



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE

**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**“PROGETTAZIONE E SVILUPPO DI PROTESI ARTICOLARI CARICATE
CON ANTIBIOTICI PER LA PREVENZIONE DELLE INFEZIONI POST-
OPERATORIE”**

Relatore: Prof. Andrea Bagno

Laureando: Leonardo Birra

ANNO ACCADEMICO 2023 – 2024

Data di laurea 17 luglio 2024

Indice

Abstract	pagina 3
Capitolo 1: Infezioni e antibiotici nelle protesi articolari	pagina 4
1.1 Revisione delle infezioni associate alle protesi articolari	pagina 4
1.2 Ruolo degli antibiotici nell'ambito delle protesi articolari	pagina 6
1.3 Cenni di materiali biomimetici e biocompatibili per la progettazione di protesi con proprietà antibiotiche	pagina 7
Capitolo 2: Progettazioni di protesi caricate con antibiotici	pagina 11
2.1 Tecniche di incorporazione degli antibiotici nei materiali protesici	pagina 11
2.2 Approcci ingegneristici alla progettazione di protesi caricate con antibiotici	pagina 14
2.3 Caratteristiche e prestazioni dei materiali per steli femorali senza cemento	pagina 18
Capitolo 3: Risultati e discussioni	pagina 20
3.1 Comparazione con altre strategie di prevenzione delle infezioni	pagina 20
3.2 Implicazioni e prospettive future per lo sviluppo di protesi caricate con antibiotici	pagina 21
Bibliografia	pagina 24

Abstract

L'obiettivo della presente tesi è illustrare alcuni contributi scientifici relativi alla valutazione dell'efficacia delle protesi articolari caricate con antibiotici, un approccio innovativo che potrebbe offrire un'alternativa valida per contrastare le infezioni post-operatorie. Si tratta di una delle complicazioni più gravi e maggiormente onerose; infatti la loro prevenzione è importante sia per diminuire il rischio di mortalità che per evitare i costi derivanti da trattamenti prolungati e interventi chirurgici ripetuti.

I patogeni possono formare un biofilm sulla superficie delle protesi, rendendo difficile la rimozione dell'infezione con metodi tradizionali come la terapia antibiotica; di conseguenza, l'uso di materiali bioattivi e l'irrigazione intra-articolare durante gli interventi chirurgici sono accorgimenti essenziali per ridurre la possibilità di formazione di biofilm e l'insorgenza di infezioni.

Gli attuali studi si concentrano nello sviluppo di protesi più sicure e durevoli, minimizzando il rischio di infezione e migliorando gli esiti a lungo termine per i pazienti. Il focus sarà sulla progettazione di protesi avanzate che possano rilasciare in modo controllato gli antibiotici in situ, massimizzando l'efficacia antimicrobica e riducendo la resistenza ai farmaci.

Capitolo 1. Infezioni e antibiotici nelle protesi articolari

Nonostante i progressi dell'ingegneria, della medicina e nello studio di materiali biocompatibili, l'insorgenza di infezioni periprotetiches rimane un problema significativo. Quest'ultime sono spesso causate dalla formazione di biofilm che proteggono i patogeni dalle difese immunitarie del paziente e dalle terapie antibiotiche convenzionali.

Questo capitolo mira ad esplorare le dinamiche delle infezioni periprotetiches, analizzando i principali agenti patogeni coinvolti, i meccanismi di formazione dei biofilm e le strategie di cura attuali. In particolare si analizza l'utilizzo di antibiotici sia nel trattamento delle infezioni che per la prevenzione delle stesse.

1.1 Revisione delle infezioni associate alle protesi articolari

Le infezioni in ortopedia sono principalmente causate da stafilococchi, come *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, ma anche da patogeni recentemente isolati come *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus warneri*. Questi batteri aderiscono ai biomateriali e formano biofilm, cioè strutture complesse composte da: etopolisaccaridi, proteine, acidi teicoici e DNA extracellulare. I biofilm resistono ad antibiotici, disinfettanti e alle difese immunitarie dell'ospite.

Le infezioni periprotetiches si verificano con una frequenza dell'1,5-2,5% nelle artroplastiches primarie dell'anca e del ginocchio e del 3,2-5,6% nella chirurgia di revisione [1]. Queste infezioni possono portare a gravi complicazioni come osteomielite, con effetti devastanti sulle ossa e sui tessuti molli circostanti, che spesso richiedono la sostituzione dell'impianto. Tuttavia, anche la sostituzione non elimina completamente il rischio di recidiva.

Per contrastare le infezioni associate ai biofilm, la ricerca si concentra su biomateriali anti-biofilm. Questi includono materiali caricati con sostanze antibatteriche, rivestiti con agenti anti-adesivi o dotati di nanostrutture. Questi approcci promettono di ridurre il rischio di resistenza batterica evitando la diffusione di sostanze antibatteriche nei tessuti circostanti.

La comprensione dei meccanismi di formazione e dispersione dei biofilm è essenziale per sviluppare strategie efficaci contro le infezioni.

La formazione del biofilm avviene in quattro fasi differenti (Figura 1.1): adesione iniziale, aggregazione cellulare, maturazione e distacco delle cellule per dar inizio alla formazione di nuovi cicli. Le proteine, come ad esempio le autolisine AtlE in *S. epidermidis* e AtlA in *S.*

aureus, rendono più facile l'adesione e la formazione dei biofilm. La ricerca mira a trovare modi per interrompere la formazione di biofilm e migliorare la gestione delle infezioni nelle protesi.

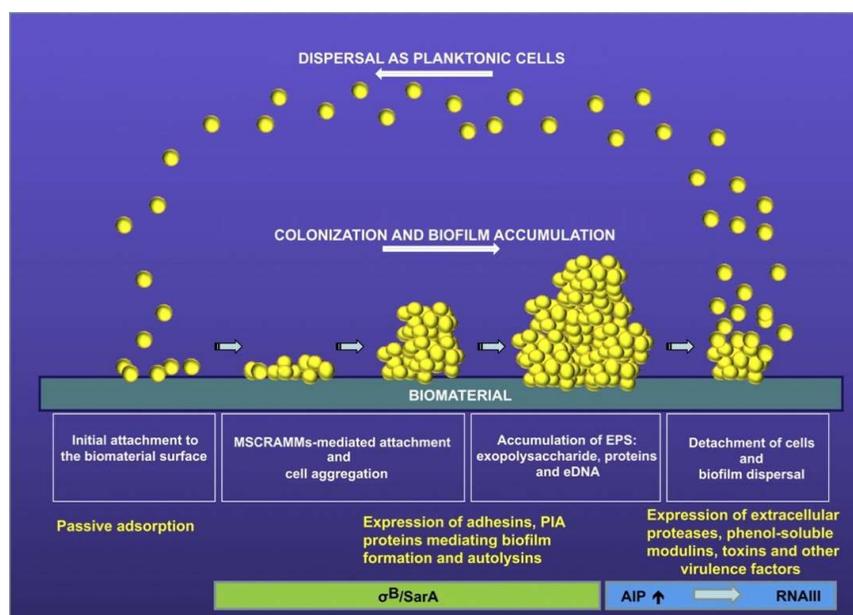


Figura 1.1 Il ciclo del biofilm.

Comprendere la formazione dei biofilm è essenziale per sviluppare strategie efficaci di prevenzione e trattamento delle infezioni associate agli impianti ortopedici.

La formazione dei biofilm stafilococcici è un processo complesso che coinvolge vari fattori di virulenza specifici per ciascun ceppo batterico, rendendo difficile creare un modello universale; tuttavia quelli in vitro, pur essendo limitati, offrono una base di studio importante.

Di seguito vengono descritte le diverse fasi della formazione del biofilm:

1. **adesione iniziale:** i batteri aderiscono passivamente alle superfici dei materiali grazie a interazioni non specifiche, come forze idrofobiche, elettrostatiche e di Van der Waals. La superficie cellulare dei batteri e quella del biomateriale giocano un ruolo cruciale in questa fase;
2. **ruolo delle autolisine:** proteine specifiche come le autolisine facilitano l'adesione ai biomateriali. Queste proteine hanno una doppia funzione: enzimatica e adesiva, essenziali per l'adesione e la formazione iniziale del biofilm;
3. **accumulo e aggregazione:** i batteri si accumulano in più strati attraverso interazioni mediate da componenti di superficie microbiche che favoriscono l'adesione intercellulare;

4. **maturazione del biofilm:** con la maturazione, si sviluppano strutture specifiche per ogni specie batterica. Queste strutture conferiscono al biofilm le sue proprietà protettive, rendendo difficile l'eliminazione dei batteri.

1.2 Ruolo degli antibiotici nell'ambito delle protesi articolari

Negli anni '70 Buchholz, dell'ENDO-Klinik, in Germania ha introdotto il cemento osseo caricato con antibiotici (ALBC: Antibiotic-Loaded Bone Cement) per la revisione dell'anca affetta da infezione articolare protesica (PJI: Periprosthetic Joint Infection). Nel 1979, sono stati pubblicati i primi studi sull'uso dell'ALBC combinato con antibiotici sistemici nell'artroplastica primaria. Oggi, l'uso dell'ALBC è una pratica consolidata per le revisioni delle protesi dell'anca, ed è comune anche nelle artroplastiche primarie in Europa e Australia; tuttavia, ci sono risultati contrastanti sul suo utilizzo nell'artroplastica primaria, che rimane oggetto di dibattito.

La principale ragione per l'uso di ALBC è la prevenzione delle infezioni post-operatorie, che possono portare a complicazioni significative e necessitare di ulteriori interventi chirurgici. Gli antibiotici incorporati nel cemento osseo aiutano a prevenire la colonizzazione batterica sulla superficie delle protesi e nei tessuti circostanti.

Grazie allo studio di Sujeesh Sebastian, Yang Liu, Robin Christensen, Deepak Bushan Raina, Magnus Tagil, Lars Lidgren [2] si è valutata l'efficacia del polimetilmetacrilato (PMMA) con antibiotici nella prevenzione della PJI in pazienti sottoposti ad artroplastiche primarie dell'anca e del ginocchio, utilizzando meta-analisi di studi randomizzati controllati (RCT). I risultati mostrano che l'uso dell'ALBC riduce del 64% il rischio di PJI rispetto ai gruppi di controllo, con un rischio relativo (RR) di 0,36 a favore dell'ALBC.

L'analisi ha inoltre confrontato l'efficacia di vari antibiotici usati nel cemento osseo, evidenziando un effetto significativo per la gentamicina, mentre la cefuroxima, l'eritromicina, la colistina e la vancomicina non hanno mostrato risultati significativi. Negli RCT sull'artroplastica del ginocchio, i risultati non hanno mostrato differenze significative nel tasso di PJI, sebbene la cefuroxima abbia mostrato un effetto significativo in uno studio.

La meta-analisi ha inoltre esaminato l'efficacia degli ALBC in diversi periodi di follow-up, dimostrando un vantaggio significativo nella prevenzione della PJI fino a due anni dopo l'intervento; tuttavia sono necessarie ulteriori ricerche per valutare l'effetto a lungo termine.

L'uso clinico degli ALBC nelle revisioni cementate è ben stabilito, ma il loro utilizzo nelle artroplastiche primarie, soprattutto del ginocchio, è ancora dibattuto. La meta-analisi sopraccitata di nove RCT ha mostrato che gli ALBC sono efficaci nel ridurre l'incidenza di PJI rispetto all'uso di cemento PMMA semplice con antibiotici sistemici.

Altre otto meta-analisi precedenti hanno valutato l'efficacia degli ALBC nella riduzione della PJI, con risultati contrastanti. In particolare, la meta-analisi di Wang et al. ha trovato un effetto benefico degli ALBC; inoltre recenti studi non randomizzati hanno mostrato risultati variabili a causa di differenze nei tipi di antibiotici usati e nella selezione dei pazienti.

Gli studi più recenti hanno evidenziato l'efficacia della gentamicina, ampiamente utilizzata in Europa e Australia, nelle artroplastiche primarie dell'anca e del ginocchio.

L'integrazione di antibiotici nei materiali protesici rappresenta una strategia cruciale per la prevenzione delle infezioni post-operatorie; sebbene vi siano prove significative a supporto dell'uso dell'ALBC nelle revisioni protesiche, il suo utilizzo nelle artroplastiche primarie richiede ulteriori studi per determinare l'efficacia a lungo termine e ottimizzare la scelta degli antibiotici. La comprensione dei meccanismi di rilascio e l'interazione con i diversi tipi di tessuti e agenti patogeni rimane un campo di ricerca attivo e fondamentale per migliorare i risultati clinici nelle protesi articolari. Inoltre, si possono valutare strategie alternative al cemento osseo, come l'utilizzo di materiali intrinsecamente antimicrobici o strutture incorporate alle protesi per il rilascio degli antibiotici. Questi approcci includono l'uso di rivestimenti superficiali con agenti antimicrobici, l'incorporazione di nanomateriali con proprietà antibatteriche e lo sviluppo di protesi con sistemi di rilascio controllato di antibiotici. Tali innovazioni mirano a fornire una protezione continua contro le infezioni, minimizzando al contempo il rischio di resistenza batterica e migliorando la sicurezza e l'efficacia delle protesi articolari.

1.3 Cenni ai materiali biomimetici e biocompatibili per la progettazione di protesi con proprietà antibiotiche

I biomateriali anti-infettivi sono emersi come una strategia primaria per prevenire le infezioni associate ai dispositivi medici, grazie ai progressi nelle tecniche asettiche, nel controllo della sterilità ambientale e nella profilassi antibiotica perioperatoria. Questi biomateriali devono soddisfare requisiti rigorosi, adattando la potenza e lo spettro di attività alle specifiche circostanze d'uso. I requisiti ideali includono la biocompatibilità, la stabilità chimica e fisica, la capacità di prevenire la formazione di biofilm e un effetto antimicrobico duraturo [3].

Oltre alla costruzione di dispositivi medici con proprietà bioattive anti-infettive, i biomateriali antibatterici sono impiegati per prevenire o trattare le infezioni. La riduzione dell'adesione batterica può diminuire l'infettabilità di dispositivi medici come i cateteri, mentre biomateriali iniettabili o impiantabili sono progettati per esercitare un'azione battericida potente sia a livello dell'interfaccia impianto/tessuto che nei tessuti circostanti. Ad esempio, cubi di titanio carichi

di antibiotici vengono utilizzati per rilasciare lentamente agenti antimicrobici nell'area interessata, migliorando l'efficacia del trattamento.

Una varietà di approcci è stata sviluppata per ottenere biomateriali con proprietà anti-infettive, mirando a ridurre la suscettibilità dei dispositivi medici alla colonizzazione batterica o ad eliminare le infezioni esistenti (Figura 1.2). Tuttavia, le informazioni sull'efficacia clinica di molti di questi materiali sono spesso limitate o incomplete, con studi clinici che raramente forniscono dati conclusivi. L'assenza di studi ben strutturati e multicentrici spesso impedisce di trarre conclusioni definitive sulla loro efficacia.

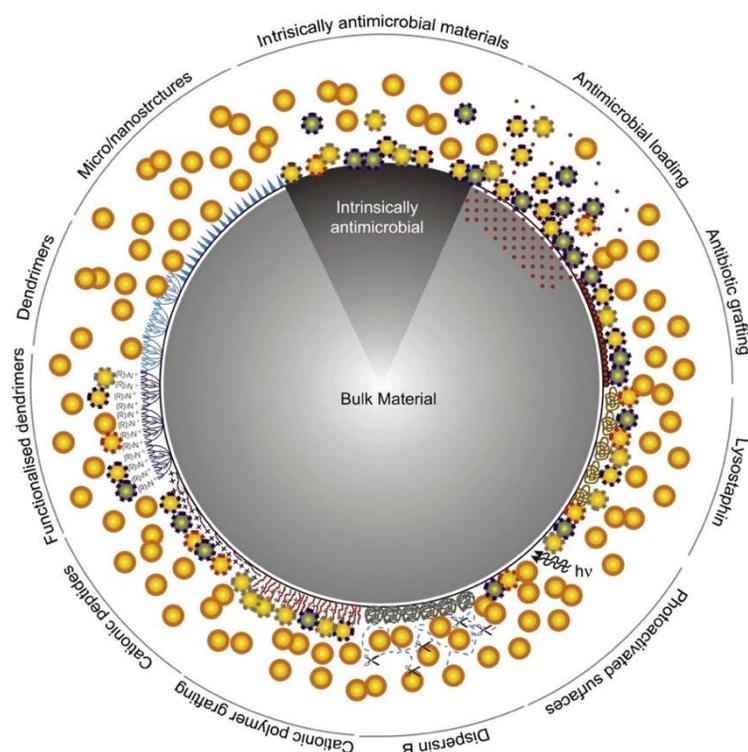


Figura 1.2 Panoramica dell'ampio spettro di biomateriali e superfici di biomateriali progettate per prevenire le infezioni associate ai biomateriali.

La prima fase dell'infezione legata ai dispositivi medici è l'adesione batterica. Se i batteri non riescono ad aderire ad una superficie, la colonizzazione non può avvenire. Le superfici idrofobiche e cariche elettrostaticamente possono influenzare significativamente l'adesione batterica. Superfici idrofiliche e non cariche mostrano una minore adesione batterica. Anche superfici superidrofobiche, che imitano l'idrofobicità delle foglie di loto, possono prevenire il contatto batterico, limitando le aree d'interazione.

La dinamica dell'adesione batterica è influenzata da vari fattori, tra cui il tipo di fluido fisiologico presente, la velocità di flusso del fluido e la composizione della superficie del

biomateriale. In presenza di soluzioni proteiche, l'adesione batterica può essere modulata dall'adsorbimento di proteine ospiti come l'albumina, che può competere con le adesine batteriche per i siti di legame sulla superficie del dispositivo; di conseguenza le superfici polimeriche funzionalizzate possono creare barriere repulsive, riducendo l'adsorbimento proteico e l'adesione batterica.

1.3.1 Materiali intrinsecamente bioattivi con proprietà antibatteriche

L'argento è uno dei materiali più utilizzati per le sue proprietà battericide; tuttavia, il suo uso è limitato a causa della corrosione. Altri materiali intrinsecamente antibatterici includono metalli come zinco e rame, polimeri come il chitosano e vetri bioattivi. L'uso di nanorivestimenti e nanoparticelle di argento ha mostrato un'attività antibatterica migliorata, sebbene vi siano preoccupazioni riguardo alla potenziale citotossicità.

Le nanoparticelle di argento (AgNP) interagiscono con la membrana cellulare batterica, alterando la sua permeabilità e causando danni cellulari attraverso la generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Gli AgNP possono anche penetrare all'interno delle cellule batteriche, causando danni al DNA e inibendo la replicazione cellulare [40]. Tuttavia, è essenziale bilanciare l'efficacia antimicrobica con la biocompatibilità, poiché l'esposizione prolungata agli AgNP può causare effetti citotossici sulle cellule ospiti.

1.3.2 Rivestimenti antibatterici bioattivi

I rivestimenti antibatterici sono sviluppati per conferire proprietà anti-infettive. Questi rivestimenti possono includere molecole antimicrobiche fissate sulla superficie del materiale, polimeri che rilasciano ossido nitrico o specie reattive di ossigeno, e materiali nanostrutturati. Alcuni rivestimenti possono diventare antimicrobici tramite fotoattivazione, ad esempio i rivestimenti a base di ossido di titanio (TiO_2) possono essere attivati dalla luce UV per produrre radicali idrossilici che ossidano le membrane cellulari batteriche. L'aggiunta di nanoparticelle d'argento al TiO_2 può migliorare ulteriormente l'efficacia antibatterica, combinando l'attività oligodinamica dell'argento con le proprietà fotocatalitiche del TiO_2 . Rivestimenti polimerici che rilasciano ossido nitrico possono migliorare la guarigione delle ferite e ridurre il rischio di infezioni.

1.3.3 Biomateriali che forniscono antimicrobici

L'incorporazione di antibiotici o altre sostanze antibatteriche nei biomateriali può avvenire durante la produzione o tramite adsorbimento successivo. Tuttavia, l'uso di antibiotici solleva

preoccupazioni riguardo alla diffusione della resistenza antibiotica e alla tossicità sistemica. È importante che i chirurghi considerino la capacità di alcuni patogeni di interiorizzarsi nelle cellule ospiti, rendendo inefficaci alcuni trattamenti antibiotici. Per esempio, gli antibiotici possono essere incorporati in cementi ossei o rivestimenti polimerici, dai quali vengono rilasciati gradualmente per prevenire infezioni postoperatorie. I biomateriali caricati con antibiotici come la gentamicina sono comunemente utilizzati in chirurgia ortopedica, specialmente nelle procedure di revisione per la sostituzione di impianti infetti. L'uso eccessivo di antibiotici può portare alla selezione di ceppi batterici resistenti, rendendo cruciale la gestione oculata di queste terapie.

1.3.3 Materiali nanostrutturati

Le nanotecnologie permettono la produzione di superfici con caratteristiche nanostrutturali che possono alterare la conformazione delle proteine adsorbite, riducendo l'adesione batterica. Nanoparticelle di metalli come argento e zinco mostrano un'attività battericida migliorata rispetto alle forme macroscopiche, sebbene siano necessarie ulteriori ricerche per comprendere appieno la loro tossicologia.

La nanotopologia delle superfici può essere progettata per ridurre l'area disponibile per l'adesione batterica o per creare superfici superidrofobiche che limitano il contatto con i batteri. Le superfici nanostrutturate possono anche interferire con il metabolismo batterico, inducendo stress ossidativo e alterazioni nelle vie di segnalazione cellulare. Tuttavia, è fondamentale valutare attentamente la biocompatibilità dei nanomateriali, poiché possono avere effetti citotossici o infiammatori sulle cellule ospiti.

1.3.4 Molecole bioattive che interferiscono con la produzione di biofilm batterico

Le nuove strategie per contrastare le infezioni includono l'uso di molecole che interferiscono con i meccanismi di formazione dei biofilm, come enzimi che degradano le sostanze polimeriche extracellulari o molecole che regolano l'espressione di queste sostanze. L'integrazione di queste strategie con antimicrobici convenzionali ha mostrato effetti sinergici promettenti.

Ad esempio, l'enzima Dispersin B può degradare il biofilm batterico, esponendo le cellule batteriche agli antibiotici e migliorando l'efficacia del trattamento. Molecole come i furanoni possono interferire con il sistema di quorum sensing batterico, impedendo la comunicazione tra le cellule e la formazione di biofilm. L'uso combinato di antimicrobici e molecole antibiofilm può ridurre significativamente la carica batterica e prevenire le infezioni persistenti.

Capitolo 2. Progettazioni di protesi caricate con antibiotici

2.1 Tecniche di incorporazione degli antibiotici nei materiali protesici

Nonostante il tasso di infezione per la chirurgia THR sia inferiore all'1%, il crescente numero di pazienti che ricevono impianti rende cruciale affrontare efficacemente queste infezioni. Esse, come evidenziato in precedenza, sono spesso causate da *Staphylococcus aureus*, che forma un biofilm sulla superficie degli impianti, proteggendo i batteri dagli antibiotici e dal sistema immunitario dell'ospite. Di conseguenza, il trattamento standard delle infezioni comporta la rimozione dell'impianto ed un'estesa terapia antibiotica.

Recentemente, sono state sviluppate diverse tecniche innovative per incorporare antibiotici direttamente nei materiali protesici. Numerosi studi hanno esplorato sia l'uso di rivestimenti antimicrobici che l'incorporazione di composti antimicrobici negli impianti. Tecniche, che verranno approfondite nel paragrafo 2.2, come la fusione laser selettiva (SLM: “Selective Laser Melting”) e la fusione del fascio di elettroni (EBM: “Electron Beam Melting”) nella produzione additiva dei metalli (AM: “Additive Manufacturing”) sono utilizzate per produrre queste protesi. Tuttavia, un problema comune è il rapido declino dell'attività antimicrobica, che può portare alla selezione di ceppi resistenti.

L'obiettivo dello studio di Martin B. Bezuidenhout, Anton D. van Staden, Gert A. Oosthuizen, Dimitar M. Dimitrov, Leon M. T. Dicks [4] è sviluppare impianti che rilascino antibiotici in modo controllato e prolungato, mantenendo concentrazioni superiori ai livelli di MIC (“Minimum Inhibitory Concentration”). La MIC è la più bassa concentrazione di un antibiotico che inibisce visibilmente la crescita di un microrganismo dopo un periodo specifico. La produzione additiva, con deposizione strato per strato, rappresenta la tecnica ideale per creare impianti con geometrie complesse. La produzione additiva, anche conosciuta come stampa 3D, è un processo di fabbricazione in cui il materiale viene aggiunto strato dopo strato per costruire un oggetto tridimensionale. Il rilascio dei farmaci dipende dalle proprietà fisico-chimiche dei soluti, dalle caratteristiche strutturali del materiale e dalle loro interazioni. I principali meccanismi di rilascio includono la diffusione, la diffusione vincolata e la diffusione di ordine zero.

In particolare, nello studio di Martin B. Bezuidenhout, Anton D. van Staden, Gert A. Oosthuizen, Dimitar M. Dimitrov, and Leon M. T. Dicks si sono analizzati i cubi in lega di titanio ($15 \times 15 \times 12 \text{ mm}^3$) sono stati fabbricati con polvere Ti6Al4V ELI, utilizzando una macchina M2 CUSING. Questi cubi presentano canali di 3,5 mm di diametro, centrati

perpendicolarmente sulle sei superfici. Le aperture dei canali avevano un diametro di 6 mm e una profondità di 2 mm (Figura 2.1). Dopo la fabbricazione, i cubi vengono raffreddati a 25°C in una cappa a flusso laminare.

Per garantire il rilascio controllato degli antibiotici, sono state utilizzate membrane di polietersulfone con un taglio molecolare di 5000 Da, incollate sulle aperture verticali dei canali con adesivo epossidico impermeabile. Le membrane sono state preinumidite con una soluzione di PBS (Phosphate-Buffered Saline) ed etanolo per prevenire la formazione di bolle d'aria, mantenendo la tensione con una rondella sterile in acciaio inossidabile fissata con adesivo epossidico. L'apertura inferiore del canale verticale è stata sigillata con silicone antifungino.



Figura 2.1 Cubo in lega di titanio con canali interni

La vancomicina è stata scelta come antibiotico modello per il trattamento delle infezioni da MRSA (Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus), una forma di *S. aureus* resistente alla meticillina. La vancomicina è stata dissolta in PBS sterile a una concentrazione di 2,5 mg/mL e i canali dei cubi sono stati riempiti con 400 µL di soluzione. Il meccanismo di rilascio del farmaco attraverso le membrane del polietersulfone è stato determinato applicando l'equazione di Korsmeyer-Peppas per il rilascio da una lastra sottile:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n$$

dove M_t = la massa cumulativa del farmaco rilasciata al momento t e M_∞ = la massa cumulativa rilasciata all'infinito. K = costante della velocità di rilascio (unità t^{-n}), che tiene conto delle caratteristiche strutturali e geometriche del farmaco e del polimero che rilascia il farmaco. n = l'esponente di diffusione che definisce il meccanismo di rilascio nel profilo ottenuto. Se $n \leq 0,5$, il farmaco viene rilasciato liberamente dai cubetti di lega di titanio [61]. Se $n > 0,5$, ma $< 1,0$, il rilascio di farmaci è anomalo e indicativo di diffusione sotto vincolo; cioè, le dimensioni dei pori limitano il rilascio delle molecole. Nel caso di quest'ultimo, le molecole migrano nel tempo in modo non lineare e sono influenzate dalle interazioni tra il liquido e la fase solida [61], ad esempio, la membrana polietersulfone. Se $n = 1,0$, il rilascio è, secondo una diffusione caso-II, noto anche come rilascio ordine zero. Se $n > 1,0$, il rilascio è classificato come diffusione super case-II.

I test delle proprietà antimicrobiche hanno coinvolto il rilascio di vancomicina dai cubi posti in PBS a 37°C. I campioni sono stati prelevati a intervalli regolari per analisi tramite cromatografia liquida ad alte prestazioni (RP-HPLC: “Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography”), seguendo il metodo specificato nella monografia della British Pharmacopeia. I risultati hanno mostrato che il rilascio di vancomicina è avvenuto senza esplosione iniziale, caratteristica della diffusione di ordine zero o quasi zero. La diffusione di ordine zero si riferisce a un rilascio di farmaco a una velocità costante nel tempo, indipendentemente dalla concentrazione del farmaco stesso. Questo tipo di diffusione garantisce un controllo ottimale delle concentrazioni plasmatiche del farmaco e della frequenza di somministrazione (Figura 2.2).

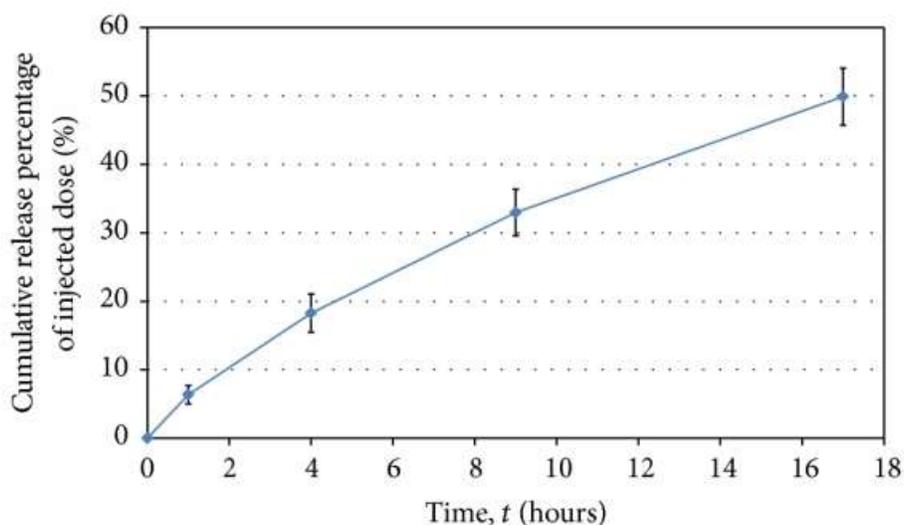


Figura 2.2 Percentuale cumulativa di vancomicina rilasciata da cubi di lega di titanio

In conclusione, l'integrazione di antibiotici nei materiali protesici in lega di titanio, utilizzando tecniche di produzione additiva, può migliorare significativamente il controllo delle infezioni post-operatorie. Questa strategia permette di mantenere concentrazioni efficaci di antibiotici per periodi prolungati, riducendo il rischio di resistenza. Inoltre, la possibilità di ricaricare l'impianto con antibiotici offre un ulteriore vantaggio, consentendo di prolungare l'efficacia del trattamento senza la necessità di rimuovere l'impianto, riducendo così i rischi associati alle procedure chirurgiche aggiuntive e migliorando complessivamente la qualità della vita dei pazienti.

2.2 Approcci ingegneristici alla progettazione di protesi caricate con antibiotici

L'aumento dell'utilizzo di componenti femorali non cementati nella sostituzione totale dell'anca (THA) ha riscosso un considerevole interesse nello sviluppo di tecnologie avanzate per migliorare le prestazioni e le funzionalità di questi dispositivi. Considereremo ora lo studio di M. B. Bezuidenhout [5] che analizza la fissazione senza cemento degli impianti e il rilascio di composti antimicrobici direttamente dagli steli femorali.

Come sottolineato in precedenza, le complicazioni derivanti da infezioni post-operatorie e gli interventi necessari per la revisione rappresentano una seria problematica, spingendo la ricerca verso soluzioni innovative. In particolare, la produzione additiva di metalli (AM) emerge come un metodo promettente per affrontare queste sfide complesse, offrendo nuove opportunità nella progettazione e fabbricazione di protesi articolari. Questo sviluppo è stato favorito dalla crescente capacità di personalizzazione che la tecnologia AM offre, consentendo di creare impianti adattati alle esigenze anatomiche e cliniche dei singoli pazienti.

Nella produzione additiva di metalli vengono utilizzate tecnologie avanzate come la fusione laser selettiva (SLM) e la fusione a fascio di elettroni (EBM), che consentono la realizzazione di componenti metallici attraverso un processo strato per strato. Questo nuovo approccio consente di realizzare geometrie complesse, molto difficili da ottenere con i metodi di produzione tradizionali. La possibilità di integrare strutture interne alle protesi apre nuove prospettive per l'incorporazione di sistemi di somministrazione di farmaci direttamente negli impianti, migliorando in modo consistente la gestione delle infezioni post-operatorie. L'AM, inoltre, consente l'utilizzo di materiali avanzati e leghe metalliche che possono migliorare ulteriormente le proprietà meccaniche e biocompatibili degli impianti.

2.2.1 Fusione Laser Selettiva (SLM)

La fusione laser selettiva sfrutta un raggio laser per fondere particelle di polvere metallica in modo selettivo su un letto di polveri, costruendo il componente strato per strato; un esempio del processo di SLM è rappresentato nella figura 2.3.

Questo processo consente di ottenere parti metalliche con una densità elevata (>99%) e ottime proprietà meccaniche; in particolare la SLM consente di progettare canali interni alle protesi femorali, permettendo il rilascio controllato di farmaci direttamente nel sito di infezione.

Questa capacità di integrare funzionalità multiple in un unico impianto rappresenta un avanzamento significativo rispetto alle tecnologie tradizionali. Inoltre, la precisione di questo processo consente di ottimizzare la microstruttura del metallo, migliorandone le proprietà meccaniche e la resistenza alla corrosione degli impianti.

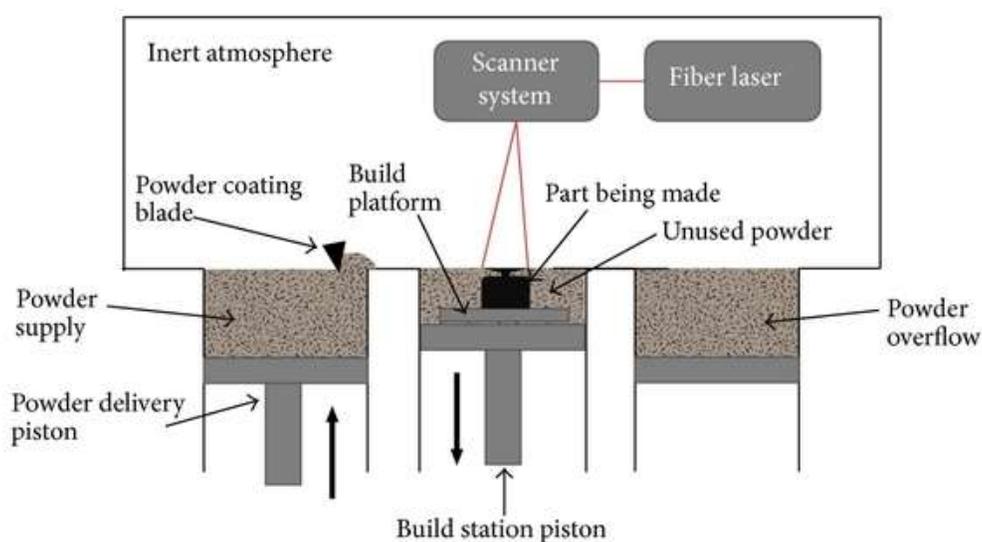


Figura 2.3 Rappresentazione schematica del processo SLM

2.2.2 Fusione a Fascio di Elettroni (EBM)

La fusione a fascio di elettroni è simile alla SLM infatti utilizza anch'essa un fascio di elettroni nel vuoto per fondere la polvere metallica. Questo processo produce componenti con densità paragonabile alla SLM, ma con differenze nelle proprietà superficiali e nella microstruttura.

L'EBM permette la creazione di strutture porose che favoriscono l'osseointegrazione, consentendo la progettazione di impianti con migliori proprietà biomeccaniche. Le strutture porose, infatti, possono essere progettate per favorire la crescita ossea e migliorare

l'integrazione dell'impianto con l'osso naturale, riducendo il rischio di mobilizzazione e fallimento dell'impianto.

Per questo motivo la possibilità di controllare la porosità e la struttura delle superfici rappresenta un vantaggio importante per l'ottimizzazione delle interfacce biologiche degli impianti.

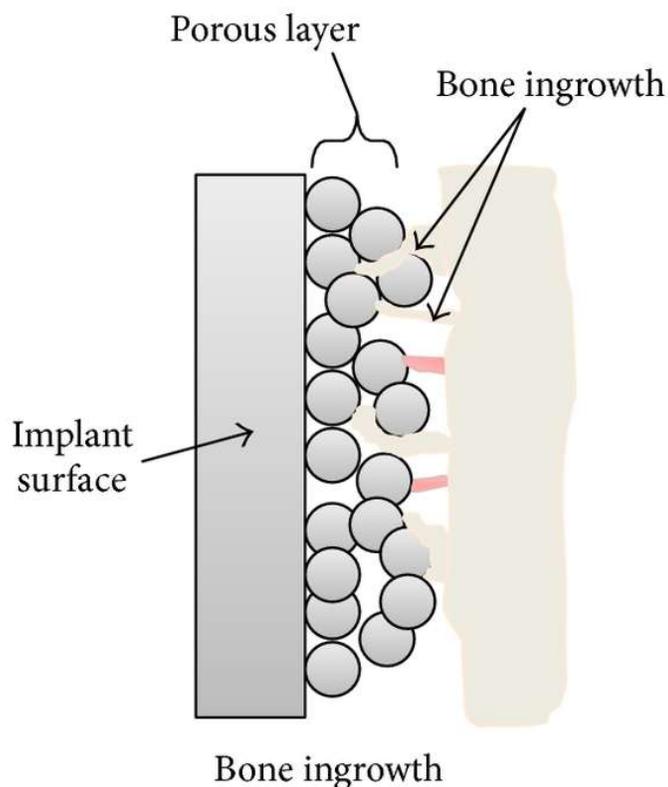


Figura 2.4 Rappresentazione schematica dell'ongrowth dell'osso

2.2.3 Vantaggi ed applicazioni delle Tecnologie AM

Le tecnologie di produzione additiva offrono diversi vantaggi per la realizzazione di steli femorali non cementati. La possibilità di creare geometrie complesse consente la progettazione di impianti personalizzati e l'integrazione di sistemi di somministrazione di farmaci all'interno degli steli femorali.

È importante sottolineare che le strutture porose e le geometrie personalizzate possono essere progettate per ridurre la rigidità dell'impianto, migliorare la compatibilità meccanica con l'osso naturale e diminuire il rischio di stress shielding; inoltre la possibilità di incorporare antibiotici nei canali interni dell'impianto consente un rilascio controllato e prolungato del farmaco direttamente nel sito di infezione, riducendo la necessità di somministrazioni sistemiche e

minimizzando gli effetti collaterali. La produzione additiva permette di creare impianti su misura per le esigenze specifiche di ogni paziente, migliorando l'adattamento e la funzionalità dell'impianto.

Recenti studi hanno evidenziato il potenziale degli impianti prodotti tramite produzione additiva; ad esempio, lo studio analizzato nel paragrafo 2.1 ha mostrato che i cubi in lega di titanio Ti6Al4V ELI, prodotti con SLM, potevano incorporare vancomicina nei loro canali interni, consentendo un rilascio controllato del farmaco per oltre 100 ore.

L'utilizzo di questa tecnica potrebbe essere esteso agli steli femorali, migliorando significativamente la gestione delle infezioni post-operatorie; nello specifico lo studio di Mueller et al. [6] ha utilizzato la tecnologia SLM per produrre prototipi di steli femorali con canali interni per la somministrazione di antibiotici. Questi steli hanno dimostrato una buona integrazione ossea e un rilascio prolungato del farmaco, suggerendo che la SLM potrebbe essere una tecnologia promettente per la produzione di impianti femorali non cementati con funzionalità avanzate, è possibile vedere un esempio nella figura 2.5. Ulteriori ricerche hanno evidenziato come l'ottimizzazione delle strutture interne e delle proprietà superficiali degli impianti prodotti con AM possa contribuire a ridurre significativamente il rischio di infezioni, migliorando al contempo l'integrazione ossea e la stabilità dell'impianto.

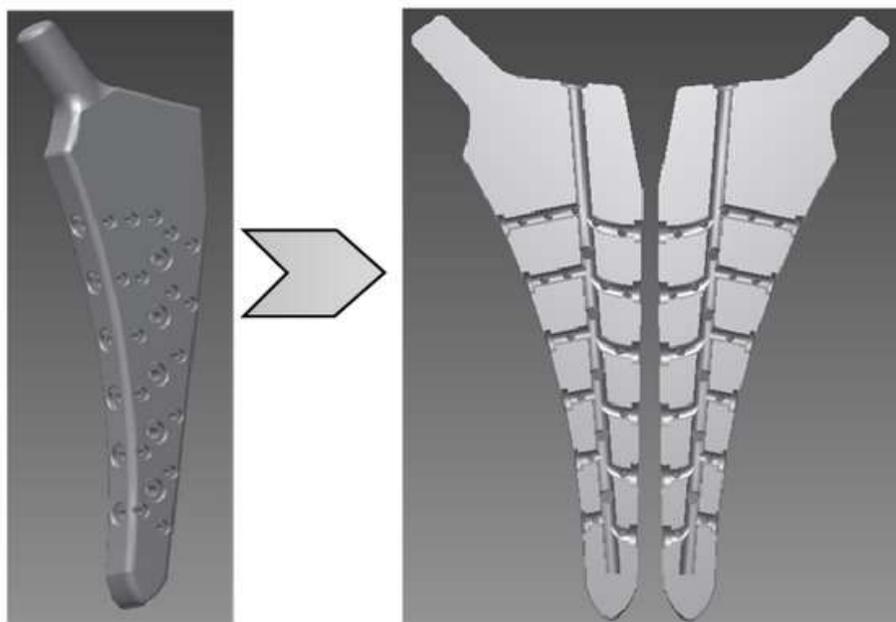


Figura 2.5 Un concetto di stelo femorale di sostituzione totale dell'anca con canali interni

La produzione additiva di protesi articolari, oltre ai numerosi vantaggi, presenta anche alcune sfide; infatti, la complessità del processo di progettazione e produzione richiede una stretta collaborazione tra ingegneri, medici e farmacologi per garantire che gli impianti soddisfino tutti i requisiti clinici.

I costi iniziali legati alla produzione additiva possono risultare elevati, tuttavia la produzione su larga scala li potrebbe ridurre notevolmente.

Nonostante i risultati preliminari siano promettenti, è fondamentale condurre studi clinici su larga scala, per poter utilizzare queste tecnologie nella pratica clinica. La standardizzazione dei processi di produzione e il controllo della qualità sono altri aspetti critici da affrontare per garantire che gli impianti prodotti con AM possano essere utilizzati in modo sicuro ed efficace.

2.3 Caratteristiche e prestazioni dei materiali per steli femorali senza cemento

Una percentuale significativa di steli femorali senza cemento è realizzata con polvere di Ti-6Al-4V ELI, ampiamente utilizzato nella produzione di impianti e dispositivi medici. Le parti prodotte con la fusione laser selettiva (SLM) presentano generalmente una rugosità superficiale inferiore rispetto alle loro controparti realizzate con fusione a fascio di elettroni (EBM). Le misurazioni interne sulle parti prodotte tramite SLM hanno rilevato una media di valori assoluti delle deviazioni da un piano centrale di circa 10 μm , mentre per l'EBM i valori variano tra 15 e 22 μm . Queste superfici possiedono una buona lavorabilità e possono essere rifinite per ottenere una rugosità inferiore a 1,0 μm se necessario. Le superfici intrinsecamente ruvide promuovono la crescita ossea, come dimostrato da diverse indagini sia per SLM che per EBM, e la chimica della superficie rispetta gli standard internazionali. Inoltre, le superfici possono essere rese bioattive tramite post-processi come l'immersione in NaOH e HCl. Utilizzare queste superfici ruvide elimina la necessità di operazioni di post-elaborazione, come la spruzzatura al plasma o la sabbiatura, riducendo i tempi e gli sprechi nel processo produttivo e diminuendo i costi.

Le parti in lega di titanio prodotte con SLM mostrano una resistenza alla trazione e alla resa adeguate, ma mancano della duttilità necessaria, dovuta alla microstruttura martensitica aciculare metastabile del materiale. Con l'EBM, la microstruttura è dominata da una fase α aciculare, ma include anche una piccola percentuale di fase β , producendo una parte fragile. Pertanto, per entrambi i processi, la duttilità deve essere migliorata con operazioni di post-elaborazione appropriate. La personalizzazione della microstruttura tramite trattamenti termici può trasformare la fase martensitica dell'SLM in una fase più duttile, rendendo questi materiali comparabili alle loro controparti lavorate. Applicando post-processi adeguati, come lavorazione, lucidatura e trattamenti termici, le proprietà possono essere significativamente

migliorate. A seconda dell'applicazione prevista, devono essere considerati i compromessi tra i vantaggi delle superfici ruvide per l'osteointegrazione e le proprietà meccaniche richieste.

2.3.1 Resistenza alla fatica

Gli standard internazionali per la resistenza alla fatica specificano che la regione della testa e del collo di uno stelo femorale deve resistere a 10 milioni di cicli di carico, secondo il test descritto nella ISO 7206-6:1992.

La caratterizzazione delle proprietà di fatica delle parti prodotte con SLM si basa su campioni di geometria standardizzata, il che significa che i test vengono effettuati su componenti di forme semplici e uniformi; tuttavia, questo approccio non considera le geometrie più complesse e insolite che si possono riscontrare nei componenti reali. Di conseguenza, le proprietà misurate sui campioni standardizzati possono differire significativamente da quelle dei componenti con geometrie non convenzionali. Questa differenza è dovuta principalmente alla distribuzione casuale della porosità, un problema intrinseco dell'attuale processo di produzione SLM. La porosità può essere distribuita in modo diverso nelle parti con geometrie complesse, influenzando negativamente la loro resistenza alla fatica. Tecniche come il preriscaldamento del letto di polveri possono migliorare i processi SLM. La pressatura isostatica a caldo (HIP: "Hot Isostatic Pressing") riduce la porosità a livelli quasi trascurabili ed è utilizzata per aumentare la resistenza alla fatica. Sebbene siano stati pubblicati risultati promettenti, le incongruenze, probabilmente dovute alla porosità casuale a causa di parametri di elaborazione non ottimali, stanno impedendo la commercializzazione di successo dei dispositivi.

Capitolo 3. Risultati e Discussioni

3.1 Comparazione con altre strategie di prevenzione delle infezioni

Come analizzato in precedenza il cemento osseo caricato con antibiotici (ALBC) [5] è una delle tecniche più utilizzate per prevenire le infezioni nei pazienti sottoposti a THA. Questa tecnica consiste nel mescolare antibiotici, come la gentamicina, nella matrice di cemento osseo composta da polimetilmetacrilato (PMMA); quest'ultimo viene utilizzato per fissare l'impianto all'osso, rilasciando antibiotici localmente per prevenire la colonizzazione batterica.

I vantaggi di questa tecnica comprendono da un lato la possibilità di un rilascio di antibiotici localizzato, che diminuisce il rischio di infezione nel sito dell'impianto, e dall'altra la facilità d'uso, essendo una tecnica ben consolidata e ampiamente accettata nella pratica clinica.

Una problematica riscontrata nell'utilizzo del cemento osseo è il rilascio di antibiotici che tende a diminuire rapidamente dopo un iniziale bust, lasciando potenzialmente livelli subinibitori che possono favorire lo sviluppo di batteri resistenti; inoltre, la miscelazione di antibiotici nel PMMA può portare ad alterazioni delle proprietà meccaniche del cemento, compromettendo potenzialmente la stabilità dell'impianto.

Un altro aspetto da considerare è che la reazione di polimerizzazione del PMMA è esotermica, questa può portare a temperature elevate durante la fase di indurimento del cemento, potenzialmente causando necrosi nei tessuti circostanti e aumentando il rischio di complicazioni post-operatorie.

Di conseguenza, sebbene l'uso di ALBC offra benefici significativi nella prevenzione delle infezioni, è fondamentale valutare attentamente i potenziali rischi e le limitazioni associati a questa tecnica.

Un'altra strategia prevede l'utilizzo di rivestimenti antimicrobici sulla superficie degli impianti, questi rivestimenti, che possono includere nanoparticelle d'argento o altri composti antimicrobici, sono progettati per prevenire la colonizzazione batterica nelle prime fasi post-operatorie. Questa tecnica permette di prevenire la formazione di biofilm batterici sulla superficie delle protesi, inoltre i rivestimenti risultano facilmente applicabili su una vasta gamma di impianti senza alterare in modo significativo il processo di produzione.

Anche in questo caso sono presenti delle problematiche da affrontare, date dal fatto che il rilascio di antibiotici è limitato nel tempo, e l'uso prolungato può portare allo sviluppo di resistenza batterica.

Nello studio di M. B. Bezuidenhout [5] si è analizzata la progettazione di protesi con sistemi integrati di somministrazione di farmaci tramite l'utilizzo della produzione additiva di metalli. Questa tecnica supera diversi limiti delle strategie precedentemente analizzate, offrendo una somministrazione più controllata e prolungata degli antibiotici; infatti, le protesi prodotte tramite AM possono essere progettate con canali interni che consentono un rilascio controllato e prolungato di antibiotici.

Somministrando il farmaco direttamente al sito di infezione, si riduce la necessità di alte dosi sistemiche e si minimizzano gli effetti collaterali. La produzione additiva consente di progettare protesi su misura per le specifiche esigenze di ogni paziente, migliorando l'adattamento e la funzionalità dell'impianto.

La produzione additiva risulta essere più costosa e complessa rispetto ai metodi di produzione tradizionali, soprattutto per piccoli lotti.

3.2 Conclusioni e prospettive future

Nello studio [2] è stata condotta una revisione della letteratura sull'uso routinario del cemento osseo caricato con antibiotici (ALBC) nella prevenzione delle infezioni periprotetiche (PJI) nell'artroplastica totale primaria dell'anca e del ginocchio. Sono emerse evidenze di efficacia quando utilizzato in combinazione con la profilassi antibiotica sistemica; tuttavia, la carenza di studi clinici randomizzati controllati (RCT) di alta qualità condotti di recente mette in luce la necessità di RCT più ampi e rigorosi. Dato il grande numero di partecipanti e i costi elevati di tali studi, l'approccio della randomizzazione a cluster potrebbe essere l'unica soluzione praticabile. I registri nazionali, nei quali partecipano la maggioranza degli ospedali, rappresentano probabilmente il contesto ideale per realizzare questi studi.

Questo approccio consentirebbe una valutazione dettagliata della sicurezza e dell'efficacia del cemento osseo caricato con antibiotici nella pratica clinica.

Per quanto riguarda lo studio di Davide Campoccia et al. [3] i biomateriali anti-infettivi rappresentano una strategia sempre più importante per prevenire le infezioni associate ai dispositivi medici, integrando i miglioramenti nelle tecniche asettiche, nel controllo della sterilità ambientale e nella profilassi antibiotica perioperatoria. Questi materiali devono soddisfare requisiti specifici in termini di potenza e spettro di attività, in base al tasso di rischio e all'eziologia delle infezioni nei contesti di utilizzo.

I biomateriali antibatterici vengono utilizzati, oltre che per conferire proprietà bioattive anti-infettive ai dispositivi medici, anche per la somministrazione di farmaci per la prevenzione, trattamento o riduzione delle infezioni.

Gli approcci sviluppati per ottenere biomateriali con proprietà anti-infettive è molto ampia, e la revisione della letteratura si pone come obiettivo l'analisi delle numerose soluzioni proposte per controllare la colonizzazione batterica e le infezioni nei dispositivi medici.

Nonostante la disponibilità di nuovi biomateriali promettenti, le informazioni disponibili sulla loro efficacia clinica sono limitate o incomplete; infatti, molti studi si basano su dati preclinici, mentre gli studi che si basano su dati clinici hanno mostrato risultati inconcludenti o contraddittori.

Di conseguenza, è fondamentale proseguire nella valutazione delle singole strategie anti-infettive sulla base dei dati disponibili, evidenziando i potenziali vantaggi e le possibili problematiche. Solamente attraverso studi clinici rigorosi e ben progettati sarà possibile determinare l'efficacia e la sicurezza dei biomateriali anti-infettivi nella pratica clinica.

Nello studio di Martin B. Bezuidenhout et al. [4] sulla diffusione di vancomicina da cubi in lega di titanio, prodotti attraverso la tecnologia LaserCUSING di polvere di Ti6Al4V ELI, ha dimostrato la possibilità di introdurre questa tecnologia negli impianti per prevenire le infezioni batteriche.

Per la ricerca futura potrebbe essere importante riuscire ad integrare ai cubi in lega di titanio altri composti, come gli antinfiammatori, portando potenzialmente a una significativa riduzione dei tempi in sala operatoria e dei costi medici complessivi.

Dallo studio di Martin B. Bezuidenhout, Dimitar M. Dimitrov, Anton D. van Staden, Gert A. Oosthuizen, Leon M. T. Dicks [5] emerge che le infezioni postoperatorie nelle artroplastiche totali d'anca (THA) rappresentano una grave complicazione, con elevati costi, e spesso comporta la revisione dell'impianto.

Queste problematiche pongono in evidenza la necessità di continui miglioramenti e valutazioni di alternative nella prevenzione e nel trattamento.

L'evoluzione delle tecnologie di produzione additiva (AM), come la SLM (Selective Laser Melting) e l'EBM (Electron Beam Melting), consente la produzione diretta di parti metalliche di forma quasi netta. Queste tecnologie permettono di integrare funzionalità di somministrazione di farmaci nei componenti femorali senza cemento, affrontando le carenze

delle attuali strategie; tuttavia, questo progresso introduce nuove sfide nello sviluppo di tali impianti.

La produzione additiva di protesi rappresenta un'innovazione significativa nella prevenzione delle infezioni post-operatorie; di conseguenza, è fondamentale progredire con gli sviluppi tecnologici e condurre ulteriori studi clinici per portare gli impianti AM, con sistemi integrati di somministrazione di farmaci, lo standard per la prevenzione delle infezioni nei pazienti sottoposti a THA.

La collaborazione tra diversi professionisti quali ingegneri, medici e farmacologi sarà essenziale per introdurre queste tecnologie nella pratica clinica e migliorare la qualità della vita dei pazienti.

In conclusione, mentre le strategie tradizionali come l'ALBC e i rivestimenti antimicrobici offrono soluzioni praticabili per la prevenzione delle infezioni, le tecnologie AM rappresentano un significativo avanzamento nella progettazione di impianti medici. La capacità di integrare sistemi di somministrazione di farmaci direttamente negli impianti non solo migliora la gestione delle infezioni post-operatorie, ma apre anche nuove possibilità per la personalizzazione e l'efficienza terapeutica degli impianti ortopedici.

Bibliografia

- [1] Arciola CR, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton JW. Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. *Biomaterials*. 2012 Sep;33(26):5967-5982.
- [2] 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 Translat*. 2020 May 8;23:53-60.
- [3] Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces. *Biomaterials*. 2013 Nov;34(34):8533-8554.
- [4] Kurtz SM, Lau E, Schmier J, Ong KL, Zhao K, Parvizi J. Infection burden for hip and knee arthroplasty in the United States. *J Arthroplasty*. 2008 Oct;23(7):984-991.
- [5] Lehil MS, Bozic KJ. Trends in total hip arthroplasty implant utilization in the United States. *J Arthroplasty*. 2014 Oct;29(10):1915-1918.
- [6] Mueller B., Toeppel T., Gebauer M., and Neugebauer R., P. J. Bartolo, A. C. S. DeLemos, A. P. O. Tojeira et al., Innovative features in implants through beam melting—a new approach for additive manufacturing of endoprostheses, *Innovative Developments in Virtual and Physical Prototyping*, 2011, Taylor & Francis Group, London, UK, 519–523