

CASE SERIES

## L-PRF (fibrina ricca in leucociti e piastrine): uso in tre casi di ulcera diabetica con osteomielite cronica

### L-PRF (fibrin rich in leukocytes and platelets): Use in three cases of diabetic Ulcer with chronic Osteomyelitis

A. Crisci<sup>1,2,3</sup>, G. Marotta<sup>3</sup>, G. Benincasa<sup>4</sup>, M. Crisci<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Unit of Dermosurgery Cutaneous Transplantations and Hard-to-Heal Wound, "Villa Fiorita" Private Hospital, 81031 Aversa CE, Italy. <sup>2</sup> School of Medicine, University of Salerno Italy, 84084 Fisciano SA, Italy. <sup>3</sup> Institute for the Studies and Care of Diabetcs, Abetaia, 81020 Casagiove CE, Italy. <sup>4</sup> Pathological Anatomy, "Pineta Grande" Private Hospital, 81030 Castelvoturno CE, Italy. <sup>5</sup> Faculty of Medicine and Surgery, Vasile Goldis Western University of Arad, 310025 Arad, Romania

Corresponding author: [alessandrocrisci@libero.it](mailto:alessandrocrisci@libero.it)



OPEN  
ACCESS



PEER-  
REVIEWED

#### ABSTRACT

The hypothesis is that the use of fibrin rich in leukocytes and platelets (L-PRF) in osteomyelitis from ulcer on diabetic foot, allows recovery from this serious disease. In this study, the goal was to standardize the use of L-PRF in patients with osteomyelitis to direct it to healing.

The authors produced and used peripheral blood L-PRF membranes in 3 patients (all diabetics) with osteomyelitis with skin lesions for at least 6 months. The membranes, together with the supernatant liquid after compression, were inserted into the skin lesion up to the bone after surgical debridement. The evolution of lesions over time has been analyzed.

All three patients had positive Probe-to-Bone test, MRI detected cortico-periosteal thickening and / or focal points of cortico-spongiosa osteolysis in adjacency of the ulcer. Gram-positive bacteria were found in our patients in 52% of cases. Cocci Gram +, as *S. Aureus* (15.6%), *S. β-haemolytic* (12.1%), *S. Viridans* (7.1%) and Bacilli Gram- as *Pseudomonas* (10.6%), *Proteus* (7.8%), *Enterobacter* (5.7%) are present. *Candida* is present in 2.8%.

The blood count showed no major changes.

To date, all three patients have healed cutaneous lesions (a two year old patient) with no signs of infection, or recurrence.

The use of L-PRF in diabetic foot osteomyelitis will improve our understanding of wound healing, particularly in regenerative therapy of chronic skin lesions. The results obtained on our patients suggest that L-PRF membranes may be a therapeutic option in this difficult treatment pathology.

**Citation** A. Crisci, G. Marotta, G. Benincasa, M. Crisci (2018) Case Series. L-PRF (fibrina ricca in leucociti e piastrine): uso in tre casi di Ulcera Diabetica con Osteomielite Cronica. JAMD Vol. 21-3

**Editor** Luca Monge, Associazione Medici Diabetologi, Italy

**Received** May, 2018

**Accepted** September, 2018

**Published** October, 2018

**Copyright** © 2018 Crisci et al. This is an open access article edited by [AMD](#), published by [Idelson Gnocchi](#), distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding** The Authors received no specific funding for this work.

**Competing interest** The Authors declare no competing interests.

## RIASSUNTO

L'ipotesi è che l'uso di fibrina ricca di leucociti e piastrine (L-PRF) nell'osteomielite da ulcera su piede diabetico, consenta il recupero da questa grave patologia. In questo studio, l'obiettivo era di standardizzare l'utilizzo di L-PRF in pazienti con osteomielite, per utilizzare questo concentrato piastrinico di seconda generazione, come facilitatore della guarigione.

Gli autori hanno prodotto e utilizzato membrane L-PRF da sangue periferico in 3 pazienti (tutti i diabetici) con osteomielite con lesioni cutanee da almeno 6 mesi. Le membrane, insieme al liquido surnatante derivato dalla compressione, sono state inserite nella lesione cutanea fino all'osso dopo uno sbrigliamento chirurgico. È stata analizzata l'evoluzione delle lesioni nel tempo.

Tutti e tre i pazienti hanno avuto positività al test Probe-to-Bone, la RMN ha rilevato ispessimento cortico-periosteale e/o focolai di osteolisi della cortico-spongiosa in adiacenza dell'ulcera. Batteri Gram-positivi sono stati trovati nei nostri pazienti nel 52% dei casi. Cocci Gram +, come *S. Aureus* (15,6%), *S. β-emolitico* (12,1%), *S. Viridans* (7,1%) e Bacilli Gram- come *Pseudomonas* (10,6%), *Proteus* (7,8%), *Enterobacter* (5,7%) sono presenti. *Candida* è presente nel 2,8%. L'emocromo non mostrava alterazioni importanti.

Ad oggi, le lesioni cutanee sono guarite in tutti e tre i pazienti trattati (un paziente da più di due anni) senza segni di infezione, né di recidive.

L'uso di L-PRF nell'osteomielite da piede diabetico migliorerà la nostra comprensione sulla guarigione delle ferite, in particolare nella terapia rigenerativa delle lesioni cutanee croniche. I risultati ottenuti sui nostri pazienti suggeriscono che le membrane L-PRF possano essere un'opzione terapeutica in questa patologia di difficile trattamento.

## INTRODUZIONE

L'osteomielite (OM) (infezione ossea) si riferisce specificamente all'infezione del midollo osseo in contrasto con l'osteite in cui il periostio o la superficie corticale si infetta attraverso una ferita o un'ulcera penetrante. Nonostante queste differenze, i due sono clinicamente diagnosticati o trattati in modo molto simile. Molto è stato scritto sulla diagnosi di OM nel corso degli anni e, cosa più importante, su cosa complichino le ulcere del piede diabetico (DFU). L'OM che complica il piede diabetico deriva qua-

si sempre da una ferita contigua o da un'ulcera del piede<sup>(1)</sup>.

Mentre nei paesi meno industrializzati è più frequente in età infantile, nei paesi più sviluppati l'OM si verifica maggiormente negli adulti. L'incidenza mondiale è da 1:1.000 a 1:20.000 abitanti, in Italia 19.000 casi /anno, in Europa 100.000 casi/anno. Il rapporto Maschi:Femmine è 2:1.

Le infezioni delle ossa e delle articolazioni sono dolorose per i pazienti e frustranti per loro e per i medici che li curano. Gli alti tassi di successo della terapia antibiotica avutasi nella maggior parte delle malattie infettive non sono ancora stati raggiunti in questa patologia. I vari tipi di OM richiedono differenti strategie terapeutiche mediche e chirurgiche. I vari tipi di questa patologia includono, in ordine decrescente di frequenza: OM secondaria ad un focolaio contiguo di infezione (dopo trauma, intervento chirurgico o inserimento di una protesi articolare); quello secondario all'insufficienza vascolare (nelle infezioni del piede diabetico); o quello di origine ematogena. L'OM cronica è associata alla necrosi avascolare dell'osso ed alla formazione del sequestro (osso morto) e il debridement chirurgico è necessario per la cura oltre alla terapia antibiotica. Al contrario, l'OM acuta può rispondere ai soli antibiotici. In generale, è necessario un approccio multidisciplinare per un risultato di successo, che coinvolga le competenze di chirurgia ortopedica, malattie infettive e chirurgia plastica, così come di chirurgia vascolare, in particolare per i casi complessi con perdita dei tessuti molli<sup>(2,3)</sup>.

La fibrina ricca di piastrine (PRF) di Choukroun<sup>(4)</sup> è un concentrato piastrinico di seconda generazione, praticamente un superamento del PRP (Plasma ricco di piastrine), è, quindi, un nuovo passo nel concetto terapeutico del gel piastrinico con un design semplificato e piccole modifiche biochimiche artificiali. A differenza di altri concentrati piastrinici, questa tecnica non richiede anticoagulanti, trombina o qualsiasi altro agente gelificante, che rende il sangue non più di un centrifugato naturale senza additivi<sup>(5)</sup>. Sebbene le piastrine e le citochine leucocitarie giochino un ruolo importante nella biologia di questo biomateriale, la matrice fibrinica di supporto costituisce certamente il fattore decisivo del reale potenziale terapeutico del L-PRF. Entro pochi minuti, l'assenza di un anticoagulante consente l'attivazione della maggior parte delle piastrine contenute nel campione per innescare la cascata della coagulazione.

L'utilizzo di L-PRF nella DFU con OM non è noto agli Autori fino ad oggi.

**CASISTICA CLINICA**

Gli Autori hanno prodotto membrane L-PRF da sangue periferico di 3 pazienti (tutti diabetici) con OM su lesioni cutanee da almeno 6 mesi. Pertanto, è stata analizzata l'evoluzione delle lesioni nel tempo verso la guarigione.

Tutti i pazienti trattati hanno dato il loro consenso informato per l'inclusione prima di partecipare allo studio.

**Paziente n° 1**

C.D., maschio diabetico da 25 anni di 68 anni di età; BMI (Body Mass Index) = 35.5; non fumatore; non bevitore di alcolici; portatore di oltre 20 anni di ulcera cutanea sul lato interno della gamba sinistra (Figura 1), penetrante nella struttura della tibia, con lesione ossea (Figura 1B). Al momento il paziente assume glicazide 60 mg a colazione + sitagliptin fosfato monoidrato/metformina cloridrato 50 mg + 1000 mg a pranzo e a cena; non presenta polineuropatia sensomotoria; glicemia a digiuno ~ 150 mg / DL; Urea 29 mg% (v.n.:10-50); HbA1c DCCT = 6,7% (v.n.:4-6); HbA1c IFCC = 50mmol / mol (v.n.:10-50). L'esame

emocromocitometrico non ha mostrato alterazioni importanti. L'esame microbiologico del prelievo effettuato nella ferita ha dimostrato la presenza di Staphilococcus Aureus, Pseudomonas Aeruginosa e Candida.

**Paziente n° 2**

D.F.F., femmina diabetica di 71 anni, 40 anni; BMI = 39; ex fumatore; modesto bevitore di alcolici; dall'età di 33 anni con ipertensione arteriosa; dall'età di 46 anni presenta cardiopatia ipertensiva con fibrillazione atriale e flutter; all'Ecocolordoppler degli Arti Inferiori "Malattia arteriosa ostruttiva"; all'AngioTAC "Femorale comune e superficiale destra stenotiche, asse tibioperoneale dx e sn non evidenziato"; portatore di un'ulcera cutanea del piede destro del 5° dito da circa 1 anno che penetra nella struttura ossea della falange prossimale (Figura 2). Il paziente prende attualmente 100 mg di ac. acetilsalicylico al giorno, insulina rapida 3 ml 100 U / M (15 UI a colazione, 25 UI a pranzo, 20 UI a cena); insulina basale 3 ml 100UI / M (40 UI alla sera); presenta anche una grave polineuropatia sensomotoria (classe III); glicemia a digiuno ~300 mg / DL; Urea 58 mg% (v.n.:10-50);



**Figura 1 |** Paziente N°1. In A-C-D, vari momenti nell'evoluzione della ferita fino alla guarigione, stabile dopo due anni. In B, RMN del paziente con lesione ossea.



**Figura 2** | Paziente N° 2. In A-C, vari momenti dell'evoluzione della ferita fino alla guarigione, stabile dopo un anno. In B, la lesione dopo l'innesco di L-PRF.

HbA1c DCCT = 8,4% (v.n.:4-6); HbA1c IFCC = 68 mmol / mol (v.n.:10-50). All'esame emocromocitometrico non si sono evidenziate alterazioni importanti. L'esame microbiologico del prelievo effettuato nella ferita ha dimostrato la presenza di *Staphylococcus Aureus*, *Streptococcus β-emolitico*, *Pseudomonas Aeruginosa* e *Enterobacter*.

### Paziente n° 3

P.C. diabetico dall'età di 39 anni, femmina di 63 anni; BMI = 36,3; ex fumatore; non bevitore di alcolici; dall'età di 51 anni Insufficienza renale cronica; dall'età di 60 anni presenta fibrillazione e flutter atriale; portatore da circa 3 anni di ulcera plantare del piede destro (Figura 3), penetrante la struttura ossea del terzo metatarso distale (Figura 3 B). Al momento il paziente assume 100 mg di ac. acetilsalicilico al giorno, insulina rapida 3 ml 100 U/M (3 UI a colazione, 6 UI a pranzo, 8 UI a cena); insulina basale 3 ml 100 UI / M (14 U alla sera); presenta anche una leggera polineuropatia sensoriale-motoria (classe I); glicemia a digiuno ~ 57 mg / dl (ricidiva di ipoglicemia); Urea 112 mg% (v.n.:10-50); HbA1c DCCT = 7,9% (v.n.:4-6); HbA1c IFCC = 63 mmol / mol (vn: 10-50). L'esame emocromocitometrico non ha mostrato alterazioni importanti. All'esame microbiologico della ferita si è riscontrato *Streptococcus Viridans* e *Proteus*.

### Preparazione del L-PRF

Il sangue è stato raccolto in provette di vetro rivestito in plastica senza anticoagulante né un separatore di gel (provette BD Vacutainer per siero 9,0 ml), per la produzione di coaguli e membrane L-PRF. Il

sangue è stato raccolto rapidamente con un ago nelle provette Vacutainer (22" di valore medio, inferiore a 25" per provetta) e immediatamente (entro 1 min) centrifugato secondo la descrizione ad una temperatura superiore a 21 °C (tra 21 e 30 °C). Usando il L-PRF Wound Box, il processo di compressione della membrana nei coaguli viene eseguito attraverso una leggera ed omogenea compressione, e la membrana finale rimane sempre omogeneamente bagnata e imbevuta di siero. La tecnica di produzione del PRF è molto semplice e richiede solo un campione di sangue e una centrifuga da tavolo<sup>(6-11)</sup>. Il protocollo è il seguente: i campioni di sangue vengono raccolti in provette da 9 mL, senza anticoagulante o separatore di gel, e vengono immediatamente centrifugati secondo il seguente programma: accelerazione di 30 sec, 2 min a 2700 rpm, 4 min a 2400 rpm, 3 min a 3000 rpm, e 36 sec decelerazione e arresto. Dopo la centrifugazione, tre parti sono localizzate nel tubo: i globuli rossi sul fondo, un coagulo di fibrina che rappresenta il PRF nel mezzo e il plasma acellulare nella parte superiore.

Si estrae il coagulo di fibrina dalla provetta con una pinza sterile e eliminando il coagulo rosso dalla sua estremità inferiore può essere ottenuto il PRF. Il successo di questa tecnica dipende interamente dalla raccolta di sangue e dalla velocità di trasferimento nella centrifuga<sup>(6-11)</sup>. Questo metodo delicato evita l'estrazione e la perdita di una quantità significativa di fattori di crescita. I PRF Box presenti sul mercato sono disponibili in una varietà di forme ed esercitano, attraverso la piastra di compressione, diverse pressioni in base al peso, dando origine a una membrana di spessore, larghezza e lunghezza variabili. Il



**Figura 3** | Paziente N° 3. In A-C, vari momenti dell'evoluzione della ferita fino alla guarigione, stabile dopo sei mesi. In B, RMN con la lesione ossea al 3° raggio metatarsale.

Wound L-PRF Box<sup>(6-11)</sup> progettato da noi è costituito da un contenitore metallico 17,5 × 7,6 × 2 cm contenente una piastra di acciaio perforata di 150 × 68 × 1,5 mm. Esiste una seconda piastra in acciaio che funge da compressore, 150 × 68 × 1,5 mm, con un peso di 148 grammi. Questa seconda piastra sagomata esercita una pressione di 142,437 Pa/cm<sup>2</sup>. In questo studio, la compressione per produrre le membrane è stata esercitata sul coagulo per 2 minuti. Ogni membrana era divisa in tre aree di uguale dimensione: prossimale (testa), centro (corpo) e distale (coda). Viene utilizzata solo la parte prossimale della membrana<sup>(9, 10)</sup>.

Con la procedura di preparazione del L-PRF, la coagulazione del sangue inizia appena dopo il prelievo istantaneamente quando viene a contatto con la superficie di vetro della provetta, per via della mancanza di anticoagulante. Se il tempo richiesto per raccogliere il sangue e l'inizio della centrifugazione è estremamente prolungato, la polimerizzazione della fibrina è così diffusa nella provetta che solo una piccola parte del coagulo sarà ottenuta senza consistenza (PRF-like). Di conseguenza, la raccolta del sangue deve essere seguita da una centrifugazione immediata ed è un prerequisito nelle specifiche dell'output della L-PRF. È formulato per produrre una membrana spessa omogeneamente idratata e un essudato ricco di piastrine, leucociti, vitronectina e fibronectina espressi nel reticolo di fibrina che si forma<sup>(12-14)</sup>. Il fibrinogeno è inizialmente concentrato nella parte superiore della provetta, fino al causare la formazione della trombina autologa circolante che lo trasforma nella rete di fibrina. Il risultato è un coagulo di fibrina contenente le piastrine situate al

centro, proprio tra lo strato inferiore di globuli rossi e la parte superiore acellulare plasmatica. Il coagulo di L-PRF così ottenuto viene poi posizionato sulla griglia nella scatola L-PRF e coperto con il coperchio compressore (Wound L-PRF Box). Questo produce una membrana economica di fibrina autologa in circa un minuto. La scatola L-PRF è progettata per la produzione di membrane a spessore costante che rimangono idratate per diverse ore e consente il recupero dell'essudato sierico espresso dai coaguli di fibrina, questo è ricco di proteine, come la vitronectina e la fibronectina<sup>(5)</sup>. Il coagulo L-PRF è prodotto da un processo di polimerizzazione naturale durante la centrifugazione e la sua architettura fibrinica naturale sembra essere responsabile di un lento rilascio di fattori di crescita e glicoproteine dalla matrice (≥7 dd). Le proteine adesive: fibrinogeno (Fg), fibronectina (Fn), vitronectina (Vn) e trombospondina-1 (TSP-1) sono abbondanti sulla struttura fibrinosa. Tra i fattori di crescita immagazzinati nelle piastrine e che sono essenziali per la riparazione delle ferite, vi sono PDGF, con -AB e -C; sono anche presenti come VEGF-A, TGF-β1 FGF-2; EGF, HGF e il fattore di crescita insulino-simile-1 (IGF-1). Analizzando tre citochine proinfiammatorie (IL-1β, IL-6, TNF-α), una citochina infiammatoria (IL-4) e un promotore dell'angiogenesi (VEGF), è stato dimostrato che il PRF potrebbe essere anche un punto cruciale nella modulazione immunitaria con abilità nel controllo dell'infiammazione e nella proliferazione delle cellule staminali adulte, incluse le cellule progenitrici CD34-positive, MSC (cellule staminali mesenchimali), progenitrici di SMCs (cellule muscolari lisce), e progenitrici endoteliali. La multipotenza di questi

tipi di cellule staminali e la loro capacità di aumentare la riparazione di tessuto vascolare e dovuta ai meccanismi paracrini li rendono promettenti veicoli terapeutici in medicina rigenerativa. Inoltre, danni ai tessuti in sé generano forti segnali chemo-attraenti per le cellule staminali, fornendo la base per la loro attività rigenerativa. Le piastrine regolano il reclutamento di cellule staminali adulte verso le cellule ferite e può dunque essere un meccanismo sostanziale nell'esecuzione di risposte cellulari rigenerative. Le piastrine attivate rilasciano HGF e sono state descritte promuovere l'assunzione di MSC nelle cellule endoteliali di arteria umana. La proliferazione delle cellule staminali umane (hMSCs) è proporzionale alla concentrazione piastrinica nel L-PRF.

### Analisi

Sono stati prelevati anche campioni di sangue da ciascun paziente per eseguire un esame emocromotometrico utilizzando le provette K3E con 5.4 mg di EDTA (VacuMed). In accordo con lo studio di Peck et al.<sup>(45)</sup> tre campioni di sangue sono stati prelevati dalla vena brachiale sinistra di ciascun paziente attraverso un ago da 18 gauge, due per la produzione di PRF e uno per il conteggio ematico. Gli esami sono stati eseguiti con un contatore di cellule Cell Dyn 3500 R (ABBOTT). La valutazione diagnostica dell'OM nei pazienti studiati è stata effettuata prima di tutto attraverso il metodo Probe-to-Bone (PTB) e poi attraverso una Risonanza Magnetica e una coltura di cellule ossee.

### Procedura di innesto di L-PRF

Ciascuno dei tre pazienti dopo una preparazione appropriata (sospensione di almeno 7 giorni di farmaci anticoagulanti e sostituzione con eparina a basso peso molecolare per via sottocutanea) è stato sottoposto a debridement chirurgico, in anestesia sub aracnoidea, in sala operatoria, con rimozione di tessuti non vitali e possibili frammenti ossei sul fondo della lesione, anche per eseguire i test di coltura batterica pianificati. Non sono stati utilizzati farmaci vasodilatatori periferici. Dopo la disinfezione della lesione chirurgica con una miscela al 50% di perossido di idrogeno e iodopovidone e appropriato controllo dell'emostasi con termocauterio, L-PRF è stato preparato sotto forma di membrane dopo compressione del coagulo per 2 minuti. Il surnatante derivato dalla spremitura è stato raccolto dalla L-PRF Wound Box con una siringa sterile da 10 cc ed è stato inserito con cura nella lesione cutanea fino all'osso insieme al terzo prossimale della membrana L-PRF (vedi Figura 2B)<sup>(9)</sup>.

<sup>10)</sup> La medicazione è stata eseguita con garza grassa, garza sterile, cotone germanico e bendaggio elastico adesivo. Il trattamento post-chirurgico è stato con levofloxacina 500 mg cp, 1 cp al giorno per 5 giorni ed eparina a basso peso molecolare (enoxaparina sodica) per 7 giorni. Sulla base dei risultati della coltura e dell'antibiogramma, sono stati aggiunti antibiotici specifici per uso generale per 15 giorni. La prima medicazione è stata eseguita dopo 7 giorni. Per due pazienti (n° 1 e n° 2) è stato necessario eseguire la procedura una seconda volta dopo 40 giorni.

## DISCUSSIONE

Tutti e tre i pazienti hanno eseguito il test "Probe-To-Bone" con esito positivo, la RMN ha rilevato ispessimento cortico-periosteale e/o punti focali di osteolisi cortico-spongiosa con ridotta intensità del segnale nell'adiacenza dell'ulcera cutanea. Sono stati riscontrati inoltre edema dovuto a infiammazione settica e ascessi dei tessuti molli. Nei nostri pazienti, come accade frequentemente nelle lesioni croniche, sono stati trovati diversi germi contemporaneamente: i batteri sono i patogeni di più comune riscontro, ma sono state identificate anche infezioni fungine. Allo stato, in tutti e tre i pazienti le lesioni cutanee sono guarite (un paziente da più di due anni) senza segni di infezione, né recidive e non sono stati utilizzati mezzi di scarico.

Il trattamento dell'osteomielite cronica è attualmente costituito da trattamento chirurgico, antibioticotera, ossigenoterapia iperbarica (OTI), stimolazione antibatterica attiva (ITSB). Il trattamento chirurgico è il punto fondamentale della cura dell'osteomielite<sup>(46)</sup>. L'obiettivo è la rimozione della infezione ed il ripristino funzionale del segmento osseo in trattamento. Con le procedure chirurgiche fino ad ora adottate per la terapia dell'osteomielite la possibilità di eradicare l'infezione è quella di asportare l'osso e tutti i tessuti limitrofi interessati fino ad arrivare al tessuto vitale sano. Talvolta può però bastare una piccola asportazione che non compromette né la stabilità né la funzione dell'arto trattato, ma in molti casi dopo la rimozione dell'osso infetto si rende necessaria una idonea ricostruzione chirurgica. Insieme ai tessuti infetti è altresì opportuno rimuovere tutti i mezzi di sintesi interna (placche, viti, chiodi, cambre, ecc.) presenti nell'area infetta, e ricorrere a una nuova stabilizzazione mediante fissazione esterna. Tutte le tecniche chirurgiche esistenti possono offrire ottimi risultati, ma a fronte di trattamenti estremamente lunghi ed impegnativi, e ad un

rischio di complicanze e fallimenti non trascurabile. L'utilizzazione di L-PRF nelle lesioni osteomielitiche da noi trattate hanno dato i risultati riportati con un impegno moderato in termini di tecnica chirurgica ed economico per la struttura sanitaria dove viene operato il paziente. Inoltre è basso anche il rischio chirurgico a cui viene sottoposto il paziente (i nostri pazienti sono stati trattati tutti in anestesia locale. Ulteriori studi clinici, istologici e statistici sono richiesti per comprendere i vantaggi di questa nuova tecnica. Tuttavia, non si può ignorare che quando ottenuto da un campione di sangue autologo, il L-PRF prodotto è scarso e solo un volume limitato può essere utilizzato. Questo fatto limita l'utilizzazione sistematica di PRF in grosse lesioni osteomielitiche. Anche se le potenziali applicazioni di PRF sono quindi ampie, è necessaria un'accurata conoscenza del funzionamento del biomateriale, la sua biologia, l'efficienza ed i limiti, per ottimizzare il suo utilizzo nella pratica clinica quotidiana.

## CONCLUSIONI

Nel complesso, il L-PRF è meccanicamente resistente, in grado di sopportare carichi, ha una capacità di due volte di stirarsi sotto tensione e mantiene le suture chirurgiche in modo da poter suturare due o più membrane tra loro con punti chirurgici (si deforma in modo significativo prima della lacerazione)<sup>(17, 18)</sup>. Usando il L-PRF in casi di OM da ulcera su piede diabetico miglioreremo sicuramente la nostra comprensione sulla guarigione delle ferite, in particolare nella terapia rigenerativa delle lesioni cutanee croniche. I risultati ottenuti in questi tre casi suggeriscono che le membrane L-PRF possano essere un'opzione terapeutica in questa patologia di difficile trattamento. A partire da questa esperienza, intendiamo eseguire uno studio randomizzato per confermare l'effetto clinico di L-PRF, anche in funzione della sua azione antibatterica.

## BIBLIOGRAFIA

1. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet* 364:369-79, 2004.
2. Calhoun JH, Manring MM, Shirtliff M. Osteomyelitis of the Long Bones. *Seminars in Plastic Surgery* 23:59-72, 2009.
3. Gogia JS, Meehan JP, Di Cesare PE, Jamali AA. Local antibiotic therapy in osteomyelitis. *Seminars in Plastic Surgery* 23:100-7, 2009.
4. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vergelle A. Une opportunité en para-implantologie: le PRF. *Implantodontie* 62:42-55, 2001.
5. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Del Corso M, Dohan Ehrenfest D. Introducing, Choukroun mins platelet rich fibrin (PRF) to reconstructive surgery milieu. *JACD6*:21-32, 2009.
6. Crisci A. Le membrane L-PRF utili in chirurgia. *Jour Plastic Derm* 2:75-90, 2015.
7. Crisci A, Placido F, Crisci M, Bosco A. A new instrument aid of plastic surgeon: membranes L-PRF (Platelet-Rich-Fibrin). *Jour Plastic Derm* 3:162-72, 2015.
8. Crisci A, Serra E, Cardillo F, Crisci M. Selezione di un modello animale pertinente per la prova degli effetti *in vitro* della fibrina ricca di leucociti e piastrine di Choukroun (L-PRF equino). Nota su un protocollo standardizzato proposto per l'uso clinico l'uso di L-PRF Wound Box®. *VPE* 1:41-50, 2017.
9. Crisci A, Lombardi D, Serra E, Lombardi G, Cardillo F, Crisci M. L-PRF: standardized protocol proposed for the use of fibrin rich in leukocyte platelet and the use of L-PRF Wound Box. Selection of an animal model. *Update in Plastic Surgery* 3:141-49, 2017.
10. Crisci A, Lombardi D, Serra E, Lombardi G, Cardillo F, Crisci M. Standardized protocol proposed for clinical use of L-PRF and the use of L-PRF Wound Box®. *J Unexplored Med Data* 2:77-87, 2017, <http://doi:10.20517/2572-8180.2017.17>.
11. Crisci A, Marotta G, Licito A, Serra E, Benincasa G, Crisci M, Use of leukocyte platelet (L-PRF) rich fibrin in diabetic foot ulcer with osteomyelitis (three clinical cases report) *Diseases*, 6:30, 2018, <http://doi:10.3390/diseases6020030>.
12. Del Corso M, Choukroun J, Simonpieri A, Zampetti P, Bucci Sabbatici V. Accelerazione dei processi di cicatrizzazione tissutale con un nuovo biomateriale: la fibrina ricca di piastrine (PRF). *Odontoiatria* 4:361-66, 2007.
13. Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andua I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience* 13:3525-48, 2008.
14. Hotwani K, Sharma K. Platelet rich fibrin- a novel acumen into regenerative endontic therapy. *R D E* 2014; <http://dx.doi.org/10.5395/rde.2014.39.1.1>.
15. Peck MT, Hiss D, Stephen L, Satti A, Majeed A. Platelet-rich fibrin (PRF)- The effect of storage time on platelet concentration. *S A D J* 10:448-51, 2015.
16. Crisci A. La gestione dell'osteomielite nel piede diabetico. In: Crisci A. Il piede diabetico: nuove prospettive di prevenzione e cure, Ed. Aracne, Roma; 109-113, 2014.
17. Hasan F.K. Characterization of leukocyte-platelet rich Fibrin, a novel biomaterial. 2015.
18. Cieslik-Bielecka A, Dohan Ehrenfest DM, Lubkowska A, Bielecki T. Microbicidal properties of leukocyte-and platelet-rich plasma/fibrin (L-PRP/L-PRF): new perspectives. *JBRHA* 2 (S):43-52, 2012.