

# Prevenzione delle infezioni peri-protesiche mediante rivestimento riassorbibile anti-batterico: un nuovo approccio?

C.L. Romanò<sup>1,a</sup> (✉), L. Drago<sup>2</sup>, G. Giavaresi<sup>3</sup>, V. Sambri<sup>4</sup>, M. Fini<sup>3</sup>, W. Boot<sup>5</sup>, G.M. Hänsch<sup>6</sup>, E. Meani<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Centro di Chirurgia Ricostruttiva e delle Infezioni Osteo-articolari (C.R.I.O.), Istituto Ortopedico IRCCS Galeazzi, Via Riccardo Galeazzi, 4, 20161, Milano, Italia

<sup>2</sup>Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologiche, Istituto Ortopedico IRCCS Galeazzi, Milano, Italia

<sup>3</sup>Laboratorio di Studi Preclinici e Chirurgia Sperimentale, Istituto Ortopedico IRCCS Rizzoli, Bologna, Italia

<sup>4</sup>Unità di Microbiologia, Laboratorio Centrale Area Vasta Romagna - AUSL, Pievesestina, Cesena, Italia

<sup>5</sup>Department of Orthopaedics, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Paesi Bassi

<sup>6</sup>Institut für Immunologie, Universität Heidelberg, Heidelberg, Germania

<sup>7</sup>Istituto Clinico San Siro, Milano, Italia

<sup>a</sup>[carlo.romano@grupposandonato.it](mailto:carlo.romano@grupposandonato.it)

---

**ABSTRACT – PREVENTION OF IMPLANT-RELATED INFECTIONS BY A RESORBABLE, ANTIBACTERIAL-LOADED COATING: A NEW APPROACH**

*Currently studied antibacterial coatings are far from having large-scale applications, due to various limitations. A recently developed fast resorbable, antibacterial-loaded, hydrogel coating may provide a new approach to offer an effective antibacterial and antibiofilm protection to orthopedic implants.*

Publicato online: 13 dicembre 2013

© The Author(s) 2013. This article is published with open access at Springerlink.com

## Introduzione

Le infezioni peri-protesiche rappresentano attualmente il primo e il terzo motivo di revisione, rispettivamente dopo protesi totale di ginocchio e d'anca, negli Stati Uniti [1, 2]. Quando un biomateriale viene impiantato nel corpo umano, si sviluppa una "corsa alla superficie" tra cellule dell'ospite e batteri eventualmente presenti [3–5]. I batteri hanno il vantaggio, rispetto alle cellule del sistema immunitario, di processi riproduttivi più veloci e di una estrema capacità di adattamento all'ambiente, con immediata formazione di un "biofilm" di protezione già dopo poche ore dall'adesione sull'impianto. Gli studi indicano che la presenza di biomateriali impiantati riduce anche di 10.000 volte il numero di batteri necessari per causare un'infezione [5]. Una volta che un biofilm si è formato, è difficile da trattare poiché i batteri sono protetti sia dalla fagocitosi sia da eventuali antibiotici. Per tutti questi motivi, avendo constatato i limiti degli antibiotici sistemici nel trattamento e nella prevenzione delle infezioni correlate a biofilm, la ricerca si è rivolta allo sviluppo di rivestimenti dei biomateriali impiantabili, allo scopo

di prevenire l'adesione e colonizzazione batterica e la formazione del biofilm [6–8]. Tuttavia le tecnologie finora studiate sono state ben lungi dal soddisfare tutte le esigenze di sicurezza, efficacia, facilità d'uso, costi e adempimenti regolatori che sono necessari per un impiego su larga scala. In questo panorama in evoluzione, nell'ambito di un progetto multicentrico internazionale finanziato dalla Comunità Europea ([www.i-dac.eu](http://www.i-dac.eu)), è stato sviluppato un nuovo rivestimento riassorbibile antibatterico (DAC<sup>®</sup>, Novagenit Srl, Mezzolombardo, Italia), disegnato specificamente per prevenire le infezioni correlate a biofilm.

Caratteristiche principali di tale rivestimento, costituito da un idrogel brevettato, sono:

- l'efficacia, in quanto offre protezione degli impianti nei confronti della colonizzazione batterica per il tempo necessario a vincere la "corsa alla superficie"
- la sicurezza, mediante il rilascio completo di un'alta concentrazione locale del farmaco attivo e un veloce riassorbimento dell'idrogel (entro 96 ore dall'impianto); questo è essenziale per evitare lo sviluppo di resistenza agli an-

tibiotici e per superare i possibili rischi di effetti a lungo termine sulla guarigione ossea

- la versatilità, permettendo di aggiungere intra-operatoriamente l'idrogel con diversi agenti antibatterici e antibiofilm, per soddisfare le esigenze del paziente e l'evoluzione delle conoscenze
- la facilità d'uso, con un tempo di applicazione sull'impianto di pochi minuti
- il costo contenuto, per consentire un'applicazione su vasta scala.

Riportiamo brevemente alcuni dei risultati principali degli studi preclinici condotti finora.

### Attività antibatterica e antibiofilm *in vitro*

Tutti gli esperimenti riportati sono stati eseguiti utilizzando il prodotto brevettato DAC<sup>®</sup> (Novagenit Srl, Mezzolombardo, Italia), che ha recentemente ottenuto il marchio CE come dispositivo medico, destinato a essere utilizzato come rivestimento antibatterico di protesi articolari e di osteosintesi. Il prodotto, che ha dimostrato di soddisfare le norme relative agli standard di sicurezza per l'impiego nell'uomo (UNI EN ISO 11137—10993-1, 10993-3, 10993-5, 10993-6, 10993-9, 10993-10, 10993-11, 10993-13, ISO 13781:1997, ASTM F 1635-11), è composto da acido ialuronico, legato in modo covalente a poli-D, L-lattato; DAC<sup>®</sup> si propone come un kit completamente funzionale e monouso, composto da due unità confezionate separatamente: una siringa contenente la polvere di DAC<sup>®</sup> e un kit per la ricostituzione del gel, eventualmente addizionato con un farmaco antibatterico (Fig. 1).

### Studi di rilascio

Il rilascio di diversi antibatterici (vancomicina, gentamicina, tobramicina e amikacina Na-salicilato), addizionati a DAC<sup>®</sup> secondo una stessa procedura ("Preparazione di IDAC doc. n. WIN-52", Novagenit Srl), è stato testato mediante tecnica spettrofotometrica e microbiologica su superfici diverse (cromo-cobalto, Co-Cr; polietilene, PE; titanio sabbiato, Ti) e in soluzioni diverse (siero o plasma umano, PBS, FCS). In tutti i casi si è osservato un picco di rilascio a 2–4 ore dall'applicazione, indipendentemente dal composto o dalla superficie (Fig. 2). Dopo 48–72 ore, il rilascio della maggior parte dei composti era completo. La concentrazione del composto rilasciato, valutata a 96 ore, era direttamente proporzionale alla concentrazione iniziale. Così, quando si è usata una concentrazione iniziale di 20 mg/ml, il livello raggiunto dopo 96 ore è stato di 200–300 µg/ml, mentre quando la concentrazione iniziale era di 2 mg/ml, a 96 ore si è registrata una concentrazione di circa 20 µg/ml.



**Fig. 1 - Rivestimento DAC<sup>®</sup> applicato su uno stelo protesico femorale con superficie in titanio sabbiato (Recta, AdlerOrtho Srl)**

### Attività antibatterica e antibiofilm

Le concentrazioni minime inibenti (MIC) di alcuni composti addizionati all'idrogel—gentamicina (256 µg/ml), vancomicina (256 µg/ml) e N-acetilcisteina (100 µg/ml)—sono rappresentate nella Tabella 1. L'idrogel DAC<sup>®</sup> da solo non ha mostrato una misurabile attività antibatterica, mentre le MIC degli antibiotici testati in combinazione con DAC<sup>®</sup> sono risultate diminuite, dimostrando l'effetto sinergico dell'associazione tra l'idrogel e gli antibiotici esaminati. L'attività antibiofilm di DAC<sup>®</sup> addizionato con vari antibatterici rispetto a quella di DAC<sup>®</sup> idrogel da solo, studiata secondo la metodica descritta da Christensen et al. [9], è riportata nella Tabella 2. I dati sono sovrapponibili sia per *Staphylococcus aureus* sia per *S. epidermidis* e su superfici di titanio sabbiato, Co-Cr o PE.

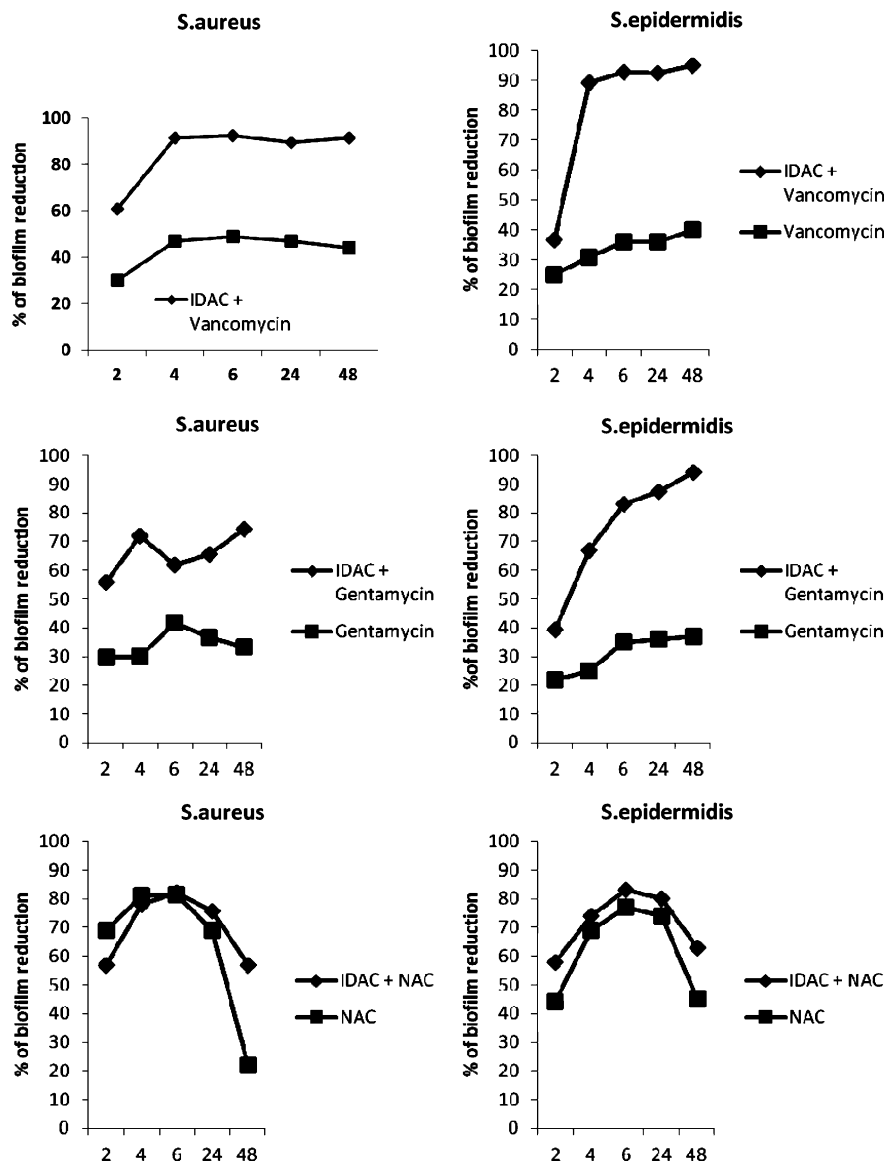
### Studi *in vivo*

Gli studi sono stati condotti su un modello animale (coniglio) di infezione post-chirurgica correlata a materiale impiantabile, presso il Laboratorio di Chirurgia Sperimentale dell'IRCCS Rizzoli di Bologna e l'University Medical Center di Utrecht (Paesi Bassi). Gli studi sono stati approvati dai rispettivi comitati etici.

### Studi sulla sicurezza

Non si sono osservati segni infiammatori o degenerativi locali, o variazioni nella struttura microscopica del tessuto osseo in conigli trattati mediante introduzione nel canale femorale di idrogel DAC<sup>®</sup>, rispetto ai controlli trattati mediante applicazione di Hyalgan<sup>®</sup>. L'effetto di una contaminazione locale chirurgica è stato simulato mediante inoculi batterici progressivamente crescenti ( $10^2$ – $10^3$ – $10^4$ – $10^5$ – $10^6$  colony forming units (CFU), *Staphylococcus aureus* Wood 46; ATCC 10832) durante l'impianto di un chiodo endomidollare in titanio sabbiato (AdlerOrtho, Milano), rivestito con

**Fig. 2 - Attività antibiofilm su ceppi di *Staphylococcus aureus* o di *S. epidermidis* di diverse formulazioni dell'idrogel DAC<sup>®</sup>, addizionato con vancomicina, gentamicina o N-acetilcisteina (NAC) (in ascissa il tempo misurato in ore); l'associazione presenta maggiore attività antibiofilm rispetto a vancomicina o gentamicina usate da sole ( $p < 0,05$ ) a ogni intervallo temporale studiato**



idrogel DAC<sup>®</sup>, nella tibia di coniglio (New Zealand White Rabbits, Charles River, Francia); non si è utilizzata profilassi antibiotica sistemica. Gli esami istologici e microbiologici effettuati dopo quattro settimane dall'impianto hanno dimostrato che l'idrogel DAC<sup>®</sup> non ha alcuna interferenza con l'osteointegrazione locale, anche in presenza di bassi inoculi batterici ( $10^2$ ) (Fig. 4); per tale livello di inoculo non si sviluppano segni locali o generali di infezione e si osserva formazione di nuovo osso intorno all'impianto. Per inoculi superiori si osservano con frequenza e gravità progressivamente maggiori i segni di una infezione locale e un'alterazione dei parametri sierologici infiammatori; con l'inoculo maggiore, di  $10^6$ , si assiste alla diffusione dell'infezione per via ematica e alla comparsa di infezioni anche in altre sedi.

#### Studi sull'efficacia

La Fig. 3 riporta l'effetto del rivestimento di idrogel DAC<sup>®</sup>, caricato con vancomicina 5%, nella prevenzione dell'infezione indotta da alto inoculo intra-operatorio ( $10^5$  CFU) di *Staphylococcus aureus* (Wood 46—ATCC 10832). In questo studio, condotto presso l'Università di Utrecht, 18 conigli sono stati divisi in tre gruppi sperimentali:

- no idrogel ( $N = 6$ )
- solo idrogel ( $N = 6$ )
- idrogel + vancomicina 5% ( $n = 6$ ).

In nessun gruppo è stata utilizzata profilassi antibiotica sistemica. Tutti i conigli hanno ricevuto un chiodo in titanio sabbato endomidollare di tibia. La cavità tibiale è stata contaminata con un alto inoculo di 100 microlitri di soluzio-

**Tabella 1** Concentrazioni minime inibenti (MIC) verso specie batteriche differenti del rivestimento DAC<sup>®</sup> posto su una superficie di titanio, da solo o in combinazione con vari agenti antibatterici. Si nota

l'effetto sinergico della combinazione DAC<sup>®</sup> e antibiotico rispetto a ognuno dei singoli componenti

Microorganismo	Vancomicina µg/ml			Gentamicina µg/ml			N-acetilcisteina µg/ml		
	Solo antibiotico	Solo DAC <sup>®</sup>	DAC <sup>®</sup> + antibiotico	Solo anti-biotico	Solo DAC <sup>®</sup>	DAC <sup>®</sup> + antibiotico	Solo antibiotico	Solo DAC <sup>®</sup>	DAC <sup>®</sup> + antibiotico
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5	>128	0,5	2	>128	<b>1</b>	25	>50	<b>6,125</b>
<i>S. epidermidis</i>	4	>128	<b>1</b>	2	>128	<b>0,5</b>	12,5	>50	<b>6,125</b>
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	>128	<b>0,5</b>	>128	>128	<b>64</b>	25	>50	<b>6,125</b>
<i>Escherichia coli</i>				8	>128	<b>4</b>	25	>50	<b>6,125</b>
<i>Acinetobacter baumannii</i>							12,5	>50	<b>6,125</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							25	>50	<b>6,125</b>

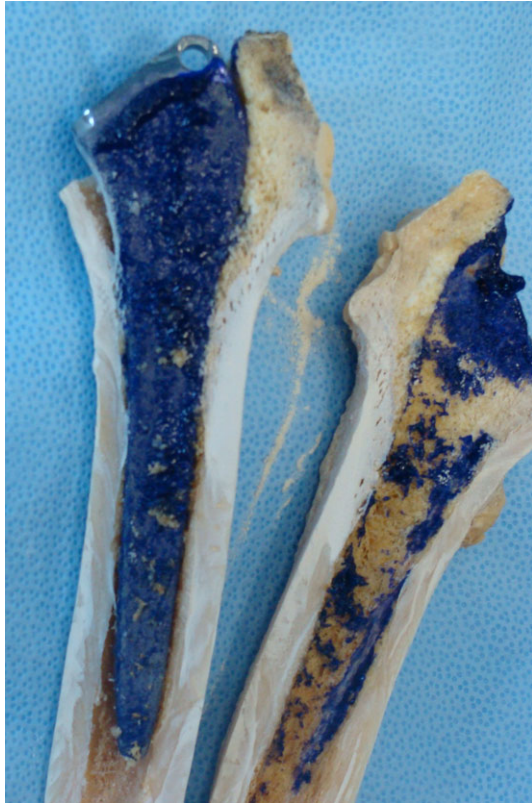
**Tabella 2** Inibizione della crescita e del biofilm di *Staphylococcus aureus* da parte del gel DAC<sup>®</sup> addizionato con vari farmaci, rispetto al gel da solo (esperimenti su dischi di titanio. Media di tre ripetizioni)

Antibiotico	Concentrazione	Inibizione del biofilm		Inibizione della crescita batterica	
		Misurato dopo		Misurato dopo	
		48 ore	5-7 giorni	48 ore	5-7 giorni
<b>Gentamicina</b> (Refobacin, Merck)	40 mg/ml	100%	0%	100%	0%
	10 mg/ml	25%	0%	0%	0%
<b>Rifampicina</b> (Eremfat; Riemsler)	50 mg/ml	100%	100%	0%	50%
	10 mg/ml	100%	100%	0%	40%
<b>Vancomicina</b> (Calbiochem)	50 mg/ml	100%	100%	100%	100%
	10 mg/ml	100%	100%	100%	100%
<b>Ciprofloxacina</b> (Ciprobay, Bayer)	1 mg/ml	100%	100%	100%	100%
<b>Daptomicina</b> (Cubicin, Novartis)	50 mg/ml	100%	100%	100%	100%
	10 mg/ml	100%	100%	100%	100%
<b>Meropenem</b> (Hospira)	50 mg/ml	<b>100%</b>	100%	100%	100%
	10 mg/ml	100%	100%	80%	100%
<b>N-acetilcisteina</b> (Sigma)	20 mg/ml	100%	100%	100%	100%
	2 mg/ml	60%	50%	100%	100%
	1 mg/ml	60%	50%	100%	100%
	0,2 mg/ml	0%	0%	0%	0%
<b>Diclofenac</b> (Sigma)	20 mg/ml	100%	100%	20%	0%
	4 mg/ml	100%	100%	0%	0%

ne contenente 10<sup>5</sup> CFU di *S. aureus* appena prima dell'impianto. Dopo 28 giorni, si è osservato che il gruppo "idrogel + vancomicina" non mostrava alterazione dei parametri sierometrici (conta dei neutrofili, velocità di eritrosedimentazione, VES) o perdita di peso, a differenza degli altri due gruppi ( $p < 0,05$ ). Cinque dei sei conigli del gruppo

"no idrogel" erano positivi per la presenza di batteri a livello tibiale, così come nel gruppo "solo idrogel" (si noti che un coniglio in questo gruppo era morto al giorno 4). Nessuno dei conigli del gruppo "idrogel + vancomicina" aveva colture batteriche positive. La differenza tra il gruppo idrogel + vancomicina e il gruppo idrogel da solo o chio-





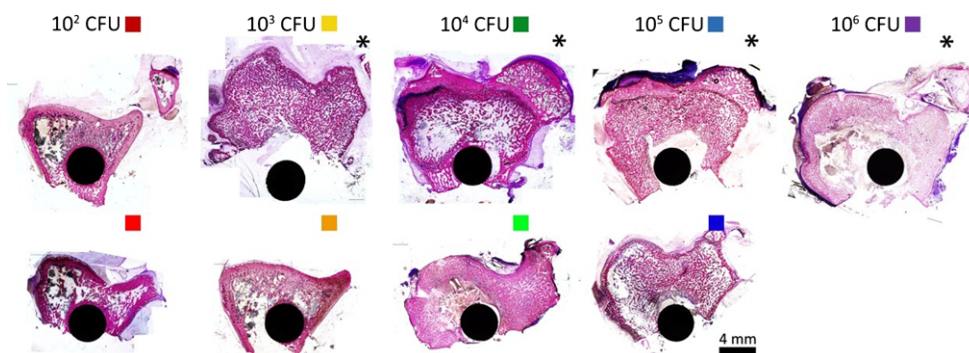
**Fig. 3 - Rivestimento DAC<sup>®</sup> addizionato con vancomicina 2% e blu di metilene 1% su uno stelo standard non cementato (Recta<sup>®</sup>, AdlerOrtho Srl, Milano), impiantato in un femore umano mediante l'usuale procedura e strumentario. Immagine dopo apertura del femore a metà, mediante sega oscillante. Notare l'omogenea copertura blu lungo tutto l'impianto. Una piccola parte del gel aderisce alla superficie interna del canale diafisario. Si osservano anche frammenti di tessuto spongioso, di colorito giallastro, adesi alla protesi**

do senza rivestimento è risultata statisticamente significativa ( $p = 0,002$  e  $p = 0,01$ , rispettivamente, *Fisher exact test-two tailed*) (Fig. 5).

In un altro studio, condotto presso l'Istituto Rizzoli di Bologna su un ceppo batterico selvaggio di *S. aureus* meticillino-resistente (MRSA), usando un *setting* sperimentale simile, ma con inoculo di un volume maggiore di sospensione batterica (200 microlitri di soluzione contenente  $10^4$  o  $10^6$  CFU), si è osservato, pur in presenza di profilassi sistemica con vancomicina, che il gruppo di conigli trattato con rivestimento DAC<sup>®</sup> e vancomicina al 2% o al 5% ha avuto colture ematiche negative in tutti i casi (mentre le colture erano positive in tutti i controlli) e conta batterica endomidollare, ossea e del chiodo significativamente inferiore ( $p < 0,05$ ) rispetto ai gruppi di controllo non trattati con il rivestimento antibiotato, con una riduzione della carica locale in tutti i siti di indagine variabile tra il 72 e il 99%.

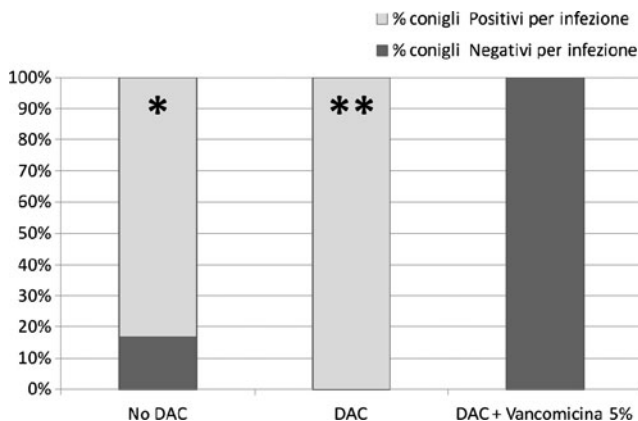
#### Test di resistenza al trascinamento

Per valutare la resistenza del rivestimento DAC<sup>®</sup> all'inserimento a "press-fit" di un impianto nell'osso, sono stati condotti studi sia su un modello animale sia su femori umani. A questo scopo si sono mescolati 60 mg di DAC<sup>®</sup> in polvere con 1 ml di acqua per preparazioni iniettabili, contenente 1% di blu di metilene (Merck, Germania). Il gel è stato poi applicato su un chiodo endomidollare in titanio sabbato (diametro 4,0 mm, lunghezza 25 mm, rugosità superficiale media 5,6 micrometri), finché l'impianto era completamente coperto. Un foro di 4,1 mm di diametro è stato quindi praticato nel canale midollare della tibia, dal piatto tibiale di 6 conigli (New Zealand White, forniti dal Central Laboratory Animal Research Facility, Utrecht). Dopo introduzione dei chiodi nelle tibie così preparate, si è proceduto



**Fig. 4 - Quadro istologico di tibie di conigli (colorazione con fucsina basica e blu di metilene) sottoposti a impianto di un chiodo endomidollare (cerchio nero), rivestito con DAC<sup>®</sup> non addizionato di farmaci antibatterici e contemporanea contaminazione con inoculi batterici progressivamente crescenti ( $10^2$ - $10^3$ - $10^4$ - $10^5$ - $10^6$  CFU di *Staphylococcus aureus* Wood 46; ATCC 10832), in assenza di profilassi antibiotica**

sistemica. Quattro settimane dopo l'impianto si osserva che il rivestimento con DAC<sup>®</sup> non ha alcuna interferenza con l'osteointegrazione locale anche in presenza di basso inoculo batterico ( $10^2$ ), mentre inoculi superiori (asterischi) determinano la progressiva maggiore frequenza e gravità di alterazioni ossee e infiammatorie reattive (la barra di misura rappresenta 4 mm)



**Fig. 5 - Infezione dell'impianto (chiodo endomidollare in titanio) in tre gruppi di conigli, trattati rispettivamente senza rivestimento DAC<sup>®</sup>, con rivestimento DAC<sup>®</sup>, con rivestimento DAC<sup>®</sup> addizionato con vancomicina 5%. Inoculo batterico (*Staphylococcus aureus* ATCC 10832) al momento dell'impianto con carica batterica elevata ( $10^5$ ), in assenza di profilassi antibiotica sistemica. La differenza tra il gruppo trattato con rivestimento DAC<sup>®</sup> addizionato con vancomicina 5% e il gruppo DAC<sup>®</sup> da solo o chiodo senza rivestimento DAC<sup>®</sup> è risultata statisticamente altamente significativa ( $p = 0,002^{**}$  e  $p = 0,01^*$ , rispettivamente, Fisher exact test-two tailed)**

a segarle a metà con una sega elettrica. Si è così verificato, mediante fotografie e il peso del gel rimasto sugli impianti, che circa il 70% del rivestimento DAC<sup>®</sup> era ancora presente sull'impianto, mentre il rimanente gel si trovava sulla superficie interna della tibia, a diretto contatto con l'impianto. La distribuzione del gel appariva omogenea lungo tutto l'impianto.

Risultati simili si sono osservati, ripetendo la stessa procedura, con femori umani e con inserimento di uno stelo femorale standard in titanio sabbiato (rugosità media: 6 micrometri) (Recta<sup>®</sup>, AdlerOrtho Srl, Milano), utilizzando 300 mg di DAC<sup>®</sup> in polvere, ricostituito con 5 ml di acqua per preparazioni iniettabili contenente 1% di blu di metilene (Merck, Germania) e, in 6 casi, anche vancomicina a una concentrazione del 2%. Con 5 ml di gel è stato possibile rivestire fino a due steli femorali di dimensioni medie. Il tempo di applicazione del gel è risultato essere di 3–5 minuti. Dopo l'inserimento della protesi e l'apertura del femore, si è potuto notare che diverse porzioni dell'osso spugnoso erano rimaste aderenti alla protesi, confermando la notevole adesione dell'idrogel e la completa assenza di trascinamento visibile. In media, il  $78 \pm 16\%$  del rivestimento DAC<sup>®</sup> (range 71–85%) è risultato ancora presente sull'impianto, mentre il rimanente gel era visibile lungo il canale femorale, nella porzione corrispondente alla protesi.

## Conclusioni

Le infezioni correlate agli impianti rappresentano una delle complicanze più gravi in ortopedia e traumatologia. Sebbene siano stati proposti diversi rivestimenti antibatterici per prevenire la colonizzazione batterica e la formazione di biofilm, le tecnologie disponibili sono ben lungi dall'essere applicabili su larga scala, a causa di varie limitazioni, tra cui i possibili effetti a lungo termine sulla resistenza batterica e sull'osteointegrazione, mentre questioni normative e costi hanno finora ritardato l'utilizzo su vasta scala di molte tecnologie [3, 6–8].

L'utilizzo di un idrogel rapidamente riassorbibile, in grado di veicolare localmente composti antibatterici, rappresenta una nuova alternativa in questo panorama. Gli studi preclinici, qui passati brevemente in rassegna e già recentemente comunicati a congressi e in via di pubblicazione su riviste internazionali, dimostrano l'efficacia del gel studiato nel rilasciare elevate quantità di diversi agenti antibatterici nel breve periodo. Ciò permette di ottenere un'elevata protezione dell'impianto nel momento critico del suo inserimento nel corpo umano, evitando allo stesso tempo i rischi potenziali legati a una persistenza prolungata.

Gli studi sull'animale eseguiti finora confermano la capacità di tale prodotto e del rapido rilascio locale di agenti antibatterici di interferire nella "corsa alla superficie" in modo favorevole all'ospite. Da notare che questa è la prima volta che viene sviluppato un dispositivo medico specifico, volto a "truccare" la competizione per la colonizzazione dell'impianto che solitamente si svolge tra cellule dell'ospite ed eventuali batteri contaminanti presenti [10]. Le implicazioni cliniche e scientifiche di tale nuovo approccio sono probabilmente ancora in gran parte da scoprire.

La sicurezza e l'efficacia finora dimostrate, la facilità di impiego e la versatilità del prodotto, addizionabile con diversi farmaci antibatterici e antibiofilm, ne fanno un potenziale partner ideale per l'uso su larga scala nella prevenzione delle infezioni correlate agli impianti in ortopedia e traumatologia.

I risultati di ulteriori studi *in vivo*, già in corso presso l'Università di Utrecht, e degli studi clinici in programma in quattro centri europei (Italia, Olanda, Grecia e Belgio) permetteranno di fornire nel prossimo futuro ulteriori conoscenze sui possibili vantaggi e limiti di questa nuova promettente tecnologia.

**CONFLITTO DI INTERESSE** Ciascun autore certifica che di non avere rapporti commerciali che possono porre un conflitto di interesse con il presente articolo. Parte dei dati presentati sono tratti dallo studio multicentrico europeo "Implant Disposable Antibacterial Coating (I.D.A.C.): a Novel Approach to Implant-Related Infections in Orthopaedics and Trauma Surgery", finanziato dalla Commissione Europea, nel quadro del "7th Framework Programme on Research Technological Development and Demonstration" (grant no. 277988).

Gli studi in vivo, condotti presso l'Istituto Rizzoli di Bologna, sono stati finanziati da Novagenit Srl.

**OPEN ACCESS** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

## Bibliografia

1. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E et al (2010) The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States. *Clin Orthop Relat Res* 468:45–51
2. Kurtz S, Ong K, Lau E et al (2007) Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Jt Surg Am* 89:780–785
3. Arciola CR (2009) New concepts and new weapons in implant infections. *Int J Artif Organs* 32:533–536
4. Barth E, Myrvik QM, Wagner W, Gristina AG (1989) In vitro and in vivo comparative colonization of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* on orthopaedic implant materials. *Biomaterials* 10:325–328
5. Petty W, Spanier S, Shuster JJ, Silverthorne C (1985) The influence of skeletal implants on incidence of infection. Experiments in a canine model. *J Bone Jt Surg Am* 67:1236–1244
6. Drago L, De Vecchi E, Mattina R, Romanò CL (2013) Activity of N-acetyl-L-cysteine against biofilm of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* on orthopedic prosthetic materials. *Int J Artif Organs* 36:39–46
7. Romanò CL, Toscano M, Romanò D, Drago L (2013) Antibiofilm agents and implant-related infections in orthopaedics: where are we? *J Chemother* 25:67–80
8. Tsuchiya H, Shirai T, Nishida H et al (2012) Innovative antimicrobial coating of titanium implants with iodine. *J Orthop Sci* 17:595–604
9. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ et al (1985) Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 22:996–1006
10. Moojen DJ, Vogely HC, Fleer A et al (2009) Prophylaxis of infection and effects on osseointegration using a tobramycin-periapatite coating on titanium implants—an experimental study in the rabbit. *J Orthop Res* 27:710–716