

## ANTYBAKTERYJNE DZIAŁANIE ŻELU BOGATOPŁYTKOWEGO - BADANIA IN VITRO

TOMASZ BIELECKI\*, TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*,  
GRZEGORZ ZIÓLKOWSKI\*\*, MONIKA POMORSKA-WESOŁOWSKA\*\*

\*KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY ORTOPEDII,  
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, SOSNOWIEC

\*\*ZAKŁAD MIKROBIOLOGII KLINICZNEJ,  
WOJEWÓDZKI SZPITAL SPECJALISTYCZNY NR 5, SOSNOWIEC

### Streszczenie

Mnogość substancji znajdująca się w płytkach, które biorą udział w procesie krzepnięcia, gojenia tkanek i odpowiedzi immunologicznej świadczy o wielkiej roli tych elementów morfotycznych krwi w fizjologii i patologii człowieka. W dostępnej literaturze nie ma publikacji na temat biomateriałów łączących zdolności pobudzenia procesów gojenia z właściwościami antybakteryjnymi.

Celem niniejszej pracy było wykazanie antybakteryjnych właściwości żelu bogatopłytkowego. Po okresie inkubacji odczytano wyniki. Średni obszar zahamowania wzrostu w zależności od rodzaju bakterii wahał się między 6,0 a 20,8 mm.

Zastosowanie wyżej wymienionego biomateriału, który posiada właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze może stać się przełomem w leczeniu infekcji tkanek miękkich i ran pourazowych nie tylko w ortopedii, ale również na oddziałach chirurgii ogólnej, naczyniowej, szczękowo-twarzowej, plastycznej oraz torako-chirurgii i neurochirurgii.

**Słowa kluczowe:** żel bogatopłytkowy, zakażenie, gronkowiec złocisty, MSSA

[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),46-49]

### Wstęp

W płytkach krwi odkryto do tej pory ponad 30 czynników wzrostu, spośród których najważniejsze znaczenie mają PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), oraz EGF (Epidermal Growth Factor) i IGF (Insulin Growth Factors). PDGF i TGF $\beta$  są znanymi czynnikami niezbędnymi do regeneracji tkanek. PDGF m.in. stymuluje mitogenezę komórek macierzystych (STEM) i osteoblastów oraz angiogenezę. Poza czynnikami wzrostu płytki w swoich ziarnistościach posiadają czynniki biologicznie czynne np. serotoninę, katecholaminy oraz inne substancje. Mnogość substancji znajdująca się w płytkach, które biorą udział w procesie krzepnięcia, gojenia tkanek i odpowiedzi immunologicznej świadczy o wielkiej roli tych elementów morfotycznych krwi w fizjologii i patologii człowieka [1, 5].

Pod koniec lat 90 - tych XX wieku zaczęto zastanawiać się nad wykorzystaniem biologicznego potencjału tych elementów morfotycznych krwi w leczeniu uszkodzonych tkanek. Poprzez odwirowanie pełnej autogennej krwi otrzymano koncentrat płytek krwi tzw. surowicę bogatopłytkową (PRP). Zagęszczanie trombocytów powoduje, że wzrasta stężenie PDGF i TGF $\beta$ , integryn i innych cząsteczek adhezyjnych w otrzymanym preparacie PRP. Po dodaniu trombinu powstaje galaretowata masa tzw. żel bogatopłytkowy [5,9].

Aktualnie na rynku medycznym nie występują autogene materiały stosowane do leczenia zaburzeń gojenia ko-

## ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PLATELET GEL - IN VITRO STUDY

TOMASZ BIELECKI\*, TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*,  
GRZEGORZ ZIÓLKOWSKI\*\*, MONIKA POMORSKA-WESOŁOWSKA\*\*

\*DEPARTMENT AND CLINIC OF ORTHOPAEDICS,  
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, SOSNOWIEC, POLAND

\*\* DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY,  
DISTRICT HOSPITAL, SOSNOWIEC, POLAND

### Abstract

*A lot of biological substances which are contained in platelets take a part in coagulation process, tissues healing and in immunological answer, witnesses about huge role these blood elements in physiology and pathology. In literature there are no publications about biomaterials which are able to stimulate healing process and which have antibacterial features.*

*The aim of this experiment is to examine antimicrobial effects of platelet gel. During incubation period results were read. Average area of growth restrain in dependence on bacteria kind between 6,0 and 20,8 mm.*

*Using this biomaterial which own bactericidal and bacteriostatic properties can become a breakthrough in treatment tissue infections and posttraumatic wounds not only in orthopaedics but also surgery vascular, thoracic surgery maxillofacial surgery, plastics surgery and neurosurgery words.*

**Key words:** platelet rich plasma, infection, Staphylococcus aureus, MSSA

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),46-49]

### Introduction

Until now in platelets 30 growth factors were discovered among which, the most important are PDGF, TGF, EGF and IGF. PDGF and TGF $\beta$  are well known factors. The indispensable to tissue regeneration process. PDGF stimulates stem cells, osteoblasts mitogenesis and angiogenesis process. Apart from growth factors platelets in its granules have serotonin, catecholamins and other biological active substances. A lot of biological substances which are contained in platelets take part in coagulation process, tissues healing and in immunological answer, witnesses about huge role these blood elements in physiology and pathology [1,5]. In the end of 90s XX ones started to wonder about biological potential of these blood elements in damage tissues treatment. Though centrifugation autogenous blood platelet concentrate was obtained - PRP platelet- rich plasma. Platelets condensation causes that concentration of PDGF and TGF beta and other adhesive substances in received PRP is growing. Nowadays on Polish medical market there are no autogenous biomaterials for healing bone and tissue disorders. In accessible literature there are no publications about biomaterials which are able to stimulate healing process and which have antibacterial features. PRP microbiological examinations are based on CLSI advices (Clinical and Laboratory Standards Institute). Which are connected with signing tenderness by diffusion method from disc on agar gel [5, 9].

### The aim

The aim of this experiment is to examine antimicrobial

ści i tkanek miękkich [3]. Również w dostępnej literaturze nie ma publikacji na temat biomateriałów łączących zdolności pobudzenia procesów gojenia z właściwościami antybakteryjnymi.

Badania mikrobiologiczne żelu bogatopłytkowego oparto na wytycznych CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) dotyczących oznaczania wrażliwości metodą dyfuzji z krążka w żelu agarowym.

## Cel pracy

Celem niniejszej pracy było wykazanie antybakteryjnych właściwości żelu bogatopłytkowego.

## Materiał i metody

Badania wykonywano w Katedrze i Oddziale Klinicznym Ortopedii w Sosnowcu Śląskiej Akademii Medycznej oraz Dziale Diagnostyki Laboratoryjnej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego Nr 5 w Sosnowcu. W okresie od kwietnia do czerwca 2005 roku wykonano 11 oznaczeń właściwości bakterioobójczych żelu bogatopłytkowego. Na prowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach (zezwoleń nr NN-013-196/II/63 z dnia 02.07.2003).

Metodykę badania oparto na wytycznych CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) - dawniej NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) dotyczących oznaczania wrażliwości metodą dyfuzji z krążka w żelu agarowym (wg. Kirby-Bauer).

Do badania użyto gotowych, wystandaryzowanych podłoży Mueller-Hinton II Agar firmy Becton Dickinson. Podstawą inokulum było api® NaCl 0,85% Medium firmy bioMerieux. Właściwości bakterioobójcze badanych preparatów sprawdzano na szczepach:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 - szczep MSSA
- *Escherichia coli* ATCC 35218 - szczep produkujący beta-laktamazę o rozszerzonym profilu substratów (ESBL)
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 - szczep produkujący beta-laktamazę o rozszerzonym profilu substratów (ESBL)
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

"ATCC" i "American Type Culture Collection" są znakami zastrzeżonymi dla American Type Culture Collection.

Wyżej wymienione szczepy (oprócz *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) są zalecane przez CLSI do przeprowadzenia kontroli jakości krążków nasyconych preparatami przeciwbakteryjnymi używanych w metodzie dyfuzyjno-krążkowej. W pracy użyto jałowe krążki bibułowe firmy Becton Dickinson nasączone żelem bogatopłytkowym. Materiał inkubowano 20 godzin w cieplarni o temp 35°C w warunkach tlenowych.

Do przygotowania żelu bogatopłytkowego z czynnikami wzrostu posłużył zestaw do izolacji płytek krwi firmy Biomet. Po pobraniu od pacjenta 54 ml krwi pełnej do strzykawki przed zabiegiem, w której znajdował się antykoagulant: 6 ml cytrynianu sodu i wstrzyknięciu jej do specjalnego zbiornika, poddano zbiornik wirowaniu przez 12 minut przy 3200 obrotów/min. Otrzymano 3 warstwy - między warstwą 1 i 2 widoczny był biały korzuszek, który stanowiły płytki krwi. Następnie za pomocą 30 ml strzykawki pobierano surowicę ubogopłytkową (PPP) ze zbiornika. Przez 30 sekund ruchami okrężnymi wstrząsano zbiornikiem i 10 ml strzykawką izolowano 6 ml surowicy bogatej w płytki (PRP). Do specjalnej dwukaniulowej igły podłączano dwie strzy-

effects of platelet gel.

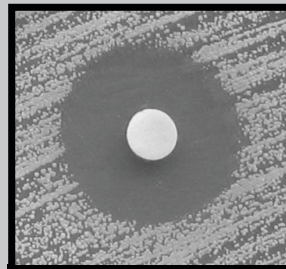
## Material and methods

Experiments were performed at Department and Clinic Orthopaedics Silesian Medical University in Sosnowiec and in Diagnostic Laboratory Section in District Hospital in Sosnowiec. Since April until June 2005 11 marks of bactericidal PRP properties were performed. To realize experiments, permission of Bioethical Commission was obtained. Experimental method was based on CLSI advices which consider tenderness signing by diffuse method from agar disc (Kirby-Bauer method).

Baseline antimicrobial activity was assessed by measuring the zones of inhibition. Agar plates were coated with one of the following strain: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (MSSA), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL), *Escherichia coli* ATCC (25922), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. These strains (apart from *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) are advised by CLSI to perform control of quality discs with antimicrobial substances which are used in disc-diffusion method. In this experiment sterile discs Becton Dickinson Firm with PRP were used. Specimens were incubated for 20 hours in 35 degree temperature in oxygen presence.

The PRP was prepared by extracting blood from the patient before operation and by using a cell separator to sequester and concentrate the platelets.

Venous blood was obtained from 9 patients. 54 ml of whole blood was drawn from the patient into syringe with 6 ml sodium citrate to achieve anticoagulation. Next the blood was drawn into sterile tube and centrifuged. Whole blood was placed at a rate of 12 minutes, with a centrifuged speed of 3600 RPM (Biomet separator). The blood was centrifuged into its three basic components: red blood cells, platelet rich plasma (PRP) sometimes referred to as "buffy coat", and platelet poor plasma (PPP). Because of differential densities, the red blood cell layer forms at the lowest level, the PRP layer in the middle and PPP layer at the top. The cell separator separates each layer from the less dense to the more dense; therefore, it separates PPP first and PRP



**RYS. 1. Strefa zahamowania wzrostu *Staphylococcus aureus* przez żel bogatopłytkowy.**  
**FIG. 1. Zone of inhibition produced by PG to *Staphylococcus aureus*.**

SZCZEPY (STRAINS)	ŻEL (PG)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	12,1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	6,0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	6,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6,0

**TABELA 1. Strefy zahamowania wzrostu badanych substancji przy użyciu szczepów wzorcowych (wartości średnie).**

**TABLE 1. Inhibition zones of growth of the substances by using basic strains (average values).**

kawki, jedną z PRP, drugą z chlorkiem wapnia i trombiną. Tak przygotowaną podwójną strzykawkę z podwójną kańniulą używano w doświadczeniu.

## Wyniki

Po okresie inkubacji odczytano wyniki. Średni obszar zahamowania wzrostu w zależności od rodzaju bakterii wahał się między 6,0 a 20,8 mm (RYS. 1, TABELA 1). W przypadku *Pseudomonas aeruginosa* na krążku nasączonym żelem bogatopłytkowym rozwijały się kolonie tej bakterii.

## Dyskusja

Surowica bogatopłytkowa dzięki swoim właściwościom hamowania krwawienia jest wykorzystywana w kardio- i torakochirurgii, szczególnie w zabiegach przeszczepów płuc i serca, a także w operacjach w przypadku zmniejszonej krzepliwości krwi [2,4].

PRP jest często wykorzystywana na oddziałach operacyjnych oraz zajmujących się leczeniem trudno gojących się ran [3]. Czynniki wzrostu pochodzące z odwirowanej krwi po raz pierwszy zostały zastosowane przez Knighton'a u chorych z przewlekłymi owrzodzeniami skóry. Stosując dwa razy dziennie surowicę z czynnikami wzrostu zaobserwował on wygojenie ran u 17 z 21 leczonych pacjentów [8].

Glover i współpracownicy wykonali badania retrospektywne u 3830 pacjentów z trudno gojącymi się ranami w przebiegu cukrzycy, niewydolności naczyń żylnych i tętniczych oraz schorzeń autoimmunologicznych [6]. W grupie kontrolnej uzyskali oni wygojenie ran u 50,8% natomiast w doświadczalnej, gdzie zastosowano PRP w 65,7% przypadków. U chorych z trudno gojącymi się ranami w przebiegu cukrzycy odsetek wygojeń wynosił bez i po zastosowaniu PRP odpowiednio w 46,6 i 66,8%. U osób z ranami powstałymi na tle schorzeń grupy autoimmunoagresji autorzy uzyskali w grupie kontrolnej 64%, a po podaniu PRP 67% dobrych wyników klinicznych.

Żel bogatopłytkowy jest coraz częściej stosowany na oddziałach ortopedii do leczenia zaburzeń wzrostu kości. Stanowią one powikłanie około 5-10 % wszystkich złamań. W złamaniach otwartych powikłanych zakażeniem ich odsetek zwiększa się do 40-50%. Leczenie zakażonych stawów rzekomych stanowi jedno z największych wyzwań dla lekarza ortopedy [3]. W wszczepieniu biomateriałów mających pobudzić procesy regeneracji tkanki kostnej do miejsca infekcji, istnieje ogromne ryzyko zaostrzenia procesów zapalnych, ponieważ przeszczepy stają się doskonałą pożywką dla rozwoju bakterii. Z tego powodu firmy farmaceutyczne zaczęły produkować biomateriały o właściwościach osteoindukcyjnych połączonych z antybiotykiem np. teikoplaniną [3, 7, 10].

W dostępnej literaturze nie ma doniesień na temat zastosowania PRP oraz innych biomateriałów osteoindukcyjnych, które posiadałyby właściwości bakteriostatyczne czy bakteriobójcze.

Przedstawione wyniki badań mają charakter doniesienia wstępnego. Zastosowana metoda CLSI do oceny właściwości antibakteryjnych żelu bogatopłytkowego jest powszechnie uznaną techniką oceny wrażliwości danego szczepu na badane preparaty przeciwbakteryjne (antybiotyki i chemioterapeutyki), w której zachodzi dyfuzja substancji z krążka bibułowego do podłoża stałego, na które naniesiono zawiesinę bakteryjną o określonej gęstości. Miarą wrażliwości badanego szczepu jest wielkość średnicy strefy zahamowania wzrostu wokół krążka nasyczonego bada-

second, leaving the residual red blood cells.

Then the top yellow serum component PPP was removed into 30 ml syringe. Next the tube was shaken vigorously for 30 seconds to suspend platelets and then 10 ml syringe was connected to the tube to extract PRP.

The PRP application requires initiating the coagulation process with a mixture of 10 ml 10% calcium chloride mixed with 10 000 units of bovine thrombin. For PRP application an individual 10 ml sterile syringe for each mix was used (Biomet). Each mix draws in order: 6 ml of PRP, 1 ml of calcium chloride/ thrombin mix, and 1 ml of air to act as a mixing bubble. The syringe was gently agitated to initiate clotting (gelling). The PRP was stored in the operating room at room temperature until we were ready for its use.

Then, the platelet rich plasma was placed on the surgical field into a sterile syringe.

## Results

During incubation period results were read. Average area of growth restraint in dependence on bacteria kind between 6,0 and 20,8 mm (FIG. 1, TABLE 1). In a case of *Pseudomonas aeruginosa* on disc with platelet rich plasma, bacteria were developed.

## Discussion

Platelet rich plasma due to its features of blood restraining is used in cardio and thoracic surgery especially in lungs and heart transplantations and in operations connected with increase of blood coagulation. PRP is used very often on burn wounds with difficult healing wounds [2,3,4]. Growth factors derived from centrifuged blood for the first time were used by Knighton in patients with chronic skin ulcerations. Using twice a day platelet-rich plasma with growth factors he observed healing wounds in 17 from 21 treated patients [8].

Glover et al made retrospective examinations in 3830 patients with difficult wounds healing in patients with diabetes, veins and arteries insufficiency and autoimmunological diseases. They received in control group healing wounds in 50,8% cases and in experimental group where PRP was used in 65,7% cases. In patients with difficult wounds healing with diabetes percentage of healing amount to without and with using PRP appropriate 46,6% and 66,8%. In patients with wounds which appeared on a background of the autoimmunological diseases the authors received in control group 64% and after PRP application 67% good clinical results [6].

Platelet rich plasma is now often and often used in orthopaedics in treating disturbances in bone healing. These diseases represent complications in 5-10% fractures. In open fractures which are complicated by infection its percentage growth until 40%-50% [3]. Treatment of infected non unions is one of the biggest challenge for orthopaedics. After biomaterial implantation, which can stimulate bone regeneration process to infection place, there is a huge risk of exacerbation inflammatory process, because transplants become excellent culture medium for bacteria growth. That is why pharmaceutical companies start produce biomaterials about osteoconductive properties which are connected with antibiotics, for example with teikoplanin [3,7,10].

In accessible literature there are no informations about using PRP and other osteoconductive biomaterials which could own bactericidal and bacteriostatic properties. Presented results are preliminary report. CLSI method used to estimate PRP antibacterial properties is popular technique for estimation of sensitive strain on examined antibacterial

ną substancją i/lub preparatem.

Wyniki badań wskazują, iż żel bogatopłytkowy ma działanie bakteriobójcze w stosunku do *Staphylococcus aureus*. Strefy zahamowania wzrostu mieściły się w granicach "wrażliwy" dla większości antybiotyków stosowanych w leczeniu zakażeń tymi drobnoustrojami, co może sugerować terapeutyczne użycie tego preparatu nawet w klinicznie rozpoznanych zakażeniach wywołanych przez szczepy *Staphylococcus aureus* MSSA. Strefy zahamowania wzrostu dla *Escherichia coli* były na granicy "wrażliwy" i "średniowrażliwy". Nie zaobserwowano żadnego działania w stosunku do *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* oraz *Pseudomonas aeruginosa*. Wydaje się, iż w zakażeniach z udziałem tych bakterii żel bogatopłytkowy nie powinien być stosowany. W przypadku *Pseudomonas aeruginosa* widoczny był rozwój kolonii tej bakterii na krążku nasączonym żel bogatopłytkowym. Może to świadczyć, że żel bogatopłytkowy jest pożywką dla tych bakterii.

Nie znamy mechanizmów antybakteryjnego działania żelu bogatopłytkowego. Stwierdziliśmy w nim znacznie podwyższony poziom laktoferyny, który pośrednio świadczy o liczbie neutrofilów. Ponadto zaobserwowaliśmy, iż liczba leukocytów w preparacie była średnio 7,1 razy wyższa niż w krwi obwodowej [3]. Być może za działanie przeciwbakteryjne żelu bogatopłytkowego odpowiedzialne są leukocyty. Potwierdzenie tej tezy wymaga dalszych badań.

Zastosowanie wyżej wymienionego biomateriału, który posiada właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze może stać się przełomem w leczeniu infekcji tkanek miękkich i ran pourazowych nie tylko w ortopedii, ale również na oddziałach chirurgii ogólnej, naczyniowej, szczękowo-twarzowej, plastycznej oraz torakochirurgii i neurochirurgii. Naszym zdaniem ten kierunek badań rokuje duże nadzieje i powinien być kontynuowany.

## Wnioski

1. Żel bogatopłytkowy wykazuje działanie bakteriobójcze w stosunku do *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli*.
2. Strefy zahamowania wzrostu dla *Staphylococcus aureus* MSSA mieszczą się w granicach "wrażliwy" dla większości antybiotyków stosowanych w leczeniu zakażeń tymi drobnoustrojami.
3. Żel bogatopłytkowy nie wykazuje działania antybakteryjnego w stosunku do *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* oraz *Pseudomonas aeruginosa*.

## Piśmiennictwo

- [1] Anitua E., Adria I., Sanchez M., Azofra J., Zalduendo M., Fuente M., Nurden P., Nurden A.: Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005, 23: 281-286.
- [2] Aspenberg P., Virchenko O.: Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand.* 2004, 75: 93-99.
- [3] Bielecki T., Gaździk T.Sz., Cieślak-Bielecka A., Cieślak T.: Using the platelet rich plasma in treatment of nonunions and cystes - preliminary report. *Acta Chirurg Orthop Traum Cechosl.* 2004, 1: 55-56.
- [4] Della Valle A., Sammartino G., Marenzi G., Tia M., Espedito di Lauro A., Ferrari F., Lo Muzio L.: Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: use of platelet-rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003, 61: 1275-1278.
- [5] Dugrillon A., Eichler H., Kluter K.H.: Autologous concentrated platelet - rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002, 31: 615-619. on Sol-Gel Hydroxyapatite Coatings, Bioceramics, 10 1997, 175-78.

specimens (antibiotics and chemioterapeutics) in which occurs substances diffusion from filter paper disc vehicle on which bacterial suspension about defined density was put. Sensitivity measure of examined strain is size of diameter restrain zone around disc which is saturate by examined substance or/and with specimen.

Results point on the fact that PRP has antibacterial activity towards *Staphylococcus aureus*. Growth restrain zones were contained in "sensitivity" for most antibiotics which were used in treatment of these bacterial infections, what can suggest therapeutic using this specimen even in clinical recognized infections caused by *Staphylococcus aureus* strain MSSA. Growth restrain zones for *Escherichia coli* were on limit "sensitivity" and "middle sensitivity". Activity towards *Klebsiella pneumoniae* was not observed. It seems that in infections with participations of these bacteria PRP should not be used. In case of *Pseudomonas aeruginosa* development of this bacterial colony on disc with PRP was visible. It can testify that platelet gel can be culture medium for these bacteria. We do not know mechanisms of antibacterial activity PRP. We ascertained in it considerably elevated level of lactoferin, which indirectly testifies about number of neutrophils. We also have observed that number of leukocytes in specimen was average 7,1 higher than in peripheral blood. Perhaps leukocytes are responsible for antibacterial function of PRP [3]. It demands more experiments. Using this biomaterial which own bactericidal and bacteriostatic properties can become a breakthrough in treatment tissue infections and posttraumatic wounds not only in orthopaedics but also surgery vascular, thoracic surgery maxillofacial surgery, plastics surgery and neurosurgery words. In our opinion this course of experiments should be continued.

## Conclusions

1. Platelet gel acts bactericidal on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.
2. Growth inhibition zones for *Staphylococcus aureus* MSSA are on limit "sensitivity" for most antibiotics which are used in treatment infections caused by these bacteria.
3. Platelet-rich plasma does not act antibacterial on *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa*.

## References

- [6] Glover J.L., Weingarten M.S., Buchbinder D.S., Poucher R.L.: A 4-year outcome-based retrospective study of wound healing and limb salvage in patients with chronic wounds. *Adv Wound Care.* 1999, 10: 33-38.
- [7] Hauser C., Zhou X., Joshi P., Cuchens M.: The immune environment of human fracture, soft tissue hematomas and its relationship to systemic immunity. *J Trauma.* 1997, 42: 895-904.
- [8] Knighton D.R., Fiegel V.D., Austin L.L., Ciresi K.F., Butler E.L.: Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. *Ann Surg.* 1986, 3: 322-330.
- [9] Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M., Schimmele S.R., Strauss J.E., Goergeff K.R.: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998, 85: 638-646.
- [10] Romin M., Delecrin J., Heymanin D., Deschamps C., Passuti N.: Usefulness of combining platelets with bone marrow cells on ceramic bone substitutes. *J Bone Joint Surg.* 2004, 86: 47-48.