**Progetto**

# **Titolo: Metodi** **per rimozione di biofilm batterico da materiale protesico.**

Le infezioni batteriche su protesi articolare rappresentano una grave complicanza in chirurgia protesica ortopedica e richiedono una accurata diagnosi microbiologica per assicurare la corretta gestione clinica dell’evento infettivo. Il tasso di infezione per le protesi di ginocchio è dello 0.8-1,9%, mentre per le protesi totali d’anca è dello 0.3-1.7%. Va inoltre considerato che con l'invecchiamento della popolazione e il miglioramento delle procedure chirurgiche, il numero degli interventi di protesi articolare è destinato ad aumentare e con esso il numero delle infezioni protesiche. L'impatto sulla salute pubblica in termini di mortalità (valutata tra l’1 e il 3%), morbilità e costi economici è destinato ad essere pesantissimo. Il costo economico delle infezioni su protesi articolari risulta assai elevato e presenta un incremento importante quando i trattamenti farmacologici e no, non sono ottimali.

Negli ultimi anni in questo particolare settore si sta osservando un grande interesse di innovazione nella costruzione di materiali biocompatibili protesici che abbiano proprietà antibatteriche, nell’ideazione di metodi per la rimozione di biofilm batterico da materiale protesico e nella formulazione di percorsi diagnostici innovativi che permettano un precoce ed appropriato trattamento in caso di infezione. Nonostante ciò, non poche sono le zone d'ombra in cui ancora persistono questioni irrisolte o controverse.

**RAZIONALE E OBIETTIVI**

L’obiettivo di questo progetto è quello di valutare l’efficacia del lavaggio/debridement piezoelettrico vs il lavaggio/debridement con lavaggio pulsato (metodo standard), nel rimuovere/ridurre i batteri che producono biofilm e nel rimuovere il biofilm stesso su materiali di diversa natura: dischetti di polietilene, titanio, acciaio ed osso di banca.

**PROCEDURE OPERATIVE**

I due metodi di lavaggio confrontati sono i seguenti:

• Pistola a getto pulsato

• Bisturi piezoelettrico PIEZOSURGERY®Mectroncon punta in PEEK.

Si valuterà solo l’azione combinata di debridement meccanico e cavitazione.

Valutazione delle diverse modalità di applicazione del dispositivo “bisturi piezoelettrico (tempi di attivazione, quantità di irrigazione e potenze in uso) per determinare le condizioni di massima efficacia del dispositivo.

La prima fase del progetto prevede l’individuazione e l’isolamento dei quattro ceppi batterici di interesse:

1 ceppo di *Staphylococcus aureus* Sensibile alla Meticillina isolato da sepsi (MSSA/sepsi)

1 ceppo di *Staphylococcus aureus* Resistente alla Meticillina isolato da sepsi (MRSA/sepsi)

1 ceppo di *Staphylococcus aureus* Sensibile alla Meticillina isolato da protesi ortopedica (MSSA/protesi)

1 ceppo di *Staphylococcus aureus* Resistente alla Meticillina isolato da protesi ortopedica (MRSA/protesi)

La seconda fase del progetto prevede l’allestimento, il mantenimento delle sospensioni batteriche e la determinazione della concentrazione di cellule per volume di sospensione per ciascun ceppo considerato.

La terza fase del progetto prevede alcune prove preliminari per stabilire le condizioni operative (concentrazione delle sospensioni batteriche, tempo e temperatura di incubazione) per eseguire l’infezione dei dischetti di materiali diversi.

***Primo esperimento***:

a) Infezione e trattamento dei dischetti di materiale di diversa natura con i quattro differenti ceppi di *Staphylococcus aureus* (4 dischetti per ogni ceppo).

Il protocollo prevede il seguente schema:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Dischetti di polietilene** | **lavaggio/debridement piezoelettrico** | **Non trattato** | **lavaggio/debridement lavaggio pulsato** | **Non trattato** | **Totale** |
| MSSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MSSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Totale | 4 | 4 | 4 | 4 | **16** |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Dischetti di titanio** | **lavaggio/debridement piezoelettrico** | **Non trattato** | **lavaggio/debridement lavaggio pulsato** | **Non trattato** | **Totale** |
| MSSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MSSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Totale | 4 | 4 | 4 | 4 | **16** |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Dischetti di acciaio** | **lavaggio/debridement piezoelettrico** | **Non trattato** | **lavaggio/debridement lavaggio pulsato** | **Non trattato** | **Totale** |
| MSSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MSSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Totale | 4 | 4 | 4 | 4 | **16** |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Dischetti di osso di banca** | **lavaggio/debridement piezoelettrico** | **Non trattato** | **lavaggio/debridement lavaggio pulsato** | **Non trattato** | **Totale** |
| MSSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/sepsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MSSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| MRSA/protesi | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Totale | 4 | 4 | 4 | 4 | **16** |

b) Esecuzione di prove microbiologiche per la valutazione dell’efficacia dell’effetto antibatterico ottenuto dopo trattamento, da eseguire direttamente sui vari dischetti trattati (vedi schema).

c) Esecuzione di prove microbiologiche per identificare la presenza di batteri e la loro vitalità, su

campioni di residui liquidi derivati dai trattamenti del lavaggio/debridement piezoelettrico e del lavaggio/debridement lavaggio pulsato, sempre secondo lo schema riportato sopra.

c) Analisi dei risultati e disegno del secondo esperimento.

***Secondo esperimento***

In questa parte sono solo tratteggiati i principali passaggi perché la completa descrizione dell’esperimento potrà essere definita solo dopo aver esaminato i risultati delle prove del primo esperimento.

a) Infezione e trattamento dei dischetti di materiale di diversa natura con i quattro differenti ceppi di *Staphylococcus aureus* (4 dischetti per ogni ceppo).

Per ciascun materiale saranno utilizzati almeno 88 dischetti infettati con i 4 diversi ceppi di *Staphylococcus aureus* ⇒ 40 sottoposti a lavaggio/debridement piezoelettrico + 4 non trattati e 40 lavaggio/debridement lavaggio pulsato + 4 non trattati.

b) Esecuzione delle prove microbiologiche per la valutazione dell’efficacia dell’effetto antibatterico ottenuto dopo il trattamento dei diversi dischetti.

c) Analisi dei risultati finali e valutazione dei risultati mediante il test di permutazione (Monte Carlo permutation).

**Diagramma di Gantt**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Attività** |  |  |  |  |  |  |
|  | +1 mese | +2 mesi | +3mesi | +4 mesi | +5 mesi | +6 mesi |
| Prima, seconda e terza fase |  |  |  |  |  |  |
| Primo esperimento |  |  |  |  |  |  |
| Discussione dei risultati  e disegno del secondo esperimento |  |  |  |  |  |  |
| Secondo esperimento |  |  |  |  |  |  |
| Analisi dei risultati |  |  |  |  |  |  |