната јакост при свиткување (тест на свиткување во 3 точки) на CMW цемент се намалува со тек на време *in vivo*, но не нашле корелација помеѓу молекуларната тежина и времето на имплантација.¹²¹ Тие утврдиле дека во извадените примероци од цементот немало процеси на хидролиза и кинење на ланците на ПММА молекулите.

Полимерите се подложни на промени на механичките и реолошките карактеристики кога се потопени во течност подолго време. Овие промени настануваат поради примањето на течност, промените на температурата, составот на полимерот и траењето на имерзијата. Типични промени се зголемување на масата и снижување на температурата на премин во стаклеста состојба (T_g). Дифузијата кај полимерите е комплексен процес кој тешко се предвидува. Течноста може да ги исполни празните простори во полимерот, како што се порите и пукнатините, но може и да дифундира во интермолекуларните простори.¹²² Овие празни простори се создаваат со заробување меурчиња воздух во цементот при мешањето или со ослободување на неполимеризираните мономерии во течноста. Молекулите на водата се доволно мали и можат да дифундираат во просторите со агломерати од радиопацификаторот и помеѓу молекулите на полимерот. Овој процес може да се интензивира при повисоки температури и пластицизирање, при што полимерните синџири се релаксираат и се зголемуваат меѓумолекуларните простори. Според тоа, течноста може да дифундира во коскениот цемент без воспоставување односи со поларните молекули во него (теорија на слободен волумен) или со воспоставување специфични молекуларни интеракции.^{123,124}

Дифундирањето на течноста во цементот предизвикува зголемување на тежината на примероците и нивно набабрување.^{125,126} Иако ПММА е хидрофобен полимер, може да апсорбира вода до 2% од сопствената тежина.^{46,127,128} Ова зголемување на масата може да биде корисно во намалување на напрегањата предизвикани од смалувањето на коскениот цемент. Дифузијата во чист ПММА, без антибиотик, главно настанува во тек на првите 3 дена, а потоа нема значајни промени.⁴⁶ Во студиите во кои се истражува ослободувањето на антибиотик од коскениот цемент се постулира дека водата навлегува во цементот низ површинските пукнатини и празнини кои се создаваат при ослободувањето на цементот.^{129,130}

Во нашата студија, утврдувањето на промените во тежината како резултат на апсорпција на течност не спаѓаа во целите на студијата. Ние не детектираме значајно зголемување на тежината на примероците тестирани на притисок и на свиткување во четири точки, мерени по чување на воздух 24 часа и инкубирани во Рингеров раствор

28 дена. Има две причини за ваквите резултати. Прво, мерењето беше извршено со инструмент со прецизност од 0,01 g. Кај примероците тестирани на максимална јакост на притисок, со просечна тежина од 0,4 g, со ова мерење воопшто не може да се детектираат промени од 2%. Кај примероците тестирани со тест во свиткување во 4 точки, со просечна тежина од 3,02 g (варијанса 0,003), статистички би требало да можеме да детектираме разлики во тежината на инкубираните и неинкубираните примероци. Но, повторно, поради целите и дизајнот на студијата, мерењето на инкубираните примероци не беше извршено веднаш по отстранувањето од течноста, туку по нивно сушење по минимум еден час на воздух. Ова може да предизвика губиток на апсорбираната течност во степен да не може да се детектира зголемување на тежината.

Тестирањето на сув цемент, по 24 часа, како што е одредено со стандардите кои се во употреба, дава повисоки вредности за механичките карактеристики во однос на тестирање во услови поблиски до физиолошките. Максималната јакост на коскениот цемент се развива побавно во однос на почетното стврднување на цементот. Nottrott утврдил дека по 20 минути, јакоста на Palacos со гентамицин е само 66%, а модулот на еластичност 78% од максималните вредности на материјалот.¹¹⁷ Во овој период цементот е фрактилен, а може да биде подложен на големи сили, како на пример при редукција на зглобот при артропластика, која вообичаено се прави до 15-тина минути по мешањето на цементот. На овој начин, можат да се создадат микропукнатини, кои можат да го зголемат ризикот од фрактури од замор на цементниот мантил и да влијаат на долгорочниот клинички исход.¹³¹ Оваа претпоставка соодветствува на наодот на високи стапки на асептично разлабавување кај цементни импланти, кај кои траењето на оперативната интервенција било под 51 минута.¹³² Исто така, одговара на наодите од светлосна микроскопија, која покажува слаба кохеренција помеѓу преполимерните зрна и матриксот во раните фази по мешањето на цементот.¹¹⁷

Според Looney и Park, исчезнувањето на слободните радикали од коскениот цемент *in vivo* се одвива подолго (над 4 недели), во однос на *in vitro* (помалку од две недели). Максималната јакост на цементот брзо се зголемува во тек на првите 1 – 2 недели, а потоа мали зголемувања може да има и до 6 месеци.⁴⁴

Промени во механичките карактеристики на цементот се утврдени во раздобја од пет години.¹¹⁷ На овие промени влијае физичкото стареење, како и апсорпцијата на вода во физиолошки услови.

Nottrott ги испитувал максималната јакост на притисок и микроструктурата на цемент чуван во симулирани физиолошки услови (вода на 37°C) од 20 минути до една година и ги споредил со примероци чувани на сув воздух на 37°C.¹³³ Тој утврдил дека максималната јакост на притисок се зголемува во тек на првата недела, се намалува на крај на првиот месец и останува на тоа ниво во тек на една година. Модулот на еластичност имал сличен тренд. Според него, порастот на јакоста во тек на првата недела се должи на довршување на полимеризацијата и формирање на молекуларни врски. Понатамошниот пад на јакоста може да биде причинет од пластицизирачкиот

ефект на апсорпција на вода, со оглед на тоа што сувите примероци имале повисоки вредности.

Во друга студија тој ја испитал максималната јакост на притисок и модулот на еластичност при притисок за коскен цемент чуван на воздух на 23°C, во вода и во плазма на 37°C. Примероците биле тестирани по 24 часа и во неколку временски точки до 6 месеци. Било утврдено дека кај примероците чувани на воздух има континуиран пораст на максималната јакост на притисок и модулот на еластичност, додека кај примероците чувани во вода и плазма овие вредности се намалувале, што го објаснува со причините истакнати во претходниот труд. Немало значајни разлики помеѓу примероците чувани во вода и плазма.¹³⁴ Во двата труда тој ја истакнува важноста на тестирање на примероци инкубирани во течност, затоа што сувите примероци даваат лажно високи резултати во однос на реалните кои цементот би ги имал во физиолошки услови.

Контаминацијата со физиолошки течности има значителен ефект врз детериорацијата на механичките карактеристики на коскениот цемент. Максималната јакост на притисок и тврдоста на цементот се намалува при контаминација со физиолошки раствор или крв, дури и под вредностите од 70 МПа за одредени концентрации, при што физиолошкиот раствор предизвикува поголемо нарушување во однос на крвта.¹¹⁵ Тврдоста на цементот линеарно се намалува во зависност од концентрацијата на течностите, но ваква линеарна зависност нема за максималната јакост на притисок.

Не постојат утврдени стандарди за максимална дозволена контаминација, но во сите упатства се наведува дека при подготовка на коската за имплантација, таа треба да биде исчистена од крв, коагулуми, фрагменти и исушена од течноста за испирање, за овие загадувачи да не се измешаат со цементот. Со оглед на условите при операција, не е можно во сите случаи да се следат овие упатства во целост. *In vivo* контаминацијата вообичаено не е хомогена. Иако нема директно мешање на целата смеса ПММА со течностите, површината на цементниот мантил е во директен контакт со ткивната течност, маст, крв или течноста за испирање и може да достигне висок процент на контаминација.

Во студија во која го испитувале ефектот на контаминација на коскен цемент CMW1 и CMW3 со физиолошки раствор, Karpinski и соработниците утврдиле дека по две до четири недели инкубација, максималната јакост на притисок на чисти примероци од двата типа цемент паѓа под минималната вредност од 70 МПа.¹³⁵ Тие заклучиле дека *in vitro* цементот неминовно ќе изгуби дел од максималната јакост при инкубација, при што резултатите за CMW1 биле нешто полоши од резултатите за CMW3. Тие исто така утврдиле дека контаминацијата на примероците со физиолошки раствор, додаден при процесот на полимеризација предизвикува нарушување на максималната јакост на притисок, но не ја менува значајно микротврдоста на материјалот. Тврдоста постепено се намалувала со инкубација само при концентрации на контаминација со физиолошки раствор над 6%. Szabelski исто така утврдил значајно намалување на максималната јакост на притисок при инкубација на

CMW3 во тек на 20 дена во Рингеров раствор, додека максималната јакост на Palacos се намалила, но ве толкав обем.¹²⁶

Schonhoff и сор. ги испитувале ефектите на стареење врз максималната јакост при свиткување на класични примероци како контрола со модели на „цемент во цемент“ ревизиони конструкции, за коскените цемента Palacos R+G и SmartSet MV (сличен на цементот кој е користен и во нашето истражување).¹³⁶ Моделите „цемент во цемент“ ги направиле на тој начин што примерок со дебелина од 1,65 mm го инкубирале 4 недели, а потоа му додаде нов слој цемент до 3,3 mm одредени со стандардот ISO 5833. Тие утврдиле дека за Palacos нема значајни разлики помеѓу контролата и „цемент во цемент“ примероците во ниту една од временските точки на стареењето (24 часа, 4 недели + 1 ден, 4 недели + 3 дена, 4 недели + 10 дена). Кај SmartSet MV имало значајно намалување на максималната јакост при свиткување кај „цемент во цемент“ конструкциите. И кај двата типа на цемент има намалување на максималната јакост при свиткување во тек на инкубацијата и кај контролите и кај испитуваните конструкции. Вредностите за максимална јакост при свиткување на контролата за SmartSet MV, измерени по 24 часа и по инкубација од 4 недели + 1 ден (Табела 6-4) се споредливи со вредностите кои ние ги добивме кај примероците од групата ПММА тестирани по 24 часа и по инкубација од 4 недели (во нашето истражување 65,15 МПа и 55,54 МПа соодветно).

Табела 6-4. Споредба на максималната јакост при свиткување на групите од SmartSet во истражувањето на Schonhoff и сор. Просек (SD) во МПа.¹³⁶

	SmartSet MV		
	Контрола	„цемент во цемент“	p-вредност
24 ч	64.1 (2.9)	56.9 (3.0)	0.043
4н + 1д	56.1 (2.6)	44.4 (1.7)	<0.001
4н + 3д	56.1 (4.4)	47.1 (5.9)	0.023
4н + 10д	56.9 (4.2)	51.2 (5.8)	0.239

Miola и соработниците го испитувале ефектот на инкубација во тек на 14 дена во симулирана телесна течност на коскен цемент со фабрички и рачно додаден гентамицин. Тие заклучиле дека инкубацијата ја зголемува максималната јакост на притисок на цементот, што го објаснуваат со процесите на доцна полимеризација. Исто така, заклучиле дека рачното додавање на антибиотик не ја нарушило максималната јакост на притисок во однос на фабричкото и дека добро механичко мешање на прашкастата компонента со антибиотикот може да произведе коскен цемент со карактеристики споредливи со оние на комерцијалните продукти.⁴⁵ Оваа студија не прави споредба со група на цемент без антибиотик, а инкубацијата е во период од 2 недели. Во погоре споменатата студија на Pelletier и сор., инкубацијата на цементот во тек на 4 недели предизвикала значаен раст на максималната јакост на притисок на испитуваните цемента; кај групата со додадени 2 g антибиотици немало

значајни промени по инкубацијата; кај групите со додадени 6 g антибиотици имало значаен пад на максималната јакост на притисок во однос на истата формулација тестирана пред инкубација.⁸⁹

Musib и сор. ја испитувале површинската цврстина (hardness) на примероци коскен цемент со различни дози гентамицин и тобрамицин (од 0,5g + 0,5g до 10 g) и утврдиле дека со зголемување на дозата на антибиотикот, цврстината се намалува по инкубација во течност и ослободување на тој антибиотик.¹³⁷ Според нив, ослободувањето на антибиотикот создава пори кои ја ослабуваат структурата на цементот. Меѓутоа, тие не успеале да утврдат дека продолжено ослободување до 3 недели предизвикува значаен понатамошен пад на цврстината.

Во нашето истражување, сите испитувани групи ги инкубиравме во Рингеров раствор на 37°C во тек на 28 дена. Инкубацијата предизвика раст на максималната јакост на притисок и кај чистиот ПММА и кај сите испитувани групи со антибиотици. Овој пораст беше најголем во групата М 2,5% (13,2%), а најмал во групата ВМ 5% (5,1%). (Графикон 5-18) Ова беше единствената статистички значајна разлика помеѓу групите во поглед на ефектот на инкубација. Разликите помеѓу останатите групи во однос на ефектите на инкубацијата не беа значајни. Апсолутните вредности на максималната јакост на притисок значајно се разликуваа помеѓу контролната ПММА група и сите групи со додадени антибиотици, кои и по инкубацијата, исто како и пред неа, имаа пониски вредности во однос на чистиот ПММА. Значи, во физиолошки услови, по ослободување на антибиотикот во телесните течности во тек на 28 дена, при изложување на сили на притисок, коскениот цемент со додадени антибиотици според параметрите во ова истражување, не се очекува да се однесува различно во однос на чистиот цемент.

Инкубацијата предизвика намалување на модулот на еластичност при свиткување за сите испитувани групи во однос на вредностите пред инкубација, и тоа од 2,3% за чистиот коскен цемент до 13,1% за групата ВМ 5%. (Графикон 5-41) Според нашите резултати, намалувањето на модулот на еластичност при свиткување е значајно за сите групи со додаден ванкомицин, но за групата ВМ 5% ова намалување е поголемо во однос на простиот збир на намалувањата предизвикани од поединечно додавање на ванкомицин и меропенем. Модулот на еластичност при свиткување по инкубацијата е значајно повисок во групата М 2,5% во однос на сите останати групи, вклучително и чистиот ПММА. Исто така, групата ВМ 5% има значајно понизок модул на еластичност од сите останати групи. Имајќи ги во предвид добиените вредности и разликите помеѓу групите, можеме да заклучиме дека ванкомициниот во поголема мера влијае на намалувањето на модулот на еластичност во однос на меропенемот. Комбинираните ефекти на додавање на два (или три) антибиотика во коскен цемент врз оваа механичка карактеристика не можат да се проценат целосно врз основа на податоците за додавање на секој антибиотик поединечно.

Максималната јакост при свиткување по инкубацијата се намали кај сите испитувани групи. Овој пад беше најголем кај чистиот ПММА (14,7%), но не се разликуваше помеѓу испитуваните групи. При тоа, апсолутните вредности на

максималната јакост при свиткување повторно беа значително повисоки во групата М 2,5% во однос на сите останати групи со антибиотици, како и пред инкубацијата, но немаше значајни разлики помеѓу контролната група и сите останати групи. За групите В 2,5% и ВМ 2,5% максималната јакост при свиткување не се разликуваше значајно од вредноста од 50 МПа, додека за останатите групи беше значајно повисока. Инкубацијата на коскениот цемент во тек на 4 недели предизвикува пад на максималната јакост при свиткување во однос на вредностите мерени по 24 часа. Додавањето на антибиотици во испитуваните дози, иако не ја менува значајно оваа карактеристика на коскениот цемент, предизвикува одредено нејзино намалување. Ова намалување, иако е прифатливо за SmartSet Endurance MV цементот, може да биде повеќе или поизразено за други типови цемент, други антибиотици или други услови на подготовка на цементот.

Овде треба да имаме во предвид и дека стандардот предвидува гранична вредност од 50 МПа за примероци чувани на воздух и тестирани по 24 часа. Дефинирани вредности за максималната јакост на свиткување по инкубација во тек на подолги временски периоди нема. Нашето истражување, како и поголем број други студии покажуваат дека инкубацијата на чистиот коскен цемент води до намалување на вредностите на максималната јакост при свиткување.^{46,136}

6.3 Морфологија на коскениот цемент измешан со антибиотици

Порозноста на коскениот цемент се смета за еден од најзначајните фактори што влијаат на неговото механичко однесување *in vivo*.¹³⁸ Во прегледна студија Lewis сумира дека има пет извори за формирање на микропори: воздух заробен на почетокот во течната или прашкастата компонента; заробување на воздух при натопување на прашкастата со течната компонента; при мешање на двете компоненти; при испарување на мономери во процесот на стврднување и при трансфер на тестестата маса во шприцот/пиштолот или во феморалниот канал.³⁴ Извор на порозност во предел на контактните зони стем/цемент и коска/цемент може да биде и собирањето на цементот при полимеризација.¹³⁹

Испитувањето на порозноста на цементот се врши со различни методологии, најчесто рендгенграфија со висока резолуција за макропори и светлосна микроскопија за микропори. Во последно време се користи микро компјутеризирана томографија (μ СТ) со моделирање на тродимензионалната структура и распоред на порите.

Порозноста и волуменот на празнините во цементот влијаат на неговите механички карактеристики.^{42,102} Со фрактографски анализи е покажано дека *in vivo*, пропаѓањето на цементот се должи примарно на замор на материјалот и пропаѓање на пукнатини, при што микропорите имаат одредени улоги.^{43,140} Повеќе студии покажуваат дека пукнатините од замор почнуваат од микропорите и намалувањето на порозноста ја одложува појавата на замор на коскениот цемент.^{141–143} James и

соработниците покажале дека сите пукнатини од замор почнуваат од внатрешни пори и правецот на нивно ширење од пукнатините најчесто бил видлив.¹⁴⁴ *In vitro* постои силна негативна корелација помеѓу порозноста и бројот на циклуси на оптоварување до појава на замор на цементот.^{143,145,146} Но, покажано е дека иако порите делуваат како почетни точки за микропукнатини, тие можат да го забрзаат, успорат или променат ширењето на макропукнатините во цементниот мантил.¹⁴⁷ Ова зависи од локацијата на порите во однос на локалните интензитети на напрегањата, но не зависи од големината на порите или од степенот на порозност. Дури и постои теорија дека порите можат да го стопираат ширењето на пукнатините.¹⁴⁸ Кога врвот на пукнатината ќе стаса до округла микропора, тој станува тап и пукнатината престанува да се шири понатаму низ цементот.

Иако *in vitro* истражувањата покажуваат дека намалувањето на порозноста на цементот ги намалува ефектите на заморот, тие не ги симулираат условите *in vivo*, а дури и се во контрадикторност со резултатите од некои клинички истражувања. На пример, цементите со висока вискозност се попорозни поради тоа што воздушните меурчиња потешко се елиминираат од смесата.¹⁴⁹ Но, употребата на цемент со ниска вискозност за фиксација на феморалниот стем дава полоши клинички резултати.¹⁵⁰ Повеќе студии на отстранети протези или примероци од кадавери не откриле фрактури на цементниот мантил поврзани со порозност.^{151,152}

Има неколку објасненија за отсуството на клиничко значење на порозноста врз исходот на ендопротезата. Прво, радиолошки видливите празнини во цементниот мантил можат да немаат изразен негативен ефект врз неговите механички карактеристики. Од механичка гледна точка, цилиндрична цевка која има дупка има незначително намалена јакост доколку дијаметарот на дупката е помал од 30% од дијаметарот на цевката, што е случај со поголем дел од радиолошки видливите шуплини во цементниот мантил.¹⁵³ Во истражувањата на Hengigou и сор, сферичните или округлите шуплини кои можат да се припишат на подготовката на цементот и се исполнети со воздух, ретко надминувае 4 – 5 mm, а големите неправилни шуплини во цементниот мантил, кои можат да предизвикаат негово ослабување најверојатно биле спонгиозна коска во проксималниот дел на цементниот мантил или колекции крв во дисталниот.^{148,154}

Второто објаснение е дека празнините во цементот имаат мал негативен ефект на механичките карактеристики на цементниот мантил, но резултатите во испитуваните серии не постигнале статистичка значајност.¹⁵⁴

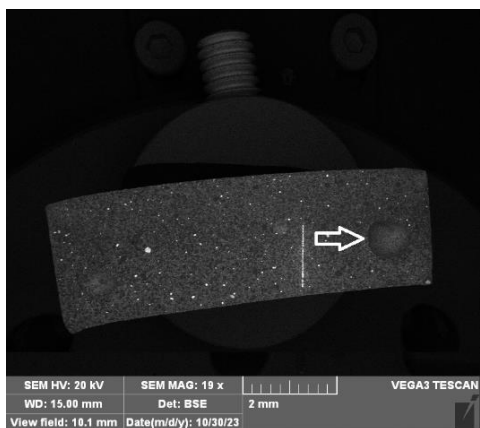
Третото објаснение е дека само мал број пори и празнини влијаат на механичките карактеристики на цементниот мантил. Големите празнини и макропорите поголеми од 1 mm предизвикуваат намалување на количината материјал во единица волумен, додека кај микропорите се јавуваат проблемите во врска со прашањето дали се иницијатори, прекинувачи на пукнатините, или немаат врска со нив. Во студијата на Janssen и сор., тие утврдиле дека ефектите на порозноста врз заморот на цементот зависат од напрегањата во истиот.¹⁵⁵ Нивните симулации на

тестирање на замор кај модели на примероци покажале дека при услови на хомогени напрегања, намалување на порозноста води до поголема долговечност на цементот, што одговара на повеќето лабораториски истражувања. Но, во клиничката пракса, нема хомогени напрегања. Разрушувањето на цементниот мантил настанува преку локални сингуларитети на напрегање, кои најчесто се создаваат околу острите агли на протезата и ги засенуваат концентрациите на напрегање околу порите. Во ваква ситуација, процесот на кршење на цементот од замор не зависи од нивото на порозност. Според тоа, дискрепанцата помеѓу резултатите за замор на цементот во клиничките и експериментални студии се должи на разликата во дистрибуцијата на напрегањата.

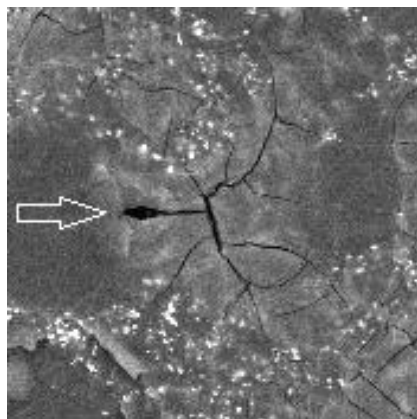
До денес нема докази дека цементот кој би бил комплетно без пори би имал подобри клинички резултати од порозниот цемент. Некои наоди покажуваат дека тој може да има и полоши резултати. Herberts и Malchau ги потврдиле резултатите на Havelin при анализа на податоците од Шведскиот регистер за колк. Тие нашле дека клинички резултатите биле полоши при имплантација на феморалната компонента со цемент со ниска вискозност мешан со вакуум, при што имало поголем ризик за ревизија во тек на првите четири години по имплантацијата.^{150,156}

Во примероците кои ги прегледавме со СЕМ имаше микропори со димензии од неколку микрометри до неколку стотини микрометри. Еден примерок од групата ПММА на скршената површина имаше макропора од 1 mm. (Слика 6-1) Во резултатите се прикажани сликите од различни форми и димензии на шуплините и порите детектирани во сите испитувани групи. При тоа, откривме микропукнатини кои понекогаш се шират радијално од микропорите и завршуваат слепо во полимерниот матрикс, пукнатини кои поврзуваат соседни шуплини или соседни честици антибиотик, како и пукнатини кои немаат видлива врска со шуплините во цементот. Кај некои пукнатини, може да се смета дека порите делуваат како прекинувачи на пропагацијата на пукнатината. (Слика 6-2)

Слика 6-3 прикажува примерок од групата ИНК В 2,5%, со една поголема микропора од 500 μm и една помала пора под неа. Двете пори, иако во релативна близина, не се поврзани со пукнатина. Од поголемата пора се шират одредени микропукнатини (Слика 6-4), иако не може да се утврди дали тие овде почнуваат или завршуваат. Некои од овие пукнатини можат да продолжуваат кон честици со ванкомицин (Слика 5-13). Тоа значи, дека, од една страна, шуплините во цементот можат да делуваат како концентратори на стрес и да бидат места на кои ќе се јавуваат пукнатини, доколку се блиску една до друга, но, втората можност е пукнатината која тргнала од едната шуплина да завршува во следната, наместо да се шири понатаму низ цементниот матрикс.



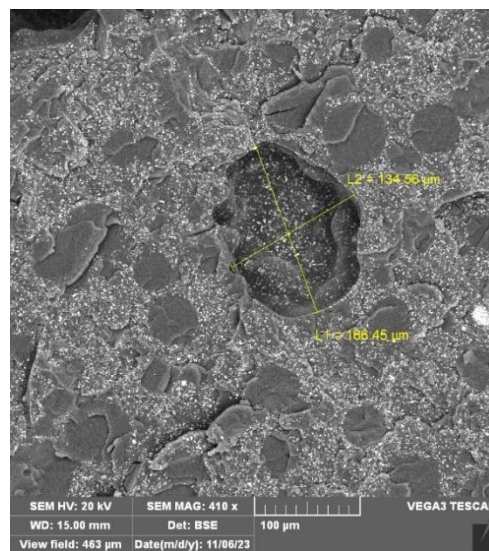
Слика 6-1. Примерок од групата ПММА со макропора (бела празна стрелка).



Слика 6-2. Радијални микропукнатини со микропора во структурата на полимерот. (група ИНК ВМ 5%, оригинално зголемување 428x)



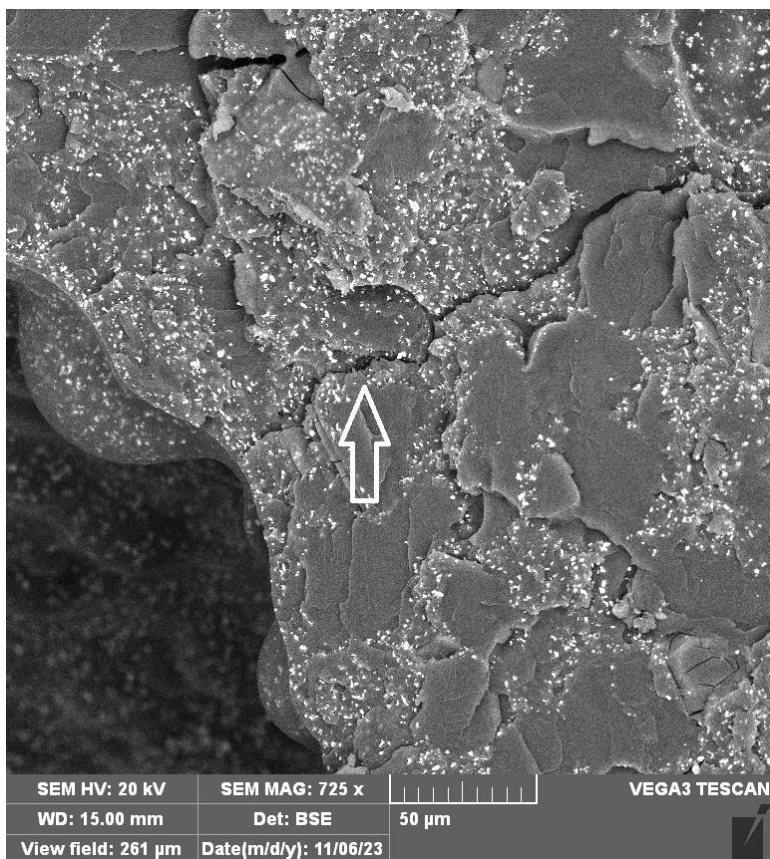
А



Б

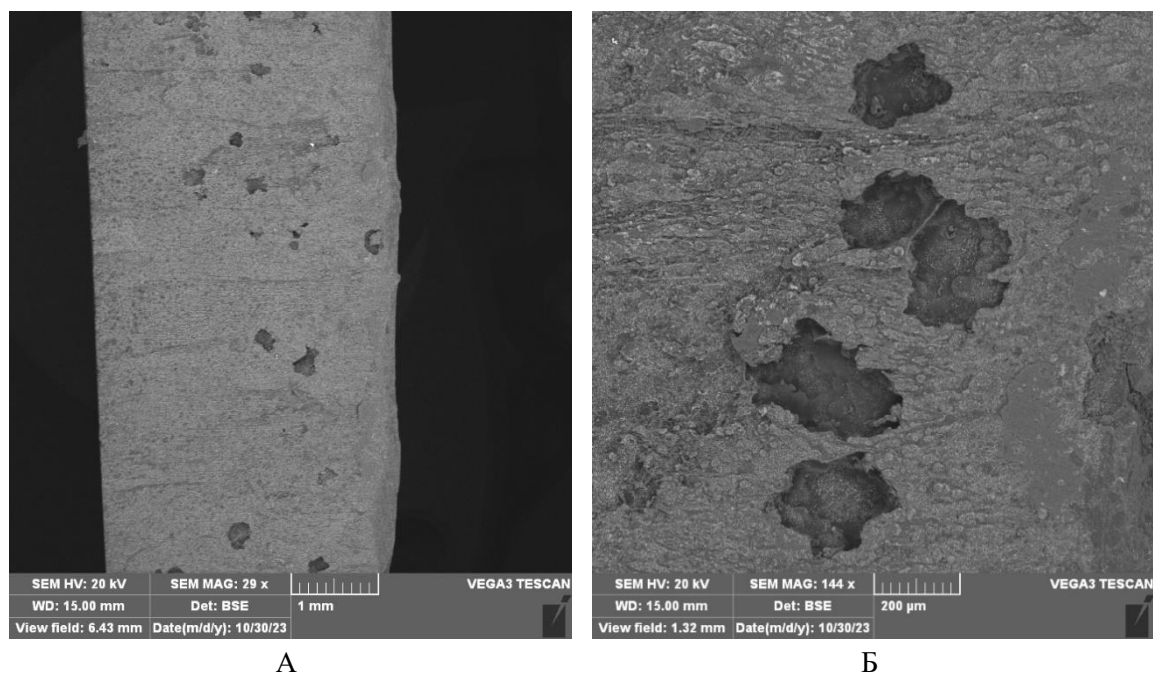
Слика 6-3. Примерок од групата ИНК В 2,5%. А. Видлива микропора со измерени димензии (жолта боја) и помала микропора под неа (зголемување 31x). Б. Помалата микропора од сликата А на поголемо зголемување (410x).

Иако не можевме да ја квантифицираме порозноста на примероците, генерално примероците со ванкомицин имаа почести, поголеми пори со понеправилни димензии (Слика 6-5), како и зони на густа микропорозност без инклузии од антибиотици (Слика 5-5 Б). Структурата на чистиот ПММА и примероците со меропенем беше похомогена, со правилни округли пори или пори со четириагеста форма кај инкубираните примероци со меропенем (Слика 5-21). Не забележавме концентрација на пукнатини околу агломератите на BaSO_4 , иако некои пукнатини минуваа низ овие гранули. Видот и концентрацијата на радиационаторот може да влијае на порозноста на цементот и неговите механички карактеристики. Зголемување на фракцијата на BaSO_4 предизвикува зголемување на порозноста.¹⁵⁷

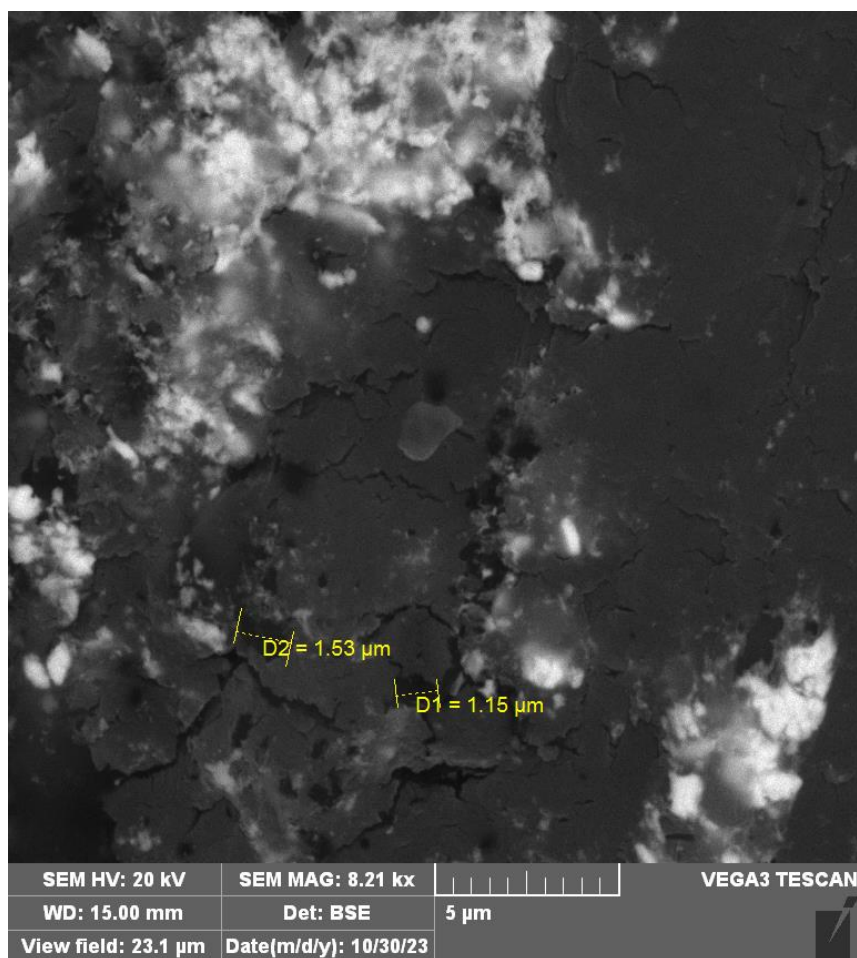


Слика 6-4. Пукнатина која се шири од пората од 500 микрони, прикажана на сл. 6-3, низ структурата на полимерот.

На големи зголемувања (8000 пати), на некои места во структурата на цементот се забележуваат шуплини со дијаметар од еден микрон или помали, како и пукнатини во структурата на полимерот кои се со нанодимензии. На Слика 6-6 се видливи бројни вакви пукнатини во примерок од групата ВМ 2,5%. Со оглед на тоа што се работи за исклучително мали површини, не би можеле да донесеме заклучок во врска со универзалната дистрибуција на овие нанопори и нанопукнатини или евентуалните разлики во нивната појава во зависност од додавање на антибиотик во цементот. Не најдовме студии кои ја опишуваат нивната појава. Со оглед на наодите во врска со макро и микропорозноста на цементот, малите шуплини најверојатно немаат клиничко значење. Што се однесува до пукнатините, потенцијално би можеле да имаат одредени импликации, доколку има разлики во нивното концентрирање во одредени зони на цементниот мантил, или доколку има изразено значајни разлики во нивната појава во зависност од составот на цементот.



Слика 6-5. Неполирана нескршена површина на примерок од групата *B 2,5%, со видливи бројни големи микропори. А. Зголемување 29х. Б. Зголемување 144х.



Слика 6-6. Електронска микрографија на примерок од групата VM 2,5% со зголемување од 8.21к. Нема видливи сегменти од антибиотски честици. Видливи се честици од радиопацификаторот, како и полимер со бројни шуплини и пукнатини помали од еден микрон (димензии со жолта боја).

Allimohamadi и сор. ја испитувале порозноста на коскен цемент со додадени различни дози телаванцин со μ СТ.¹⁵⁸ Тие утврдиле дека порозноста на примероците се зголемува со зголемување на дозата на додаден антибиотик. Според нивните резултати, највеќе се зголемувал бројот на пори со димензии 0,1 до 0,5 mm, кои ги припишуваат на ослободување на додадениот антибиотик. Тие сметаат дека за создавање и ширење на пукнатините се позначајни групи на микропори, отколку појава на макропори. Нивните резултати за порозноста биле пониски во однос на студијата на Kim, кој исто така користел телаванцин. Според него, ширењето на пукнатините зависи од димензиите на порите (макропори) и нивната близина (интеракции пора – пора).⁸⁴ Во друго истражување, Kim го испитувал ефектот на различни дози ванкомицин врз механичките карактеристики на коскен цемент. При прегледување на СЕМ микрографиите од примероците скршени при тестот на свиткување во 4 точки, тој утврдил дека макропори со димензии над 1mm се јавуваат при додавање на ванкомицин во дози над 1 g.⁸³ Тој утврдил дека микропори ретко се јавуваат во Simplex цементот, за разлика од Palacos® R, каде што микропорозноста е произразена.⁸¹

Во студијата на Miola и сор. анализирале СЕМ микрографии на Palacos со ниска и висока вискозност, со фабрички и рачно додаден гентамицин.⁴⁵ Врз основа на анализата на овие микрографии, тие утврдиле дека цементите со фабрички додаден гентамицин се попорозни. Според нив, порите не се меѓусебно поврзани, што може да се забележи и на нашите примероци. Тие утврдиле дека морфологијата на порите се разликува кај цементот со ниска и висока вискозност, како и дека кај цементот со ниска вискозност, по инкубацијата во пуфериран физиолошки раствор се појавуваат промени во структурата со појава на тенки филаменти.

Од аспект на овие опсервации, во нашето истражување, во кое користевме цемент со средна вискозност, морфологијата на порите е послична со оние во цементот со висока вискозност. Што се однесува до структурата на полимерот, кај Smartset Endurance™ MV цементот тој има многу похомогена структура во однос на прикажаниот на микрографиите Palacos. По инкубацијата во Рингеров раствор, доминантната промена беше појава на празнини на места кои одговараат по морфологија на честиците антибиотик, но не се забележуваат значајни промени во структурата на самиот полимер. Miola и сор. промените во структурата на полимерот ги објаснуваат со ослободување на резидуалниот мономер во пуферираниот физиолошки раствор, или растворање на полимерите со ниска молекуларна тежина.⁴⁵

Во погоре опишаната студија на Pelletier и соработниците, добиените резултати тие ги објаснуваат со два процеси кои настануваат при инкубација на цементот во пуфериран физиолошки раствор, кои влијаат на неговите компресивни карактеристики: (1) антибиотикот се ослободува преку достапните пори и пукнатини, со што ја намалува јакоста на цементот и (2) ПММА станува потврд и поспособен да поднесува оптоварувања преку процеси на доцна полимеризација и стврднување.⁸⁹ Тие порозноста на цементот ја испитувале со μ СТ и утврдиле зголемена порозност при поголеми дози антибиотици.

Се поставува прашањето во која мера процесот на ослободување на антибиотикот го ослабува цементот. Доколку тоа игра значајна улога, би значело дека самите антибиотски честици, во додаваните дози, имаат значаен позитивен ефект на механичките карактеристики на цементот во однос на постоењето на пори со истата морфологија. Овој ефект би бил различен од влијанието на антибиотикот врз полимеризација на цементот, намалување на процентуалниот удел на полимерот во конструктот ПММА - антибиотик или зголемување на порозност и во зони во кои нема антибиотик. Ние не утврдивме дека постојат значајни разлики во промените кои ги предизвикува инкубацијата кај чистиот ПММА и групите со антибиотици. На СЕМ микрографиите речиси сите антибиотски гранули имаат бројни пукнатини, што укажува дека тие не придонесуваат во резултатите со некоја инхерентна механичка јакост. Тоа, од една страна значи дека резултатите добиени за промените во механичките карактеристики при додавање на антибиотици во коскениот цемент без инкубација можат да ни дозволат да донесеме заклучоци и за понатамошните промени на таквиот цемент при негово стареење. Од друга страна, би значело дека степенот на ослободување на антибиотикот од цементот нема улога во промената на неговите механички карактеристики, туку од примарно значење е големината на неговите честици, потенцијалот за негова интерференција со процесот на полимеризација и неговата концентрација. Сличен е и ставот на Persson, која наодот дека ванкомицинот ги деградира механичките карактеристики на цементот, а меропенемот не, го објаснува со поголемата молекуларна тежина на ванкомицинот, што дава можност за негова интеракција со течниот мономер и намалување на молекуларната тежина на стврднатиот цемент, како и фактот дека честиците ванкомицин се многу поголеми од честиците меропенем.⁹¹

Врз основа на прегледаните СЕМ микрографии, можеме да заклучиме дека при инкубација во Рингеров раствор антибиотикот прво се ослободува од површината на цементот, а потоа од подлабоките слоеви на примероците. Притоа, за 28 дена меропенемот се ослободува во поголема мера во однос на ванкомицинот. На скршената површина на инкубираните примероци ретко можевме да идентификуваме честици од меропенем, а доминираа шуплини кои по морфологијата одговараа на честиците меропенем во неинкубираните примероци. За разлика од меропенемот, по 28 дена сè уште можевме да идентификуваме бројни честици ванкомицин на скршената површина. При тоа, во близина на рабовите (оригиналната површина на примерокот) имаше шуплини кои по форма одговараа на честиците од ванкомицин, како и шуплини кои само делумно беа исполнети со ванкомицин, а делумно празни (Слика 5-23). Ваков наод воопшто немаше кај неинкубираните примероци. Претпоставуваме дека ослободувањето на ванкомицинот може да продолжи и понатаму доколку инкубацијата е продолжена, но мерењето на ослободените концентрации и нивната ефикасност побарува поинаква методологија на истражување. Нашите наоди покажуваат дека во динамиката на ослободувањето на антибиотикот од цементот голема улога игра и површината и дебелината на примерокот, односно на цементниот мантил.

6.4 Модификација на механичките карактеристики на ПММА коскен цемент со додавање на други материјали

Обидите да се промени составот на коскениот цемент обично се мотивирани од желбата за подобрување на некоја негова карактеристика. Додавањето на антибиотици се врши со цел цементот да добие бактериостатски и бактерицидни својства кои би овозможиле превенција на инфективни компликации. Постојат низа неантибиотски материјали со антимикробни својства кои се испитуваат во последните години (види поглавје 1-5). Други адитиви се испитуваат за подобрување на механичките својства или промена на порозноста, како и модификација на ослободувањето на антибиотикот.

Графен оксидот е испитуван како потенцијален адитив кој би можел да ги промени механичките својства на цементот. Тој е биокompatибилан во мали дози.¹⁵⁹ Дози од 0,25% од тежината ја зголемуваат неговата максимална јакост на притисок и свиткување, но ја намалуваат неговата отпорност на замор и скршеници и ги променуваат неговата порозност и термални карактеристики, додека дозата од 0,1% значајно го зголемила бројот на циклуси на оптоварување до појава на скршеници од замор.^{94,160}

Повеќе материјали се испитувани во врска со модификација на ослободувањето на антибиотикот од ПММА. Во една студија биле испитувани халојзит, нанокристална целулоза, микрокристална целулоза и нанофибрилирана целулоза и било утврдено дека овие адитиви предизвикале значителен пораст на ослободувањето на ванкомицин од цементот. Најдобра комбинација на стапка на полимеризација, испарување на мономер, ослободување на антибиотик и микротврдост имале примероците со нанофибрилирана целулоза, додека за микрокристалната целулоза падот на полимеризацијата и испарувањето на мономерот биле на неприфатливо високо ниво.¹⁶¹

Ксилитолот исто така е истражуван како потенцијален пораген. Тој ја зголемува порозноста на цементот и го зголемува ослободувањето на гентамицин до максимално кумулативно ослободување од 41,3%. Меѓутоа, тој негативно делува на механичките карактеристики на цементот дури и во мали концентрации, поради што авторите на оваа студија сметаат дека не е сеоодветен за додавање во цемент за фиксација на импланти, но може да биде корисен во случаи кога е потребно високо ослободување на антибиотик, како кај спејсери или перли.¹⁶²

Поли (млечна – ко – гликолна) киселина (PLGA) е екстензивно испитувана како систем за контролирано ослободување на лекови. Таа е лесно растворлива во хлорирани растворувачи и може лесно да биде прилагодена да инкапсулира различни лекови или биомолекули.¹⁶³ Една од нејзините најзначајни карактеристики е можноста за манипулирање на нејзината биораспадливост во распон од неколку недели до неколку месеци со менување на нејзината молекуларна тежина, односот PLA/PGA и крајните функционални групи. Одобрена е од FDA за хумана употреба.¹⁶⁴ Правени се истражувања на додавање на PLGA микросфери со колистин во коскен

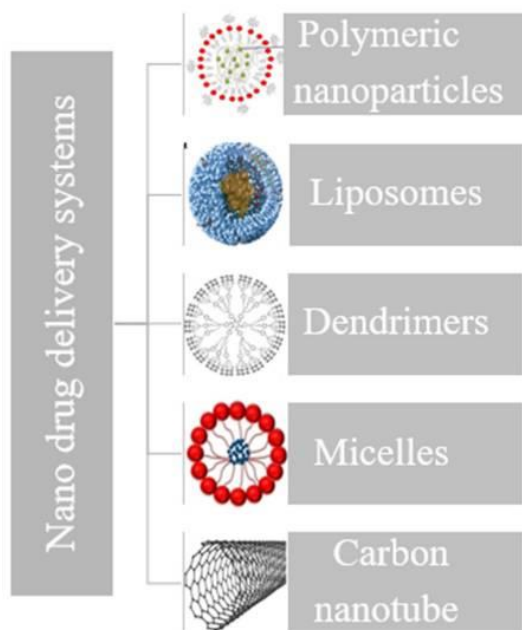
цемент, при што имало долготрајно ослободување на антибиотикот над 5 недели во концентрации над минималните инхибиторски концентрации, на сметка нарушување на механичките карактеристики на цементот.^{165,166}

Калциум фосфатните материјали, како што се α – трикалциум фосфат (α -ТСР), β – трикалциум фосфат (β -ТСР) и хидроксиапатит можат да бидат инкорпорирани во ПММА поради нивните биоресорптивни, остеокондуктивни и остеоиндуктивни карактеристики. Еден од најзначајните параметри при користење на калциум фосфатните честии се нивните димензии, со оглед на тоа што оптимална големина на порите за враснување на коска е 150 – 400 μm . Истражувањата на модели на зајци покажале дека додавањето на калциумфосфатни честии во ПММА води до колонизација со остеоцити, покачена остеобластна активност, остеоиндукција, остеоиндукција, коскено ремоделирање и коскено враснување во цементот со пенетрација од 250 μm за 8 недели.^{167,168} Додавањето на трикалциум фосфат ја зголемува порозноста на цементот за 3% до 21% и поврзаноста на порите (од 0,5% до над 90%), што овозможува поефикасно ослободување на антибиотикот. Ефикасноста на ваквиот цемент е демонстрирана и *in vivo*, при што биле направени спејсери со α – ТСР, гентамицин и ванкомицин за ревизија на инфицирани тотални артропластики на колк. Авторите покажале дека немало повторување на инфекцијата кај 33 од 36 – те колка (91,7% успех).¹⁶⁹

При испитување на коскен цемент со силикатни наночестички со гентамицин и хлорхексидин, Yang и сор. утврдиле дека ваквата формулација има супериорна антимикробна активност против различни бактериски соеви, меѓу кои и гентамицин-резистентни соеви и може да се употреби во профилакса и третман на перипростетични инфекции.¹⁷⁰ Нанокмпозитниот цемент имал слични механички карактеристики како чистиот ПММА, бил цитокompatибелен, нетоксичен за остеобластите и не делувал негативно на таложењето на калциум. Тие ефикасноста и безбедноста ја докажале и *in vivo* на животински модел.

Thaheг и соработниците испитувале ослободување на гентамицин од јаглородни наноцевчиња измешани со различни коскени цементи. Резултатите покажале пролонгирано ослободување на гентамицин од цементот со карбонски наноцевчиња во однос на стандардниот цемент со гентамицин. Присуството на наноцевчињата го зголемило процентот на ослободениот гентамицин, без да ги наруши механичките карактеристики на нанокмпозитот, а цитотоксичноста била слична со чистиот цемент.¹⁷¹

Комбинацијата на наночестии со антибиотици преку енкапсулација или коњугација се проучува интензивно во последните години. Во литературата се опишани различни типови на наносистеми за ослободување на антибиотици и сите не можат да бидат опфатени во овој краток преглед. Овие системи имаат различна морфологија и состав. (Слика 6-7) До мај 2024, Web of Science има 16527 регистрирани статии објавени на оваа тема.¹⁷²



Слика 6-7. Наносистеми кои можат да се користат како носачи на антибиотик.¹⁷²

Коскениот цемент има широка употреба во ортопедската хирургија. Инфекцијата е еден од најзначајните ризици со кои се соочуваме, особено при присуството на импланти во телото. При тоа, цементот е и компонента која придонесува во тој ризик, но и средство за негово намалување. Истражувањата на додавање на антибиотици во коскениот цемент за намалување на ризикот од инфекција по имплантација или за лекување на веќе постоечка инфекција се отпочнати пред повеќе децении. Но, потребно е понатамошно подобрување и/или променување на денешните коскени цементи во однос на типот и количините на употребените антибиотици, начинот на мешање, начинот на нивно ослободување со цел на подобрување на нивната антимикробна активност, намалување на ткивната токсичност, овозможување на коскено враснување и подобрување на нивните механички карактеристики. Со ова истражување додаваме во фондот на знаења за овие научни прашања и овозможуваме користење на дополнителни алатки за превенција и третман на перипростетичните инфекции.

7. ЗАКЛУЧОЦИ

Тестови според ISO5833:2002

Додавањето на антибиотици во испитуваните формулации предизвика промени на испитуваните механички карактеристики на коскениот цемент, и тоа:

1. Додавањето на 1g меропенем; 1g ванкомицин; 0,5g меропенем + 0,5g ванкомицин или 1g меропенем + 1g ванкомицин во 40g ПММА предизвика значајно намалување на максималната јакост на притисок на сите овие формулации во однос на чистиот ПММА при тестирање според ISO5833:2002 стандардот.
2. Сите формулации имаа значајно повисоки вредности за максималната јакост на притисок во однос на минималната вредност од 70 МПа одредена со стандардот.
3. Модулот на елстичност при свиткување се зголеми кај сите испитувани формулации во однос на чистиот коскен цемент, но статистички значајно зголемувањето беше само во групата со додаден 1g меропенем.
4. Сите испитувани групи имаа значајно повисоки вредности за модулот на еластичност при свиткување во однос на минималната вредност од 1800 МПа одредена со стандардот.
5. Максималната јакост при свиткување се зголеми во групата со додаден 1g меропенем, а се намали во сите останати антибиотски групи во однос на чистиот цемент. Разликите меѓу чистиот цемент и групите со антибиотик не се статистички значајни, но групата М 2,5% има значајно поголема максимална јакост при свиткување од останатите антибиотски групи.
6. Сите испитувани групи, освен групата *В 2,5% имаа значајно повисоки вредности за максимална јакост при свиткување во однос на минимално утврдената вредност од 50 МПа со стандардот. *В 2,5% статистички не се разликуваше од оваа вредност.

Ефекти од инкубација

Инкубацијата на сите испитувани групи во тек на 28 дена во Рингеров раствор на 37°C предизвика промени на испитуваните механички карактеристики, и тоа:

1. Максималната јакост на притисок значајно се зголеми за сите испитувани групи во однос на вредностите пред инкубацијата.
2. Сите испитувани групи имаа значително пониска максимална јакост на притисок во однос на чистиот ПММА.

3. Ванкомицинот предизвикува поголем пад на максималната јакост на притисок на коскениот цемент во однос на меропенемот.
4. Инкубацијата предизвика намалување на модулот на еластичност при свиткување кај сите испитувани групи.
5. Ванкомицинот во сите испитувани формулации предизвика значајно намалување на модулот на еластичност на коскениот цемент во тек на инкубацијата.
6. Меропенемот во одредена мера го неутрализира намалувањето на модулот на еластичност во тек на инкубација на цементот.
7. По инкубацијата, нема статистички значајни разлики на модулот на еластичност помеѓу ПММА и било која група со додаден антибиотик.
8. Инкубацијата предизвика значаен пад на вредностите на максималната јакост при свиткување кај сите испитувани групи, освен групата ВМ 2,5%, за која не успеавме да докажеме статистичка значајност.
9. Падот на максималната јакост на свиткување не се разликува помеѓу групите.
10. Разликите меѓу чистиот цемент и групите со антибиотик не беа статистички значајни, но групата ИНК М 2,5% имаше значајно поголема максимална јакост при свиткување од останатите групи со антибиотици, како и пред инкубацијата.
11. Сите групи и по инкубацијата имаа максимална јакост при свиткување над 50 МПа, но вредностите за групите В 2,5% и ВМ 2,5% статистички не беа значајно над оваа вредност.

Ефекти од различниот начин на мешање на ванкомицин

1. Модулот на еластичност на грубо измешаниот * В2,5 % не се разликуваше значајно од чистиот цемент или останатите групи со различни дози на фино иситнет ванкомицин. Варијабилноста во оваа група беше помала во однос на останатите групи.
2. Грубото мешање на ванкомицинот создаде примероци со непредвидливо однесување во однос на максималната јакост при свиткување, а просечната вредност не се разликуваше значајно од минималната вредност одредена со стандардот.
3. За добивање на примерок од коскен цемент со максимизирање на неговите механички перформанси, неопходно е крупните гранули на антибиотикот детално да бидат иситнети до фини гранули и потоа детално да бидат измешани со прашкастата компонента на цементот во тек на 3 минути.

Морфолошки карактеристики на испитуваните примероци

1. Коскениот цемент Smartset Endurance™ MV се карактеризира со релативно изразена микропорозност.
2. Честиците на меропенем и ванкомицин не се инкорпорираат во полимерниот матрикс, туку перзистираат јасно одделени од полимерот.
3. Ванкомицинот предизвикува зголемување на порозноста на цементот.
4. На скршената површина на цементот се видливи бројни пукнатини кои се движат од честиците низ полимерот и завршуваат слепо или се поврзуваат со друга пора или празнина, што значи дека празнините во цементот можат да делуваат како концентратори на напрегања, но може и да го стопираат ширењето на пукнатините.
5. Кај примероците со ванкомицин има зони на микропукнатини во полимерниот матрикс, кои немаат директна врска со честици антибиотик.
6. Инкубацијата предизвикува ослободување на антибиотикот и создавање на празнини на местата каде што претходно бил инкорпориран. Ова ослободување во тек на 28 дена е многу изразено за меропенемот.
7. Ванкомицинот побавно се ослободува при инкубација и за 28 дена е видливо ослободување само на честиците кои се наоѓаат во близина на површината на примерокот.

8. КЛИНИЧКО ЗНАЧЕЊЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Сите испитувани формулации ги исполнуваат минималните критериуми за механичките карактеристики според стандардот ISO5833:2002 и можат да најдат клиничка примена како цементни формулации за фиксација на ендопротези.
2. Ванкомицинот во поголема мера ги намалува механичките карактеристики на цементот и треба да се употребува со претпазливост. При неговото мешање со цемент при фиксација на протеза треба крупните гранули детално да се иситнат до фини гранули и потоа да се меша доволно долго со прашкастата компонента, најдобро со одредување на временска рамка (3 минути), а не само до визуелно измешување со прашкастата компонента.
3. При фиксација на ендопротеза, треба да се употреби најмалата корисна доза на ванкомицин, на пример 0,5 g, а дозите од 1 g да се применат само при внимателна процена на потенцијалната корист. Не препорачуваме употреба на дози поголеми од 1 g ванкомицин во 40 g ПММА ако цементот се користи за фиксација на имплант.
4. Меропенемот многу помалку влијае на нарушување на механичките карактеристики на коскен цемент и може слободно да се употребува во дози од 1 g на 40 g ПММА при фиксација на ендопротези. Врз основа на степенот на промена на механичките карактеристики на ПММА со оваа доза, како и резултатите од други клинички студии, можеме да кажеме дека најверојатно безбедно можат да се додадат и двојно или тројно поголеми дози, но ние вакви формулации не испитавме.
5. Комбинацијата меропенем и ванкомицин во испитуваните дози е безбедна во однос на промена на механичките карактеристики, а со оглед на тоа што го проширува антимикробниот спектар и го подобрува ослободувањето на антибиотиците од цементот, е пожелно да се користи, освен во случаите на преосетливост на пациентот или на потврдена резистенција на микроорганизмот кон еден од овие антибиотици.
6. Можни се варијации на резултатите за други марки цемента. Според прегледот на истражувањата, генералниот тренд на однесување на цементите е ист, а може да се разликува само големината на ефектот.

9. РЕФЕРЕНЦИ

1. Kurtz SM, Ong KL, Lau E, Bozic KJ, Berry D, Parvizi J. Prosthetic Joint Infection Risk after TKA in the Medicare Population. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(1):52. doi:10.1007/S11999-009-1013-5
2. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E, et al. The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(1):45-51. doi:10.1007/S11999-009-0945-0
3. Blanco JF, Díaz A, Melchor FR, da Casa C, Pescador D. Risk factors for periprosthetic joint infection after total knee arthroplasty. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2020;140(2):239-245. doi:10.1007/S00402-019-03304-6
4. Ahmed SS, Haddad FS. Prosthetic joint infection. *Bone Joint Res*. 2019;8(11):570-572. doi:10.1302/2046-3758.812.BJR-2019-0340
5. Gundtoft PH, Pedersen AB, Schønheyder HC, Overgaard S. Validation of the diagnosis “prosthetic joint infection” in the Danish Hip Arthroplasty Register. *Bone Joint J*. 2016;98-B(3):320-325. doi:10.1302/0301-620X.98B3.36705
6. Premkumar A, Kolin DA, Farley KX, et al. Projected Economic Burden of Periprosthetic Joint Infection of the Hip and Knee in the United States. *J Arthroplasty*. 2021;36(5):1484-1489.e3. doi:10.1016/J.ARTH.2020.12.005
7. Zardi EM, Franceschi F. Prosthetic joint infection. A relevant public health issue. *J Infect Public Health*. 2020;13(12):1888-1891. doi:10.1016/J.JIPH.2020.09.006
8. Kim HS, Park JW, Moon SY, Lee YK, Ha YC, Koo KH. Current and Future Burden of Periprosthetic Joint Infection from National Claim Database. *J Korean Med Sci*. 2020;35(49). doi:10.3346/JKMS.2020.35.E410
9. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med*. 2004;351(16). doi:10.1056/NEJMRA040181
10. Benito N, Franco M, Ribera A, et al. Time trends in the aetiology of prosthetic joint infections: a multicentre cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(8):732.e1-732.e8. doi:10.1016/J.CMI.2016.05.004
11. Mooney JA, Pridgen EM, Manasherob R, et al. Periprosthetic bacterial biofilm and quorum sensing. *J Orthop Res*. 2018;36(9):2331-2339. doi:10.1002/JOR.24019
12. Reffuveille F, Josse J, Vallé Q, et al. Staphylococcus aureus Biofilms and their Impact on the Medical Field. *Rise Virulence Antibiot Resist Staphylococcus aureus*. March 2017. doi:10.5772/66380
13. Zimmerli W, Lew PD, Waldvogel FA. Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect. *J Clin Invest*. 1984;73(4):1191-1200. doi:10.1172/JCI111305
14. Siddiqi A, Forte SA, Docter S, Bryant D, Sheth NP, Chen AF. Perioperative Antibiotic Prophylaxis in Total Joint Arthroplasty: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Bone Joint Surg Am*. 2019;101(9):828-842. doi:10.2106/JBJS.18.00990
15. Wyles CC, Hevesi M, Osmon DR, et al. 2019 John Charnley Award: Increased risk of prosthetic joint infection following primary total knee and hip arthroplasty with the use of alternative antibiotics to cefazolin: the value of allergy testing for antibiotic

- prophylaxis. *Bone Joint J.* 2019;101-B(6_Supple_B):9-15. doi:10.1302/0301-620X.101B6.BJJ-2018-1407.R1
16. Kheir MM, Tan TL, Azboy I, Tan DD, Parvizi J. Vancomycin Prophylaxis for Total Joint Arthroplasty: Incorrectly Dosed and Has a Higher Rate of Periprosthetic Infection Than Cefazolin. *Clin Orthop Relat Res.* 2017;475(7):1767. doi:10.1007/S11999-017-5302-0
 17. Sanz-Ruiz P, Berberich C. Infection Risk-Adjusted Antibiotic Prophylaxis Strategies in Arthroplasty: Short Review of Evidence and Experiences of a Tertiary Center in Spain. *Orthop Res Rev.* 2020;12:89-96. doi:10.2147/ORR.S256211
 18. Dastgheyb SS, Hammoud S, Ketonis C, et al. Staphylococcal persistence due to biofilm formation in synovial fluid containing prophylactic cefazolin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(4):2122-2128. doi:10.1128/AAC.04579-14
 19. Bucholz HW, Elson RA LH. The infected joint implant. In: McKibbin B, Ed. *Recent Advances in Orthopaedics No 3.* Edinburgh: Churchill Livingstone. ; 1979:139-161.
 20. Espehaug B, Engesaeter LB, Vollset SE, Havelin LI, Langeland N. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty. Review of 10,905 primary cemented total hip replacements reported to the Norwegian arthroplasty register, 1987 to 1995. *J Bone Joint Surg Br.* 1997;79(4):590-595. doi:10.1302/0301-620X.79B4.7420
 21. Engesaeter LB, Lie SA, Espehaug B, Furnes O, Vollset SE, Havelin LI. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty: effects of antibiotic prophylaxis systemically and in bone cement on the revision rate of 22,170 primary hip replacements followed 0-14 years in the Norwegian Arthroplasty Register. *Acta Orthop Scand.* 2003;74(6):644-651. doi:10.1080/00016470310018135
 22. Engesaeter L, Espehaug B, Lie S, Furnes O, Havelin L. Does cement increase the risk of infection in primary total hip arthroplasty? Revision rates in 56,275 cemented and uncemented primary THAs followed for 0-16 years in the Norwegian Arthroplasty Register. *Acta Orthop.* 2006;77(3):351-358. doi:10.1080/17453670610046253
 23. Kunutsor SK, Beswick AD, Whitehouse MR, Blom AW, Lenguerrand E. Implant Fixation and Risk of Prosthetic Joint Infection Following Primary Total Hip Replacement: Meta-Analysis of Observational Cohort and Randomised Intervention Studies. *J Clin Med.* 2019;8(5). doi:10.3390/JCM8050722
 24. Sebastian S, Liu Y, Christensen R, Raina DB, Tägil M, Lidgren L. Antibiotic containing bone cement in prevention of hip and knee prosthetic joint infections: A systematic review and meta-analysis. *J Orthop Transl.* 2020;23:53-60. doi:10.1016/J.JOT.2020.04.005
 25. Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Science.* 1992;257(5073):1064-1073. doi:10.1126/SCIENCE.257.5073.1064
 26. Cerretani D, Giorgi G, Fornara P, et al. The in vitro elution characteristics of vancomycin combined with imipenem-cilastatin in acrylic bone-cements: a pharmacokinetic study. *J Arthroplasty.* 2002;17(5):619-626. doi:10.1054/ARTH.2002.32184
 27. Hanssen AD. Prophylactic use of antibiotic bone cement: an emerging standard--in opposition. *J Arthroplasty.* 2004;19(4 Suppl 1):73-77. doi:10.1016/J.ARTH.2004.04.006

28. Breusch SJ. Cementing Technique in Total Hip Replacement: Factors Influencing Survival of Femoral Components. *Bone Cem Cem Tech.* 2001;53-79. doi:10.1007/978-3-642-59478-6_6
29. Kühn KD. What is Bone Cement? *Well-Cemented Total Hip Arthroplast Theory Pract.* 2005;52-59. doi:10.1007/3-540-28924-0_5
30. Bergmann G, Graichen F, Rohlmann A. Hip joint loading during walking and running, measured in two patients. *J Biomech.* 1993;26(8):969-990. doi:10.1016/0021-9290(93)90058-M
31. Malchau H, Herberts P, Söderman P, Odén A. Update and Validation of Results from the Swedish National Hip Arthroplasty Registry 1979-1998. www.jru.orthop.gu.se. Accessed April 7, 2022.
32. International Organization for Standardization ISO 5833:2002(en) Implants for surgery — Acrylic resin cements. 2002.
33. Saha S, Pal S. Mechanical properties of bone cement: a review. *J Biomed Mater Res.* 1984;18(4):435-462. doi:10.1002/JBM.820180411
34. Lewis G. Properties of acrylic bone cement: state of the art review. *J Biomed Mater Res.* 1997;38(2):155-182. doi:10.1002/(sici)1097-4636(199722)38:2<155::aid-jbm10>3.0.co;2-c
35. Kühn K-D (Klaus-D. Bone cements : up-to-date comparison of physical and chemical properties of commercial materials. 2000:272.
36. Lee C. The Mechanical Properties of PMMA Bone Cement. *Well-Cemented Total Hip Arthroplast Theory Pract.* 2005:60-66. doi:10.1007/3-540-28924-0_6
37. Breusch S, Malchau H. The well-cemented total hip arthroplasty: Theory and practice. *Well-Cemented Total Hip Arthroplast Theory Pract.* 2005:1-377. doi:10.1007/3-540-28924-0
38. ISO - ISO 16402:2008 - Implants for surgery — Acrylic resin cement — Flexural fatigue testing of acrylic resin cements used in orthopaedics. <https://www.iso.org/standard/32212.html>. Accessed April 10, 2022.
39. Silva M, Shepherd EF, Jackson WO, Dorey FJ, Schmalzried TP. Average patient walking activity approaches 2 million cycles per year: pedometers under-record walking activity. *J Arthroplasty.* 2002;17(6):693-697. doi:10.1054/ARTH.2002.32699
40. Sabater-Martos M, Verdejo MA, Morata L, et al. Antimicrobials in polymethylmethacrylate: from prevention to prosthetic joint infection treatment: basic principles and risk of resistance. *Arthroplast (London, England).* 2023;5(1). doi:10.1186/S42836-023-00166-7
41. Frommelt L, Kühn KD. Antibiotic-Loaded Cement. *Well-Cemented Total Hip Arthroplast Theory Pract.* 2005:86-92. doi:10.1007/3-540-28924-0_9
42. Dunne NJ, Hill J, McAfee P, Kirkpatrick R, Patrick S, Tunney M. Incorporation of large amounts of gentamicin sulphate into acrylic bone cement: effect on handling and mechanical properties, antibiotic release, and biofilm formation. *Proc Inst Mech Eng H.* 2008;222(3):355-365. doi:10.1243/09544119JEIM355
43. Topoleski LDT, Ducheyne P, Cukler JM. A fractographic analysis of in vivo poly(methyl methacrylate) bone cement failure mechanisms. *J Biomed Mater Res.*

1990;24(2):135-154. doi:10.1002/JBM.820240202

44. Looney MA, Park JB. Molecular and mechanical property changes during aging of bone cement in vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res*. 1986;20(5):555-563. doi:10.1002/JBM.820200503
45. Miola M, Bistolfi A, Valsania MC, Bianco C, Fucale G, Verné E. Antibiotic-loaded acrylic bone cements: an in vitro study on the release mechanism and its efficacy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013;33(5):3025-3032. doi:10.1016/J.MSEC.2013.03.032
46. Ayre WN, Denyer SP, Evans SL. Ageing and moisture uptake in polymethyl methacrylate (PMMA) bone cements. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014;32(100):76-88. doi:10.1016/J.JMBBM.2013.12.010
47. Penner MJ, Duncan CP, Masri BA. The in vitro elution characteristics of antibiotic-loaded CMW and Palacos-R bone cements. *J Arthroplasty*. 1999;14(2):209-214. doi:10.1016/S0883-5403(99)90128-6
48. Van De Belt H, Neut D, Schenk W, Van Horn JR, Van Der Mei HC, Busscher HJ. Staphylococcus aureus biofilm formation on different gentamicin-loaded polymethylmethacrylate bone cements. *Biomaterials*. 2001;22(12):1607-1611. doi:10.1016/S0142-9612(00)00313-6
49. Anagnostakos K, Kelm J. Enhancement of antibiotic elution from acrylic bone cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;90(1):467-475. doi:10.1002/JBM.B.31281
50. Patel A, Calfee RP, Plante M, Fischer SA, Arcand N, Born C. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Br*. 2008;90(11):1401-1406. doi:10.1302/0301-620X.90B11.20771
51. Xu J, Liu Y, He J, Zhang R, Zuo B, Wang X. Surface structures of poly(methyl methacrylate) films influenced by chain entanglement in the corresponding film-formation solution. *Soft Matter*. 2014;10(44):8992-9002. doi:10.1039/C4SM01743A
52. Patel S, Preuss C V., Bernice F. Vancomycin. *StatPearls*. August 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459263/>. Accessed April 12, 2022.
53. Vancomycin | C66H75Cl2N9O24 | CID 14969 - PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vancomycin>. Accessed April 30, 2024.
54. Carli A V., Sethuraman AS, Bhimani SJ, Ross FP, Bostrom MPG. Selected Heat-Sensitive Antibiotics Are Not Inactivated During Polymethylmethacrylate Curing and Can Be Used in Cement Spacers for Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty*. 2018;33(6):1930-1935. doi:10.1016/J.ARTH.2018.01.034
55. Gálvez-López R, Peña-Monje A, Antelo-Lorenzo R, et al. Elution kinetics, antimicrobial activity, and mechanical properties of 11 different antibiotic loaded acrylic bone cement. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;78(1):70-74. doi:10.1016/J.DIAGMICROBIO.2013.09.014
56. Snir N, Shiri Meron-Sudai ; Antimicrobial Properties and Elution Kinetics of Linezolid From Polymethylmethacrylate. doi:10.3928/01477447-20131021-24
57. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 441130, Meropenem. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of

Medicine (US). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Meropenem>. Published 2021. Accessed April 14, 2022.

58. Baldwin CM, Lyseng-Williamson KA, Keam SJ. Meropenem: a review of its use in the treatment of serious bacterial infections. *Drugs*. 2008;68(6):803-838. doi:10.2165/00003495-200868060-00006
59. Schmid M, Steiner O, Fasshold L, Goessler W, Holl AM, Kühn KD. The stability of carbapenems before and after admixture to PMMA-cement used for replacement surgery caused by Gram-negative bacteria. *Eur J Med Res*. 2020;25(1). doi:10.1186/s40001-020-00428-z
60. Penner MJ, Masri BA, Duncan CP. Elution characteristics of vancomycin and tobramycin combined in acrylic bone-cement. *J Arthroplasty*. 1996;11(8):939-944. doi:10.1016/S0883-5403(96)80135-5
61. Martínez-Moreno J, Merino V, Nácher A, Rodrigo JL, Clemente M, Merino-Sanjuán M. Antibiotic-loaded Bone Cement as Prophylaxis in Total Joint Replacement. *Orthop Surg*. 2017;9(4):331-341. doi:10.1111/os.12351
62. Bertazzoni Minelli E, Benini A, Magnan B, Bartolozzi P. Release of gentamicin and vancomycin from temporary human hip spacers in two-stage revision of infected arthroplasty. *J Antimicrob Chemother*. 2004;53(2):329-334. doi:10.1093/JAC/DKH032
63. Andollina A, Bertoni G, Zolezzi C, et al. Vancomycin and meropenem in acrylic cement: elution kinetics of in vitro bactericidal action. *Chir Organi Mov*. 2008;91(3):153-158. doi:10.1007/S12306-007-0025-0
64. Blersch BP, Barthels M, Schuster P, Fink B. A Low Rate of Periprosthetic Infections after Aseptic Knee Prosthesis Revision Using Dual-Antibiotic-Impregnated Bone Cement. *Antibiot* 2023, Vol 12, Page 1368. 2023;12(9):1368. doi:10.3390/ANTIBIOTICS12091368
65. Sanz-Ruiz P, Matas-Diez JA, Villanueva-Martínez M, Santos-Vaquinha Blanco A Dos, Vaquero J. Is Dual Antibiotic-Loaded Bone Cement More Effective and Cost-Efficient Than a Single Antibiotic-Loaded Bone Cement to Reduce the Risk of Prosthetic Joint Infection in Aseptic Revision Knee Arthroplasty? *J Arthroplasty*. 2020;35(12):3724-3729. doi:10.1016/J.ARTH.2020.06.045
66. Sprowson AP, Jensen C, Chambers S, et al. The use of high-dose dual-impregnated antibiotic-laden cement with hemiarthroplasty for the treatment of a fracture of the hip the fractured hip infection trial. *Bone Jt J*. 2016;98-B(11):1534-1541. doi:10.1302/0301-620X.98B11.34693
67. Yuenyongviwat V, Ingviya N, Pathaburee P, Tangtrakulwanich B. Inhibitory effects of vancomycin and fosfomycin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from antibiotic-impregnated articulating cement spacers. *Bone Joint Res*. 2017;6(3):132-136. doi:10.1302/2046-3758.63.2000639
68. Paz E, Sanz-Ruiz P, Abenojar J, Vaquero-Martín J, Forriol F, Del Real JC. Evaluation of Elution and Mechanical Properties of High-Dose Antibiotic-Loaded Bone Cement: Comparative “In Vitro” Study of the Influence of Vancomycin and Cefazolin. *J Arthroplasty*. 2015;30(8):1423-1429. doi:10.1016/J.ARTH.2015.02.040
69. Izakovicova P, Borens O, Trampuz A. Periprosthetic joint infection: current concepts and outlook. *EFORT open Rev*. 2019;4(7):482-494. doi:10.1302/2058-

70. Lewis G. Antibiotic-free antimicrobial poly (methyl methacrylate) bone cements: A state-of-the-art review. *World J Orthop.* 2022;13(4):339. doi:10.5312/WJO.V13.I4.339
71. Moojen DJF, Vogely HC, Fleer A, Verbout AJ, Castelein RM, Dhert WJA. No efficacy of silver bone cement in the prevention of methicillin-sensitive Staphylococcal infections in a rabbit contaminated implant bed model. *J Orthop Res.* 2009;27(8):1002-1007. doi:10.1002/JOR.20854
72. Tan HL, Ao HY, Ma R, Lin WT, Tang TT. In vivo effect of quaternized chitosan-loaded polymethylmethacrylate bone cement on methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis infection of the tibial metaphysis in a rabbit model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(10):6016-6023. doi:10.1128/AAC.03489-14
73. Alt V, Rupp M, Lemberger K, et al. Safety assessment of microsilver-loaded poly(methyl methacrylate) (PMMA) cement spacers in patients with prosthetic hip infections: Results of a prospective cohort study. *Bone Joint Res.* 2019;8(8):387-396. doi:10.1302/2046-3758.88.BJR-2018-0270.R1
74. Pocock SJ. Statistics in practice: The simplest statistical test: how to check for a difference between treatments. *BMJ Br Med J.* 2006;332(7552):1256. doi:10.1136/BMJ.332.7552.1256
75. Bergmann G, Deuretzbacher G, Heller M, et al. Hip contact forces and gait patterns from routine activities. *J Biomech.* 2001;34(7):859-871. doi:10.1016/S0021-9290(01)00040-9
76. Kutzner I, Heinlein B, Graichen F, et al. Loading of the knee joint during activities of daily living measured in vivo in five subjects. *J Biomech.* 2010;43(11):2164-2173. doi:10.1016/J.JBIOMECH.2010.03.046
77. Krause W, Mathis RS. Fatigue properties of acrylic bone cements: Review of the literature. *J Biomed Mater Res.* 1988;22(SUPPL. A1):37-53.
78. Wiegand MJ, Faraci KL, Reed BE, Hasenwinkel JM. Enhancing mechanical properties of an injectable two-solution acrylic bone cement using a difunctional crosslinker. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2019;107(3):783-790. doi:10.1002/JBM.B.34172
79. Armstrong MS, Spencer RF, Cunningham JL, Gheduzzi S, Miles AW, Learmonth ID. Mechanical characteristics of antibiotic-laden bone cement. *Acta Orthop Scand.* 2002;73(6):688-690. doi:10.1080/000164702321039697
80. Duey RE, Chong ACM, McQueen DA, et al. Mechanical properties and elution characteristics of polymethylmethacrylate bone cement impregnated with antibiotics for various surface area and volume constructs. *Iowa Orthop J.* 2012;32:104-115. /pmc/articles/PMC3565390/. Accessed April 24, 2021.
81. Bishop AR, Kim S, Squire MW, Rose WE, Ploeg HL. Vancomycin elution, activity and impact on mechanical properties when added to orthopedic bone cement. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2018;87:80-86. doi:10.1016/J.JMBBM.2018.06.033
82. Lee SH, Tai CL, Chen SY, Chang CH, Chang YH, Hsieh PH. Elution and mechanical strength of vancomycin-loaded bone cement: In vitro study of the influence of brand combination. *PLoS One.* 2016;11(11). doi:10.1371/journal.pone.0166545

83. Kim S, Bishop AR, Squire MW, Rose WE, Ploeg HL. Mechanical, elution, and antibacterial properties of simplex bone cement loaded with vancomycin. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020;103. doi:10.1016/J.JMBBM.2019.103588
84. Kim S, Baril C, Rudraraju S, Ploeg HL. Influence of Porosity on Fracture Toughness and Fracture Behavior of Antibiotic-Loaded PMMA Bone Cement. *J Biomech Eng*. 2022;144(1). doi:10.1115/1.4051848
85. Humez M, Domann E, Thormann KM, et al. Daptomycin-Impregnated PMMA Cement against Vancomycin-Resistant Germs: Dosage, Handling, Elution, Mechanical Stability, and Effectiveness. *Antibiot (Basel, Switzerland)*. 2023;12(11). doi:10.3390/ANTIBIOTICS12111567
86. Gandomkarzadeh M, Moghimi HR, Mahboubi A. Evaluation of the Effect of Ciprofloxacin and Vancomycin on Mechanical Properties of PMMA Cement; a Preliminary Study on Molecular Weight. *Sci Reports 2020 101*. 2020;10(1):1-8. doi:10.1038/s41598-020-60970-y
87. He Y, Trotignon JP, Loty B, Tcharkhtchi A, Verdu J. Effect of antibiotics on the properties of poly(methylmethacrylate)-based bone cement. *J Biomed Mater Res*. 2002;63(6):800-806. doi:10.1002/JBM.10405
88. Lilikakis A, Sutcliffe MPF. The effect of vancomycin addition to the compression strength of antibiotic-loaded bone cements. *Int Orthop*. 2009;33(3):815. doi:10.1007/S00264-008-0521-3
89. Pelletier MH, Malisano L, Smitham PJ, Okamoto K, Walsh WR. The compressive properties of bone cements containing large doses of antibiotics. *J Arthroplasty*. 2009;24(3):454-460. doi:10.1016/J.ARTH.2007.10.023
90. Quinto ES, Reyes NP, Cutter BM, et al. Effects of vancomycin and tobramycin on compressive and tensile strengths of antibiotic bone cement: A biomechanical study. *J Orthop*. 2023;50:8-11. doi:10.1016/J.JOR.2023.11.064
91. Persson C, Baleani M, Guandalini L, Tigani D, Viceconti M. Mechanical effects of the use of vancomycin and meropenem in acrylic bone cement. *Acta Orthop*. 2006;77(4):617-621. doi:10.1080/17453670610012692
92. Wang L hong, Feng Y dong, Zhang X wei, Jin L, Zhou F lun, Xu G hong. Elution and Biomechanical Properties of Meropenem-Loaded Bone Cement. *Orthop Surg*. 2021;13(8):2417-2422. doi:10.1111/OS.13139
93. Schmidt-Malan SM, Greenwood-Quaintance KE, Berglund LJ, Mandrekar J, Patel R. Oritavancin polymethylmethacrylate (PMMA)—compressive strength testing and in vitro elution. *J Orthop Surg Res*. 2019;14(1). doi:10.1186/S13018-019-1080-6
94. Sanz-Ruiz P, Carbó-Laso E, Del Real-Romero JC, et al. Microencapsulation of rifampicin: A technique to preserve the mechanical properties of bone cement. *J Orthop Res*. 2018;36(1):459-466. doi:10.1002/JOR.23614
95. Laperche J, Barrett CC, Boduch A, et al. Mechanically stable rifampin antibiotic cement inhibits *Pseudomonas aeruginosa* biofilm surface growth. *J Orthop Res*. 2024;42(3):547-554. doi:10.1002/JOR.25720
96. Cacciola G, De Meo F, Cavaliere P. Mechanical and elution properties of G3 Low Viscosity bone cement loaded up to three antibiotics. *J Orthop*. 2018;15(4):1004-1007. doi:10.1016/J.JOR.2018.08.035

97. Yusuf E, Bramer W, Anas AA. Clinical outcomes of rifampicin combination therapy in implant-associated infections due to staphylococci and streptococci: A systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2024;63(1). doi:10.1016/J.IJANTIMICAG.2023.107015
98. Han CD, Oh T, Cho SN, Yang JH, Park KK. Isoniazid Could Be Used for Antibiotic-loaded Bone Cement for Musculoskeletal Tuberculosis: An In Vitro Study. *Clin Orthop Relat Res*. 2013;471(7):2400. doi:10.1007/S11999-013-2899-5
99. Bishop AR, Kim S, Squire M, Rose WE, Ploeg HL. Data for vancomycin elution, activity and impact on mechanical properties when incorporated into orthopedic bone cement. *Data Br*. 2018;20:14-19. doi:10.1016/J.DIB.2018.07.028
100. Lewis G, Brooks JL, Courtney HS, Li Y, Haggard WO. An Approach for determining antibiotic loading for a physician-directed antibiotic-loaded PMMA bone cement formulation. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(8):2092-2100. doi:10.1007/S11999-010-1281-0
101. PRO-IMPLANT Foundation. Pocket Guide to Diagnosis & Treatment for the Periprosthetic Joint Infection (PJI). <https://pro-implant.org/tools/pocket-guide/1>. Accessed August 10, 2024.
102. Mau H, Schelling K, Heisel C, Wang JS, Breusch SJ. Comparison of various vacuum mixing systems and bone cements as regards reliability, porosity and bending strength. *Acta Orthop Scand*. 2004;75(2):160-172. doi:10.1080/00016470412331294415
103. Wang J-S, Kjellson F. Bone Cement Porosity in Vacuum Mixing Systems. *Bone Cem Cem Tech*. 2001:81-95. doi:10.1007/978-3-642-59478-6_7
104. Askew MJ, Kufel MF, Fleissner PR, Gradisar IA, Salstrom S -J, Tan JS. Effect of vacuum mixing on the mechanical properties of antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate bone cement. *J Biomed Mater Res*. 1990;24(5):573-580. doi:10.1002/JBM.820240504
105. Laine JC, Nguyen TQD, Buckley JM, Kim HT. Effects of Mixing Techniques on Vancomycin-Impregnated Polymethylmethacrylate. *J Arthroplasty*. 2011;26(8):1562-1566. doi:10.1016/J.ARTH.2011.02.011
106. Frew NM, Cannon T, Nichol T, Smith TJ, Stockley I. Comparison of the elution properties of commercially available gentamicin and bone cement containing vancomycin with “home-made” preparations. *Bone Joint J*. 2017;99-B(1):73-77. doi:10.1302/0301-620X.99B1.BJJ-2016-0566.R1
107. McLaren AC, Nugent M, Economopoulos K, Kaul H, Vernon BL, McLemore R. Hand-mixed and Premixed Antibiotic-loaded Bone Cement Have Similar Homogeneity. *Clin Orthop Relat Res*. 2009;467(7):1693. doi:10.1007/S11999-009-0847-1
108. Pithankuakul K, Samranvedhya W, Visutipol B, Rojviroj S. The effects of different mixing speeds on the elution and strength of high-dose antibiotic-loaded bone cement created with the hand-mixed technique. *J Arthroplasty*. 2015;30(5):858-863. doi:10.1016/J.ARTH.2014.12.003
109. Miller R, McLaren A, Leon C, McLemore R. Mixing method affects elution and strength of high-dose ALBC: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res*. 2012;470(10):2677-2683. doi:10.1007/S11999-012-2351-2

110. Race A, Miller MA, Ayers DC, Mann KA. Early cement damage around a femoral stem is concentrated at the cement/bone interface. *J Biomech.* 2003;36(4):489-496. doi:10.1016/S0021-9290(02)00460-8
111. Yang DT, Zhang D, Arola DD. Fatigue of the bone/cement interface and loosening of total joint replacements. *Int J Fatigue.* 2010;32(10):1639-1649. doi:10.1016/J.IJFATIGUE.2010.03.005
112. Arola D, Stoffel KA, Yang DT. Fatigue of the cement/bone interface: the surface texture of bone and loosening. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2006;76(2):287-297. doi:10.1002/JBM.B.30364
113. Bedard NA, Callaghan JJ, Stefl MD, Liu SS. Systematic review of literature of cemented femoral components: what is the durability at minimum 20 years followup? *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(2):563-571. doi:10.1007/S11999-014-3876-3
114. Wooley PH, Schwarz EM. Aseptic loosening. *Gene Ther.* 2004;11(4):402-407. doi:10.1038/SJ.GT.3302202
115. Karpiński R, Szabelski J, Maksymiuk J. Effect of Physiological Fluids Contamination on Selected Mechanical Properties of Acrylate Bone Cement. *Mater (Basel, Switzerland).* 2019;12(23):3963. doi:10.3390/MA12233963
116. Karpinski R, Szabelski J, Maksymiuk J. Seasoning Polymethyl Methacrylate (PMMA) Bone Cements with Incorrect Mix Ratio. *Mater (Basel, Switzerland).* 2019;12(19). doi:10.3390/MA12193073
117. Nottrott M. Acrylic bone cements. *Acta Orthop.* 2010;81(SUPPL 341):1-27. doi:10.3109/17453674.2010.487929
118. Hughes KF, Ries MD, Pruitt LA. Structural degradation of acrylic bone cements due to in vivo and simulated aging. *J Biomed Mater Res A.* 2003;65(2):126-135. doi:10.1002/JBM.A.10373
119. Graham J, Pruitt L, Ries M, Gundiah N. Fracture and fatigue properties of acrylic bone cement: The effects of mixing method, sterilization treatment, and molecular weight. *J Arthroplasty.* 2000;15(8):1028-1035. doi:10.1054/arth.2000.8188
120. Bettencourt A, Calado A, Amaral J, et al. Surface studies on acrylic bone cement. *Int J Pharm.* 2004;278(1):181-186. doi:10.1016/J.IJPHARM.2004.03.011
121. Oonishi H, Akiyama H, Takemoto M, et al. The long-term in vivo behavior of polymethyl methacrylate bone cement in total hip arthroplasty. *Acta Orthop.* 2011;82(5):553-558. doi:10.3109/17453674.2011.625538
122. Neogi P. *Diffusion in Polymers*. New York : Marcel Dekker,; 1996.
123. Bellenger V, Verdu J, Morel E. Structure-properties relationships for densely cross-linked epoxide-amine systems based on epoxide or amine mixtures - Part 2 Water absorption and diffusion. *J Mater Sci.* 1989;24(1):63-68. doi:10.1007/BF00660933
124. Yiu CKY, King NM, Pashley DH, et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials.* 2004;25(26):5789-5796. doi:10.1016/J.BIOMATERIALS.2004.01.026
125. N'Diaye M, Pascaretti-Grizon F, Massin P, Baslé MF, Chappard D. Water absorption of poly(methyl methacrylate) measured by vertical interference microscopy. *Langmuir.* 2012;28(31):11609-11614. doi:10.1021/LA302260A/ASSET/IMAGES/MEDIUM/LA-2012-

126. Szabelski J, Karpiński R, Krakowski P, Jojczuk M, Jonak J, Nogalski A. Analysis of the Effect of Component Ratio Imbalances on Selected Mechanical Properties of Seasoned, Medium Viscosity Bone Cements. *Mater (Basel, Switzerland)*. 2022;15(16). doi:10.3390/MA15165577
127. McCabe JF, Rusby S. Water absorption, dimensional change and radial pressure in resin matrix dental restorative materials. *Biomaterials*. 2004;25(18):4001-4007. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.10.088
128. Smith KE, Trusty P, Wan B, Gall K. Long-term toughness of photopolymerizable (meth)acrylate networks in aqueous environments. *Acta Biomater*. 2011;7(2):558-567. doi:10.1016/J.ACTBIO.2010.09.001
129. Torrado S, Frutos P, Frutos G. Gentamicin bone cements: characterisation and release (in vitro and in vivo assays). *Int J Pharm*. 2001;217(1-2):57-69. doi:10.1016/S0378-5173(01)00587-7
130. Díez-Peña E, Frutos G, Frutos P, Barrales-Rienda JM. Gentamicin sulphate release from a modified commercial acrylic surgical radiopaque bone cement. I. Influence of the gentamicin concentration on the release process mechanism. *Chem Pharm Bull*. 2002;50(9):1201-1208. doi:10.1248/CPB.50.1201
131. Langdown AJ, Tsai N, Auld J, Walsh WR, Walker P, Bruce WJM. The influence of ambient theater temperature on cement setting time. *J Arthroplasty*. 2006;21(3):381-384. doi:10.1016/J.ARTH.2005.03.032
132. Småbrekke A, Espehaug B, Havelin LI, Furnes O. Operating time and survival of primary total hip replacements: an analysis of 31,745 primary cemented and uncemented total hip replacements from local hospitals reported to the Norwegian Arthroplasty Register 1987-2001. *Acta Orthop Scand*. 2004;75(5):524-532. doi:10.1080/00016470410001376
133. Nottrott M, Mølster AO, Gjerdet NR. Time dependent mechanical properties of bone cement. An in vitro study over one year. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007;83(2):416-421. doi:10.1002/JBM.B.30811
134. Nottrott M, Mølster AO, Moldestad IO, Walsh WR, Gjerdet NR. Performance of bone cements: Are current preclinical specifications adequate? *Acta Orthop*. 2008;79(6):826-831. doi:10.1080/17453670810016920
135. Karpiński R, Szabelski J, Krakowski P, Jonak J. Effect of Physiological Saline Solution Contamination on Selected Mechanical Properties of Seasoned Acrylic Bone Cements of Medium and High Viscosity. *Mater (Basel, Switzerland)*. 2020;14(1):1-20. doi:10.3390/MA14010110
136. Schonhoff M, Bormann T, Knappe K, Reiner T, Stange L, Jaeger S. The Effect of Cement Aging on the Stability of a Cement-in-Cement Revision Construct. *Appl Sci* 2021, Vol 11, Page 2814. 2021;11(6):2814. doi:10.3390/APP11062814
137. Musib M, Jones J, Chakote K, Hayes W, Saha S. Microhardness of bi-antibiotic-eluting bone cement scaffolds. *Prog Biomater*. 2012;1(1). doi:10.1186/2194-0517-1-3
138. Ries MD, Young E, Al-Marashi L, et al. In vivo behavior of acrylic bone cement in total hip arthroplasty. *Biomaterials*. 2006;27(2):256-261.

doi:10.1016/J.BIOMATERIALS.2005.05.103

139. Zhang H, Blunt L, Jiang X, Brown L, Barrans S. The significance of the micropores at the stem-cement interface in total hip replacement. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2011;22(7):845-856. doi:10.1163/092050610X540495
140. Hoey D, Taylor D. Quantitative analysis of the effect of porosity on the fatigue strength of bone cement. *Acta Biomater.* 2009;5(2):719-726. doi:10.1016/J.ACTBIO.2008.08.024
141. Dunne NJ, Orr JF, Mushipe MT, Eveleigh RJ. The relationship between porosity and fatigue characteristics of bone cements. *Biomaterials.* 2003;24(2):239-245. doi:10.1016/S0142-9612(02)00296-X
142. McCormack BAO, Prendergast PJ, O'Dwyer B. Fatigue of cemented hip replacements under torsional loads. *Fatigue Frac Eng Mater Struct.* 1999;22(1):33. doi:10.1046/j.1460-2695.1999.00134.x
143. Murphy BP, Prendergast PJ. Measurement of non-linear microcrack accumulation rates in polymethylmethacrylate bone cement under cyclic loading. *J Mater Sci Mater Med.* 1999;10(12):779-781. doi:10.1023/A:1008998800584/METRICS
144. James SP, Jasty M, Davies J, Piehler H, Harris WH. A fractographic investigation of PMMA bone cement focusing on the relationship between porosity reduction and increased fatigue life. *J Biomed Mater Res.* 1992;26(5):651-662. doi:10.1002/JBM.820260507
145. Jeffers JR, Browne M, Lennon AB, Prendergast PJ, Taylor M. Cement mantle fatigue failure in total hip replacement: Experimental and computational testing. *J Biomech.* 2007;40:1525-1533. doi:10.1016/j.jbiomech.2006.07.029
146. Lewis G. Fatigue Testing and Performance of Acrylic Bone-Cement Materials: State-of-the-Art Review. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2003;66(1):457-486. doi:10.1002/jbm.b.10018
147. Janssen D, Aquarius R, Stolk J, Verdonschot N. The contradictory effects of pores on fatigue cracking of bone cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;74(2):747-753. doi:10.1002/JBM.B.30272
148. Hernigou P, Le Mou  l S. Do voids in a femoral cement mantle affect the outcome? *J Arthroplasty.* 1999;14(8):1005-1010. doi:10.1016/S0883-5403(99)90017-7
149. Zhang H, Brown L, Blunt L. Static shear strength between polished stem and seven commercial acrylic bone cements. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(2):591-599. doi:10.1007/S10856-007-3211-6
150. Havelin LI, Espehaug B, Vollset SE, Engesaeter LB. The effect of the type of cement on early revision of Charnley total hip prostheses. A review of eight thousand five hundred and seventy-nine primary arthroplasties from the Norwegian Arthroplasty Register. *J Bone Joint Surg Am.* 1995;77(10):1543-1550. doi:10.2106/00004623-199510000-00009
151. Raut V V., Siney PD, Wroblewski BM. Revision for aseptic stem: Loosening using the cemented Charnley prosthesis. A review of 351 hips. *J Bone Jt Surg - Ser B.* 1995;77(1):23-27. doi:10.1302/0301-620x.77b1.7822390
152. Malcom AJ. Pathology of low friction arthroplasties in autopsy specimens. In: Older M, ed. *Implant Bone Interface.* London: Springer-Verlag; 1990:77-82.

153. Brooks DB, Burstein AH, Frankel VH. The biomechanics of torsional fractures. The stress concentration effect of a drill hole. *J Bone Joint Surg Am.* 1970;52(3):507-514. doi:10.2106/00004623-197052030-00008
154. Hernigou P, Daltro G, Lachaniette CHF, Roussignol X, Mukasa MM, Poignard A. Fixation of the cemented stem: clinical relevance of the porosity and thickness of the cement mantle. *Open Orthop J.* 2009;3(1):8-13. doi:10.2174/1874325000903010008
155. Janssen D, Stolk J, Verdonschot N. Why would cement porosity reduction be clinically irrelevant, while experimental data show the contrary. *J Orthop Res.* 2005;23(4):691-697. doi:10.1016/J.ORTHRES.2004.12.002
156. Herberts P, Malchau H. Long-term registration has improved the quality of hip replacement: A review of the Swedish THR Register comparing 160,000 cases. *Acta Orthop Scand.* 2000;71(2):111-121. doi:10.1080/000164700317413067
157. Chen IC, Su CY, Nien WH, et al. Influence of Antibiotic-Loaded Acrylic Bone Cement Composition on Drug Release Behavior and Mechanism. *Polymers (Basel).* 2021;13(14). doi:10.3390/POLYM13142240
158. Alimohammadi M, Mirzabozorg H, Farahmand F, Kim S, Baril C, Ploeg HL. Statistical distribution of micro and macro pores in acrylic bone cement- effect of amount of antibiotic content. 2024;150:106297. doi:10.1016/J.JMBBM.2023.106297
159. Paz E, Ballesteros Y, Abenojar J, del Real JC, Dunne NJ. Graphene Oxide and Graphene Reinforced PMMA Bone Cements: Evaluation of Thermal Properties and Biocompatibility. *Materials (Basel).* 2019;12(19). doi:10.3390/MA12193146
160. Ahamad Said MN, Hasbullah NA, Rosdi MRH, et al. Polymerization and Applications of Poly(methyl methacrylate)–GrapheneOxide Nanocomposites: A Review. *ACS Omega.* 2022;7(51):47490. doi:10.1021/ACSOMEGA.2C04483
161. Cherednichenko K, Sayfutdinova A, Rimashevskiy D, et al. Composite Bone Cements with Enhanced Drug Elution. *Polymers (Basel).* 2023;15(18). doi:10.3390/POLYM15183757
162. Slane JA, Vivanco JF, Rose WE, Squire MW, Ploeg HL. The influence of low concentrations of a water soluble poragen on the material properties, antibiotic release, and biofilm inhibition of an acrylic bone cement. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014;42:168-176. doi:10.1016/J.MSEC.2014.05.026
163. Wall V, Nguyen TH, Nguyen N, Tran PA. Controlling antibiotic release from polymethylmethacrylate bone cement. *Biomedicines.* 2021;9(1):1-22. doi:10.3390/BIOMEDICINES9010026
164. Gentile P, Chiono V, Carmagnola I, Hatton P V. An overview of poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering. *Int J Mol Sci.* 2014;15(3):3640-3659. doi:10.3390/IJMS15033640
165. Shi M, Kretlow JD, Nguyen A, et al. Antibiotic-releasing porous polymethylmethacrylate constructs for osseous space maintenance and infection control. *Biomaterials.* 2010;31(14):4146-4156. doi:10.1016/J.BIOMATERIALS.2010.01.112
166. Spicer PP, Shah SR, Henslee AM, et al. Evaluation of antibiotic releasing porous polymethylmethacrylate space maintainers in an infected composite tissue defect

- model. *Acta Biomater.* 2013;9(11):8832-8839. doi:10.1016/J.ACTBIO.2013.07.018
167. Fini M, Giavaresi G, Nicoli Aldini N, et al. A bone substitute composed of polymethylmethacrylate and α -tricalcium phosphate: results in terms of osteoblast function and bone tissue formation. *Biomaterials.* 2002;23(23):4523-4531. doi:10.1016/S0142-9612(02)00196-5
 168. Dall'Oca C, Maluta T, Cavani F, et al. The biocompatibility of porous vs non-porous bone cements: a new methodological approach. *Eur J Histochem.* 2014;58(2):95-102. doi:10.4081/ejh.2014.2255
 169. Uchiyama K, Takahira N, Fukushima K, et al. Two-Stage Revision Total Hip Arthroplasty for Periprosthetic Infections Using Antibiotic-Impregnated Cement Spacers of Various Types and Materials. *Sci World J.* 2013;2013(1):147248. doi:10.1155/2013/147248
 170. Yang L, Yergeshov AA, Al-Thaher Y, et al. Nanocomposite orthopaedic bone cement combining long-acting dual antimicrobial drugs. *Biomater Adv.* 2023;153. doi:10.1016/J.BIOADV.2023.213538
 171. Thaher Y Al, Khalil R, Abdelghany S, Salem MS. Antimicrobial PMMA Bone Cement Containing Long Releasing Multi-Walled Carbon Nanotubes. *Nanomater (Basel, Switzerland).* 2022;12(8). doi:10.3390/NANO12081381
 172. Pisani S, Tufail S, Rosalia M, et al. Antibiotic-Loaded Nano-Sized Delivery Systems: An Insight into Gentamicin and Vancomycin. *J Funct Biomater.* 2024;15(7):194. doi:10.3390/JFB15070194

10. ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

ANOVA – анализа на варијанса

ASTM - American Society for Testing and Materials

DF – degrees of freedom, степени на слобода

DmtP – диметил – п – толуидин

EDS – електронско – дисперзивна спектрометрија

ESBL – Extended - Spectrum Beta – Lactamases

FDA – Food and Drug Association, Американска агенција за храна и лекови

ISO - International Organization for Standardization

SD – стандардна девијација

БПО – бензоил пероксид

В – максимална јакост при свиткување

ВРЕ – Ванкомицин Резистентни Ентеробактерии

Е – модул на еластичност при свиткување

МИК – минимална инхибиторна концентрација

МРСА – Метицилин Резистентен *Staphylococcus aureus*

МССА – Метицилин Сензитивен *Staphylococcus aureus*

ПВП – Пеницилин Врзувачки Протеини

ПММА – полиметилметакрилат

ПТФЕ – политетрафлуороетилен

СЕМ – скенирачки електронски микроскоп