



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Patologia chirurgica, medica, molecolare dell'area critica

Corso di laurea magistrale in odontoiatria e protesi dentaria

Presidente del corso di laurea: Prof. Mario Gabriele

TESI DI LAUREA:

Profilassi antibiotica per la prevenzione delle complicanze post-estrattive: uno studio clinico randomizzato monocentrico

Relatore:

Prof. Antonio Barone

Candidata:

Chiara Cinquini

Anno Accademico 2015/2016

INDICE:

Introduzione	1
Capitolo 1: Introduzione all'utilizzo dei farmaci antibiotici in odontoiatria.....	6
1.1 Cenni storici.....	6
1.2 Razionale della terapia/profilassi antibiotica in odontoiatria.....	8
1.3 La percezione della necessità di antibiotici dopo estrazioni dentarie.....	12
1.4 Condizioni sistemiche che predispongono allo sviluppo di infezioni post-estrattive....	13
1.5 Conseguenze della batteriemia indotta dalle estrazioni dentarie.....	14
1.6 Indicazioni all'utilizzo di antibiotici in odontoiatria.....	16
1.6.1 Profilassi antibiotica per la prevenzione dell'endocardite batterica.....	16
1.6.2 Profilassi antibiotica per la prevenzione delle complicanze post-estrattive locali...	18
Capitolo 2: Principi di chemioterapia antibatterica.....	19
2.1 Ecosistema del cavo orale	19
2.2 Meccanismi d'azione degli antibiotici	21
2.3 Classificazione.....	22
2.4 Criteri di scelta degli antibiotici	26
2.5 Principali antibiotici di impiego odontoiatrico	29
2.5.1 Penicilline	31
Amoxicillina	32
Effetti avversi dell'amoxicillina e dell'amoxicillina + acido clavulanico	34
Perché l'amoxicillina + acido clavulanico si somministra ogni 12 ore	35
2.5.2 Cefalosporine	36
2.5.3 Macrolidi	36
2.5.4 Lincosamidi	37
2.5.5 Metronidazolo	37
2.5.6 Chinoloni	38
2.5.7 Metronidazolo	38
2.6 Metodiche di valutazione dell'attività dei farmaci antibatterici in vitro	39

Capitolo 3: La resistenza batterica agli antibiotici	40
3.1 Introduzione al concetto di resistenza batterica.....	40
3.2 Meccanismi di acquisizione e trasferimento della resistenza.....	41
3.2.1 Mutazioni cromosomiche.....	41
3.2.2 Trasferimento della resistenza	42
Coniugazione	42
Trasformazione	42
Trasduzione	43
3.3 Plasmidi	45
3.4 Elementi genetici trasponibili	45
3.5 Meccanismi biochimici della resistenza batterica	46
3.5.1 Inattivazione del farmaco	47
3.5.2 Modificazione del bersaglio molecolare del farmaco.....	48
3.5.3 Impermeabilità al farmaco o suo efflusso attivo	49
3.6 Utilizzo degli antibiotici e resistenza batterica	49
3.7 Meccanismi di riduzione della suscettibilità alle penicilline negli streptococchi	50
3.8 Resistenza agli antibiotici in Italia e in Europa	52
Capitolo 4: Materiali e metodi	54
4.1 Background	54
4.2 Agenti investigati	57
4.3 Razionale dello studio clinico	58
4.4 Razionale della terapia antibiotica e rapporto rischi/benefici	60
4.5 Gruppi sperimentali	60
Gruppo 1: amoxicillina + acido clavulanico	60
Gruppo 2: amoxicillina + acido clavulanico + BB536	61
Gruppo 3: gruppo di controllo	62
4.6 Obiettivi dello studio	62
4.7 Struttura dello studio	63
4.8 Endpoints primari dello studio	64
4.9 Endpoints secondari dello studio	65
4.10 Criteri di inclusione/esclusione	65
4.10.1 Criteri di inclusione	65
4.10.2 Criteri di esclusione.....	65

4.11 Reclutamento dei soggetti	66
4.12 Regime del trattamento	66
4.13 Visite preliminari e di follow up	67
4.14 Metodi statistici	69
Determinazione della numerosità del campione.....	69
Analisi statistica	70
Capitolo 5: Risultati	71
Capitolo 6: Discussione	87
Capitolo 7: Conclusioni	91
Bibliografia	92

INTRODUZIONE

Gli antibiotici vengono prescritti routinariamente nella pratica clinica odontoiatrica a scopo profilattico o terapeutico. Con il termine di profilassi antibiotica si intende la somministrazione di farmaci antibiotici, secondo modalità ben definite ed in assenza di infezione in atto, allo scopo di prevenirne l'insorgenza e la successiva diffusione. (Burke 1961).

Con il termine terapia antibiotica si intende la somministrazione di un farmaco antibiotico quando l'infezione si sia già instaurata, allo scopo di contenerla o debellarla.

La profilassi antibiotica in ambito odontoiatrico viene utilizzata per prevenire patologie causate dall'introduzione di microrganismi orali nel torrente ematico, il quale potenzialmente potrebbe trasportarli in altri siti provocando un'infezione a distanza, o per prevenire le infezioni, anche locali, in soggetti a rischio (ad esempio i pazienti con immunodepressione) (Dajani AS. et al. 1997). Nella maggior parte dei casi, la profilassi antibiotica viene prescritta per prevenire l'endocardite batterica a seguito di procedure odontoiatriche, una rara condizione patologica che può condurre alla morte del paziente. La terapia antibiotica invece viene utilizzata per trattare un'infezione dei tessuti duri o molli del cavo orale già presente al momento della somministrazione.

Gli odontoiatri prescrivono farmaci per il trattamento di numerose patologie del cavo orale, principalmente per infezioni oro-facciali, le quali originano nella maggior parte dei casi da cause odontogene. Per questi motivi gli antibiotici sono i farmaci maggiormente prescritti (Lewis MA. 2008). La prescrizione di antibiotici in odontoiatria avviene principalmente su base empirica: i microrganismi responsabili dell'infezione non sono specificatamente conosciuti perché solitamente non vengono eseguiti test di coltura batterica. Basandosi su dati clinici ed epidemiologici, vengono sospettati i principali microrganismi coinvolti nell'infezione e viene utilizzato un antibiotico a largo spettro in grado di agire su di essi.

Nel caso delle estrazioni dentarie, la profilassi antibiotica viene eseguita per prevenire l'insorgenza di complicanze infettive post-operatorie (Lodi et al. 2012).

Le estrazioni dentarie sono interventi chirurgici atti a rimuovere gli elementi dentari non recuperabili a causa di carie destruenti, malattia parodontale, fallimento di terapie canalari o per la presenza di denti del giudizio in disodontiasi ricorrente, che impattano sul settimo elemento o che causano dolore ed infiammazione. Il rischio di infezione a seguito dell'estrazione di denti del giudizio in pazienti giovani e sani è di circa il 10%, valore che

può aumentare fino al 25% in pazienti con patologie sistemiche o immunodepressi. (Lodi et al. 2012).

Le complicanze derivanti dall'infezione post-estrattiva (locali e sistemiche) includono gonfiore, dolore, suppurazione, febbre e alveolite post-estrattiva. Il trattamento di queste infezioni è in genere semplice e prevede l'utilizzo di farmaci antibiotici ed eventualmente il drenaggio del materiale infetto dalla ferita. Secondo Lodi et al. (2012), la somministrazione di antibiotici prima dell'estrazione o subito dopo può ridurre il rischio di infezione del sito post-estrattivo del 70% se comparato con la somministrazione del placebo, riducendo significativamente anche il dolore ed il rischio di alveolite post-estrattiva. L'utilizzo di antibiotici a scopo preventivo nelle estrazioni dei denti del giudizio, sempre secondo questi autori, può essere considerato maggiormente benefico per i pazienti più a rischio di infezione, che, come abbiamo detto precedentemente, senza profilassi antibiotica potrebbero manifestare infezione nel 25% dei casi.

Nei pazienti sani, al contrario, che più difficilmente svilupperebbero un'infezione post-estrattiva, la profilassi viene considerata, da alcuni autori, quasi più dannosa che realmente utile. I danni legati all'utilizzo dell'antibiotico, infatti, in questi casi, sono da attribuire ad una maggiore incidenza di effetti avversi e al potenziale sviluppo di ceppi batterici antibioticoresistenti (Chardin et al. 2009).

Cercando nella letteratura internazionale, è emerso che si conosce poco l'effetto della terapia/profilassi antibiotica sulle estrazioni di elementi dentari diversi dai denti del giudizio (in uno studio di Simon & Matee del 2001, condotto sulle estrazioni di qualsiasi tipo di elemento, è emerso un tasso di infezione dell'1,1% (senza profilassi antibiotica) ma le condizioni sperimentali sono poco chiare), che possono venire estratti per le seguenti cause (*"Manuale di chirurgia orale"*, SICOI):

- carie dentarie destruenti (con ampie distruzioni coronali estese al di sotto del margine gengivale, che impediscono il mantenimento del dente anche con interventi di allungamento di corona clinica, oppure nel caso di elementi pluriradicolati con compromissione del pavimento della camera pulpare).
- lesioni infettive periapicali non risolvibili (o non risolte) con terapia canalare ortograda o retrograda e apicectomia.
- malattia parodontale avanzata, con marcata perdita di tessuto parodontale che ne rende impossibile (o irrazionale) il mantenimento in arcata.
- Lesioni endo-parodontali, in cui la difficoltà del trattamento rende la prognosi incerta e quindi con un rapporto costi/benefici sfavorevole.

- Fratture radicolari. Nel caso di fratture radicolari verticali e orizzontali del terzo medio della radice le indicazioni all'estrazione sono assolute, mentre le fratture al terzo apicale o coronale sono indicazioni relative. Questo perché la frattura del terzo apicale può essere risolta con la terapia ortograde a cielo aperto (terapia canalare e rimozione del residuo apicale) mentre la frattura coronale (nei monoradicoli) si può risolvere con la terapia canalare e l'estrusione ortodontica della radice (ma con un rapporto costi/benefici incerto).
- Trattamenti ortodontici.
- Bonifica di focolai infettivi in pazienti che devono venir sottoposti a terapia oncologica radiante del distretto testa-collo, in pazienti immunodepressi, dializzati o che devono essere sottoposti a trapianto di organo.

La profilassi antibiotica post-operatoria, nel caso delle estrazioni dentarie in generale, dovrebbe prevenire lo sviluppo di infezioni batteriche localizzate o sistemiche originate dal sito chirurgico e dipendenti dalla tipologia dell'intervento e dalle condizioni locali o sistemiche del paziente. Ogni paziente può essere ricondotto nella seguente classificazione:

- Soggetto sano (in cui la scelta di eseguire o meno una profilassi antibiotica dipende esclusivamente dal tipo di intervento).
- Soggetto con fattori di rischio per lo sviluppo di infezioni locali o sistemiche (soggetti affetti da disordini metabolici come il diabete, patologie immunitarie congenite o acquisite, immunodepressi post-trapianto, pazienti oncologici, pazienti con insufficienza epatica o renale e splenectomizzati (Afssaps et al. 2003, Tong et al. 2000, Westerman et al. 1991).
- Soggetto con fattori di rischio per lo sviluppo di endocardite batterica.

Per valutare l'opportunità di instaurare una profilassi antimicrobica è necessario anche inquadrare la tipologia dell'estrazione secondo la classificazione di Altemeier (Altemeier et al. 1976), in cui si correlano gli interventi chirurgici con il loro potenziale rischio infettivo:

- Interventi chirurgici puliti (senza incisione della mucosa orale, come nel caso di un'estrazione semplice. Il rischio infettivo varia dall'1 al 4%, in questi casi non occorre ricorrere ad una profilassi antibiotica).
- Interventi chirurgici pulito-contaminati (con incisione della mucosa orale, come nel caso dell'estrazione dei terzi molari. In questi casi l'utilizzo della profilassi, come

sostenuto da Lodi et al. (2012) è ancora dibattuto a causa del fatto che potrebbe presentare più rischi che benefici reali).

- Interventi chirurgici contaminati (come nella chirurgia oncologica maxillo-facciale, in cui il rischio infettivo arriva al 25%. In questi casi è richiesta una profilassi antibiotica attiva contro batteri Gram⁺ e Gram⁻).
- Interventi chirurgici contaminati e infetti (il rischio infettivo supera il 25%, è richiesta una terapia antibiotica).

Purtroppo anche tra i chirurghi orali esistono opinioni contrastanti e raccomandazioni alla profilassi post-estrattiva non uniformi.

Secondo uno studio condotto in Spagna da Sancho-Puchades et al. (2009) consegnando dei questionari ad un simposio di chirurghi orali, il 13% di essi avrebbe prescritto un antibiotico nel caso l'estrazione fosse durata meno di 5 minuti, la percentuale saliva al 39% se veniva superato questo tempo, fino ad arrivare all'87% se veniva scolpito un lembo. Si può notare che una percentuale di specialisti avrebbe prescritto l'antibiotico benchè le possibilità di contaminazione dell'alveolo post-estrattivo fossero minime.

La terapia antibiotica (ma non sempre la profilassi) è essenziale in medicina e odontoiatria, ma il suo utilizzo eccessivo e nei casi in cui non sia realmente necessaria può portare a effetti avversi e conseguenze sul piano sociale e sanitario. L'utilizzo di antibiotici è infatti associato ad effetti avversi, che possono variare da disturbi gastro-intestinali (in particolare la diarrea si presenta nel 5-39% delle persone sottoposte a terapia antibiotica secondo Mc Farland et al. 1998) allo shock anafilattico e alla selezione di specie batteriche antibiotico-resistenti.

Minimizzare ed ottimizzare l'utilizzo dell'antibiotico profilassi/terapia avrebbe un impatto globale sulla selezione di questi ceppi. Lo sviluppo delle resistenze ai farmaci antibiotici è un fenomeno naturale ma non è giusto sia velocizzato dall'utilizzo inappropriato di questi ultimi. La selezione avviene perché i ceppi naturalmente resistenti all'antibiotico utilizzato e quelli che hanno una resistenza acquisita divengono le specie dominanti in seguito alla selezione esercitata dalla distruzione delle specie sensibili (Report from the American academy of microbiology 2009). La sensibilità dei batteri del cavo orale agli antibiotici sta gradualmente diminuendo e un numero sempre maggiore di specie resistenti a varie classi di antibiotici è stato isolato, in particolare specie di *Prophyromonas* e *Prevotella* (Bresco - Salinas M. et al. 2006), ma questo fenomeno riguarda anche gli streptococchi viridanti, anche se alcuni autori affermano che non sono state osservate sostanziali riduzioni nella sensibilità alle penicilline, negli ultimi 30-40 anni, dei batteri responsabili delle infezioni

testa-collo (Farmaham et al. 2014). Purtroppo, nonostante l'allarme da parte della WHO (World health organization) del 2015, secondo cui esiste un'alta prevalenza di batteri resistenti in tutte le regioni del mondo, molti medici e dentisti tendono a prescrivere in eccesso i farmaci antibiotici, probabilmente anche a causa di una medicina difensiva.

Infatti la profilassi antibiotica per le estrazioni dentarie viene percepita dal paziente stesso come indispensabile (Boxx et al. 2015), tanto da richiederla al medico stesso se questa non viene prescritta. Secondo questo studio condotto su 120 pazienti, il 66,7% di essi si aspettava di ricevere un antibiotico dopo l'estrazione, e di questi il 70% lo richiedeva al medico se non prescritto.

Data la scarsità di informazioni reperibili in letteratura riguardo la correlazione tra profilassi antibiotica e incidenza di complicanze post-estrattive (nel caso di estrazioni di denti non del giudizio) e data l'importanza di fare chiarezza su quando occorra fare profilassi e quando no, abbiamo ritenuto utile eseguire uno studio clinico randomizzato focalizzato su questa problematica, che verrà descritto nei dettagli nel capitolo dei materiali e metodi: abbiamo preso in esame vari parametri riguardanti le complicanze post-estrattive (edema, dolore, suppurazione, febbre, alveolite, trisma e segni locali di infiammazione), confrontando un gruppo di pazienti sottoposti ad estrazione dentaria con profilassi antibiotica ed un gruppo di pazienti sottoposti allo stesso trattamento ma senza profilassi. Inoltre, allo scopo di osservare se ci fossero differenze da un punto di vista dei sintomi gastro-intestinali, frequentemente associati all'utilizzo di antibiotici per via sistemica, è stato incluso nello studio un terzo gruppo, sottoposto a profilassi antibiotica e trattato con un probiotico a base di lattoferrina e *Bifidobacterium longum* (Rahman 2006, Wenus 2008). Questo dovrebbe servire a ristabilire la flora batterica intestinale defedata dall'antibiotico, diminuendo quindi i disturbi gastro-intestinali nei pazienti trattati con antibiotico.

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE ALL'UTILIZZO DEI FARMACI ANTIBIOTICI IN ODONTOIATRIA

1.1 Cenni storici

Gli antibiotici sono definiti come sostanze chimiche, prodotte da microrganismi, che sono in grado di ucciderne altri. In base alla loro origine, gli antibiotici in senso stretto sono quelli di derivazione naturale, quindi scoperti osservando che alcuni organismi (ad esempio le muffe notate da Fleming nel 1928) producevano delle sostanze in grado di inibire la crescita di altre specie, mentre quelli di sintesi sono chiamati chemioterapici antibatterici.

Esistono chemioterapici che derivano da sostanze prodotte naturalmente, ma che sono stati poi modificati per migliorarne alcune caratteristiche: un esempio è l'amoxicillina, derivata dall'ampicillina ma con un assorbimento intestinale decisamente migliore e quindi con una farmacocinetica più favorevole.

Il concetto che sostanze prodotte da un organismo vivente possano uccidere altre forme di vita (antibiosi) è antico quasi quanto la scienza della microbiologia. Inoltre, la pratica della terapia antibiotica, senza che la si riconoscesse come tale, è notevolmente più antica della scienza vera e propria.

Più di 2500 anni fa, i cinesi già conoscevano le proprietà terapeutiche del latte di soia fermentato per il trattamento di pustole, bolle ed altre infezioni simili. Per secoli, la letteratura medica ha descritto gli effetti benefici prodotti dall'applicazione sulle sedi d'infezione di terra e piante varie, le quali erano probabilmente per la maggior parte sorgenti di muffe e batteri, che producevano sostanze antimicrobiche (Aminov 2010).

I primi ricercatori che riconobbero le proprietà dei microrganismi come potenziali agenti terapeutici furono Pasteur e Joubert, i quali descrissero le loro osservazioni nel 1877.

Essi avevano osservato che i bacilli del carbonchio si moltiplicavano rapidamente quando venivano inoculati in urina sterile, mentre non si riproducevano, anzi morivano, se veniva contemporaneamente introdotto nell'urina anche uno dei "comuni" batteri dell'aria. Lo

stesso tipo di esperimento effettuato su animali portò risultato simili. I due studiosi conclusero che le specie viventi appartenenti al più basso livello della scala biologica si uccidevano tra di loro con un'intensità anche maggiore di quella degli animali e delle piante, e arrivarono alla sorprendente conclusione che i bacilli del carbonchio potevano essere inoculati negli animali senza che questi si ammalassero, purchè si somministrassero al contempo anche batteri "comuni"(Pasteur L. & Joubert J. 1877).

Solitamente l'inizio della moderna "era degli antibiotici" viene associato ai nomi di Paul Ehrlich e Alexander Fleming.

L'idea di Ehrlich era quella di ottenere un "proiettile magico", che potesse colpire selettivamente i microrganismi responsabili della malattia ma non l'ospite, sintetizzando dei composti chimici con precise caratteristiche. Questa idea lo portò ad iniziare un programma di screening di molecole farmacologiche su vasta scala, fino ad ottenere, nel 1904, un farmaco contro la sifilide, una patologia endemica che a quel tempo era considerata incurabile.

La sifilide è una malattia sessualmente trasmissibile, causata dal batterio *Treponema pallidum*. Prima della scoperta di Ehrlich veniva trattata con sali di mercurio inorganici, che avevano però effetti avversi anche gravi ed una scarsa efficacia. Nel suo laboratorio Ehrlich, assieme al chimico Alfred Bertheim ed al batteriologo Sahachiro Hata, riuscì a sintetizzare centinaia di derivati dell'arsenico da testare su animali infettati con *Treponema pallidum*, fino al 1909, quando trovò tra questi un composto in grado di curare la sifilide nell'animale e iniziò i primi studi sull'uomo (Ehrlich & Hata 1910). Nonostante gli importanti effetti avversi, questo farmaco, commercializzato con il nome di Salvarsan, fu un enorme successo e, assieme alla sua variante meno tossica, il Neosalvarsan, divenne il farmaco maggiormente prescritto fino alla scoperta della penicillina negli anni '40 (Mahoney et al.1943).

L'approccio sistematico di Ehrlich divenne una pietra miliare della ricerca farmacologica nell'industria farmaceutica. Durante i primi anni della ricerca antibiotica, questo metodo portò alla scoperta dei farmaci sulfamidici.

Nel 1929 Fleming scoprì la penicillina e passò 12 anni cercando di risolverne i problemi di purificazione e stabilità per poter effettuare degli studi clinici. Abbandonò l'idea nel 1940, ma fortunatamente questa fu ripresa da Howard Florey e Ernest Chain, che riuscirono a purificarla ed iniziarono gli studi clinici, fino alla produzione ed alla distribuzione su larga scala che avvennero nel 1945 (Chain et al. 2005). La scoperta del Salvarsan, dei sulfamidici e della penicillina fondarono le basi per gli studi futuri sui farmaci antibiotici:

il periodo compreso fra gli anni '50 e '70 divenne l'età dell'oro della scoperta di nuovi farmaci antibiotici. Da allora, con il declino della ricerca su nuovi farmaci, l'approccio per combattere le resistenze agli antibiotici esistenti è stato quello di modificare gli antibiotici già esistenti (Chopra et al. 2002).

1.2 Razionale della terapia/profilassi antibiotica in odontoiatria

In odontoiatria i farmaci antibiotici sono largamente utilizzati e possono essere prescritti per 2 motivi principali:

- 1) a scopo terapeutico
- 2) a scopo profilattico

Nelle infezioni orali causate da batteri, gli antibiotici prescritti a scopo profilattico servono a prevenire le patologie causate dall'introduzione di patogeni orali in siti distanti (o anche in siti orali compromessi, un tipico esempio è l'alveolo post-estrattivo) soprattutto nei pazienti a rischio (Fine DH. et al. 1998). In molti casi la profilassi è utilizzata per prevenire l'endocardite batterica, mentre gli antibiotici a scopo terapeutico sono somministrati per trattare le infezioni dei tessuti duri e molli del cavo orale se la rimozione meccanica dei depositi batterici è fallita. I dentisti prescrivono gli antibiotici per un grande numero di patologie infettive del cavo orale. La maggior parte delle infezioni oro-facciali origina da foci odontogeni, quindi la prescrizione antibiotica è divenuta un parte fondamentale della pratica odontoiatrica (infatti sono i farmaci più prescritti dai sanitari di questo settore secondo Lewis MA. (2008)). L'utilizzo che viene fatto degli antibiotici spesso in medicina e odontoiatria possiede alcune caratteristiche particolari: la prescrizione è frequentemente "empirica", infatti i clinici non conoscono esattamente quali sono i microrganismi specificamente coinvolti nell'infezione (se ne conoscono magari le classi più frequentemente coinvolte) perché solitamente non vengono eseguite colture del pus o dell'essudato prelevati dalla zona infetta (di solito riservate ad infezioni che non rispondono alle terapie standard). Per questo motivo, basandosi su dati clinici ed epidemiologici, vengono sospettati i microrganismi più comunemente coinvolti e viene scelta, di conseguenza una terapia antibiotica adeguata (quindi ad ampio spettro).

L'aumento di antibiotico-resistenza che si è riscontrato negli ultimi anni è probabilmente causato da un utilizzo eccessivo degli antibiotici ad ampio spettro (Wise R. et al. 1998), il cui utilizzo in maniera indiscriminata non è chiaramente più accettabile. Un problema

della comunità odontoiatrica (e medica in generale) è una tendenza generale a prescrivere antibiotici in maniera eccessiva: un studio condotto negli Stati Uniti ha dimostrato che solo il 38% degli odontoiatri e il 27% dei medici generici seguono le linee guida per la profilassi antibiotica in maniera corretta. Si sta inoltre diffondendo un fenomeno preoccupante: la prescrizione di antibiotici su richiesta dei pazienti. Ritornando alla questione dei batteri che causano le infezioni, questi sono generalmente dei saprofiti orali. Nel cavo orale sono presenti più di 500 specie batteriche e molte possono essere coinvolte nei processi infettivi. I microrganismi maggiormente coinvolti nelle infezioni del distretto testa collo sono rappresentati nella tabella seguente:

Tipo di infezione	Microrganismi aerobi o facoltativi	Microrganismi anaerobi
Linfoadenite cervicale	Staphylococcus aureus Mycobacterium spp.	Prevotella Porphyromonas spp. Peptostreptococcus spp.
Infezione della mucosa postoperatoria	Staphylococcus spp. Enterobacteriaceae	Fusobacterium spp. Bacteroides spp. Prevotella Porphyromonas spp. Peptostreptococcus spp.
Siti profondi del collo	Streptococcus spp. Staphylococcus spp.	Bacteroides spp. Fusobacterium spp. Peptostreptococcus spp.
Complicanze odontogene	Streptococcus spp. Staphylococcus spp.	Prevotella Porphyromonas spp. Peptostreptococcus spp.
Angina di Ludwig e gengivite ulcero-necrotica	Streptococcus spp. Staphylococcus spp.	Fusobacterium necrophorum Spirochete Prevotella intermedia fusobacterium spp.

Tabella 1.1: Batteri isolati dalle infezioni del distretto testa-collo.

Tratta da: Kirkwood KL. Update on antibiotics used to treat orofacial infections. Alpha Omega 2003 96: 28–34.

Come precedentemente affermato, gli antibiotici sono tipicamente prescritti in odontoiatria per:

1)Trattamento di infezioni acute o croniche di origine odontogena o non odontogena.

Nonostante l'elevata incidenza di infezioni di origine odontogena, non esistono criteri uniformi riguardo la terapia in questi casi.

Una notevole percentuale dei casi di dolore di origine dentale deriva da infezioni acute o croniche di origine pulpale, che necessitano di manovre chirurgiche piuttosto che di antibiotici (Salako N. et al. 2004).

Le situazioni cliniche che richiedono la terapia antibiotica empirica sono limitate: è richiesta nei casi di un rialzo febbrile o di evidenti segni di diffusione sistemica dell'infezione, come una linfadenopatia o un trisma (Swift JQ. et al. 2002) , come anche nei casi di cellulite facciale. L'infiammazione cronica periapicale non richiede l'utilizzo routinario dell'antibiotico, che dovrebbe essere riservato nei casi di ascesso acuto che non drena o non può essere trattato altrimenti e nei casi in cui vi sia una diffusione locale o sistemica dell'infezione (Addy M. & Martin MV. 2003).

Per quanto riguarda le infezioni di origine non odontogena (come l'osteite, l'actinomicosi, etc.), di solito esse richiedono una terapia antibiotica prolungata.

2)Trattamento profilattico per prevenire infezioni in pazienti a rischio (ad esempio per prevenire l'endocardite batterica o in pazienti immunocompromessi).

La prescrizione di antibiotici per prevenire infezioni a distanza è una pratica comune per molte procedure odontoiatriche. Nonostante esista il rischio potenziale che alcuni microrganismi orali possano infettare siti a distanza, non esiste abbastanza evidenza scientifica che ciò accada realmente o frequentemente (Oberoi et al. 2015).

L'endocardite batterica è un evento raro, causato dalla disseminazione a livello delle valvole cardiache compromesse (vedi tabella 1.2 delle categorie di pazienti più a rischio) di batteri provenienti da foci a distanza (nel nostro caso da un focus orale). Gli organismi infettanti sono solitamente batteri ma, meno comunemente, possono essere funghi (varie specie di Candida possono essere coinvolte), che possono entrare nel torrente circolatorio. I batteri possono passare nel sangue attraverso le superfici mucose. La gengiva e il legamento parodontale sono spesso zone infiammate e quindi potenziali porte di ingresso per i microrganismi. Infatti è stato dimostrato che, a causa di questa continua colonizzazione batterica a livello delle mucose orali infiammate, molte attività giornaliere

come lo spazzolamento dei denti possono condurre a batteriemia (Lockhart et al. 2008) . L'incidenza di endocardite batterica è di approssimativamente 10/100.000 casi ogni anno. Nonostante sia un evento raro, è una condizione che mette a rischio la vita del paziente, con una mortalità del 30% anche se trattata con antibiotici (Delahaye F. et al. 1995) . In ogni caso l'incidenza è bassa, la proporzione dei casi derivanti da procedure odontoiatriche è stimata intorno al 4 - 64% (vi è un'ampia discordanza di dati in letteratura), ma il nesso temporale può essere dimostrato nel 4 - 7,5% dei casi secondo Gendron (2000).

3)Trattamento per prevenire infezioni locali.

La profilassi delle infezioni locali comprende la somministrazione di antibiotico (che può essere una singola somministrazione preoperatoria o una terapia postoperatoria) per prevenire la proliferazione e la disseminazione dei batteri sulla ferita chirurgica o in altri siti contigui. L'evidenza che l'antibiotico profilassi sia effettivamente utile nelle estrazioni dei terzi molari inclusi non è certa; secondo la review di Lodi (2012) riduce effettivamente l'incidenza delle complicanze post-estrattive ma occorre tenere presente che si tratta comunque di complicanze in genere transitorie e facilmente trattabili. Inoltre anche la percezione che hanno i pazienti riguardo alla terapia/profilassi antibiotica deve essere considerata: spesso i pazienti la richiedono anche in assenza di infezione, come descritto da Boxx et al. (2015)

1.3 La percezione dei pazienti riguardo la necessità di ricevere farmaci antibiotici

Come già accennato nel paragrafo precedente, è stato ipotizzato che uno dei motivi della prescrizione massiva di farmaci antibiotici da parte dei dentisti sia la richiesta da parte dei pazienti. Questo fenomeno potrebbe essere simile a quanto accade per i medici generici: avviene perché i clinici hanno paura di non soddisfare i pazienti, quindi per motivi medico-legali.

Nel 2015 è stato condotto uno studio molto interessante da parte di C. Boxx e D.M. Laskin sulla percezione che hanno i pazienti riguardo gli antibiotici nelle estrazioni dentarie. Vennero praticate delle estrazioni routinarie su 120 pazienti e venne consegnato loro un questionario in cui veniva loro chiesto se si aspettavano di ricevere antibiotici dopo l'estrazione e se l'avrebbero richiesto (se non prescritto). Fu inoltre chiesto loro se si aspettavano di ricevere un antibiotico in caso di dolore dentario, ascesso o se avrebbero richiesto al medico di famiglia un antibiotico per curare l'influenza. Sono stati registrati età, sesso e livello di istruzione di tutti i pazienti inclusi nello studio. Per quanto riguarda l'educazione, è risultato che 9 pazienti avevano la licenza media, 34 avevano frequentato le scuole superiori, 47 erano andati al college e 30 si erano laureati. I risultati sono emblematici: 80 pazienti su 120 si aspettavano di ricevere l'antibiotico dopo l'estrazione dentaria (importante è il fatto che non c'era differenza statisticamente significativa per età e istruzione nei gruppi positivo e negativo). Il 70% dei pazienti che si aspettavano di ricevere l'antibiotico l'avrebbero richiesto al medico se questo non fosse stato prescritto. Il motivo principale di questa richiesta era che molti (82%) credevano che l'antibiotico avrebbe prevenuto un'ipotetica infezione postoperatoria. 105/120 pazienti si aspettavano di ricevere un antibiotico se avessero avuto un ascesso e il 41,7% in caso di mal di denti. Un dato confortante è che solo 19 pazienti avrebbero richiesto al medico curante l'antibiotico per curare l'influenza. Questi risultati sono sorprendenti perché più della metà dei pazienti aveva ricevuto un'educazione al college e ci si aspettava che fossero più informati, dato che la letteratura non supporta l'utilizzo di profilassi antibiotica allo scopo di prevenire infezioni dopo estrazioni dentarie routinarie (Lodi et al. 2012).

1.4 Condizioni sistemiche che predispongono allo sviluppo di infezioni post-operatorie

Molte condizioni cliniche sistemiche possono condizionare la difese cellulari e umorali che proteggono l'organismo dalle infezioni, rendendolo quindi più suscettibile ai microrganismi patogeni. Queste condizioni includono:

- diabete mellito non controllato
- malattie renali terminali e uremia
- alcolismo
- immunodepressione conseguente ad infezione da HIV
- leucemia
- linfomi

Per tutte queste condizioni, molti clinici sono d'accordo nel somministrare una profilassi antibiotica in caso di estrazioni dentarie (Laskin 2011).

Nonostante questo generale accordo tra i clinici, questa opinione non è supportata dalla letteratura scientifica. Ad esempio, da un recente studio sulla relazione tra controllo glicemico e complicanze post- estrattive è emerso che la guarigione dell'alveolo post-estrattivo nei diabetici non controllati non era statisticamente diversa rispetto ai diabetici con controllo glicemico (Aronovich S. et al. 2010) .

Altri studi hanno anche dimostrato come le estrazioni dentarie siano una procedura chirurgica a basso rischio per le infezioni postoperatorie nei pazienti con HIV, specialmente quando la conta dei linfociti CD4 è superiore a 200/mm³. (Dodson TB. 1977, Robinson PG. et al. 1992, Diz Dios P. 1999). Anche per pazienti con malattia renale (ma senza accesso venoso centrale o shunt arterovenosi) la procedura di estrazione dentaria routinaria ha un basso rischio di infezione. Nei pazienti in dialisi o che hanno accessi venosi invece la profilassi può essere necessaria a causa del rischio di infezione dei dispositivi medici e conseguente endocardite batterica; in ogni caso l' American Heart Association non la raccomanda in pazienti di cui non si conoscano rischi cardiovascolari perché appunto si tratta di procedure a basso rischio (Wilson W. et al. 2007) . Infine, anche i pazienti con epatopatia alcolica, che hanno una funzione reticoloendoteliale ridotta così come una ridotta risposta immunitaria cellulo-mediata, non richiedono una profilassi antibiotica se sottoposti a estrazioni dentarie routinarie secondo Little JW. et al. (2008).

Uno studio interessante di Simon & Matee (2001) condotto in Tanzania, ha osservato come, anche in una popolazione con ridotto livello di igiene orale e ad alta prevalenza di infezione da HIV, l'utilizzo di antibiotici routinari per le estrazioni dentarie non sia necessario. Lo studio è stato condotto su 3732 pazienti, che sono stati sottoposti ad estrazioni dentarie senza profilassi antibiotica. L'incidenza di complicanze post-estrattive è stata dell' 1,1% (quindi molto bassa): le complicanze sono state principalmente dovute all'infezione dell'alveolo post-estrattivo, sanguinamento persistente e radici ritenute. 11 pazienti hanno presentato complicanze più gravi quali fascite necrotizzante (1 paziente), Herpes zoster (1 paziente) (secondo Hedner et al. infatti un'estrazione dentaria può riattivare i virus erpetici), angina di Ludwig (1 paziente), infezione dello spazio sottomandibolare (1 paziente), infezione dello spazio peri-faringeo (2 pazienti), dello spazio masticatorio (2 pazienti) e dello spazio submasseterico (2 pazienti). I pazienti che hanno riportato gli effetti avversi gravi sono quelli che si sono recati all'attenzione della clinica per le estrazioni quando già si era instaurata un'infezione e che non si sono ripresentati ai primi sintomi, rendendo sempre più ingravescente la loro condizione. Tutte le complicanze sono state trattate con terapia chirurgica associata all'utilizzo di un antibiotico ad ampio spettro.

1.5 Conseguenze della batteriemia indotta dalle estrazioni dentarie

L'incidenza di batteriemia dopo estrazione dentaria varia dal 43 al 96% dei casi, in cui gli streptococchi viridanti sono i microrganismi maggiormente ritrovati nel torrente ematico (Roda RP. et al. 2008).

La batteriemia può durare fino ad un'ora dopo la procedura estrattiva. In alcuni pazienti con patologie cardiache si pensa che questa batteriemia sia implicata nello sviluppo dell'endocardite batterica e quindi viene utilizzata la profilassi antibiotica pre-operatoria. Comunque il ruolo prominente della batteriemia indotta dalle estrazioni dentarie è stato recentemente messo in discussione ed anche il numero di indicazioni per la profilassi antibiotica è stato ridotto dalle recenti linee guida dell' American Heart Association. In più, alcuni studi hanno evidenziato come la batteriemia possa essere ancora presente nel torrente circolatorio (a seguito di estrazioni dentarie) nonostante la profilassi antibiotica, rendendo quindi la profilassi non efficace al 100%. In un studio di Lockhart et al. (2008) è

stata comparata la batteriemia dopo estrazione dentaria con o senza profilassi antibiotica (con amoxicillina o con placebo) e dopo spazzolamento dei denti nelle normali procedure di igiene orale. L'incidenza cumulativa di batteriemia che hanno riscontrato nei 3 gruppi è del 56% dopo estrazione con profilassi, dell'80% dopo estrazione senza profilassi e del 32% dopo il solo spazzolamento dei denti. Il 2% dei pazienti del gruppo placebo e il 9% del gruppo con spazzolamento sono stati trovati ancora batteriemici a 60 minuti dalla procedura. Anche il 2% del gruppo con la profilassi però è risultato batteriemico ad un'ora dall'estrazione. Nonostante la grande enfasi riposta nella prevenzione della batteriemia a seguito di procedure odontoiatriche, si osserva una batteriemia transitoria anche solo dopo lo spazzolamento degli elementi dentari nelle manovre di igiene orale. I batteri solitamente entrano nel torrente circolatorio attraverso la mucosa interrotta o ulcerata che circonda gli elementi dentari o presente nell'alveolo post-estrattivo. Lo spazzolamento dei denti durante le manovre di igiene orale può interrompere vaste aree di mucosa (compreso il solco gengivale) attraverso le quali i batteri possono penetrare nel torrente circolatorio. Nonostante l'incidenza della batteriemia a seguito delle manovre di igiene orale sia inferiore rispetto a quanto riscontrato per le estrazioni, la percentuale di pazienti che presentano batteriemia dopo 60 minuti è piuttosto elevata. Questo suggerisce che lo spazzolamento possieda un rischio di batteriemia intrinseco simile a quello delle estrazioni dentarie, dato che le linee guida professionali raccomandano l'igiene orale almeno 2 volte al giorno. Inoltre questo tipo di batteriemia si può avere più di 200 volte in un anno (con una media di 2 spazzolamenti al giorno), che è un numero enorme rispetto alle 2 visite l'anno dal dentista (dato valido per la popolazione degli Stati Uniti). Ulteriori studi sarebbero utili per chiarire quanto la batteriemia indotta dall'igiene orale possa influenzare lo sviluppo di endocardite batterica. L'utilizzo della profilassi antibiotica nei pazienti con protesi articolari è un altro capitolo controverso. Nel 2003 la American Dental Association (ADA) e l' American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS) conclusero che l'antibiotico profilassi non era indicata per pazienti con chiodi, viti o placche che si sottoponevano ad estrazione dentaria a meno che non appartenessero ad un gruppo ad alto rischio, ossia con pregressa infezione della protesi articolare (American Academy of Orthopaedic Surgeons Information Statement 2010).

Secondo Laskin (2011), nonostante siano presenti in letteratura molti articoli che sottolineano quanto la profilassi antibiotica sia importante in certi pazienti sani, e in quelli con fattori di rischio sistemici che devono sottoporsi ad estrazione dentaria, gli studi che

hanno investigato queste indicazioni in genere affermano che questa pratica, nella maggior parte dei casi, non è necessaria.

Le indicazioni principali alla profilassi antibiotica, supportate dalla letteratura scientifica, sembrano essere estrazioni dentarie eseguite in pazienti ad alto rischio di endocardite e in quelli con un alto rischio di infezione di protesi articolare (nonostante si possa avere batteriemia anche a seguito di procedure di igiene orale, come dimostrato da Mougeot et al. (2015)).

1.6 Indicazioni per l'utilizzo di antibiotici in odontoiatria

Gli antibiotici non sono un'alternativa all'atto chirurgico in odontoiatria ma sono un ausilio aggiuntivo (Pallasch TJ. 1979). L'uso maggiore di antibiotici in odontoiatria a scopo profilattico si ha per procedure che causano un sanguinamento in cavità orale, come le estrazioni dentarie, ed è divenuto un utilizzo routinario tra gli odontoiatri (Tong DC. & Rothwell BR. 2000). In realtà gli antibiotici sono indicati per trattare pazienti immunocompromessi, in caso di evidenti segni di infezione sistemica o se l'infezione mostra una rapida progressione.

1.6.1 Profilassi antibiotica per la prevenzione dell'endocardite batterica

Come precedentemente spiegato, l'endocardite infettiva è un evento non comune ma ha un elevato tasso di mortalità e di morbilità (Prendergast BD. 2006) La profilassi antibiotica, eseguita prima di procedure dentali invasive (ad esempio le estrazioni dentarie), è da 50 anni lo standard di cura per pazienti ad alto rischio di sviluppare endocardite in molte parti del mondo (Wilson W. et al. 2007). Lo scopo della profilassi è quello di ridurre o eliminare la batteriemia a seguito delle procedure invasive e che potrebbe portare allo sviluppo di endocardite negli individui più suscettibili. (Lockhart PB. et al. 2004). Questa procedura profilattica però non è supportata da studi clinici randomizzati e quindi la sua evidenza scientifica è limitata (Strom BL. et al. 1998). Inoltre è stato osservato che la batteriemia si sviluppa anche a seguito di normali procedure di igiene orale come lo spazzolamento (Lockhart PB. et al. 2008), nonostante venga disgregata solo la placca

batterica più superficiale. I batteri associati all' endocardite si possono frequentemente trovare nel torrente circolatorio a seguito di procedure odontoiatriche invasive e non. I microrganismi più prevalenti appartengono a varie specie streptococciche (Lockhart et al. 2008), e si ritrovano nel torrente ematico in proporzioni simili sia dopo spazzolamento che dopo estrazione dentaria (Lockhart PB. 2015). Data la maggior frequenza, le manovre di igiene orale possono porre i pazienti ad un maggior rischio di batteriemia rispetto ad una singola estrazione dentaria. Le categorie ad alto rischio sono riportate nella seguente tabella:

American Heart Association	British society for Antimicrobial Chemotherapy	British Cardiac society
<ul style="list-style-type: none"> - Alto rischio: - paziente portatore di protesi valvolare - pregressa endocardite batterica - malattia cardiaca cianotica congenita non riparata o riparata (fino a 6 mesi dall'intervento) - malattia congenita riparata ma con difetti residui - trapianto cardiaco 	<p>Alto rischio:</p> <ul style="list-style-type: none"> - pregressa andocardite batterica - paziente portatore di protesi valvolare - pazienti con shunt polmonari o sistemici 	<p>Alto rischio:</p> <ul style="list-style-type: none"> - paziente portatore di protesi valvolare - pregressa endocardite batterica - malattia cardiaca cianotica congenita - trasposizione delle grandi arterie - malattia di Fallot - difetto di Gerbode - pazienti con shunt polmonari o sistemici - prolasso della valvola mitrale

Tabella 1.2

Tratto da: Epstein JB, Chong S, Le ND. A survey of antibiotic use in dentistry. *J ADent Assoc* 2000; 131(11):1600–9.

Secondo una recente review sistematica (Glenny AM. et al. 2013) non è chiaro se la profilassi antibiotica eseguita prima di procedure odontoiatriche invasive sia effettivamente efficace nel prevenire l'endocardite batterica nei pazienti a rischio. Esiste una mancanza di evidenza a supporto delle linee guida precedentemente pubblicate a riguardo: non è chiaro quando i potenziali costi e rischi della somministrazione antibiotica siano effettivamente superati dai benefici derivanti dalla prevenzione della patologia.

1.6.2 Profilassi antibiotica e terapia per la prevenzione delle complicanze infettive locali

Molti fattori possono contribuire al rischio di infezione della ferita chirurgica (che, nel caso delle estrazioni dentarie, è rappresentata dall'alveolo post-estrattivo), ad esempio l'età, le co-morbidità, la qualità dei tessuti coinvolti e le abilità del chirurgo. Le ferite chirurgiche si possono classificare in varie categorie (Altemeier WA. 1976):

- 1) Ferite chirurgiche pulite: si tratta di quelle atraumatiche, senza infiammazione e che si chiudono per prima intenzione. Le ferite chirurgiche pulite, nella chirurgia del distretto testa-collo hanno un tasso di infezione molto basso (<1-2% senza profilassi antibiotica). Per questo motivo, in questo tipo di interventi, la profilassi antibiotica non è raccomandata (Johnson JT. & Wagner RL. 1987).
- 2) Ferite chirurgiche pulito-contaminate: in questi casi si ha incisione della mucosa orale, con un rischio infettivo che può raggiungere il 15%. In questi casi, come nell'estrazione dei terzi molari, la profilassi può ridurre il rischio di incidenza delle complicanze post-operatorie (Lodi et al. 2012).
- 3) Ferite chirurgiche contaminate: hanno un tasso di infezione che varia dal 20 al 30% (Condon RE. & Wittmann DH. 1991). In questi casi si instaura una vera e propria terapia antibiotica, perché l'infezione dei tessuti è già avvenuta.
- 4) Ferite chirurgiche infette: sono attivamente infettate e possono derivare da un trauma trattato tardivamente o per la presenza di corpi estranei e/o infetti. In questi casi il rischio di infezione supera il 50% dei casi ed è opportuno instaurare una terapia antibiotica (Laskin DM. 2003).

Nell'ambito delle estrazioni dentarie non è chiaro quando sia richiesta una profilassi per prevenire le complicanze locali e quando no. In letteratura si trovano principalmente studi eseguiti su estrazioni di denti del giudizio: dalla recente review di Lodi (2012) è emerso come effettivamente la profilassi antibiotica possa ridurre le complicanze post-estrattive ma, dato il basso tasso di infezione anche in assenza di profilassi, sia importante considerare se i rischi superino i benefici che ne derivano.

Lo studio clinico oggetto della presente tesi si prefigge di investigare il ruolo della profilassi antibiotica nell'ambito delle estrazioni dentarie più comuni (quindi elementi da estrarre per motivi parodontali, endodontici o perché non restaurabili), valutando quando occorre farne uso e quando invece questa pratica possa essere evitata.

CAPITOLO 2

PRINCIPI DI CHEMIOTERAPIA ANTIBATTERICA

2.1 Ecosistema del cavo orale

Data la posizione del cavo orale, che rappresenta una delle porte d'ingresso degli apparati respiratorio e digerente, non deve stupire che esso sia colonizzato da una moltitudine di microrganismi.

Il cavo orale fornisce diversi microambienti all'interno di se stesso (diversi per grado di umidità, temperatura, tensione di ossigeno, pH e nutrienti), oltre a diversi tipi di superfici (superfici dure non desquamanti come lo smalto dentario, la dentina o il cemento, la mucosa alveolare e di rivestimento, la superficie linguale che, con le sue papille, rappresenta una habitat ideale per molte specie batteriche), che possiedono eccellenti condizioni per la colonizzazione di una vasta varietà di microrganismi.

Nonostante molti microrganismi riescano ad entrare facilmente nel cavo orale, solo una quantità ridotta di essi riesce a colonizzarlo stabilmente (circa 500 specie diverse, di cui la metà non coltivabili, secondo Aas J. et al. (2005) , superando la pressione selettiva dell'ambiente orale, che si esplica principalmente attraverso l'azione dilavante della saliva, con il sistema immunitario e con l'inibizione alla colonizzazione da parte della flora residente.

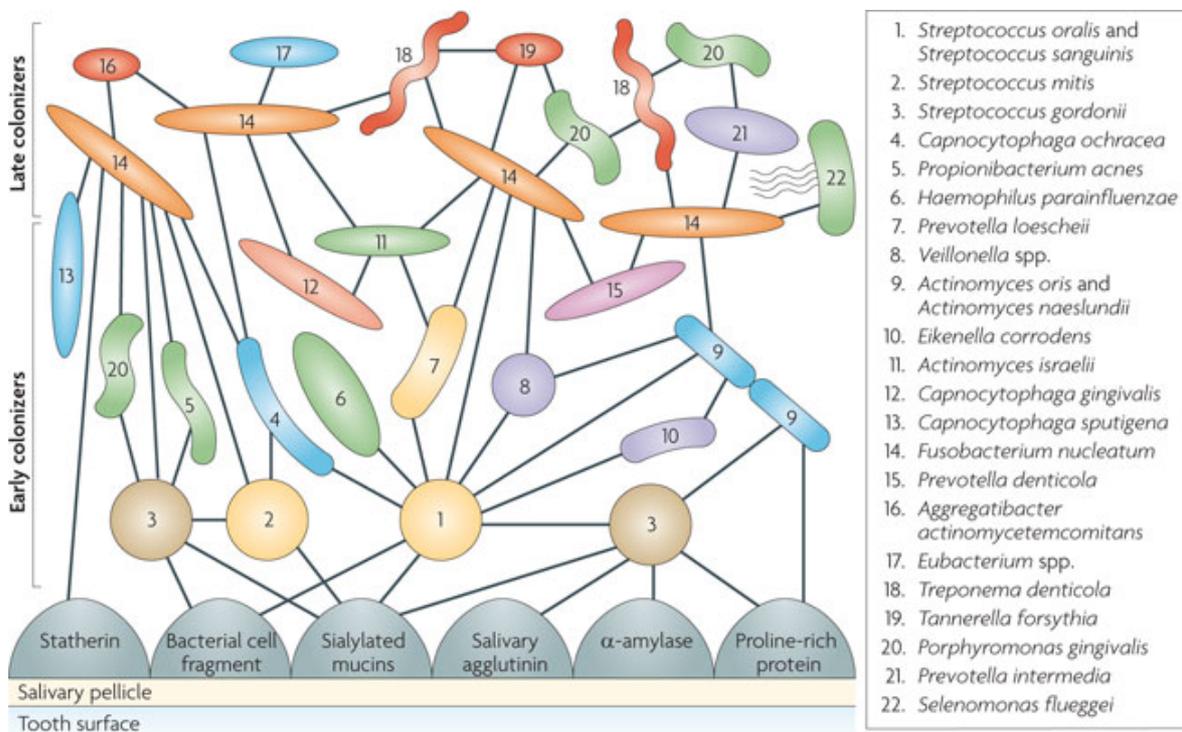
Le diverse specie batteriche sono variamente distribuite sulle superfici presenti nell'ambiente orale, a seconda delle loro capacità di aderirvi e di sopravvivervi:

- sulle mucose orali sono predominanti gli streptococchi, in particolare lo *Streptococcus salivarius*, uno dei primi colonizzatori del cavo orale nel neonato (che proprio grazie alla sua caratteristica di adesione alle mucose orali, riesce a stabilizzarsi sulla mucosa edentula dei neonati).
- sulla superficie dentaria, i batteri sono aggregati a formare la placca batterica, ossia un biofilm (comunità di microrganismi adesi ad una superficie, che nel nostro caso è lo smalto dentario), costituito da batteri e una matrice polimerica extracellulare (prodotta dai batteri stessi). Questo stato organizzativo consente ai batteri della placca di essere più resistenti agli antibiotici rispetto alle rispettive forme planktoniche (grazie alla ridotta diffusione attraverso la matrice, al basso ritmo di crescita che rende i batteri meno

suscettibili agli agenti battericidi, allo scambio di plasmidi facilitato dalla stretta vicinanza, condizioni di anaerobiosi negli strati più profondi, presenza di micorganismi detti “persisters”, che entrano in uno stato dormiente e che non si replicano, divenendo virtualmente resistenti a tutti gli antibiotici).

- la formazione della placca avviene grazie ad un’iniziale fase di adesione alla pellicola dello smalto (ossia glicoproteine salivari che si depositano sugli elementi dentari) da parte dei batteri pionieri (streptococchi mitis, sanguis, oralis, etc).

In seguito essi si aggregano ai colonizzatori secondari (lactobacilli, batteri filamentosi etc.) portando alla formazione di una placca sempre più matura e complessa (Rosan & Burton 2000)



Nature Reviews | Microbiology

Figura 2.1: sviluppo del biofilm batterico sulla superficie dentari

Tratta da: Kolenbrander, Paul E., Robert J. Palmer, Saravanan Periasamy, e Nicholas S. Jakobovics. «Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance». *Nature Reviews Microbiology* 8, n. 7 (1 giugno 2010): 471–80. doi:10.1038/nrmicro2381.

- nel solco gengivale si forma un biofilm analogo a quello sopragengivale, in cui i batteri si trovano aggregati in complessi (blu, giallo, verde, viola, per arrivare ai complessi parodontopatogeni arancione e rosso, in cui l'ultimo è costituito da specie francamente patogene per il parodonto come *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*), con una maggior prevalenza di specie anaerobie e gram negative. (Socransky et al. 1998)

L'ecosistema orale può essere influenzato da numerosi fattori, quali la dieta (ad esempio l'assunzione frequente di zuccheri fermentabili porta ad un aumento dei batteri acidogeni e acido-tolleranti cariogeni, come lo *Streptococcus mutans*), l'età, l'assunzione di farmaci antimicrobici, l'igiene orale, l'utilizzo di bevande alcoliche ed il fumo di tabacco.

In un adulto con buone condizioni della cavità orale si stima che i microrganismi prevalenti siano aerobi-anaerobi facoltativi, rappresentati per il 70% da cocchi (streptococchi) e per il 30% da altri microrganismi (D'Alessandro N. e Notarbartolo M., "*Farmacologia in odontoiatria*" capitolo 17).

Le patologie infettive che si possono osservare a carico del cavo orale sono essenzialmente le infezioni odontogene e le malattie parodontali. In entrambi i casi, l'infezione è causata nella maggior parte dei casi da una popolazione microbica mista, con un maggior coinvolgimento di specie anaerobie. Questo vale anche per le infezioni dei siti post-estrattivi, che vengono colonizzati da specie commensali saprofiti, dando luogo alle complicanze locali come dolore, suppurazione, edema, ritardo di guarigione etc. (D'Alessandro N. e Notarbartolo M., "*Farmacologia in odontoiatria*" capitolo 17)

2.2 Meccanismo d'azione degli antibiotici

Con il termine antibiotico si definiscono sostanze prodotte da batteri o funghi in grado di inibire la crescita di altri microrganismi.

Come già detto nel capitolo precedente, Ehrlich, agli inizi del secolo scorso, propose dei criteri su cui basare la terapia antibiotica, che dovrebbe essere come un "proiettile magico" che colpisca solo i microrganismi responsabili dell'infezione, con una tossicità per l'ospite il più possibile bassa. Ad oggi le molecole antibiotiche disponibili non soddisfano appieno questi criteri e possono dar luogo a reazioni ed eventi avversi anche seri.

A seconda del tipo di batterio che causa l'infezione, dobbiamo utilizzare farmaci con meccanismi d'azione e target diversi, che possano inibire la crescita del batterio per poter

dare modo al sistema immunitario dell'individuo di contrastare l'infezione (agenti batteriostatici) o debellare l'infezione (agenti battericidi).

Gli antibiotici furono inizialmente estratti da batteri o funghi (prima fra tutti la penicillina, estratta dal fungo *Penicillium notatum*), nascendo quindi come farmaci naturali, mentre oggi molte molecole vengono prodotte per via sintetica o semisintetica (partendo dalle molecole naturali o sintetizzate ex novo) per migliorarne le caratteristiche di assorbimento, tollerabilità e biodisponibilità. Come già esposto da Ehrlich, l'antibiotico deve avere una tossicità selettiva: tossico nei confronti dei batteri causanti l'infezione ma non dannoso per le cellule eucariotiche del nostro organismo.

Più un antibiotico è selettivo e meno danneggerà l'ospite.

I batteri sono organismi unicellulari procarioti (non hanno un nucleo ben definito, il materiale genetico è disperso nel citoplasma), ben diversi dalle nostre cellule che sono eucariotiche (possiedono una compartimentazione intracellulare, hanno un nucleo definito che contiene il DNA e non possiedono una parete).

Un tipo di sostanze che hanno attività antimicrobica ma non una tossicità selettiva sono i disinfettanti: essi servono ad abbassare la carica batterica su superfici, oggetti e ambienti ma non distinguono i tipi di cellule (procariotiche da eucariotiche), quindi se somministrati per via sistemica danneggerebbero tutte le cellule del nostro organismo.

La tossicità selettiva dipende da vari fattori:

- 1) Presenza di target sulle cellule batteriche che non sono presenti nelle cellule eucariotiche dell'ospite (ad esempio la parete cellulare)
- 2) Differenza di penetrazione nelle cellule eucariotiche e procariotiche (deve poter entrare in quelle batteriche e non nelle altre)
- 3) Bersagli che hanno strutture diverse nei procarioti e negli eucarioti (ad esempio i ribosomi batterici)

2.3 Classificazione

Gli antibiotici possono essere classificati in famiglie che hanno caratteristiche strutturali simili: penicilline, cefalosporine, macrolidi, aminoglicosidi, chinoloni etc. All'interno della stessa famiglia possono esistere strutture diversificate (ad esempio amoxicillina e ampicillina) che possono favorire la specificità dell'azione, una maggior penetrazione nelle cellule batteriche ed una tossicità ridotta.

Gli antibiotici possono essere anche classificati secondo il loro spettro d'azione, cioè la quantità di batteri che sono sensibili a quell'antibiotico:

- 1) Ad ampio spettro d'azione (antibiotico attivo sia nei confronti dei batteri Gram+ che Gram-)
- 2) A spettro d'azione medio (attivo contro i batteri Gram+ ed alcuni batteri Gram-)
- 3) A spettro d'azione ristretto se l'antibiotico è selettivamente efficace contro Gram+ o Gram-

Come detto precedentemente, spesso le infezioni batteriche sono sostenute da più popolazioni batteriche: utilizzando un antibiotico ad ampio spettro le possibilità di debellare l'infezione sono maggiori, se si vuole utilizzare un antibiotico a spettro ristretto si deve prima sapere quale specie batterica stia sostenendo l'infezione, altrimenti il trattamento rischia di fallire.

Un'ulteriore classificazione degli antibiotici è secondo il tipo di azione:

- 1) Ad azione batteriostatica (come le tetracicline, i sulfamidici e i macrolidi): questi farmaci riducono la riproduzione batterica impedendone la replicazione ma non le uccidono, permettendo però al sistema immunitario dell'ospite di risolvere l'infezione.
- 2) Ad azione battericida (come le penicilline, le cefalosporine, gli aminoglicosidi): questi farmaci provocano la morte dei batteri, hanno un'azione irreversibile e sono attivi contro batteri in attiva replicazione. Un agente viene considerato battericida se, dopo 24 ore di contatto in vitro, determina una sopravvivenza uguale o inferiore allo 0,01%).

L'ultima classificazione è quella in base al meccanismo attraverso il quale gli antibiotici esplicano la loro azione, come mostrato nella seguente tabella:

MECCANISMO D'AZIONE	ESEMPI
Inibizione della sintesi della parete batterica	Penicilline, cefalosporine, glicopeptidi
Inibizione della sintesi proteica	Macrolidi, aminoglicosidi, cloramfenicolo, tetracicline
Inibizione della replicazione o della trascrizione del DNA	Chinoloni, rifampicina
Alterazione della permeabilità della membrana	Polieni e polimixine
Attività antimetabolica	sulfamidici

Tabella 2.1

La parete cellulare è un ottimo bersaglio differenziale dato che non è presente nelle cellule eucariotiche. Il blocco della sintesi della parete porta allo scoppio per lisi osmotica della cellula.

Esistono molti tipi di antibiotici attivi su questo bersaglio poiché la formazione della parete è un processo lungo e complesso, che si può dividere didatticamente in 3 fasi: nella prima fase i precursori vengono sintetizzati nel citosol della cellula, poi nella seconda fase devono attraversare la membrana, tramite trasportatori specifici, per poter giungere alla terza fase, ossia la formazione dei legami tra le unità che formano la parete al di fuori della membrana stessa.

Sulla fase citoplasmatica della formazione agiscono antibiotici come la Fosfomicina e la Cicloserina, sulla fase del trasporto agisce la Bacitracina (impedendo la defosforilazione del trasportatore del dimero formato da N-acetil-D- Glucosamina acido N-acetil muramico e del ponte pentaglicinico, che quindi una volta usciti dalla membrana non si staccheranno dal trasportatore, impedendo la prosecuzione del processo).

Gli antibiotici β -lattamici agiscono sull'enzima transpeptidasi, fungendo da analoghi strutturali del dimero D-ala-D-ala (il substrato naturale dell'enzima) e legandosi in maniera irreversibile allo stesso. Per questo motivo le transpeptidasi sono anche dette Penicillin-binding-proteins.

Anche i glicopeptidi agiscono sul dimero D-ala-D-ala ma con un altro meccanismo, ossia coprendolo e non rendendolo disponibile per le transpeptidasi.

Gli inibitori della sintesi proteica hanno come bersaglio selettivo i ribosomi batterici, che hanno un coefficiente di sedimentazione diverso dai ribosomi dei mammiferi: 70 S per i ribosomi batterici contro 80S per quanto riguarda i ribosomi dei mammiferi.

I ribosomi sono composti da 2 subunità, una con coefficiente di sedimentazione 30S ed una 50S.

I vari antibiotici possono agire su una delle 2 per esplicare la loro azione. Gli aminoglicosidi, ad esempio, si legano alla subunità 30S, impedendo il legame con l'RNA di trasporto e quindi l'intera sintesi proteica. Anche le tetracicline si legano alla subunità 30S, però bloccano la fase successiva della trascrizione dell'RNA, ossia bloccano l'introduzione di nuovi amminoacidi nella catena peptidica in formazione.

I macrolidi, una classe di antibiotici molto utilizzata in ambito odontoiatrico (antibiotici appartenenti a questa classe rappresentano i farmaci di seconda scelta nei pazienti allergici

alle penicilline), si legano alla subunità 50 S del ribosoma, impedendo il rilascio del tRNA dopo la formazione del legame peptidico e bloccando così la sintesi di proteine successive al blocco.

Gli inibitori della sintesi del DNA possono agire a vari livelli:

- Impediscono la sintesi dei precursori (è il meccanismo d'azione dei sulfamidici, antibiotici di sintesi analoghi non funzionali del PABA (acido para-amino-benzoico), un precursore fondamentale per la sintesi di purine e pirimidine, che rappresentano le unità di base del DNA)
- Inibendo la replicazione del DNA (meccanismo d'azione dei chinoloni, che agiscono sull'enzima DNA girasi, impedendo l'impacchettamento in cromosomi del materiale genetico batterico).
- Inibendo la replicazione dell'RNA (come la rifampicina, che blocca la sintesi dell'RNA messaggero)

Gli antibiotici che agiscono sulla permeabilità della membrana cellulare funzionano come dei detergenti cationici, provocando la formazione di pori nella membrana citoplasmatica e la conseguente lisi osmotica, come le polimixine, che sono attive contro i batteri Gram⁻ ed i polieni, che sono degli antifungini (interagiscono con l'ergosterolo, di cui le membrane cellulari dei miceti sono ricche).

Gli antibiotici batteriostatici di sintesi come i sulfamidici infine impediscono la formazione del DNA, competendo con un enzima che dovrebbe sintetizzare i precursori del DNA

(S. Baron "Medical microbiology" capitolo 11).

In generale, tutti gli agenti antibiotici devono raggiungere concentrazioni attive nel sito di infezione, senza però risultare troppo tossici per l'organismo (sia a livello locale che sistemico).

Un batterio è considerato sensibile ad un antibiotico se risponde a una quantità di questo facilmente raggiungibile nel siero. Va però ricordato che la penetrazione dell'antibiotico nei siti infetti avviene quasi sempre per diffusione passiva, quindi la quota di farmaco utile allo scopo è quella che si trova nel siero in forma non legata alle proteine plasmatiche. Si evince quindi che i farmaci più affini per le proteine plasmatiche (come l'albumina) non arriveranno così bene ai tessuti come quelli poco legati. La penetrazione del farmaco nelle cavità ascessuali è generalmente preclusa dal ridotto flusso sanguigno, quindi la terapia di un ascesso consisterà prima nel drenaggio fisico dell'ascesso stesso e in seguito si dovrà effettuare la terapia antibiotica (D'Alessandro N. e Notarbartolo M., "Farmacologia in odontoiatria" capitolo 17).

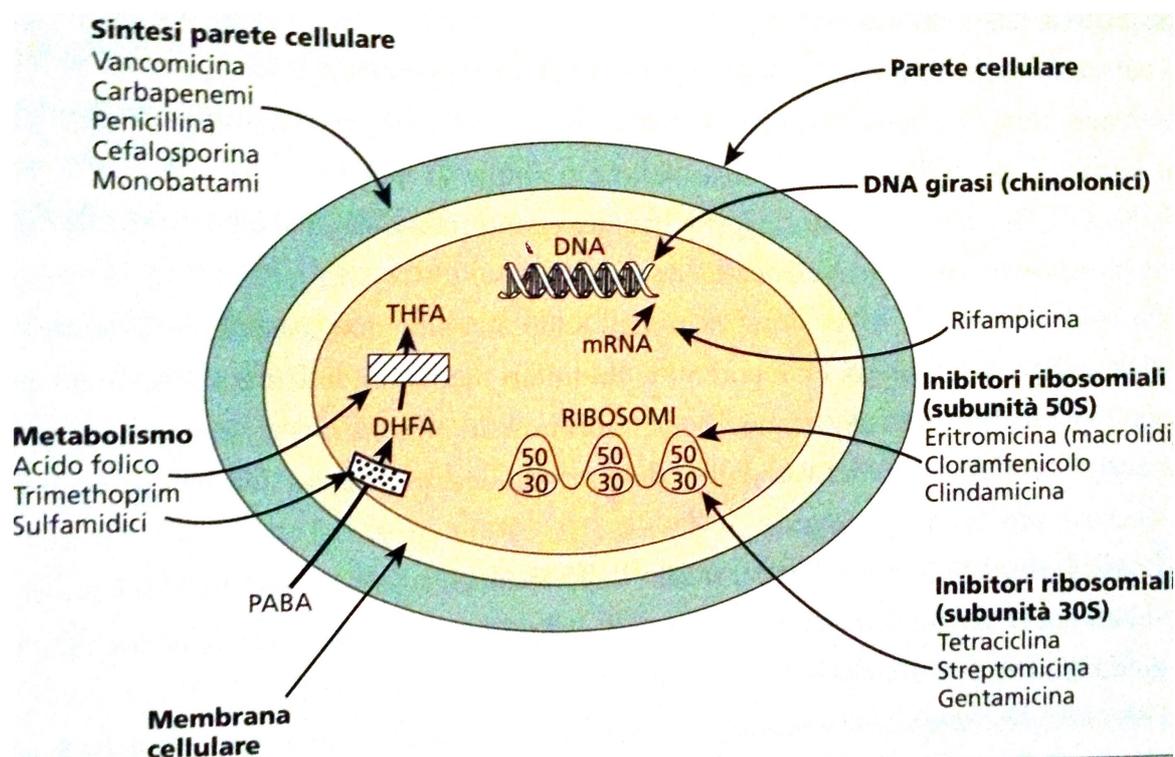


Figura 2.2: Schematizzazione dei meccanismi d'azione degli antibiotici

Tratta da: *Manuale di chirurgia orale SICOI*, capitolo 20 (terapia farmacologica) sistemica)

2.4 Criteri di scelta degli antibiotici

Quando ci troviamo davanti ad un'infezione, in assenza dell'individuazione dei microrganismi che la sostengono, inizialmente scegliamo una terapia empirica, utilizzando agenti antimicrobici ad ampio spettro o combinazioni di essi, in modo da avere più probabilità di colpire i batteri maggiormente coinvolti. Questo tipo di approccio risulta

indispensabile di fronte ad infezioni severe, nelle quali non si può aspettare l'identificazione del/dei patogeni principali ma si deve iniziare subito una terapia, ma lo svantaggio è che, nell'uso prolungato, promuovono lo sviluppo di super infezioni da parte di batteri commensali che prendono il sopravvento sulla flora normale suscettibile a quel farmaco (ad esempio la flora normale intestinale è in grado di inibire la crescita eccessiva di microrganismi dannosi, come la *Candida albicans* od altri miceti, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile* etc.).

Inoltre l'effetto sulla flora intestinale, importante fonte produttrice di Vitamina K, comporta un aumento dell'effetto di farmaci anticoagulanti come i dicumarolici. In una terapia ideale, dovrebbe essere identificato il patogeno responsabile e, conseguentemente, dovrebbe essere scelto un antibiotico a spettro ristretto per quel patogeno (o almeno il più ristretto possibile).

In odontoiatria la maggior parte delle scelte viene fatta in maniera empirica, basandosi sulla sintomatologia, sulla sede di infezione e sulla ipotetica conoscenza dei batteri che sostengono l'infezione.

L'antibiotico ideale quindi dovrebbe possedere le seguenti caratteristiche:

- Capacità di raggiungere il sito di infezione (quindi, nel caso delle infezioni odontoiatriche, dovrebbe avere un certo tropismo per il tessuto gengivale e per l'osso alveolare).
- Possibilità di raggiungere concentrazioni superiori alla MIC (minima concentrazione inibente, vale per gli agenti batteriostatici) o alla MBC (minima concentrazione battericida, per gli agenti battericidi)
- Essere attivo su tutti i presunti patogeni
- Avere una buona tollerabilità

Alcuni farmaci possono essere utilizzati con successo se somministrati in associazione, dando luogo ad un effetto sinergico: un esempio è l'utilizzo delle aminopenicilline in associazione ad un inibitore delle β -lattamasi (come l'acido clavulanico, che è privo di attività antibatterica ma contribuisce a prolungare l'emivita del vero antibiotico, che viene metabolizzato in quantità minore dalle β -lattamasi batteriche) (Adam D. et al. 1982)

Non si deve però pensare che tutte le associazioni tra farmaci siano sinergiche: esistono infatti anche numerosi casi di antagonismo dell'attività antimicrobica, ad esempio associando un antibiotico batteriostatico ad uno con effetto battericida si ha una riduzione dell'attività di entrambi i farmaci. Infatti, mentre l'agente batteriostatico arresta la

proliferazione batterica, l'altro agente non può avere effetto, visto che agisce principalmente su batteri in attiva replicazione.

Alcuni farmaci antibiotici hanno un'azione antibatterica tempo-dipendente, ossia devono essere mantenuti ad una concentrazione superiore alla MIC o alla MBC in maniera il più possibile costante (grazie a somministrazioni ad hoc, ad esempio ogni 12 ore od ogni 8 ore) nella zona di infezione. Questo è il meccanismo di azione delle β -lattamine, per questo quando si fa terapia antibiotica con amoxicillina, la posologia è di 1g ogni 8 o 12 ore, proprio per mantenere il più costante possibile la concentrazione. Per altri farmaci, invece, è necessario raggiungere una concentrazione elevata ma non necessariamente costante nel tempo (antibiotici concentrazione-dipendenti). Questo è il meccanismo d'azione, ad esempio, di aminoglicosidi e fluorochinoloni. Il motivo è che questi farmaci, specialmente nei batteri Gram⁺, provocano un effetto detto post-antibiotico: viene inibita la crescita, per alcune ore, dei batteri sopravvissuti all'esposizione (Vogelman B. & Craig W.A 1986).

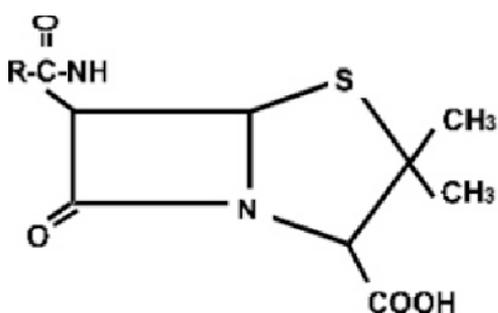
Un ultimo fattore da tenere in considerazione è la compliance dei pazienti, che risulta in genere buona se le somministrazioni non superano le 2 dosi giornaliere. Occorre però ricordare che alcuni studi rivelano statistiche particolarmente basse riguardo l'adesione ad una corretta condotta post-operatoria in chirurgia orale (Vogelman B. & Craig W.A 1986). Nello studio di Vogelmann & Craig (1986) venne valutato il grado di compliance dei pazienti sottoposti ad un piccolo intervento di chirurgia orale: ad una settimana dall'intervento venne consegnato un questionario per chiedere loro quanto ricordassero delle raccomandazioni/istruzioni/terapie date loro dai medici. Risultò che il 40% di essi non ricordava di aver ricevuto istruzioni sia scritte che verbali, il 36% ricordò solo quelle scritte.

Inoltre il 12% dei pazienti non ricordava che avrebbe dovuto fare degli sciacqui con un agente antibatterico nel periodo post-operatorio ed il 67% non aveva capito le istruzioni riguardanti la terapia antibiotica. Di questi il 43% ne assunse più di quanto prescritto, il 31% meno e, fatto più preoccupante, il 4% lo ha assunto lo stesso anche se non prescritto (quindi con dosaggi non prescritti dal medico, seguendo una sorta di automedicazione).

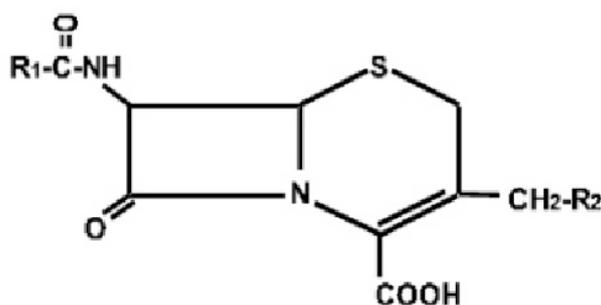
Per questi motivi la compliance del paziente è un fattore da non sottovalutare ed occorre sempre prestare attenzione quando si forniscono le istruzioni per il periodo post-operatorio, accertarsi che il paziente le abbia capite. La cosa migliore sarebbe quella di fornire istruzioni scritte che il paziente possa seguire nel periodo post-operatorio.

2.5 Principali antibiotici di impiego odontoiatrico

1) **β -Lattamine**: sono gli antibiotici di prima scelta nelle infezioni odontoiatriche; appartengono a questa classe di composti le penicilline, le cefalosporine, i carbapnemi ed i monobactamici. Tutti questi composti sono caratterizzati dalla presenza di un anello β -lattamico (da cui il nome) unito ad un anello tiazolidinico nelle penicilline, ad uno diidrotiazinico nelle cefalosporine. L'attività antibatterica di questi composti è determinata dalla presenza dell'anello β -lattamico, quindi, se questo viene scisso ad opera di enzimi batterici, si ha una perdita dell'effetto antibatterico. Le differenze che esistono tra questi antibiotici sta nei sostituenti (R) dell'anello.



(a)



(b)

Figura 2.3: Strutture di base delle penicilline (a) e delle cefalosporine (b)

Nei carbapnemici invece l'anello β -lattamico è unito ad un anello a 5 atomi di carbonio, privi dello zolfo. I monobactamici sono costituiti infine dal solo anello β -lattamico con una catena laterale.

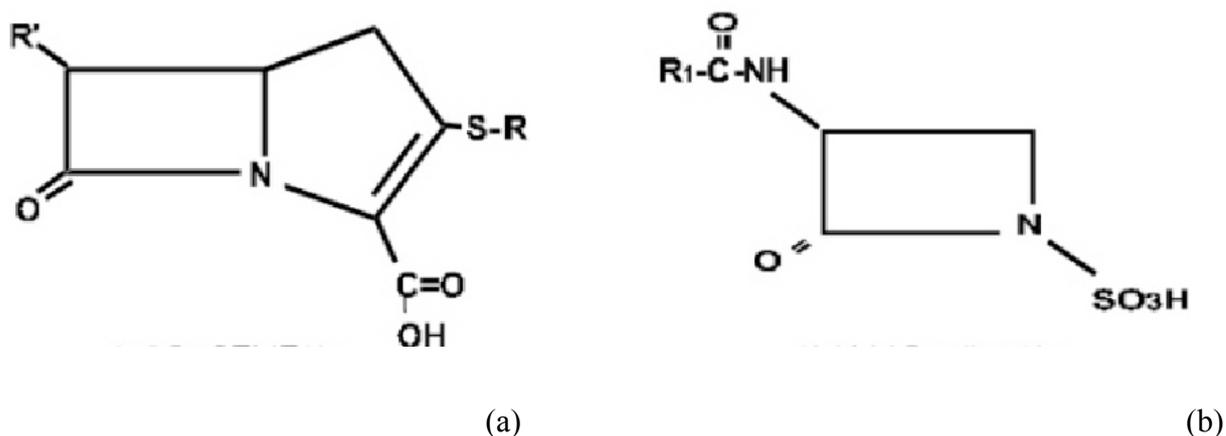


Figura 2.4: strutture di base dei carbapnemici (a) e dei monobactamici (b)

Il loro meccanismo di azione si esplica attraverso il blocco della sintesi della parete cellulare batterica.

Questa struttura è un bersaglio selettivo in quanto non presente nelle cellule dell'organismo umano (e dei mammiferi in generale) mentre è una struttura essenziale per la sopravvivenza dei batteri. La sintesi della parete è inibita nella sua parte finale, ossia nell'assemblaggio del peptidoglicano, un componente fondamentale per la struttura della parete.

Esso è composto da una catena lineare di molte unità, composte da un disaccaride (N-acetil-D-glucosammina e dall'acido N-acetil-muramico, uniti da un legame $\beta - 1,4$ glicosidico) e da una componente peptidica (un tetrapeptide, che si trova alternativamente nelle sue forme D e L) (Atrih A. et al. 1999)

Quella che viene inibita dalle β -lattamine è la reazione di transpeptidazione, che si verifica all'esterno della membrana cellulare, che porterebbe alla formazione dei legami crociati (tra i residui dell'acido N-acetil-muramico ed il tetrapeptide), che conferirebbe al peptidoglicano una resistenza alla trazione simile a quella del cemento armato. Vi sono

anche altri bersagli delle β -lattamine, che in generale vengono chiamati PBP (penicillin binding proteins).

Meccanismi di resistenza: i batteri possono eludere l'azione di questi antibiotici con vari meccanismi:

- Riducendo la permeabilità della membrana cellulare
- Producendo enzimi inattivanti (β -lattamasi)
- alterando le PBP (penicillin binding proteins)

2.5.1 Penicilline: sono gli antibiotici più utilizzati in campo odontoiatrico, specialmente le aminopenicilline, come l'amoxicillina.

Secondo Arteagoitia et al. (2016), basandosi su uno studio condotto tra chirurghi orali spagnoli, per il 58,3% di essi l'antibiotico di elezione è l'amoxicillina, per il 34,5% è l'amoxicillina in combinazione con acido clavulanico.

Fleming scoprì la penicillina nel 1929 estraendola dal fungo *Penicillium notatum*, la Penicillina G, attiva solo contro i batteri Gram⁺ ma sensibile alle β -lattamasi e non acido resistente. La penicillina G è assorbita in maniera incompleta dopo somministrazione orale (in quanto viene distrutta dagli acidi gastrici) e pertanto deve essere somministrata per via intramuscolare o endovenosa. A partire dalla penicillina G vennero sintetizzate numerose altre penicilline: quelle resistenti alla penicillasi (meticillina, oxalicina etc.), le aminopenicilline (ampicillina, amoxicillina e bacampicillina), le carbossicilline e le ureidopenicilline. Ci soffermeremo sulla amoxicillina in quanto la più utilizzata in ambito odontoiatrico.

Gli effetti avversi più comuni delle penicilline sono le reazioni di ipersensibilità, che complicano tra lo 0,7 e il 4% di tutti i cicli di trattamento. Si tratta (in ordine di frequenza decrescente) di rash maculopapulare, orticaria, febbre, broncospasmo, vasculite, malattia da siero, dermatite esfoliativa, sindrome di Stevens-Johnson e shock anafilattico. Si deve ricordare che l'allergia alle penicilline è crociata. Infatti se un paziente che ha presentato una reazione avversa ad un tipo di penicillina ha una probabilità maggiore di ripresentarla con un altro tipo. Spesso le reazioni sono lievi e regrediscono senza l'interruzione del trattamento, altre volte il trattamento va sospeso e viene proibito il riutilizzo di questi antibiotici.

Le penicilline e i loro prodotti di degradazione agiscono come apteni, che presentano proteine endogene e attivano quindi le IgE. Il determinante principale dell'allergia alle

penicilline è il penicilloide, che si forma all'apertura dell'anello β -lattamico. Entrambi questi meccanismi portano all'attivazione delle IgE, e quindi ai fenomeni allergici come angioedema e anafilassi. (Riedl MA. et al. 2003)

Amoxicillina

L'amoxicillina è una β -lattamina semi-sintetica, attiva contro una vasta serie di infezioni causate da batteri Gram⁺ e Gram⁻ sia nell'uomo che nell'animale (Brogden et al. 1979). Deriva dall'ampicillina, differendo da quest'ultima solo per l'idrossilazione di una catena laterale.

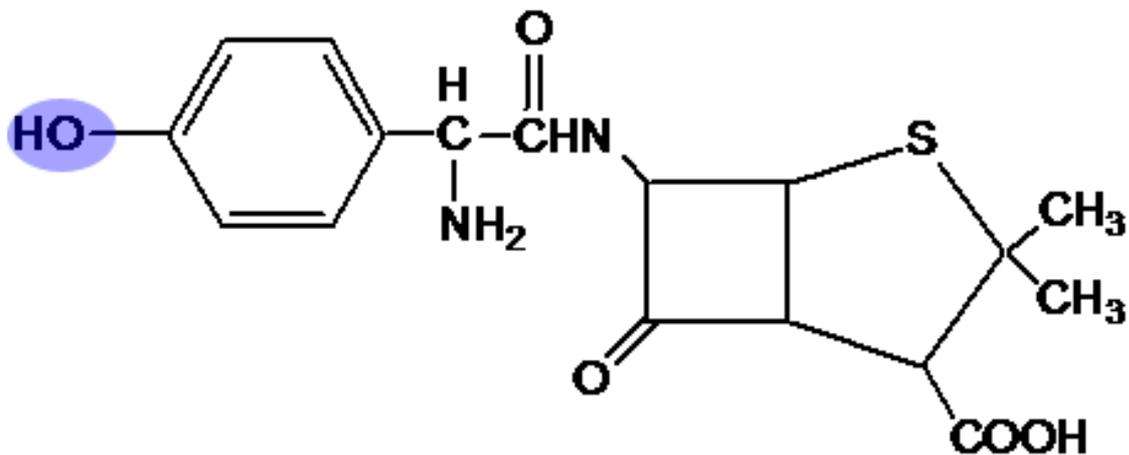


Figura 2.5: Struttura chimica dell'amoxicillina

Tratta da: Bodey GP, Nance J. Amoxicillin: in-vitro and pharmacological studies. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 1972; 1(4): 358- 362.

Il suo spettro di attività e la sua potenza sono molto simili all'ampicillina, la differenza sta nel fatto che l'amoxicillina è meglio assorbita se somministrata per via orale, potendo raggiungere concentrazioni ematiche doppie rispetto all'ampicillina.

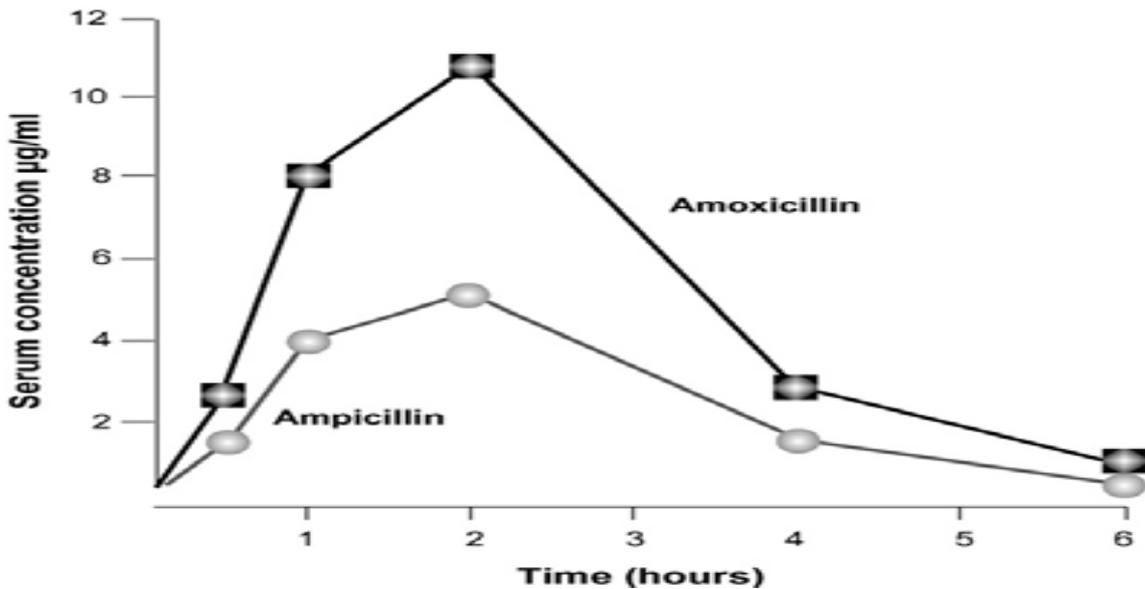


Figura 2.6: Concentrazioni sieriche di amoxicillina e ampicillina dopo una dose di 500 mg.

Tratta da: Gordon R.C., Regamey C., Kirby W. Comparative clinical pharmacology of amoxicillin and ampicillin administered orally. 1972 March, Antimicrobial agents and chemotherapy vol 1, p. 504-507)

L'amoxicillina agisce legandosi alla PBP-1A, che si trova all'interno della parete cellulare: in questo modo impedisce la formazione del legame tra le catene di peptidoglicano e porta alla morte cellulare attraverso meccanismi litici.

La lisi cellulare è mediata dagli enzimi autolitici batterici come le autolisine, è possibile che l'amoxicillina interferisca con la regolazione di questi enzimi litici. La sintesi imperfetta della parete porta ad un ingresso di acqua per osmosi, che porta a lisi cellulare (Kaur et al. 2011).

Si ritiene che l'amoxicillina sia utile nella terapia di molte infezioni, come otite media, tonsillite, laringite, faringite, bronchite, polmonite, infezioni del cavo orale etc.

L'amoxicillina è ben assorbita nel tratto gastro-intestinale, ha una biodisponibilità che varia dal 70 al 90%, con picchi plasmatici in 1-2 ore. Ha un volume apparente di distribuzione di 0,26-0,31 l/kg e si distribuisce ampiamente in molti tessuti ma penetra poco nel sistema nervoso centrale. Si trova legata alle proteine plasmatiche per il 17-20%, principalmente all'albumina. La sua escrezione è prevalentemente renale. A causa della

sua suscettibilità alle β -lattamasi viene spesso somministrata assieme all'acido clavulanico (inibitore di questo enzima). Nello studio di Iglesias-Martin et al. (2014) è emerso che l'utilizzo di amoxicillina (1g) o di amoxicillina+ acido clavulanico (875/125 mg) ha effetti simili sulla prevenzione delle complicanze post operatorie nelle estrazioni dei denti del giudizio, ma i maggiori discomfort gastro-intestinali si hanno con l'associazione amoxicillina+ acido clavulanico.

Per il nostro studio abbiamo utilizzato come antibiotico amoxicillina + acido clavulanico (1 compressa ogni 12 ore), per questo spiegheremo meglio come siamo giunti a questa metodica di somministrazione.

Effetti avversi dell'amoxicillina e dell'amoxicillina + acido clavulanico

L'associazione farmacologica tra amoxicillina e acido clavulanico è in genere ben tollerata e l'incidenza di effetti avversi è ridotta. Secondo una review (Neu HC. et al. 1993), condotta su un grande numero di pazienti, l'incidenza di disturbi gastro-intestinali è dell' 8,4% se l'antibiotico viene somministrato 3 volte al giorno (con una concentrazione per dose di 500/125 mg) , la diarrea è l'evento più comune.

Con la somministrazione ogni 12 ore si nota una riduzione dell'incidenza di diarrea, da moderata a severa, fino al 3,7% (rispetto al 6,3% della dose ogni 8 ore).

Altri effetti avversi che possono presentarsi poco comunemente (1 paziente su 1000 trattati circa) sono le reazioni allergiche di tipi I come rash cutaneo, orticaria e porpora, angioedema e anafilassi (meno frequenti).

Poi sono stati descritti eventi avversi rari (in 1 paziente su 1000 - 10.000) come l'eritema multiforme, la leucopenia reversibile, neutropenia e trombocitopenia. Infine tra gli eventi avversi molto rari ($< 1/10.000$) si possono avere colite pseudomembranosa, colite emorragica, lingua nigra villosa, discolorazione dentaria, sindrome di Stevens-Johnson, epidermolisi tossica, dermatite esfoliativa, epatite e ittero colestatico (predominante negli adulti maschi, sopra i 65 anni, rara nei bambini), agranulocitosi reversibile, anemia emolitica, aumento del tempo di protrombina, edema angioneurotico , vasculite e nefrite interstiziale. (Bush K. et al. 2003)

Perché l' amoxicillina + acido clavulanico si somministra ogni 12 ore

Inizialmente questo antibiotico fu sviluppato per un regime di somministrazione di una compressa ogni 8 ore (500/125 mg) per il trattamento di una serie di infezioni di comunità. Per motivi di compliance, di competitività con altri antibiotici lanciati sul mercato e di convenienza, divenne necessario introdurre una nuova metodica di somministrazione (1 compressa ogni 12 ore), aumentando la concentrazione del principio attivo amoxicillina (875/125 mg) per mantenere l'efficacia clinica e batteriologica. La validità di questa somministrazione è stata confermata da numerosi studi clinici randomizzati negli adulti e nei bambini, risultando anche in un miglioramento del profilo di sicurezza a riguardo dei sintomi gastro-intestinali (dovuto alla riduzione della quantità di clavulanato giornaliera assunta).

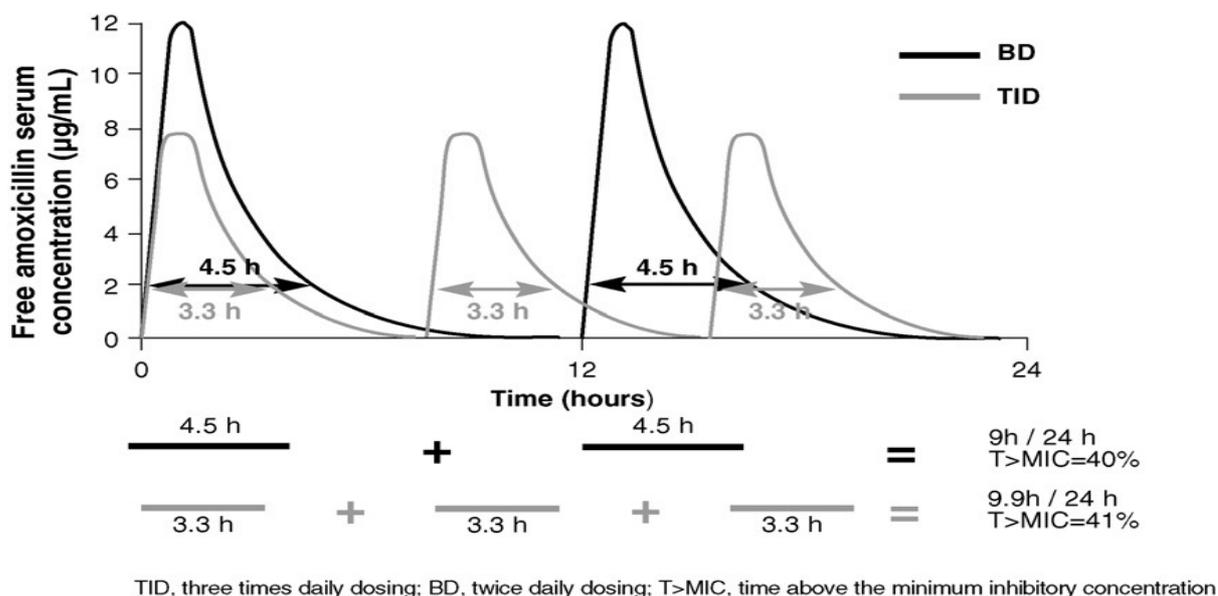


Figura 2.7: Concentrazione sierica teorica di amoxicillina+acido clavulanico nei 2 regimi di dosaggio

Tratta da: Drusano, G. L., e W. A. Craig. «Relevance of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in the Selection of Antibiotics for Respiratory Tract Infections». *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)* 9 Suppl 3 (maggio 1997): 38–44.

2.5.2 Cefalosporine: questi antibiotici si differenziano dalle penicilline per la loro struttura, in cui si associa all'anello β -lattamico un nucleo diidrotiazinico. Ad oggi esistono 4 generazioni di cefalosporine, con uno spettro di azione via via più ampio. Le cefalosporine di prima generazione (ad esempio la cefalotina e la cefazolina) sono attive contro i cocci Gram⁺ e contro alcuni Gram⁻, quelle di seconda generazione (cefuroxima, cefoxitina etc.) hanno una maggior azione contro i batteri Gram⁻ ma minore contro i Gram⁺. Le cefalosporine di terza generazione (cefixime, cefotaxime etc.) sono resistenti alle β -lattamasi e possono superare la barriera ematoencefalica. Le cefalosporine di quarta generazione hanno uno spettro d'azione molto ampio e sono resistenti alle β -lattamasi. (D'Alessandro N. e Notarbartolo, "Farmacologia in odontoiatria" capitolo 17)

2.5.3 Macrolidi: questi antibiotici prendono il nome dall'anello lattonico macrociclico caratteristico della loro struttura. Il composto principale è l'eritromicina, ma ad oggi esistono derivati semisintetici come la claritromicina e l'azitromicina con caratteristiche più favorevoli dal punto di vista della biodisponibilità quando assunte per via orale, della penetrazione nei tessuti e dello spettro d'azione. Sono agenti batteriostatici, inibiscono la sintesi proteica legandosi reversibilmente alla subunità 50S dei ribosomi batterici. I macrolidi sono utili come alternativa alle penicilline nei pazienti allergici a queste ultime (Goodman & Gilman, 1997). Specificatamente in ambito odontoiatrico, i risultati migliori si ottengono con l'azitromicina, che raggiunge alte concentrazioni e durevoli nel tempo nei tessuti orali (gengiva e osso alveolare ma anche saliva).

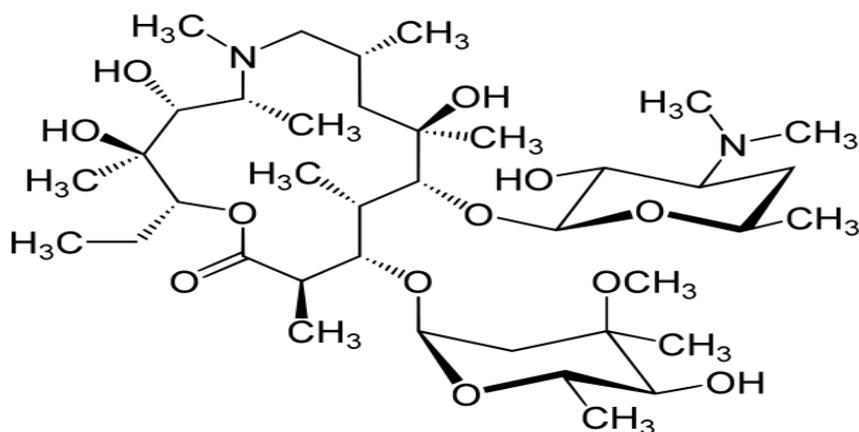


Figura 2.8: struttura chimica dell'azitromicina

2.5.4 Lincosamidi: sono farmaci ad azione batteriostatica, inibiscono la sintesi proteica legandosi alla subunità 50S dei ribosomi. A questa categoria appartengono antibiotici come la lincomicina e la clindamicina. Lo spettro d'azione della clindamicina è molto vasto, comprendendo molte specie batteriche, aerobie e anaerobie, Gram⁺ e Gram⁻. La clindamicina è ben assorbita dopo somministrazione orale (la lincomicina no), si distribuisce bene ai tessuti (ma non nel SNC). Un effetto avverso molto serio della clindamicina (che ne limita molto l'utilizzo) è la colite pseudomembranosa e può comparire fino al 10% dei pazienti trattati. La colite pseudomembranosa è causata dalla tossine prodotte dal batterio *Clostridium difficile*, che si seleziona nel tratto digerente dopo terapia con questo antibiotico (ma può accadere anche con altre categorie di farmaci). La colite pseudomembranosa è caratterizzata da febbre, dolore addominale, diarrea acquosa o mucosa, con presenza di sangue ma non di pus. Il decorso della colite è variabile: talora è sufficiente la sospensione dell'antibiotico, invece spesso la sintomatologia persiste per diverse settimane, portando ad uno squilibrio elettrolitico anche importante. Sono stati descritti casi che hanno portato al decesso del paziente, il primo fu nel 1974 da Carey. (Carey WD. et al. 1974) A causa di questo serio effetto avverso, l'utilizzo empirico della clindamicina in odontoiatria si è molto ridotto.

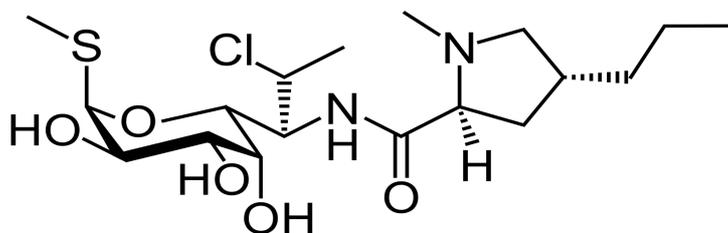


Figura 2.9: struttura chimica della clindamicina

2.5.5 Tetraciclina: le tetraciclina sono composti caratterizzati dalla struttura chimica formata da 4 anelli ciclici uniti. La clortetraciclina è stata estratta dallo *Streptomyces aureofaciens*, mentre la tetraciclina, la doxiciolina e la minociclina ad esempio sono di origine semisintetica. Le tetraciclina sono di colore giallo, inoltre tendono ad accumularsi nei tessuti: per questo motivo possono dare discolorazione dentaria (fenomeno che negli adulti è raro, mentre può accadere nei bambini che hanno gli elementi dentari in formazione). Questi farmaci inibiscono la sintesi proteica legandosi alla subunità 30S dei ribosomi.

Sono antibiotici a largo spettro, attivi sia contro i Gram⁺ che i Gram⁻.

2.5.6 Chinoloni: i chinoloni sono farmaci che agiscono inibendo gli enzimi batterici girasi e topoisomerasi IV, che sarebbero coinvolti nel processo di duplicazione e trascrizione del materiale genetico batterico. Esistono 2 generazioni di chinoloni: quelli di prima generazione derivano dalla 7-cloroquinolina, hanno uno spettro batterico orientato verso gli enterobatteri e una scarsa diffusione (tra questi ricordiamo l'acido nalidixico, l'acido oxolinico et.) mentre quelli di seconda generazione (i fluorochinoloni) hanno uno spettro più ampio e una cinetica più favorevole per l'utilizzo contro patologie sistemiche. Nel cavo orale si distribuiscono bene nel tessuto gengivale, specie se infiammato, mentre diffondono meno bene nell'osso. In odontoiatria sono poco utilizzati, solo per infezioni di cui si conosce l'origine (da parte di enterococchi, enterobatteri o *Pseudomonas* spp).

2.5.7 Metronidazolo: il metronidazolo, come altri agenti 5-nitromidazolici (ornidazolo, tinidazolo etc.) si caratterizza per la sua attività battericida nei confronti dei microrganismi anaerobi o protozoari. Questo avviene perché il farmaco, una volta penetrato all'interno delle cellule, trova in una nitroriduttasi il suo enzima attivante.

Si formano a seguito di questa reazione dei radicali liberi ed altri composti altamente reattivi che danneggiano la cellula batterica alterando molecole di importanza vitale per il microrganismo. I batteri aerobi sono resistenti a questo farmaco perché non producono nitroriduttasi.

Il metronidazolo è efficace in infezioni protozoarie come l'amebiasi e la tricomoniassi, e nelle infezioni vaginali batteriche. Molti batteri anaerobi coinvolti nelle patologie odontoiatriche sono sensibili al metronidazolo, questo ne giustifica l'utilizzo, spesso associato all'amoxicillina + acido clavulanico per avere un'azione anche sui batteri aerobi.

2.6 Metodiche di valutazione dell'attività dei farmaci antibatterici in vitro

Lo scopo della valutazione dell'attività di un farmaco è quello di prevedere l'efficacia di questo verso un determinato ceppo batterico in vivo, in modo da poter guidare il clinico nella scelta del protocollo terapeutico più adeguato. L'attività di un farmaco antibatterico si valuta attraverso il parametro della concentrazione minima inibente (MIC), che corrisponde alla più bassa concentrazione di farmaco in grado di inibire in vitro la crescita di un certo microrganismo. La MIC si può esprimere in mg/L e si determina esponendo un ceppo batterico a concentrazioni decrescenti di farmaco, in condizioni di crescita standardizzate. Sulla base di valori soglia proposti da organismi di riferimento (come il Clinical and Laboratory Standard Institute), i valori della MIC vengono interpretati in senso qualitativo, per determinare se quel ceppo sia sensibile, intermedio o resistente al farmaco investigato. Esistono 3 diverse metodiche per stabilire la MIC di un farmaco antibatterico nei confronti di un certo ceppo batterico (Rossolini G.M & Pallecchi L.. *“Principi di microbiologia medica”* capitolo 9):

- 1) Metodo della diluizione: si saggia la capacità di crescita del batterio in terreni contenenti diluizioni seriali del farmaco antibatterico. Dopo un periodo di incubazione (che in genere è di 16-20 ore a 35°C) si osserva la più bassa concentrazione alla quale è inibita la crescita batterica (la crescita batterica si osserva con l'intorbidimento del brodo se abbiamo inoculato il batterio in terreno liquido o con la formazione di colonie se abbiamo utilizzato un terreno solido su piastra), quella è la MIC.
- 2) E-test: è un saggio di diffusione su piastra (seminata con un inoculo omogeneo), utilizzando una striscia impregnata con un gradiente di concentrazione di farmaco decrescente. La MIC è la concentrazione in cui termina l'alone di inibizione della crescita (che inizia alle concentrazioni più alte per poi terminare con la MIC)
- 3) Metodo di Kirby-Bauer: vengono utilizzati dei dischetti impregnati con una quantità nota di farmaco antibatterico. Essi vengono poggiati su una piastra inoculata con il batterio di cui si vuole saggiare la MIC per quel farmaco. Il farmaco diffonde dal dischetto al terreno, creando un gradiente di concentrazione inversamente proporzionale alla distanza dal dischetto stesso. La dimensione dell'alone di inibizione della crescita batterica è inversamente proporzionale alla MIC (aloni grandi significano MIC basse e viceversa). Le misure degli aloni si possono interpretare in maniera qualitativa, classificando il batterio come sensibile, intermedio o resistente a quel farmaco.

CAPITOLO 3

LA RESISTENZA BATTERICA AGLI ANTIBIOTICI

3.1 Introduzione al concetto di resistenza batterica agli antibiotici

L'introduzione dei farmaci antibiotici nella pratica clinica ha avuto un impatto cruciale sulla prognosi di moltissime malattie infettive ma ad essa è seguita, in tempi brevi, la comparsa e la diffusione del fenomeno della resistenza batterica.

Con questo termine si indica il fenomeno per cui alcuni batteri sono in grado di sopravvivere e moltiplicarsi anche in presenza di un farmaco antibatterico a cui prima erano sensibili.

Dal punto di vista clinico, si parla di resistenza quando dei batteri patogeni non vengono inibiti da un certo farmaco antibiotico nella sede di infezione. L'espressione di un fenotipo di resistenza è dovuta ad un meccanismo biochimico che viene messo in atto dalla cellula batterica per bloccare l'interazione del farmaco con il suo bersaglio molecolare (Rossolini G.M. e Pallecchi L. *“Principi di microbiologia medica”* capitolo 9).

Quando un fenotipo di resistenza è espresso da tutti (o quasi tutti) i ceppi di una specie batterica, la specie viene definita naturalmente (o intrinsecamente) resistente a quel farmaco. Questa resistenza naturale è l'espressione di un meccanismo biochimico di resistenza evolutosi a livello della specie. Ad esempio il batterio *Escherichia coli* è naturalmente resistente ai glicopeptidi poiché la sua membrana esterna è impermeabile a questo tipo di farmaci; lo *Pseudomonas aeruginosa* è naturalmente resistente a molti farmaci β -lattamici perché produce una β -lattamasi in grado di inattivarli. (Rossolini G.M. e Pallecchi L. *“Principi di microbiologia medica”* capitolo 9)

Quando una specie batterica è naturalmente sensibile ad un certo farmaco antibiotico, all'interno di essa possono emergere dei ceppi resistenti (in qualsiasi popolazione sufficientemente ampia vi è un'alta probabilità che si trovino mutanti relativamente resistenti) . Un tempo si pensava che la resistenza insorgesse a causa di un adattamento delle cellule se stimolate con un farmaco antibiotico per un certo tempo, oggi invece si sa che l'utilizzo di un farmaco semplicemente seleziona i batteri resistenti perché uccide quelli sensibili, rendendo quindi i ceppi resistenti dominanti nella popolazione (il fenomeno si definisce come pressione selettiva) (Kolár M. et al. 2001). Questo tipo di

resistenza si definisce acquisita e riflette una modificazione genetica recente nel genoma del ceppo resistente e può essere ereditato dalle cellule figlie.

Le basi genetiche della resistenza acquisita includono eventi di mutazione/ricombinazione di geni residenti, oppure l'acquisizione di nuovi geni (detti geni di resistenza acquisiti) mediante scambio genetico orizzontale tra batteri e/o virus.

Mentre la resistenza intrinseca è un fenomeno prevedibile dal clinico (che quindi non somministrerà un farmaco antibiotico ad un microrganismo di cui si conosce l'insensibilità al suo principio attivo), la resistenza acquisita può causare il fallimento degli interventi terapeutici.

3.2 Meccanismi di acquisizione e trasferimento della resistenza

Il fenomeno dell'acquisizione di resistenza agli antibiotici è un processo che può avvenire in maniera verticale (ovvero una mutazione del genoma batterico che avviene spontaneamente e che verrà trasmesso alla prole) od orizzontale (tramite lo scambio di geni di resistenza da altri microrganismi).

3.2.1 Mutazioni cromosomiche

Nello sviluppo delle mutazioni cromosomiche si possono avere 2 modelli (D'Alessandro N. e Notarbartolo M., *"Farmacologia in odontoiatria"* capitolo 17):

- 1) A passi multipli. Secondo questo modello, se una coltura batterica viene posta a contatto con una concentrazione molto elevata di un certo antibiotico, tutte le cellule ne risentiranno e non ne crescerà nessuna. Invece, con una concentrazione sufficientemente bassa, la maggior parte della popolazione batterica sensibile non crescerà, mentre cresceranno solo i mutanti resistenti. Questi batteri mutanti però saranno ancora sensibili a concentrazioni più elevate di farmaco. Però, se questa popolazione con un basso grado di resistenza viene fatta crescere ad una concentrazione di farmaco superiore alla prima, si può selezionare un'altra mutazione sovrapposta alla prima, che conferirà un grado più elevato di resistenza. In questo modo, passo dopo passo, si possono ottenere livelli piuttosto elevati di resistenza.
- 2) A grande passo facoltativo. In questo modello una singola mutazione può risultare fin dall'inizio in un elevato livello di resistenza.

3.2.2 Trasferimento della resistenza

I caratteri genetici della resistenza batterica agli antibiotici possono diffondersi tra i microrganismi attraverso il trasferimento orizzontale (Errington et al. 2001). La cellula donatrice dei determinanti della resistenza può essere di specie batterica diversa e non necessariamente patogena. Il trasferimento può avvenire tramite processi di:

- 1) **Trasformazione:** è un processo durante il quale la cellula batterica acquisisce DNA libero rilasciato nell'ambiente da altre cellule. La trasformazione è una caratteristica di molte specie Gram⁺ e Gram⁻.

Nel 1928 Fred Griffith lavorando con *Streptococcus pneumoniae*, un batterio patogeno capsulato, si accorse che era possibile isolare su piastra dei mutanti di questo batterio che formavano colonie rugose (R=rough), in contrasto con i ceppi selvaggi (detti wild type) che formavano colonie lisce (S=smooth). Griffith osservò che i topi, se inoculati con il ceppo S, morivano, mentre sopravvivevano se inoculati con il ceppo R. Inoculando i topi con batteri del ceppo R vivi e, contestualmente, con batteri del ceppo S uccisi con il calore, Griffith notò che i topi morivano lo stesso e da essi si potevano isolare batteri S vivi. Questo esperimento dimostrò che i batteri R potevano essere trasformati in batteri S, ad opera di una molecola resistente al calore, in grado di produrre la capsula.

I batteri trasformabili sono quelli capaci di passare in uno stato fisiologico denominato "competenza", durante il quale divengono capaci di assumere DNA eterologo dall'esterno, di integrarlo nel loro genoma ed essere quindi trasformati. Solo alcune specie batteriche possiedono nel loro genoma tutti i geni necessari per lo sviluppo della competenza, tra questi ci sono sia batteri Gram⁺ (come *Bacillus* e *Streptococcus*) che Gram⁻ (come *Neisseria* e *Haemophilus*).

- 2) **Coniugazione:** è un meccanismo di scambio orizzontale di DNA che richiede un contatto fisico tra la cellula donatrice e quella ricevente. Con questo processo si trasferiscono i plasmidi (molecole di DNA extracromosomiche di forma circolare), i trasposoni coniugativi e anche frammenti di DNA cromosomico.

Il fenomeno della coniugazione è stato studiato per la prima volta nel Plasmide F (fertilità) di *Escherichia coli*.

Nel processo di coniugazione del plasmide F, la cellula donatrice che possiede il plasmide è detta F⁺, quella ricevente e senza plasmide è detta F⁻. Il plasmide F,

come tutti i plasmidi, è circolare e possiede i geni che gli permettono di moltiplicarsi indipendentemente dal cromosoma, i geni del pilo sessuale e quelli che ne regolano l'espressione. Il pilo sessuale è una struttura di superficie della cellula donatrice, che riconosce un recettore specifico sulla cellula ricevente e ne determina l'accoppiamento, cui segue una fusione stabile tra le 2 cellule che permette il passaggio di DNA da una cellula all'altra. Il passaggio inizia con il filamento di DNA plasmidico che subisce un taglio a livello di un sito specifico, detto origine di trasferimento, ad opera di un enzima nucleasico, che srotola anche il frammento e il filamento singolo può essere trasferito nella cellula ricevente. Questo processo di trasferimento è accompagnato dalla sintesi di DNA sulla base dei 2 filamenti stampo (uno nella cellula donatrice e uno in quella ricevente). La cellula ricevente è capace a sua volta di trasferire il plasmide ad altre cellule e pertanto è divenuta una cellula donatrice. Esistono anche plasmidi sprovvisti di proprietà coniugative che possono essere trasferiti tramite plasmidi coniugativi presenti nella stessa cellula, che fungono da aiutanti nel processo (helper). Inoltre, un plasmide può essere perso dalla cellula batterica che lo ospita, in un processo detto "curing". Questo fenomeno può avvenire se viene a mancare la selezione; ad esempio un batterio che veicola un plasmide che conferisce resistenza ad un antibiotico, se viene cresciuto per parecchie generazioni senza essere sottoposto allo stimolo dell'antibiotico, può perderlo.

- 3) **Trasduzione:** è un processo di scambio genico orizzontale in cui i virus batteriofagi (detti fagi), ossia virus che infettano i batteri, trasferiscono DNA cromosomico da una cellula batterica all'altra.

Esistono 2 tipi di trasduzione: una generalizzata, in cui può essere trasferito una qualsiasi parte di DNA, ed una specializzata, in cui solo specifiche regioni di DNA possono essere trasferite. La trasduzione generalizzata avviene ad opera di fagi virulenti, che sono capaci di infettare la cellula batterica con produzione di una progenie virale e quindi lisi del batterio. Durante il ciclo litico, le particelle fagiche neo-prodotte possono incorporare per sbaglio frammenti di DNA cellulare rimasto libero nel citoplasma, con la formazione di particelle trasducenti. Queste particelle possono iniettare questo DNA cromosomico in altri batteri che, se possiedono regioni omologhe nel DNA, può ricombinarsi con il DNA dei batteri riceventi.

La trasduzione specializzata è operata da batteriofagi temperati, capaci di integrare il proprio DNA nel cromosoma batterico, dando luogo alla formazione di un profago. Il DNA del profago è integrato nel cromosoma batterico, ma può separarsi portandosi dietro anche frammenti di DNA batterico ed iniziare un ciclo litico.

I vari processi di trasferimento della resistenza batterica sono riassunti nella seguente figura:

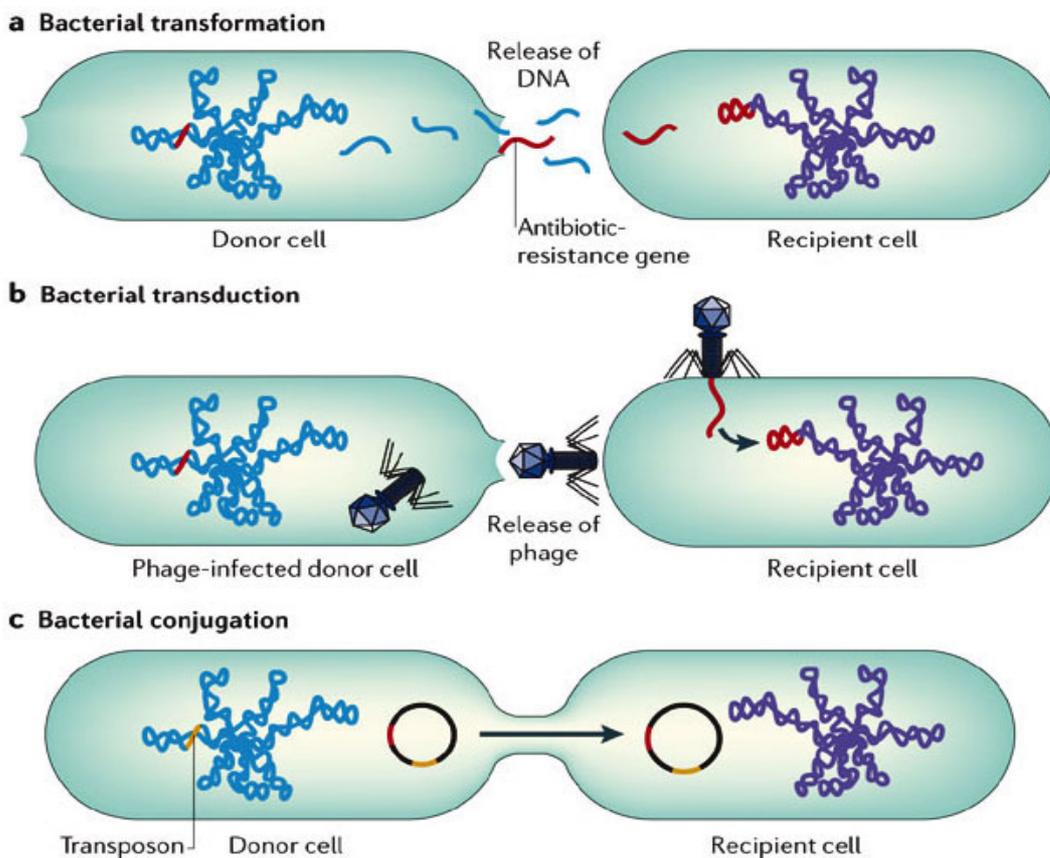


Figura 3.1: (a) processo di trasformazione
 (b) processo di trasduzione
 (c) processo di coniugazione

Tratto da: Furuya, E. Yoko, e Franklin D. Lowy. «Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting». *Nature Reviews Microbiology* 4, n. 1 (gennaio 2006): 36–45. doi:10.1038/nrmicro1325.

Analizzeremo nel dettaglio i plasmidi e gli elementi genetici trasponibili, attraverso i quali i batteri possono acquisire resistenza ai farmaci antibiotici.

3.3 Plasmidi

I plasmidi sono molecole di DNA circolare a doppio filamento che si replicano in maniera indipendente dal cromosoma batterico e contengono dei geni accessori, non essenziali per la sua sopravvivenza, ma utili in determinate situazioni (Del Solar G et al. 1998).

I plasmidi possono essere presenti in poche o molte copie all'interno di una cellula batterica ed ogni cellula può contenere plasmidi diversi. I plasmidi possono esistere solo all'interno dei batteri, infatti utilizzano gli apparati riproduttivi cellulari e il loro controllo è limitato a quello effettuato da geni plasmidici. Alcuni plasmidi contengono geni che permettono loro di trasferirsi da una cellula all'altra, detti coniugativi. Il trasferimento può avvenire tra batteri della stessa specie o tra specie diverse. (Heineman & Sprague 1989).

Un ceppo batterico che contiene un plasmide di resistenza a un dato antibiotico è capace di sopravvivere anche in presenza di questo farmaco, a differenza degli altri ceppi privi di plasmide. I meccanismi attraverso i quali i plasmidi sono in grado di conferire resistenza agli antibiotici sono vari: possono codificare per la produzione di proteine inattivanti l'antibiotico, oppure modificare la membrana in modo da non essere più permeabile al farmaco o modificare il bersaglio del farmaco, che in tal modo non sarà più riconosciuto.

I plasmidi R (di resistenza) rappresentano un problema clinico notevole in quanto possono essere facilmente trasferiti tra un batterio e l'altro, anche tra specie patogene e non.

L'uso indiscriminato di antibiotici ha portato alla selezione di numerosi plasmidi veicolanti geni di resistenza; alcuni plasmidi possono contenere geni che codificano la resistenza a più tipi di antibiotici. Uno dei primi plasmidi multiresistenti ad essere isolato fu il plasmide R100 (nel 1975), che conteneva geni di resistenza al cloramfenicolo, alle tetracicline, alla streptomina e ai sulfamidici. Altri plasmidi possono contenere geni che conferiscono una maggior virulenza al batterio, ad esempio E.coli, che normalmente non è patogeno, ma può diventarlo se acquisisce plasmidi di virulenza (Hale T.L et al. 1983).

3.4 Elementi genetici trasponibili

Gli elementi genetici trasponibili sono frammenti di DNA che si possono spostare da una posizione all'altra del cromosoma o passare ad un plasmide e viceversa (Oggioni M.R, Iannelli F. *“Principi di microbiologia medica”*, capitolo 4). Il processo del loro spostamento viene detto trasposizione ed avviene attraverso un meccanismo di ricombinazione genetica. Tra gli elementi genetici trasponibili ritroviamo i trasposoni, le sequenze di inserzione e gli integroni.

Le sequenze di inserzione contengono le sequenze di DNA necessarie allo spostamento della stessa, l'integrazione può avvenire in un punto casuale del cromosoma, anche all'interno di un gene funzionante, quindi la sua espressione può venire alterata o interrotta, causando una mutazione (Russel P.J, *“Genetics”* 2002).

I trasposoni contengono un numero variabile di geni, che possono conferire alla cellula fenotipi diversi. Inoltre contengono tutti i geni necessari alla loro integrazione ed escissione dal genoma . Tra i geni veicolati dai trasposoni ricordiamo quelli che possono conferire resistenza agli antibiotici, che possono codificare per la produzione di tossine o che codificano per fattori di virulenza.

Alcuni trasposoni sono detti coniugativi, perché presentano, oltre ai geni per la trasposizione, una serie di geni che permettono il loro spostamento da una cellula batterica all'altra. Questi tipi di trasposoni, come i plasmidi, sono responsabili della diffusione di geni di resistenza agli antibiotici o di virulenza tra batteri patogeni diversi. (Oggioni M.R, Iannelli F. *“Principi di microbiologia medica”*, capitolo 4)

Gli integroni sono elementi genetici che si inseriscono nel cromosoma batterico (e spesso anche in plasmidi o in trasposoni) e pertanto si possono spostare tra cellule batteriche diverse. Essi sono dotati di una particolarità: possono acquisire nuovi geni da fonti diverse e possono esprimerli sotto il controllo di un promotore residente.

Spesso i nuovi geni che si inseriscono sono determinanti di resistenza agli antibiotici o di virulenza. (Oggioni M.R, Iannelli F. *“Principi di microbiologia medica”*, capitolo 4).

3.5 Meccanismi biochimici della resistenza batterica

L'espressione di una resistenza ad un certo farmaco antibatterico è dovuta ad un meccanismo biochimico attraverso il quale il batterio può bloccare l'interazione del

farmaco con il suo bersaglio cellulare. (Rossolini G.M. e Pallecchi L. “*Principi di microbiologia medica*” capitolo 9).

I meccanismi principali sono rappresentati da:

- 1) inattivazione del farmaco
- 2) modificazione del bersaglio molecolare del farmaco
- 3) impermeabilità al farmaco o suo efflusso attivo

3.5.1 Inattivazione del farmaco: l’inattivazione del farmaco avviene grazie alla produzione di enzimi batterici che sono capaci di modificare il farmaco stesso, pregiudicandone l’interazione con il bersaglio molecolare batterico. Questo meccanismo è coinvolto nella resistenza ai β -lattamici, agli aminoglicosidi e al cloramfenicolo. Gli enzimi che inattivano i β -lattamici (β -lattamasi) agiscono idrolizzando l’anello β -lattamico, che così non è più in grado di interagire con il bersaglio molecolare (in questo caso rappresentato dalle PBP, le penicillin binding proteins) e, di conseguenza, non può inibire la sintesi della parete batterica.

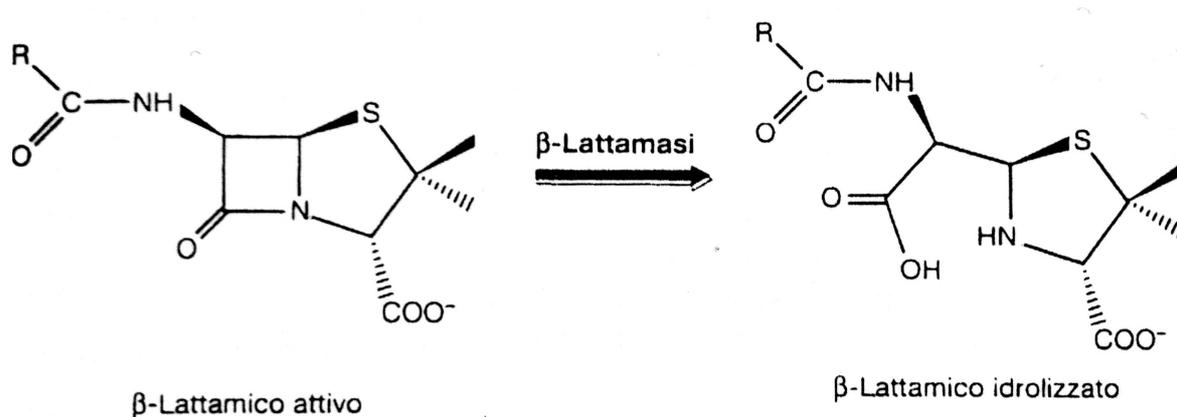


Figura 3.2: Meccanismo di azione delle β -lattamasi

Tratto da: “*Principi di microbiologia medica*”

Ad oggi sono state descritte molte varianti di questo enzima (Bush K. et al. 1995) .

Le β -lattamasi hanno dimostrato una spiccata tendenza evolutiva: l’introduzione di nuove molecole β -lattamiche nella pratica clinica è stata sempre seguita dall’emergenza e diffusione di ceppi produttori enzimi in grado di degradarle.

Le β -lattamasi si possono classificare in 2 famiglie principali (Ambler R. P. 1980) a seconda delle caratteristiche del loro sito attivo:

- 1) β -lattamasi a serina: sono le più diffuse tra i patogeni isolati clinicamente

- 2) metallo β -lattamasi: sono più rare ma con uno spettro di attività molto ampio (che può comprendere tutti i β -lattamici ad eccezione dei monobattami) e un'insensibilità agli inibitori delle β -lattamasi usati nelle terapie (tazobactam, sulbactam e acido clavulanico).

3.5.2 Modificazione del bersaglio molecolare del farmaco : la modificazione del bersaglio molecolare di un farmaco non ne compromette la funzione biologica, ma ne previene l'interazione con il farmaco antibatterico. Questa modificazione può derivare da mutazioni che riducono l'affinità del bersaglio per un certo farmaco. Un esempio è la mutazione dei geni delle DNA topoisomerasi di tipo II che determina resistenza ai chinoloni.

Un altro tipo di mutazione è quella che avviene nelle PBP di *Streptococcus pneumoniae*, che grazie a eventi di ricombinazione (tramite trasformazione batterica) divengono poco affini per le β -lattamasi (Hakenbeck R. et al. 1999).

Un meccanismo diverso prevede la “protezione” del bersaglio grazie a delle proteine a maggiore affinità che legano il farmaco, come i fattori di protezione ribosomiale, che proteggono i ribosomi dall'azione delle tetracicline (Spahn M.T. et al. 2001).

Un'ulteriore possibilità risiede nell'acquisizione di un nuovo enzima, insensibile all'azione del farmaco, in grado di svolgere le stesse funzioni biologiche dell'enzima bloccato dal farmaco (fenomeno del vicariamento del bersaglio molecolare).

La meticillino-resistenza in *Staphylococcus aureus* è conseguente all'acquisizione di un gene che codifica per una PBP insensibile ai β -lattamici e in grado di vicariare tutte le altre PBP. (Ubukata K. et al. 1989)

Un ultimo meccanismo di resistenza prevede la modificazione del bersaglio molecolare, come avviene per la resistenza ai glicopeptidi, in cui vengono modificati dei componenti della parete cellulare, (che svolge comunque la sua funzione) che pertanto non viene riconosciuta dal farmaco. (Sujatha S. & Praharaj I. 2012)

3.5.3 Impermeabilità al farmaco o suo efflusso attivo : l'espressione del fenotipo di resistenza è conseguente al ridotto accesso del farmaco all'interno della cellula batterica. Questo può derivare dal fatto che il farmaco non riesce a penetrare attraverso gli involucri cellulari (resistenza per impermeabilità) oppure perché viene espulso attivamente attraverso pompe di efflusso (resistenza per efflusso attivo).

La resistenza per ridotta permeabilità può essere la conseguenza di eventi genetici che riducono l'espressione delle porine utilizzate da molti farmaci antibatterici per penetrare la membrana esterna dei batteri Gram⁻ (Rossolini G.M. e Pallecchi L. "*Principi di microbiologia medica*" capitolo 9).

I sistemi di efflusso attivo sono in grado di espellere varie classi di farmaci (spesso anche farmaci molto diversi tra loro, come avviene nelle pompe di efflusso dette multidrugs), utilizzando come fonte d'energia l'ATP o il gradiente protonico di membrana (Rossolini G.M. e Pallecchi L. "*Principi di microbiologia medica*" capitolo 9).

Molti dei sistemi di efflusso attivo "multidrug" sono codificati da geni cromosomici.

I sistemi di efflusso che permettono l'estruzione solo di alcune molecole sono detti specifici. Essi sono in genere codificati da geni plasmidici e acquisiti per trasferimento genico orizzontale (Rossolini G.M. e Pallecchi L. "*Principi di microbiologia medica*" capitolo 9).

3.6 Utilizzo degli antibiotici e resistenza batterica

La resistenza batterica agli antibiotici è più diffusa nei paesi in cui si fa un più largo utilizzo di questi farmaci. Questo fatto supporta il legame che esiste tra utilizzo di antibiotici ed emergenza di ceppi batterici resistenti (Foucault & Borqui 2007).

L'antibiotico resistenza che si può ritrovare nei batteri orali o intestinali è probabilmente dovuta alla selezione di ceppi con ridotta suscettibilità durante un trattamento antibiotico (come già sottolineato, la terapia antibiotica, agendo sulle specie sensibili, fa emergere quelle più resistenti, che possono divenire le specie dominanti) ed al trasferimento di geni di resistenza da batteri esogeni (Beovic et al. 2006, Dogan et al. 2005, Wang et al. 2006).

Il trasferimento orizzontale della resistenza può avvenire tra batteri esogeni e flora batterica orale, ma anche tra microrganismi commensali e patogeni (Wang et al. 2006).

È stato osservato il trasferimento di geni di resistenza agli antibiotici tra streptococchi orali, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae* (Zolezzi P.C. et al. 2004).

Da quanto è stato scoperto, sembra che la flora commensale batterica possa fungere da serbatoio per i geni della resistenza agli antibiotici, per questo motivo è importante focalizzarsi non solo sui batteri patogeni ma anche sulle specie commensali (Andremont 2003, Bryskier 2002).

L'uso a maggior ragione di farmaci antibiotici è uno dei fattori che possono portare alla selezione di specie batteriche resistenti (Chardin et al. 2009), per questo devono essere incoraggiati la riduzione dell'utilizzo di antibiotici e la redazione di linee guida per la prescrizione ottimale di questi ultimi (Foucault & Brouqui 2007).

Esiste sempre più consenso sulla somministrazione: un farmaco usato ad alto dosaggio per un breve periodo è preferibile rispetto a dosaggi inferiori ma protratti nel tempo, perché il primo risulta essere meno soggetto allo sviluppo di resistenze (Guillemot et al. 1998, Livermore 2007).

3.7 Meccanismi di riduzione della suscettibilità alle penicilline negli streptococchi

Uno degli antibiotici più largamente utilizzati in odontoiatria è sicuramente l'amoxicillina, quindi è utile conoscere la suscettibilità dei batteri orali nei suoi confronti (e come questa varia a seguito della terapia): uno studio di Chardin et al. (2009) ha preso in considerazione il parametro della variazione della suscettibilità degli streptococchi orali all'amoxicillina, in pazienti con infezioni odontogene che richiedevano l'estrazione dell'elemento, dopo una terapia antibiotica di 3 o 7 giorni.

È stata valutata la proporzione di streptococchi con riduzione della suscettibilità rispetto al numero totale di streptococchi dopo la terapia.

Nel gruppo di pazienti trattato con amoxicillina per 3 giorni, la proporzione di batteri con ridotta suscettibilità era del 1,3% al giorno 0, del 23% al giorno 9 e del 7,7% al giorno 30. Un'evoluzione simile è stata osservata nei pazienti trattati per 7 giorni: l'1,7% di batteri meno suscettibili al giorno 0, il 24,7% al giorno 9 ed il 7% al trentesimo giorno. Come si può osservare dai dati, al giorno 0 sono stati isolati i batteri prima della terapia antibiotica, indicando che una piccola percentuale dei batteri è comunque poco suscettibile all'amoxicillina (anche in assenza dell'antibiotico).

Negli streptococchi, la ridotta suscettibilità all'amoxicillina (ed alle penicilline in generale) deriva da un'alterata espressione delle PBP (penicillin binding proteins), che così dimostrano una ridotta affinità per le penicilline.

Lo *Streptococcus pneumoniae*, il più studiato tra le specie streptococciche, possiede 6 PBP maggiori: PBP1a, PBP1b, PBP2a, PBP2b, PBP2x e PBP3. (Sauvage et al. 2008).

La suscettibilità alle penicilline si riduce progressivamente mediante l'acquisizione di PBP modificate attraverso un trasferimento genetico orizzontale. Questo tipo di trasferimento avviene tra vari ceppi di *S.pneumoniae* ma può anche avvenire tra specie diverse, come *S. mitis*, *S. oralis* o *S. sanguis* (Chi et al. 2007).

L'acquisizione di resistenza alle penicilline di *S.pneumoniae* si pensa avvenga in questo modo: gli streptococchi commensali che possiedono mutazioni dei geni che codificano per PBP (e che quindi dimostrano una ridotta suscettibilità alle penicilline) vengono selezionati dopo l'esposizione alle penicilline. I geni che codificano per queste PBP modificate possono essere trasferiti ad altra specie streptococciche, tra cui *S. pneumoniae*. Con questo meccanismo la suscettibilità alle penicilline diminuisce progressivamente, fino ad esitare in alti livelli di resistenza (Zapun et al. 2008). Il più alto grado di resistenza alle penicilline di *Streptococcus pneumoniae* si ha per alterazioni concomitanti nei geni PBP2x, PBP2b e PBP1a (Barcus et al. 2005).

Nello studio di Chardin et al. è stato osservato che la proporzione di streptococchi orali resistenti aumenta dopo l'esposizione all'amoxicillina, sia nel caso di una terapia di 3 giorni che in una di 7 giorni

Come osservato in più studi (Seppala et al. 2003 e Tomas et al. 2004) le specie streptococciche maggiormente resistenti sono *S. mitis* e *S. sanguis*.

3.8 Antibiotico-resistenza in Italia e in Europa

La “crisi” dell’antibiotico-resistenza è iniziata in maniera subdola negli ultimi due decenni. (Rapporti ISTISAN 09/32) .

In questo periodo infatti l’uso di antibiotici nei Paesi industrializzati è aumentato, favorendo la comparsa e la diffusione di ceppi batterici antibiotico-resistenti. Dalle analisi effettuate dall’ ECDC (European centre for disease prevention and control) risulta che le infezioni causate da batteri resistenti sono responsabili di 25.000 morti/anno in Europa. In più, i costi per i sistemi sanitari e per la produttività persa si aggirano intorno a 1,5 miliardi di euro.

L’aumentato uso di antibiotici è legato da una parte all’aumento della complessità delle pratiche mediche e chirurgiche che necessitano profilassi o terapia con antibiotici, e all’aumentato numero di soggetti “fragili” perché immunocompromessi o molto anziani, dall’altra ad una maggior richiesta di prestazioni mediche e quindi ad una aumentata richiesta di antibiotici a livello ambulatoriale e domiciliare.

L’utilizzo di antibiotici non si limita al campo medico: anche in agricoltura e soprattutto in veterinaria gli antibiotici sono utilizzati per prevenire o curare le malattie infettive. Benché nell’ultimo decennio l’Unione Europea abbia bandito l’uso di antibiotici quali promotori di crescita negli allevamenti animali , il quantitativo di antibiotici utilizzati in campo veterinario rimane ancora alto.

Ad aggravare il quadro si aggiunge poi la scarsità di novità sul mercato degli antibiotici: dal 1998 infatti solo poche classi di antibiotici sono state messe sul mercato e le grandi industrie farmaceutiche non stanno investendo nel campo degli antibiotici neppure per il futuro (Spellberg B. et al. 2004).

L’allarme resistenza-antibiotica si può evincere dal rapporto della WHO del 2014, secondo cui **“Senza un rapido e coordinato intervento, il mondo è destinato ad avviarsi verso un’era post-antibiotica in cui infezioni comuni, facilmente curabili per decenni, potrebbero tornare a uccidere”** (Antimicrobial resistance global report 2014).

Secondo la WHO, infatti, andrebbero messe in pratica una serie di regole atte a ridurre l’incidenza delle resistenze:

- i cittadini dovrebbero assumere antibiotici solo su prescrizione del medico, e solo alla dose e per la durata prescritta

- i medici dovrebbero applicare le misure di prevenzione e controllo delle infezioni, prescrivere antibiotici solo quando necessario e in maniera appropriata
- gli amministratori dovrebbero rafforzare i sistemi di sorveglianza e l'efficienza dei laboratori e mettere in atto programmi per l'appropriatezza della prescrizione antibiotica
- l'industria farmaceutica dovrebbe investire nello sviluppo di nuovi strumenti per la diagnosi e la terapia delle infezioni.

Concludendo, sembra che l'adeguatezza dell'utilizzo degli antibiotici si possa riassumere nella frase di Paul L. Marino: ***“La prima regola degli antibiotici è cercare di non usarli, la seconda è cercare di non usarne troppi”*** (The ICU BOOK)

CAPITOLO 4

MATERIALI E METODI

In questa tesi vengono presentati i dati preliminari dello studio clinico.

Per le caratteristiche che possiede, lo studio clinico è considerato di fase IV, randomizzato, controllato e monocentrico.

Si definisce di fase IV perché serve ad indagare i benefici clinici e gli effetti avversi di un farmaco già presente sul mercato, clinico perché vengono studiati i parametri clinici della guarigione post-estrattiva, randomizzato perché i pazienti sono assegnati ad uno dei 3 gruppi in maniera casuale, controllato perché il gruppo di controllo non riceve alcun trattamento farmacologico e monocentrico, perché i dati sono stati raccolti in una singola struttura.

Lo scopo dello studio è quello di valutare l'efficacia dell'antibiotico amoxicillina + acido clavulanico per prevenire le infezioni post-operatorie dopo estrazioni dentarie (di elementi diversi dai denti del giudizio), comparata con l'assenza di terapia farmacologica antibiotica post-operatoria. Inoltre viene valutata l'efficacia di un probiotico per prevenire gli effetti gastro-intestinali avversi dell'antibiotico stesso (che sono comunque poco frequenti).

4.1 Background

Le estrazioni dentarie sono una procedura chirurgica molto comune, solitamente effettuata dai dentisti generici. Nonostante ci sia stata una riduzione degli elementi dentari permanenti estratti negli ultimi anni (probabilmente grazie ad una visione crescentemente più conservativa dell'odontoiatria, grazie alle moderne tecniche sviluppate nell'ambito dell'endodonzia e della parodontologia), un dentista della comunità europea può arrivare ad estrarre 7 elementi a settimana in media (Mc Caul LK. et al. 2001). I motivi principali delle estrazioni sono carie, malattia parodontale e fallimento di terapie endodontiche, in proporzioni variabili a seconda dell'età dei pazienti, del paese dove sono stati effettuati gli studi e dell'anno di pubblicazione degli stessi.

Un'estrazione eseguita con successo prevede la rimozione della causa di malattia (ossia l'elemento dentario che non poteva essere curato altrimenti e quindi si è dovuto ricorrere all'estrazione), unita ad un minor disagio post-operatorio per il paziente.

Le complicanze che si possono instaurare dopo un'estrazione dentaria, come dolore, trisma, gonfiore, febbre e alveolite post-estrattiva causano un disagio nel paziente e possono generare difficoltà alla masticazione, nell'eloquio, nel mantenere le normali pratiche di igiene orale ed alterazioni delle attività giornaliere, risultando così in giornate lavorative e/o di studio perse. Tutte queste complicanze dipendono dalla risposta infiammatoria del soggetto, ma possono essere imputabili anche ad una successiva sovra-infezione batterica dell'alveolo, soprattutto se esso si trova in un'area contaminata (dove è presente carie o malattia parodontale, quindi dove c'è una maggior concentrazione di batteri patogeni) o se vengono effettuate procedure estrattive più aggressive (con ostectomia e lembo chirurgico).

I segni dell'infezione post estrattiva comprendono la presenza di ascesso, dolore, febbre, gonfiore e trisma.

Un'altra complicanza post-estrattiva a probabile eziologia mista (conseguente ad infezione batterica e ad un elevato trauma chirurgico) è l'alveolite secca (dry socket), una condizione dolorosa che segue la dissoluzione del coagulo ematico nell'alveolo post estrattivo, che ha un'incidenza variabile dall'1 al 4% in tutte le estrazioni dentarie (Blum IR. 2002).

Generalmente il tasso di infezione post-estrattive è relativamente basso (Bortoluzzi et al. 2010), però gli antibiotici vengono prescritti profilatticamente in caso di estrazioni complesse ed in pazienti con alto rischio di sviluppare infezioni, che hanno quindi delle patologie in grado di causare un'immunodeficienza, come l'infezione da HIV, diabete non controllato e neoplasie.

Come già descritto nei capitoli precedenti, esiste un largo spettro di antibiotici che sono efficaci nel trattamento delle infezioni dentarie, comprendente penicillina, amoxicillina, eritromicina, clindamicina, doxiciclina e metronidazolo, che vengono abitualmente somministrati oralmente, con una posologia che varia da 1 a 4 assunzioni giornaliere.

Il cavo orale contiene un vasto numero di batteri saprofiti e commensali (secondo Jørn A. Aas et al. (2005), sono state isolate dal cavo orale più di 700 specie batteriche, metà delle quali non sono coltivabili) , ma che sono una causa potenziale di infezioni post-estrattive se colonizzano le superfici dell'alveolo post-estrattivo e se l'ospite non è in grado di

difendersi. Gli antibiotici sono efficaci nel trattamento di queste infezioni e possono prevenire l'instaurarsi di dolore e suppurazione.

Il timing ottimale delle somministrazioni dell'antibiotico (per prevenire le complicanze locali) non risulta chiaro. Gli antibiotici possono essere somministrati in un'unica dose prima dell'estrazione, con una serie di somministrazioni post-operatorie, o con una combinazione delle due metodiche. In ogni caso, effetti avversi dovuti all'antibiotico, come diarrea o allergie sono possibili. La diarrea è una complicanza molto comune degli antibiotici, si presenta nel 5-39% dei pazienti sottoposti a terapia antibiotica. L'incidenza varia a seconda della popolazione presa in esame e del tipo di antibiotico (Mc Farland L.V et al. 1998). Il motivo per cui gli antibiotici possono causare disturbi gastro-intestinali risiede nel fatto che questi farmaci agiscono anche sulla microflora normale intestinale, alterando quindi il metabolismo dei carboidrati e portando ad una diarrea osmotica o causata da batteri commensali patogeni che prendono il sopravvento sulla flora normale decimata. La prevenzione di questo effetto avverso si attua con un controllo maggiore sull'uso degli antibiotici, seguita da procedure di controllo dell'infezione una volta che questa si sia instaurata o attraverso l'utilizzo di probiotici. I probiotici sono definiti dalla WHO come "microrganismi viventi che, se somministrati in quantità sufficiente, conferiscono un beneficio all'ospite".

Un'ampia gamma di batteri e lieviti è stata studiata per esplorare il loro effetto probiotico sull'uomo, inclusi il *Lactobacillus rhamnosus* GG, varie specie di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e il lievito *Saccharomyces boulardii*. Vari studi clinici suggeriscono che questi probiotici possano essere una soluzione per la prevenzione dell'instaurarsi di questi effetti avversi dovuti agli antibiotici. Molti autori hanno testato vari ceppi di lactobacilli e bifidobatteri, che hanno dimostrato un effetto preventivo sull'equilibrio gastrointestinale (Wenus C. et al. 2008).

Una miglior gestione della terapia antibiotica è essenziale, anche a causa di un aumento di specie batteriche resistenti a vari tipi di antibiotici, che inficiano la possibilità di essere eradicati dagli antibiotici a cui sono resistenti. Senza una terapia antibiotica efficace, molti trattamenti medici possono fallire o divenire procedure ad alto rischio infettivo. Come già spiegato nel precedente capitolo, il report della WHO del 2014 sulla sorveglianza globale delle antibiotico resistenze ha rivelato che la resistenza agli antibiotici non è più una predizione per il futuro ma un problema già presente nella nostra società. Infatti, senza azioni coordinate ed urgenti, il mondo rischia di dirigersi verso un'era post antibiotica, in cui infezioni comuni, che sono state efficacemente trattate per decenni, potranno di nuovo uccidere.

4.2 Agenti investigati nello studio

ANTIBIOTICO: Amoxicillina + acido clavulanico (comprese da 1 g). Ogni compressa contiene Amoxicillina triidrato, corrispondente a 875 mg di amoxicillina, e Clavulanato di potassio, corrispondente a 125 mg di acido clavulanico. La forma farmaceutica utilizzata si presenta in compresse ovalari, rivestite da un film di biossido di titanio, di dimensione 20mm x 9.5 mm.

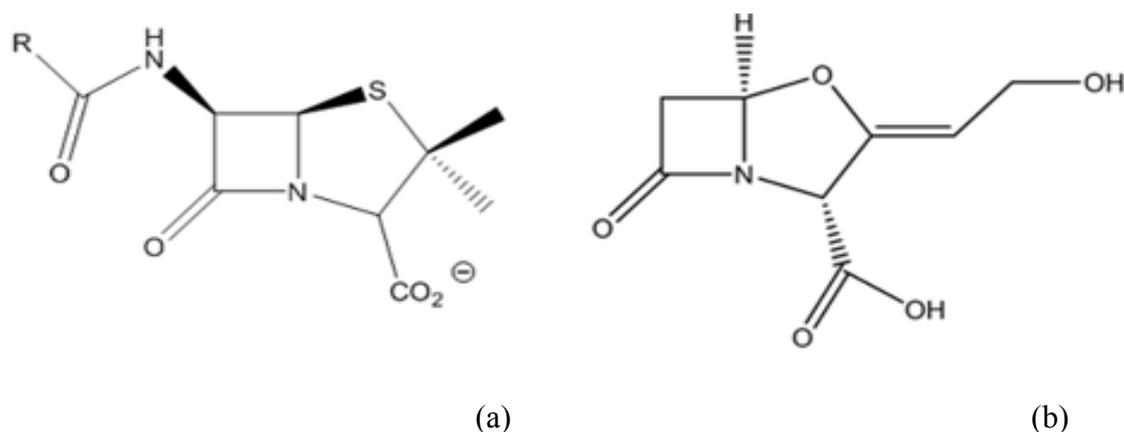


Figura 4.1: struttura chimica dell'amoxicillina (a) e dell'acido clavulanico (b)

PROBIOTICO: *Bifidobacterium longum* BB536 + lattoferrina (comprese da 450 mg). Ogni compressa contiene *Bifidobacterium longum* BB536 (contiene derivati del latte) e 50 mg di Lattoferrina. Viene assunto con somministrazione orale assieme all'antibiotico, ogni 12 ore. La terapia antibiotica può indurre diarrea e esitare in un aumento del numero di *Clostridium difficile*, con un maggior rischio di sviluppare colite pseudomembranosa. La somministrazione di *Bifidobacterium longum* riduce effettivamente il numero della specie *Clostridium difficile* e il rischio associato di diarrea, mentre la lattoferrina possiede attività antibatterica e fungicida. L'attività antimicrobica della lattoferrina è correlata alla sua affinità per il Fe^{3+} (quindi la sua elevata capacità di competere allo stato libero con i microrganismi ferro-dipendenti), e ad un'azione diretta sulla membrana esterna dei batteri Gram negativi. La combinazione della lattoferrina con lo ione ferrico nelle secrezioni mucose modula l'attività e le capacità aggregative dei batteri e dei virus verso le membrane cellulari. Questo perché alcuni batteri richiedono ferro per poter effettuare la replicazione cellulare e la lattoferrina, al contrario, lo sottrae dall'ambiente circostante, impedendone la proliferazione (Lönnerdal B. & Iyer S. 1995).

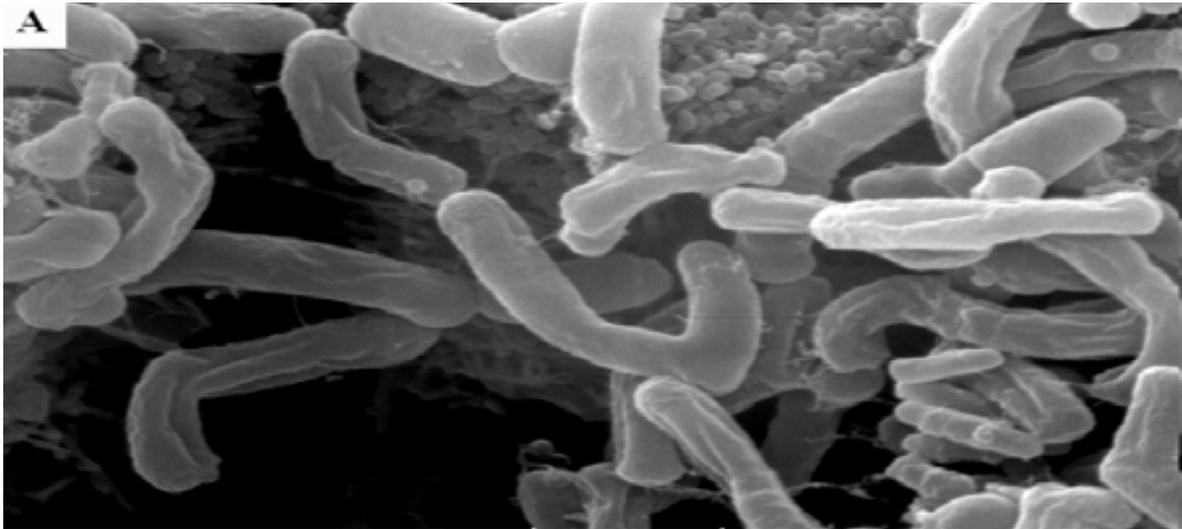


Figura 4.2: immagine al microscopio elettronico di BB536 adese alla cellule epiteliali intestinali

Tratta da: Ali Q. S. and Farid A. J. and Kabeir B. M. and Zamberi S. and Shuhaimi M. and Ghazali H. M. and Yazid A. M. «Adhesion Properties of Bifidobacterium Pseudocatenulatum G4 and Bifidobacterium Longum BB536 on HT-29 Human Epithelium Cell Line at Different Times and pH». *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 3 (febbraio 2009): 91–96.

4.3 Razionale dello studio clinico

In letteratura sono presenti molti studi che riguardano gli effetti dell'amoxicillina + acido clavulanico nelle estrazioni dei denti del giudizio, mentre non ce ne sono sugli effetti di questo antibiotico nelle estrazioni di elementi differenti dai terzi molari. Nella review del 2012 di Lodi et al. , viene sottolineato come la profilassi antibiotica nelle estrazioni dei denti del giudizio possa ridurre il rischio di infezione del 70% e riduca di un terzo il rischio di alveolite. I pazienti che ricevono l'antibiotico dopo l'estrazione hanno anche meno dolore nei 7 giorni dopo l'estrazione se comparati con il gruppo di controllo con il placebo, il che potrebbe essere una conseguenza indiretta della riduzione dell'infezione. Mentre l'utilizzo dell'antibiotico riduce il rischio di infezione e di alveolite, questi eventi comunque si possono presentare ugualmente. Il tasso di infezione nei gruppi placebo è in media dell' 11,8%, quello dei pazienti trattati con antibiotico è del 3%: questo significa che per prevenire una caso di infezione post estrattiva, occorre sottoporre a profilassi 12

soggetti che comunque non avrebbero sviluppato un'infezione. L'incidenza di alveolite nel gruppo placebo invece è del 6,9% in media, nel gruppo con antibiotico 4,3%: 38 persone che non avrebbero sviluppato alveolite dovrebbero essere sottoposti a profilassi per prevenirne una. Riguardo l'incidenza degli effetti avversi, che sono in genere leggeri e transitori, si evince dalla review che si presentano in media una volta ogni 21 persone trattate.

La scarsa generalizzabilità di questa review (che riguarda le estrazioni di denti del giudizio) alle estrazioni di elementi diversi dagli ottavi (estratti ad esempio per carie o malattia parodontale), è causata dal fatto che tutti gli studi inclusi in essa riguardano soggetti giovani, sani, che si sono sottoposti a estrazione di denti del giudizio inclusi. Non sono stati rilevati studi in letteratura che riguardino il problema della profilassi antibiotica nelle estrazioni di denti diversi da quelli del giudizio. Inoltre gran parte delle estrazioni oggetto di questi studi sono state eseguite da chirurghi orali specializzati, che operavano in centri di riferimento del settore (situazione molto diversa nella pratica clinica, in cui le estrazioni solitamente vengono eseguite da dentisti generici), quindi non è chiaro se i risultati osservati possano essere generalizzabili. Nelle conclusioni del loro lavoro, gli autori della review hanno affermato che sarebbe opportuno eseguire studi sulle estrazioni di elementi dentari diversi dai denti del giudizio per poter capire quanto la profilassi antibiotica sia davvero efficace nel prevenire le complicanze post-estrattive.

Per quanto riguarda l'utilizzo del probiotico, molti studi (Namba et al. 2012, Xiao et al. 2007, Yaeshima et al. 2001, Rahman et al. 2006, Tomoda et al. 1986) hanno dimostrato gli effetti benefici sulla microflora intestinale. Infatti, il *Bifidobacterium longum*, è uno dei batteri più rappresentati nel tratto gastrointestinale delle persone adulte. Esso è un batterio gram negativo, catalasi negativo, a forma di bastoncino, micro-aero-tollerante anaerobio, considerato uno dei primi colonizzatori del tratto intestinale dei bambini. Presenta una grande capacità di sopravvivenza nel suddetto tratto, ottima adesione alle cellule epiteliali, possiede attività antimicrobica specialmente nei confronti del *Clostridium difficile* (il patogeno responsabile della colite pseudomembranosa). Inoltre la lattoferrina, presente nel probiotico, possiede riconosciute proprietà antimicrobiche e fa parte della difesa immunitaria del nostro organismo (viene secreta dalle mucose), in particolare nei bambini.

4.4 Razionale della terapia antibiotica e rapporto rischi/benefici

Ad oggi non esiste un accordo uniforme tra i dentisti sulla somministrazione di antibiotico a scopo profilattico dopo un'estrazione dentaria. Ricordando quanto già spiegato nei capitoli precedenti, secondo uno studio condotto in Spagna da Sancho-Puchades et al. nel 2009, distribuendo un questionario durante il congresso dei membri della società spagnola di chirurgia orale (quindi tutti specialisti della materia e non dentisti generici), il 13% di essi avrebbe prescritto l'antibiotico se l'estrazione fosse durata meno di 5 minuti, il 39% in caso di un'estrazione più lunga di 5 minuti. Addirittura l'89% dei chirurghi avrebbe prescritto l'antibiotico se avesse dovuto scolpire un lembo durante l'estrazione, per arrivare al 100% che avrebbe prescritto l'antibiotico se avesse eseguito un'ostectomia. Questi dati dimostrano come ci sia una ampia discordanza tra i dentisti stessi, quindi in assenza di linee guida precise al riguardo, il nostro scopo è quello di verificare quando sia opportuno somministrare un antibiotico dopo estrazione dentaria, ossia quando i benefici derivanti dalla prevenzione dell'infezione siano maggiori rispetto ai rischi dell'utilizzo dell'antibiotico.

4.5 Gruppi sperimentali

Gruppo1: amoxicillina + acido clavulanico

La batteriemia transitoria che si ha a seguito di estrazione dentaria è ineliminabile, ma la sua severità (carica batterica), durata (tempo in cui i batteri permangono nel torrente circolatorio), tipi di batteri nel sangue (aerobi, anaerobi o entrambi) e la predisposizione individuale del paziente (malattie sistemiche, suscettibilità del sito etc.) giocano un ruolo significativo sull'instaurarsi di possibili complicanze. Nel 75% dei pazienti con carie, gengivite o malattia parodontale si hanno emocolture positive per gli streptococchi a seguito di procedure dentali, mentre queste si hanno solo nel 30% dei pazienti sani (non affetti da carie o parodontite). Per prevenire le infezioni locali post-estrattive, il target dell'antibiotico deve essere polimicrobico: molte specie tendono ad essere isolate in coppia (*Bacteroides* spp. e *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. e *Prevotella* spp. Etc), con componenti microaerofile, dato che queste infezioni originano dalla flora normale presente nel cavo orale dei pazienti. La scelta dello spettro dell'antimicrobico utilizzato per la profilassi deve tenere in considerazione tre tipi di batteri (Maestre-Vera JR

et. Al 2007):

- 1) I batteri parodonti patogeni, come il *Treponema denticola*, che sono di solito suscettibili alle penicilline.
- 2) I batteri anaerobi Gram negativi, come *Prevotella* spp. e *Fusobacterium* spp. (che sono i batteri anaerobi più prevalenti nelle infezioni dentali), dato che circa il 50% di questi batteri produce β -lattamasi.
- 3) I batteri aerobi Gram positivi come gli *Streptococchi viridanti*, responsabili della batteriemia post operatoria e delle complicanze a distanza come l'endocardite batterica.

Le penicilline continuano ad essere i farmaci di prima scelta in odontoiatria e in chirurgia orale, dato che la maggior parte dei batteri aerobi e anaerobi sono sensibili ad essa. Comunque, un numero sempre maggiore di batteri anaerobi produce vari tipi di β -lattamasi, rendendoli quindi resistenti alle penicilline. Per poter mantenere delle concentrazioni di antibiotico maggiori della MIC per i batteri che producono questo enzima, è stato introdotto l'acido clavulanico, che inibisce la β -lattamasi, impedendo quindi la degradazione dell'amoxicillina. (Aguilar L. et al. 1997).

Lo standard del regime di profilassi negli adulti comprende 2g di amoxicillina somministrata per via orale per 6 giorni (Lodi et al. 2012), per questo ai nostri pazienti verranno forniti 2g di amoxicillina + acido clavulanico giornalmente (1 grammo ogni 12 ore) dopo la procedura di estrazione dentaria, per la durata di 6 giorni.

Gruppo 2: amoxicillina + acido clavulanico + probiotico

La diarrea associata agli antibiotici e l'infezione da *Clostridium difficile* sono complicazioni che possono insorgere a seguito di terapia antibiotica a largo spettro (ossia una terapia che colpisce vari tipi di batteri, non tutti patogeni). Secondo lo studio di Mangin et al. del 2012, la diarrea fu osservata nel 4,9% dei pazienti (1,8% - 6,9%) che avevano ricevuto una terapia antibiotica a lungo termine e il 50% dei pazienti era positivo alla presenza di tossina B, prodotta dal *Clostridium difficile*. I probiotici sono agenti promettenti nella prevenzione di tali complicanze; inizialmente erano utilizzati nella terapia della diarrea e dell'infezione da *Clostridium difficile* indotte da antibiotico: essi dovevano servire per ripristinare la flora intestinale normale. Una riduzione significativa di diarrea e infezione da *Clostridium difficile* si può osservare in studi clinici randomizzati in cui il probiotico viene somministrato simultaneamente all'antibiotico. I probiotici devono

essere somministrati in dosi adeguate per poter dimostrare i loro effetti benefici: la loro concentrazione nel contenuto intestinale deve essere di almeno 6-8 log CFU/g ,per quanto riguarda il *B. longum*, la sua concentrazione si mantiene sopra i livelli funzionale per 12 ore dopo la somministrazione. Per questi motivi abbiamo scelto una somministrazione ottimale di 2 compresse al giorno (una ogni 12 ore) assieme all'antibiotico (anche per una questione di semplificazione per il paziente, in modo che possa assumere il farmaco e il probiotico nello stesso momento, senza rischiare fraintendimenti).

Gruppo 3: gruppo di controllo (nessun trattamento)

I pazienti inseriti in questo gruppo serviranno per valutare se le complicanze post-estrattive siano maggiori/inferiori/uguali rispetto ai pazienti che hanno ricevuto l'antibiotico. Il quesito nasce grazie alla review di Lodi et al. (2012), in cui risulta che l'utilizzo di antibiotico dopo estrazione di denti del giudizio può ridurre l'infezione post operatoria al 3% (ma questo significa trattare 12 persone con antibiotico per prevenire un'infezione), mentre pochi in letteratura sono i dati riguardanti le estrazioni di elementi diversi dagli ottavi (soprattutto gli inferiori). Presumibilmente, trattandosi di elementi non inclusi e che spesso non richiedono un'ostectomia importante, il tasso di infezione post operatoria potrebbe essere inferiore rispetto ai denti del giudizio: questo è ciò che vogliamo verificare. In aiuto ci viene lo studio di Simon & Matee (2001), condotto in Tanzania, in cui è stato riscontrato un tasso di complicanze post-estrattive dell'1,1% (anche se non sono chiare le modalità delle estrazioni e gli elementi dentari coinvolti).

4.6 Obiettivi dello studio

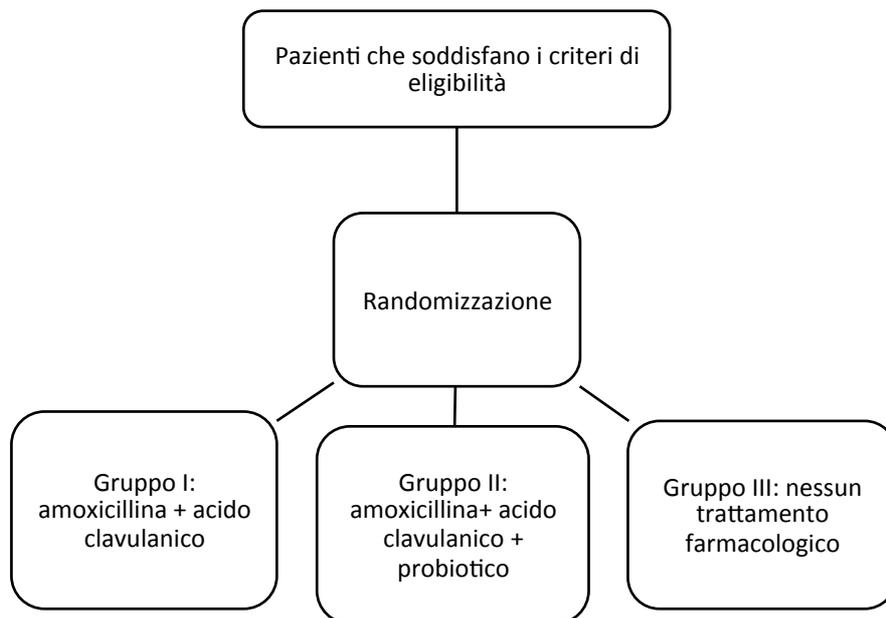
Lo scopo di questo studio è quello di comparare tre diverse condotte post-operatorie, in modo da capire quando la profilassi antibiotica sia necessaria e quando possa essere evitata. In letteratura abbiamo trovato molti studi che riguardavano denti del giudizio, in cui il rischio di infezione è di circa il 10% nei pazienti sani e può crescere fino al 25% in persone con patologie concomitanti o immunodeficienze. Sarebbe ragionevole pensare che estrazioni di altri elementi, di solito meno complesse rispetto a quelle dei denti del giudizio, comportino un rischio di infezione inferiore rispetto ai dati precedenti. Ricordiamo lo studio clinico di Simon & Matee (2001) circa l'incidenza di complicanze post-estrattive in una clinica odontoiatrica in Tanzania, in cui è risultato che sono dell'

1,1% in una popolazione con alta incidenza di infezione da HIV e un basso livello di igiene orale. Non sappiamo quanto questi risultati possano essere generalizzabili, infatti questo studio è stato condotto su vari tipi di estrazioni (semplici, complesse, di denti del giudizio etc.) e non sono specificate le modalità, comunque ci può dare un'idea circa l'entità delle complicanze. La questione dovrebbe essere meglio investigata, anche in popolazioni con minor incidenza di malattie infettive e diverse condizioni socio-economiche, stratificando così i risultati. In questo modo si potranno valutare i benefici/svantaggi della profilassi antibiotica in diverse condizioni (fisiologiche e patologiche).

Per questa ragione è importante ottenere una miglior comprensione del ruolo degli antibiotici nell'insorgenza delle complicanze post-estrattive, confrontando gruppi di pazienti sottoposti a terapia dopo estrazione e altri senza alcun trattamento medico (ad eccezione di antiinfiammatori ed analgesici). Una recente review pubblicata nel 2010 sul British Dental Journal (Ellervall E. et al. 2010) infatti afferma che l'efficacia della profilassi antibiotica per prevenire le complicanze post operatorie nella chirurgia dento-alveolare, non è supportata da evidenza scientifica. Vogliamo investigare le differenze che ci sono tra i gruppi e, possibilmente, valutare il rapporto rischi/benefici della terapia antibiotica nelle estrazioni dentarie.

4.7 Struttura dello studio

Lo studio è di fase IV, randomizzato, controllato, in singolo cieco e monocentrico. Vengono arruolati nello studio i pazienti che richiedono cure dentarie presso l' U.O Odontostomatologia e chirurgia del cavo orale presso l'ospedale Santa Chiara di Pisa e che soddisfano i criteri di inclusione/esclusione. Il paziente viene sottoposto ad estrazione e, successivamente, un ricercatore non coinvolto nella valutazione dello studio allocherà il paziente ad un gruppo utilizzando una lista di randomizzazione generata al computer. I pazienti arruolati nel gruppo 1 riceveranno solo l'antibiotico dopo l'estrazione, quelli del gruppo 2 riceveranno, assieme all'antibiotico, anche il probiotico da assumere in concomitanza, infine il terzo gruppo non riceverà né l'antibiotico né il probiotico. Le visite di follow up verranno eseguite a 7, 14 e 21 giorni dall'intervento.



4.8 Endpoints primari dello studio

L'obiettivo primario di questo studio è quello di valutare l'efficacia dell'antibiotico dopo estrazione dentaria allo scopo di prevenire le infezioni e valutare gli effetti del probiotico nel ridurre i possibili effetti avversi indotti dall'antibiotico stesso. Per poter analizzare i dati è utilizzata una scheda su cui il clinico può annotare tutte le caratteristiche dello studio, a partire da come è stata condotta l'estrazione (semplice, complessa, con odontotomia, con ostectomia) per finire con le visite di follow up. I segni locali e i sintomi valutati sono il gonfiore, il dolore (valutato con la scala VAS), presenza di suppurazione locale, febbre, alveolite post-estrattiva (alveolite secca) e presenza di trisma (valutato come la variazione dell'apertura massima della bocca confrontando i valori di follow up con quelli valutati prima dell'estrazione). Oltre a questo, vengono valutati gli eventi avversi post estrattivi come la difficoltà alla masticazione, la difficoltà nell'eloquio, la difficoltà a compiere le normali manovre di igiene orale quotidiane e le alterazioni delle attività giornaliere causate dall'estrazione (giorni persi da lavoro o studio). Ai pazienti viene poi

consegnata una tabella su cui annotare, nei primi 7 giorni dopo l'estrazione, l'assunzione al bisogno di antiinfiammatori ed analgesici, specificando la dose assunta ed il tipo di farmaco. Viene poi utilizzata una tabella per valutare gli effetti avversi dell'antibiotico a livello gastro intestinale (variazioni dell'alvo, distensione addominale, dolore, bruciore gastrico etc.) e confrontare i pazienti dei gruppi 1 e 2 (ossia la differenza tra il gruppo sottoposto a sola terapia antibiotica e quello a cui viene fornito il probiotico).

4.9 Endpoints secondari dello studio

Oltre agli obiettivi primari, lo scopo secondario dello studio è quello di descrivere demograficamente la popolazione che richiede cure dentarie presso l'U.O. Sarà inoltre possibile capire le principali ragioni per cui i denti vengono estratti, grazie ad una tabella inserita nella scheda di valutazione chiamata "Formula dentaria", in cui vengono registrate le principali patologie di tutti gli elementi presenti nel cavo orale dei pazienti inclusi. Verranno ovviamente registrate anche le patologie sistemiche dei pazienti grazie alla parte anamnestica della scheda di valutazione.

4.10 Criteri di inclusione/esclusione

4.10.1 Criteri di inclusione

- pazienti maschi e femmine che richiedono un'estrazione dentaria presso l'U.O
- pazienti adulti (> 18 anni)
- pazienti in grado di capire e firmare un consenso informato

4.10.2 Criteri di esclusione

- pazienti che richiedono l'estrazione di denti del giudizio
- controindicazioni generali alla chirurgia orale
- pazienti immunosoppressi o immunocompromessi
- pazienti in terapia con farmaci antiassorbitivi
- pazienti che hanno ricevuto irraggiamento del distretto testa-collo
- diabete mellito non controllato

- paziente in gravidanza o in allattamento
- pazienti con dipendenze patologiche da alcol e/o stupefacenti
- disturbi psichiatrici che controindichino la chirurgia orale

4.11 Reclutamento dei soggetti

I pazienti che soddisfano i criteri di inclusione/esclusione possono essere reclutati nello studio dopo il loro consenso informato. I pazienti che vogliono abbandonare lo studio sono liberi di farlo senza ulteriori spiegazioni, sono considerati persi anche i pazienti che non seguono la terapia somministrata (anche se non è possibile nel presente studio valutare la compliance del paziente, dato che dobbiamo attenerci a quanto quest'ultimo ci riferisce durante in controlli).

4.12 Regime del trattamento

L'antibiotico viene somministrato per via orale, alla dose di 1g ogni 12 ore a partire da dopo l'estrazione. Il trattamento dura 6 giorni. Il probiotico viene somministrato per via orale, 2 volte al giorno (stessa posologia dell'antibiotico per non generare confusione nei pazienti) per 5 giorni.

L'antibiotico è confezionato in 2 blister da 6 compresse ciascuno e consegnato al paziente una volta determinato il gruppo in cui verrà inserito. Il probiotico, così come l'antibiotico, viene consegnato a tutti i pazienti del gruppo 2.

I pazienti in trattamento con altri farmaci al momento dell'estrazione devono continuare le loro terapie di routine come prescritto dal loro medico di famiglia. Per il controllo del dolore, l'operatore che esegue l'estrazione prescrive un antiinfiammatorio. Il farmaco prescritto è Ibuprofene 600 mg in granuli, da assumere al bisogno (massimo 3 volte al giorno). Ai pazienti allergici a questo principio attivo viene prescritto Naproxene 550 mg, da assumere una volta ogni 12 ore (sempre al bisogno). Per i pazienti con disturbi gastrointestinali viene infine prescritto, in caso di dolore, Paracetamolo 500 mg + codeina 30 mg, da assumere 2 volte al giorno.

4.13 Visite preliminari e di follow up

- 1) **Prima visita:** durante la prima visita viene valutato lo stato generale del cavo orale del paziente e la necessità di dover eseguire un'estrazione dentaria (non denti del giudizio). Il paziente viene informato della possibilità di partecipare allo studio, la sua natura e viene stilato il consenso informato (se il paziente accetta di partecipare). L'operatore raccoglie quindi i dati anagrafici del paziente, l'anamnesi (in cui vengono investigate eventuali allergie a farmaci, cardiopatie o disordini cardiovascolari, epatopatie, nefropatie, malattie infettive, presenza di diabete mellito e abitudine al fumo di sigaretta). Se non presente un esame radiografico recente, verrà prescritta una rx ortopantomografica e, all'occorrenza, degli esami ematologici. Una volta completato il piano di trattamento, il paziente prenderà l'appuntamento per l'estrazione.
- 2) **Seconda visita** (T_0 = estrazione dentaria): durante la seconda visita viene praticata l'estrazione. Vengono raccolte alcune informazioni sull'elemento dentario che deve essere estratto ed il motivo che ne porta all'avulsione (residuo radicolare, fallimento terapia canalare, malattia parodontale, carie destruyente etc.). Vengono registrati:
 - mobilità dell'elemento (grado I, II o III)
 - PD, ossia profondità di sondaggio
 - CAL, livello di attacco clinico
 - Status dentario (che viene esteso a tutti gli elementi presenti nelle arcate dentarie, vengono segnalati i denti cariati, ricostruiti, devitalizzati, protesizzati e quelli mancanti).

Viene registrata anche la massima apertura della bocca misurata in millimetri, in modo da poter valutare la presenza di trisma ai controlli successivi (trisma inteso come riduzione della massima apertura della bocca rispetto al T_0), e la temperatura corporea con un termometro digitale da fronte. A questo punto l'estrazione viene eseguita, previa anestesia locale per iniezione (Mepivacaina cloridrato + adrenalina 1:100.000 o senza adrenalina nei pazienti con aritmia cardiaca) e cercando di causare il minor trauma possibile al tessuto gengivale e all'osso alveolare. L'alveolo post estrattivo viene trattato nel modo più semplice possibile: ossia viene effettuata soltanto una compressione con garza sterile per arrestare il sanguinamento. Solo nel caso in cui sia stato necessario sollevare un lembo per

eseguire l'estrazione, viene eseguita la sutura (con fili riassorbibili). Viene registrata infine la difficoltà e le caratteristiche dell'estrazione, la necessità di sollevare un lembo, eventuali odontotomie od ostectomie. Il paziente in seguito, tramite la lista di randomizzazione, viene assegnato ad un gruppo sperimentale: gli viene consegnato solo l'antibiotico se appartiene al primo gruppo, antibiotico + probiotico se appartiene al secondo e nessuna terapia se viene assegnato al terzo. Tutti i soggetti vengono istruiti con le medesime istruzioni di condotta post operatoria (non sdraiarsi per le prime ore a seguito dell'estrazione, evitare cibi caldi e duri, non fare sciacqui per le prime 24 ore per non rischiare di sciogliere il coagulo e stringere un tampone di garza per 30 minuti se si ha sanguinamento, applicare del ghiaccio sulla cute esterna per ridurre l'edema post-operatorio).

3) **Terza visita** (T_1 = dopo 7 giorni dall'estrazione): alla terza visita si fa il primo follow up. L'investigatore poi valuta i seguenti parametri:

- edema
- dolore (valutato con la scala VAS da 0 a 10, in cui 0 significa completa assenza di dolore e 10 il dolore più grande che il paziente abbia mai provato in vita sua)
- suppurazione
- febbre
- presenza di alveolite
- trisma
- complicanze post-estrattive generiche

Al paziente viene inoltre chiesto se l'estrazione ha influito sulle sue attività giornaliere. Questo viene valutato attraverso i seguenti parametri:

- Difficoltà alla masticazione (valutata con la scala VAS da 0 a 10, in cui 0 è l'assenza completa di difficoltà mentre 10 è l'impedimento totale)
- Difficoltà nell'eloquio (valutata sempre con la scala VAS da 0 a 10 , in cui 0 è l'assenza di difficoltà mentre 10 significa impedimento totale della fonazione)
- Difficoltà nello svolgere le normali pratiche di igiene orale (valutata con la scala VAS da 0 a 10)
- Alterazioni della routine quotidiana (valutate attraverso la perdita di giorni lavorativi e/o di studio)

In più viene valutata la tabella che era stata consegnata al paziente per annotare i farmaci analgesici/antiinfiammatori assunti nei primi 7 giorni dopo l'estrazione (al bisogno).

Risulta necessario poi valutare gli effetti avversi derivanti dall'antibiotico (nei gruppi 1 e 2). Allo scopo vengono utilizzati 2 schede che riportano i segni e sintomi presentati dai pazienti (assieme alla loro frequenza ed intensità):

- dolore addominale
 - distensione addominale
 - variazioni dell'alvo
 - caratteristiche dell'alvo
 - nausea
 - vomito
 - reflusso acido
 - bruciore retrosternale
 - dolore gastrico
 - dolore intestinale
 - distensione gastrica
 - distensione intestinale
 - costipazione
 - diarrea
 - perdita di appetito
- 4) **Quarta visita** (T_2 = dopo 14 giorni dall'estrazione): i parametri valutati sono gli stessi di T_1
- 5) **Quinta visita** (T_3 = dopo 21 giorni dall'estrazione): i parametri valutati sono i medesimi di T_1 e T_2

4.14 Metodi statistici

Determinazione della numerosità del campione

La numerosità del campione viene calcolata per ottenere una potenza dello studio del 90% e utilizzando i dati presenti in letteratura sulle complicanze legate alle estrazioni dentarie (Lodi et. Al 2012). Considerando la presenza di segni locali di infezione del sito chirurgico, il campione stimato dovrebbe avere una numerosità variabile tra 42 e 789 soggetti. Nel dettaglio, comparando la presenza di segni locali di infezione in diversi trattamenti farmacologici (antibiotico preoperatorio o postoperatorio), troviamo

un'incidenza di complicanze del 3,27% (antibiotico preoperatorio) contro quella del 13,96% nel gruppo placebo; mentre si ha un'incidenza dell' 1,65% con l'antibiotico postoperatorio contro il 12,45% nel placebo postoperatorio. Con questi dati si può calcolare una numerosità del campione rispettivamente di 56 e 42 soggetti. Conseguentemente si dovranno reclutare per comodità almeno 50 pazienti per gruppo, per un totale di 150. I risultati presentati in questa tesi sono pertanto preliminari e non sono quindi statisticamente significativi.

Analisi statistica

Tutti i dati sono stati analizzati secondo un piano prestabilito. Un biostatistico con esperienza nel campo dell'odontoiatria ha analizzato i dati dei 3 gruppi, senza conoscerne i codici (non sa a quale gruppo appartengano i dati analizzati), attraverso un foglio di calcolo impostato su misura dei parametri. Sono stati utilizzati i seguenti metodi statistici:

- Distribuzione normale dei 3 gruppo attraverso il test di Saphiro- Wilk
- Valutazione delle differenza statisticamente significative tra i gruppi e tra i diversi timepoints (T0, T1, T2, T3). Se i gruppi non mostrano una distribuzione normale, vengono utilizzati dei metodi non parametrici: test di Mann-Whitney per campioni indipendenti, test di Wilcoxon per dati appaiati e il test di correlazione di Spearman. I metodi parametrici includono il test t di Student per campioni indipendenti e per dati appaiati. Per l'analisi della correlazione si utilizza il coefficiente di Pearson. Per tutti questi test si utilizza un livello di significatività (α) del 5%.

CAPITOLO 5

RISULTATI

Dopo la valutazione dei criteri di inclusione/esclusione, sono stati inclusi nello studio 16 pazienti che richiedevano cure odontoiatriche estrattive presso l'U.O. L'età media totale tra i gruppi calcolata è di 57,9 anni. L'età media dei pazienti assegnati al primo gruppo è di 63,5 anni (STD=19,5), quella dei pazienti del secondo gruppo è di 62,2 anni (STD=8,5) e quella del terzo gruppo è di 49,8 anni (STD=11,9).

Il rapporto maschi/femmine è 1:1 (8 uomini e 8 donne)

Gruppo	Paziente	età	sexo
1	a	68	m
	f	35	f
	n	72	m
	q	79	m
2	b	45	f
	c	65	f
	d	69	m
	l	56	m
	o	78	m
	p	60	f
3	e	29	m
	g	49	f
	h	55	m
	r	60	f
	s	45	f
	t	61	f

Tabella 5.1: Distribuzione dei pazienti per gruppi sperimentali, età e sesso.

Dei pazienti inclusi:

- 6 presentavano malattie cardiovascolari (3 pazienti erano affetti da ipertensione, 2 pazienti avevano avuto un pregresso infarto del miocardio e concomitante ipertensione ed un paziente aveva un soffio cardiaco).
- 2 presentavano epatopatie o nefropatie (un paziente affetto da HAV ed uno con pregressa epatopatia da farmaci).
- 4 erano affetti da diabete mellito di tipo II.

- 1 paziente è stato escluso (g) perché il medico di famiglia le ha prescritto una terapia antibiotica il giorno dopo l'intervento.

Per quanto riguarda le malattie infettive, solo un paziente incluso nello studio era affetto da HBV (assegnato al gruppo 2).

3 pazienti erano fumatori. Altre patologie riscontrate sono state l'ipercolesterolemia, l'ipertrofia prostatica, attacchi di panico e depressione, pregresso linfoma di Hodgkin, ernia iatale da scivolamento e patologie della tiroide.

9 pazienti su 12 assumevano farmaci di qualche tipo per le loro patologie sistemiche (che saranno meglio analizzati in seguito).

Gruppo	Paziente	Allergie	Patologie cardio-circolatorie	Epatonefropatie	Diabete	Malattie infettive	fumo	Altre patologie
1	a	No	Nessuna	Nessuna	Si	Nessuna	No	Nessuna
1	f	No	Nessuna	Nessuna	No	Nessuna	No	Nessuna
1	n	No	Infarto del miocardio	Nessuna	Si	Nessuna	No	Nessuna
1	q	No	Infarto del miocardio e ipertensione	Nessuna	No	Nessuna	Si	ipercolesterolemia
2	b	No	Nessuna	Nessuna	No	Nessuna	No	Nessuna
2	c	No	Nessuna	Nessuna	Si	Nessuna	No	Nessuna
2	d	No	Infarto del miocardio e ipertensione	HAV	Si	Nessuna	No	Nessuna
2	l	No	Nessuna	HBV	No	HBV	No	Nessuna
2	o	No	Ipertensione	Nessuna	No	Nessuna	Si	Ipertrofia prostatica
2	p	No	Nessuna	Nessuna	No	Nessuna	No	Attacchi di panico, asma, depressione
3	e	No	Nessuna	Nessuna	No	Nessuna	Si	nessuna
3	g	No	Nessuna	nessuna	No	Nessuna	No	Nessuna
3	h	No	Nessuna	Nessuna	No	Nessuna	No	Linfoma di Hodgkin
3	r	No	Ipertensione	Nessuna	No	Nessuna	No	Ernia iatale
3	s	No	Soffio cardiaco	Epatite da farmaci	No	Nessuna	No	Nessuna
3	t	No	nessuna	Nessuna	No	nessuna	No	Noduli tiroidei

Tabella 5.2: Anamnesi medica dei pazienti

Motivo delle estrazioni

12 elementi sono stati estratti perché residui radicolari non recuperabili. Gli altri elementi sono stati estratti per carie distruttrice (1 elemento), carie distruttrice con ascesso (1 elemento) e per malattia parodontale avanzata (2 elementi).



Grafico 5.1: motivo delle estrazioni

Le estrazioni sono state perlopiù semplici (11/16), mentre le restanti 5 sono state complesse (hanno previsto tutte lo scollamento di un lembo, l'odontotomia in un caso e l'ostectomia in 4 casi).

Paziente	Motivo dell'estrazione	Tipo di estrazione
a	malattia parodontale (elemento 1.6)	complessa
f	residuo radicolare e ascesso (elemento 2.4)	semplice
n	residuo radicolare (elemento 3.4)	semplice
q	residuo radicolare (elemento 3.2)	semplice
b	residuo radicolare (elemento 1.5)	semplice
c	carie destruyente e ascesso (elemento 1.7)	semplice
d	residuo radicolare (elemento 2.6)	semplice
l	carie destruyente (elemento 2.4)	complessa
o	residuo radicolare(elemento 2.6)	semplice
p	residuo radicolare(elemento 2.2)	semplice
e	residuo radicolare (elemento 4.4)	complessa
g	residuo radicolare (elemento 3.5)	complessa
h	malattia parodontale (elemento 4.5)	semplice
r	residuo radicolare (elemento 4.7)	semplice
s	residuo radicolare con granuloma (elemento 4.5)	complessa
t	residuo radicolare con granuloma (elemento 3.4)	semplice

Tabella 5.3: motivo dell'estrazione e tipo di estrazione

Dopo la raccolta dei dati anamnestici e odontoiatrici, i pazienti sono stati allocati ad uno dei 3 gruppi sperimentali: 4 nel gruppo 1 (amoxicillina+ acido clavulanico), 6 nel secondo gruppo (amoxicillina+ acido clavulanico+probiotico) e 6 nel terzo gruppo (nessun trattamento farmacologico post-operatorio). I pazienti sono stati assegnati ad uno dei gruppi tramite una lista di randomizzazione computerizzata. I pazienti sono stati registrati

con lettere crescenti a partire dalla a (a,b,c,d,e,f etc.). Sono stati inseriti i dati dai pazienti che si sono presentati al controllo T1 e successivi. Una paziente è stata esclusa dallo studio perché aveva assunto antibiotico prescritto dal medico di famiglia, i dati dei controlli non sono stati contati .

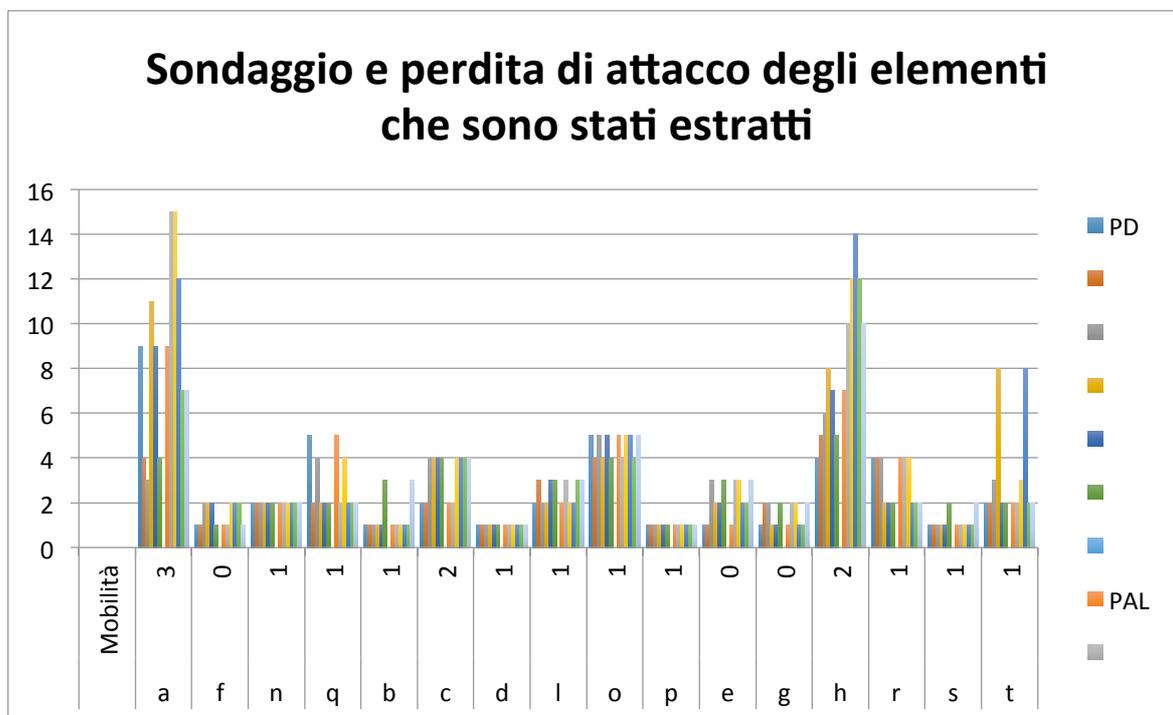


Grafico 5.2: PD e PAL di tutti gli elementi estratti

Gruppo 1

Paziente a: Paziente di sesso maschile, 68 aa. Nessuna allergia nota, affetto da diabete mellito di tipo II. In terapia con simvastatina e metformina. Si è sottoposto all'estrazione dell'elemento 1.6 a causa di malattia parodontale (mobilità di grado III, sondaggio disto-vestibolare 9, vestibolare 4, mesio-vestibolare 3, mesio-linguale 11, linguale 9, disto-linguale 4), l'estrazione è stata complessa (per l'esecuzione di un lembo di accesso e ostectomia) a causa della frattura della radice palatale. La temperatura corporea registrata prima dell'estrazione era di 36,5 °C, l'apertura massima della bocca era di 42 mm. Al controllo T1 presentava dolore (VAS=3), la temperatura corporea risultava inalterata, come pure l'apertura della bocca (assenza di trisma), non erano presenti segni oggettivi di infiammazione locale. Al controllo T2 la temperatura era di 36,2 °C, il dolore non era più presente e l'apertura massima della bocca risultava ancora inalterata. Al controllo T3 la situazione era la medesima, con temperatura corporea e apertura della bocca inalterate.

Non ha assunto analgesici nei primi 7 giorni post-operatori. Per quanto riguarda i sintomi gastro-intestinali, presentava a T1 dolore/fastidio addominale (con una severità di 2 su 4 e una frequenza analoga), variazioni dell'alvo (severità 1 su 4 e frequenza di 2 su 4). Entrambi i sintomi sono regrediti ai controlli successivi (T2 e T3).

Paziente f: Paziente di sesso femminile, 35 aa. Nessuna allergia nota, nessuna patologia sistemica rilevante. Si è sottoposta all'estrazione dell'elemento 2.4 perché si trattava di un residuo radicolare che dava ascessi ricorrenti (nessuna mobilità, sondaggio disto-vestibolare 1, vestibolare 1, mesio-vestibolare 2, mesio-linguale 2, linguale 2, disto-linguale 1). L'estrazione è stata semplice. La temperatura corporea al momento dell'estrazione era di 36,5 °C, l'apertura massima della bocca era di 55mm. Al controllo T1 riferiva dolore (VAS=4), la temperatura corporea risultava invariata, era inalterata anche la massima apertura della bocca. Si riscontravano segni di infiammazione locale, accompagnati da difficoltà alla masticazione (VAS= 4), alla fonazione (VAS=6) e nel compiere le normali manovre di igiene orale (VAS=6). La situazione infiammatoria si è risolta al controllo T2, in cui la paziente non riferiva più dolore e difficoltà alla masticazione, alla fonazione e nelle pratiche di igiene orale. Al tempo T3 la situazione non cambiava. La paziente ha assunto analgesici (ibuprofene 600mg/compressa) per 6 giorni a seguito dell'estrazione. Al tempo T1 la paziente riferisce di aver avuto nausea, gonfiore intestinale e alvo diarroica. I sintomi si sono risolti al tempo T2 e T3.

Paziente n: Paziente di sesso maschile, 72 aa. Nessuna allergia nota, riferiva una pregressa cardiopatia ischemica. Affetto da diabete mellito di tipo II, fumatore, assume quotidianamente i seguenti farmaci: metformina, acarbosio, cardioaspirina, isosorbide mononitrato, ramipril, pantoprazolo, atorvastatina e clopidogrel). Si è sottoposto ad estrazione dell'elemento 3.4 perché si trattava di un residuo radicolare non restaurabile (assenza di mobilità, sondaggio disto-vestibolare 2, vestibolare 2, mesio-vestibolare 2, mesio-linguale 2, linguale 2, disto-linguale 2). L'estrazione è stata semplice. La temperatura corporea al momento dell'estrazione era di 36,9 °C, l'apertura massima della bocca era di 46mm. Al controllo T1 non riferiva dolore, la temperatura corporea e l'apertura massima risultavano invariate rispetto al tempo T1, come anche al tempo T2 e T3 (con leggere variazioni della temperatura corporea ma che non superava mai i 37°C). Non ha assunto farmaci antinfiammatori/analgesici nei 7 giorni dopo l'estrazione. Non ha presentato sintomi gastro-intestinali a nessun controllo.

Paziente q: Paziente di sesso maschile, 79 aa. Non presentava allergie note, riferiva un pregresso infarto del miocardio e di essere in terapia per ipertensione arteriosa. Presentava una colesterolemia elevata ed era in terapia farmacologica con cardioaspirina, simvastatina e nebivololo. Si è sottoposto all'estrazione del residuo radicolare dell'elemento 3.2, non restaurabile (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 5, vestibolare 2, mesio-vestibolare 4, mesio-linguale 2, linguale 2, disto-linguale 2). L'estrazione è stata semplice. Al momento dell'estrazione la temperatura corporea era di 35,5°C, l'apertura massima della bocca era di 57 mm. Al tempo T1 non riferiva sintomi dolorosi, la temperatura corporea si presentava invariata, come anche l'apertura massima della bocca; non erano presenti segni locali di infiammazione. La situazione si presentava invariata ai tempi T2 e T3. Non ha assunto farmaci antinfiammatori/analgesici nei 6 giorni dopo l'estrazione. Non ha presentato sintomi-gastro intestinali a nessun controllo.

Gruppo 2

Paziente b: paziente di sesso femminile, 45 aa. Nessuna allergia nota e nessuna patologia sistemica di rilievo. Non assumeva farmaci. Si è sottoposta ad estrazione del residuo radicolare dell'elemento 1.5 perché non recuperabile (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 1, vestibolare 1, mesio-vestibolare 1, mesio-linguale 1, linguale 1, disto-linguale 3). L'estrazione è stata semplice, la paziente presentava una temperatura corporea al momento dell'estrazione di 36,5 °C ed un'apertura massima della bocca di 45 mm. Al controllo T1 riferiva dolore (VAS=5), la temperatura corporea era inalterata e l'apertura massima della bocca si presentava leggermente ridotta (42mm). Erano presenti segni di infiammazione locali, difficoltà alla masticazione (VAS=5), difficoltà a parlare (VAS=6) e nello svolgere le manovre di igiene orale (VAS=5). Al controllo T2 il dolore non si presentava più, l'apertura della bocca ritornava ai livelli basali (45mm), permaneva solo una difficoltà nelle manovre di igiene orale (VAS=3). Al T3 non erano più presenti sintomi e segni locali di infiammazione. La paziente ha assunto ibuprofene per 2 gg dopo l'estrazione. Non ha presentato alcun sintomo gastro-intestinale.

Paziente c: paziente di sesso femminile, 65 aa. Non presentava allergie note, la paziente riferiva di essere affetta da diabete mellito di tipo II e da morbo di parkinson. Non riferiva di essere affetta da ipertensione nonostante assumesse farmaci per il controllo della pressione arteriosa (bisoprololo, acetilsalicilato di lisina). Assumeva inoltre farmaci per il

controllo glicemico (metformina) e per il morbo di parkinson (levodopa + carbidopa). Si è sottoposta ad estrazione dell'elemento 1.7 a causa di una carie distruttrice associata ad ascesso (mobilità di grado II, sondaggio disto-vestibolare 2, vestibolare 2, mesio-vestibolare 4, mesio-linguale 4, linguale 4, disto-linguale 4). L'estrazione è stata semplice. Al momento dell'estrazione la temperatura corporea rilevata era di 36,5 °C, l'apertura massima della bocca era di 35 mm. Al controllo T1 la temperatura si presentava di 36,9°C, l'apertura massima della bocca era invariata, non erano presenti segni di infiammazione o suppurazione e la paziente non riferiva dolore o altri sintomi. Al T2 la temperatura era di 36,3 °C, l'apertura della bocca era di 35mm; il controllo T3 è risultato essere analogo al T2. La paziente non ha presentato alcun sintomo gastro-intestinale.

Paziente d: paziente di sesso maschile, 69 aa. Riferiva pregressa ischemia del miocardio, ipertensione e diabete mellito di tipo II. Riferiva inoltre di essere affetto da HAV. In terapia farmacologica con metoprololo, atorvastatina, furosemide, prenidopril+amlodipina e cardioaspirina. Si è sottoposto all'estrazione del residuo radicolare dell'elemento 2.6 perché non recuperabile (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 1, vestibolare 1, mesio-vestibolare 1, mesio-linguale 1, linguale 1, disto-linguale 1). L'estrazione è stata semplice. Al momento dell'estrazione il paziente presentava una temperatura corporea di 36,1°C ed un'apertura massima della bocca di 51mm. Al controllo T1 la situazione si presentava invariata (temperatura e grado massimo di apertura), il paziente non riferiva dolore ma solo una lieve difficoltà alla masticazione (VAS=1). Al controllo T2 la temperatura corporea e il grado di apertura si presentavano invariate ed il paziente non riferiva più la difficoltà alla masticazione. Al tempo T3 si osserva una situazione analoga a quella presentata in T2. Per quanto riguarda i sintomi gastro-intestinali, il paziente riferiva dolore gastrico a T1, che non si ripresentava ai controlli successivi.

Paziente I: Paziente di sesso maschile, 56 aa. Non presentava allergie note, il paziente riferiva di essere affetto da HBV. Fumatore (20 sigarette/gg), nessuna terapia farmacologica in atto. L'elemento 2.4 è stato estratto per carie distruttrice e non trattabile (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 2, vestibolare 3, mesio-vestibolare 2, mesio-linguale 2, linguale 3, disto-linguale 3). L'estrazione è stata complessa, con l'esecuzione di un lembo di accesso, odontotomia e ostectomia). La temperatura corporea al momento dell'estrazione era di 36,1°C, l'apertura massima della bocca era di 45mm.

Al controllo T1 presentava dolore (VAS=1), temperatura corporea invariata e nessuna riduzione dell'apertura della bocca; riferiva inoltre difficoltà alla masticazione (VAS=1).

Al controllo T2 presentava una remissione del dolore, nessuna variazione di temperatura o di apertura della bocca, ma erano presenti segni locali di infiammazione. Al controllo T3 tutti i segni e i sintomi erano scomparsi. Il paziente non ha riferito segni e sintomi gastro-intestinali ai vari controlli.

Paziente o: Paziente di sesso maschile, 78 aa. Non presentava allergie note, riferiva di soffrire di ipertensione arteriosa e di ipertrofia prostatica (assume cardioaspirina ma non ricorda i farmaci per l'ipertensione arteriosa). Si è sottoposto ad estrazione del residuo radicolare dell'elemento 2.6. (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 5, vestibolare 4, mesio-vestibolare 5, mesio-linguale 4, linguale 5, disto-linguale 4). L'estrazione è stata semplice, la temperatura corporea al T0 era di 35,5 °C e l'apertura massima della bocca era di 60 mm. Al controllo T1 il paziente riferiva dolore (VAS=3), non presentava alterazioni della temperatura o del grado di apertura massimo, riferiva inoltre difficoltà alla masticazione (VAS=4). Al controllo T2 persisteva il dolore (VAS=3), compariva una difficoltà nelle manovre di igiene orale (VAS= 3) ed erano presenti segni di infiammazione locali. Il paziente non si presenta al controllo T3. Ha assunto farmaci analgesici-antinfiammatori (ketoprofene) per 1 gg dopo l'estrazione. Per quanto riguarda i sintomi gastro-intestinali, il paziente riferiva bruciore gastrico al controllo T1, scomparso al controllo successivo.

Paziente p: Paziente di sesso femminile, 60 aa. Non presentava allergie note né patologie sistemiche rilevanti. Paziente fumatrice, asmatica, che soffriva attacchi di panico e depressione. In terapia con i seguenti farmaci: levotiroxina, miflonide, paroxetina, trazodone, formoterolo, amitriptilina, valproato di sodio, montelukast, colecalciferolo e omeprazolo. Si è sottoposta ad estrazione del residuo radicolare dell'elemento 2.2 (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 1, vestibolare 1, mesio-vestibolare 1, mesio-linguale 1, linguale 1, disto-linguale 1). L'estrazione è stata semplice, al T0 la temperatura corporea era di 36°C, l'apertura massima della bocca era di 40mm. Al tempo T1 la paziente presentava edema (VAS=5), temperatura corporea nella norma e apertura buccale inalterata. Presentava inoltre difficoltà alla masticazione (VAS=2). Al tempo T2 riferiva dolore (VAS=1), temperatura corporea e grado di apertura nella norma (come al

tempo basale) e difficoltà nell'igiene orale (VAS=2). La paziente non si presenta al T3; non ha riferito disturbi gastro-intestinali a nessun controllo.

Gruppo 3

Paziente e: Paziente di sesso maschile, 29 aa. Non presentava allergie note né patologie sistemiche rilevanti. Non seguiva alcuna terapia farmacologica. Si è sottoposto ad estrazione del residuo radicolare dell'elemento 4.4 (nessuna mobilità rilevabile, sondaggio disto-vestibolare 1, vestibolare 1, mesio-vestibolare 3, mesio-linguale 2, linguale 2, disto-linguale 3). L'estrazione è stata complessa, con lo scollamento di un lembo di accesso ed ostectomia. Al tempo T0 la temperatura corporea era di 36,4 °C e la massima apertura della bocca era di 51mm. Al controllo T1 riferiva dolore (VAS=4), temperatura corporea e apertura massima invariate, erano presenti segni di infiammazione locale. Inoltre il paziente riferiva difficoltà alla masticazione (VAS=5), a parlare (VAS=1) e nel compiere le normali manovre di igiene orale (VAS=7). Al controllo T2 l'unico sintomo persistente era la difficoltà nelle manovre di igiene orale (VAS=2) ma comunque ridotta rispetto al T1. Al T3 il paziente non presentava sintomi, erano presenti solo segni di infiammazione locali. Non ha assunto farmaci antinfiammatori/analgesici e non ha presentato sintomi gastro-intestinali.

Paziente g: Paziente di sesso femminile, 49 aa. Non riferiva allergie note. Si è sottoposta all'estrazione del residuo radicolare dell'elemento 3.5 (mobilità non rilevabile, sondaggio disto-vestibolare 1, vestibolare 2, mesio-vestibolare 2, mesio-linguale 1, linguale 1, disto-linguale 2). L'estrazione è stata complessa, con l'esecuzione di un lembo di accesso ed ostectomia. La temperatura rilevata al momento dell'estrazione era di 36,6 °C, l'apertura massima 35 mm. La paziente ha riferito al medico di base di avere dolore il giorno successivo all'estrazione, per questo le è stata prescritta una terapia antibiotica (esclusa dallo studio perché non aveva rispettato il protocollo post-operatorio). Al controllo si è presentata con edema.

Paziente h: Paziente di sesso maschile, 55 aa. Non riferiva allergie note, pregresso linfoma di Hodgkin. Non seguiva alcuna terapia farmacologica. Si è sottoposto all'estrazione dell'elemento 4.5 a causa di malattia parodontale avanzata (mobilità di grado II, sondaggio disto-vestibolare 4, vestibolare 5, mesio-vestibolare 6, mesio-linguale 8,

linguale 7, disto-linguale 5, elevata perdita di attacco clinico). L'estrazione è stata semplice. Al T0 il paziente presentava una temperatura corporea di 35,7 °C e un'apertura massima della bocca di 35 mm. Al controllo T1 riferiva un lieve dolore (VAS=1) e parametri di temperatura e apertura inalterati. La situazione si è normalizzata ai controlli T2 e T3, privi di sintomi. Ha assunto paracetamolo + codeina per 7 gg dopo l'estrazione. Non ha presentato alcun sintomo gastro-intestinale.

Paziente r: Paziente di sesso femminile, 60 aa. Non presentava allergie note, affetta da ipertensione arteriosa ed ernia iatale da scivolamento. Seguiva terapia farmacologica (losartan, furosemide e omeprazolo). Si è sottoposta all'estrazione del residuo radicolare dell'elemento 4.7 (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 4, vestibolare 4, mesio-vestibolare 4, mesio-linguale 2, linguale 2, disto-linguale 29). L'estrazione è stata semplice; al tempo T0 presentava una temperatura corporea di 36,4°C ed un'apertura massima di 48mm. Al controllo T2 riferiva dolore lieve (VAS=2), temperatura ed apertura della bocca invariate. Il sintomo dolore si risolveva al controllo T2. Al controllo T3 la situazione si presentava analoga al T2. Ha assunto farmaci antinfiammatori (nimesulide) per 1 gg dopo l'estrazione. Non ha presentato sintomi gastro-intestinali.

Paziente s: Paziente di sesso femminile, 45 aa. Non presentava allergie note, dichiarava di avere un soffio cardiaco e di essere stata ricoverata per epatite da farmaci (non dichiarava quali, non è stata causata comunque dalle penicilline). Non assumeva farmaci. Si è sottoposta ad estrazione del residuo radicolare dell'elemento 4.5 perché non restaurabile ed affetto da processo granulomatoso cronico (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 1, vestibolare 1, mesio-vestibolare 1, mesio-linguale 1, linguale 1, disto-linguale 2). L'estrazione è stata complessa, con l'esecuzione di un lembo di accesso. Al tempo T0 presentava una temperatura corporea di 36,3 °C ed un'apertura massima della bocca di 36mm. Al controllo T1 riferiva dolore (VAS=3), temperatura corporea e apertura della bocca invariate, difficoltà alla masticazione (VAS=2) e nell'esecuzione delle manovre di igiene orale (VAS=5). I sintomi si sono completamente risolti ai controlli T2 e T3. Non ha riferito alcun disturbo gastro-intestinale a nessun controllo.

Paziente t: Paziente di sesso femminile, 61 aa. Non riferiva allergie note, presentava noduli tiroidei (in terapia farmacologica con eutirox). Si è sottoposta all'estrazione del residuo radicolare dell'elemento 3.4, perché non restaurabile ed affetto da processo

granulomatoso cronico (mobilità di grado I, sondaggio disto-vestibolare 2, vestibolare 2, mesio-vestibolare 3, mesio-linguale 8, linguale 2, disto-linguale 2). L'estrazione è stata semplice, al tempo basale presentava una temperatura corporea di 36,1 °C ed un'apertura massima della bocca di 35mm. Al controllo T1 non riferiva sintomi ad eccezione di una lieve difficoltà alla masticazione (VAS=2), che si risolveva ai controlli successivi. Non ha assunto antinfiammatori/analgesici nei giorni successivi all'estrazione e non ha presentato sintomi gastro-intestinali.

Complicanze post-estrattive:

- **Edema:** L'edema post-operatorio si è presentato in un paziente del secondo gruppo: il paziente p (l'estrazione semplice di un residuo radicolare), che aveva ricevuto antibiotico + probiotico. Inoltre si è verificato anche nel paziente che era stato escluso dallo studio per l'assunzione di antibiotici prescritti dal medico curante (che sarebbe dovuto appartenere al terzo gruppo)
- **Dolore:** il dolore si è presentato al controllo T1 in 9 pazienti su 15 (2 appartenenti al gruppo 1, 3 appartenenti al gruppo 2 e 4 appartenenti al gruppo 3). Si è presentato sia nel caso di estrazioni semplici (5) che di estrazioni complesse (4). Il dolore si è risolto al controllo T2 tranne che in 2 pazienti (entrambi appartenenti al gruppo 2), in cui comunque si è osservata una riduzione del valore VAS. Al tempo T3 nessun paziente riferiva dolore.

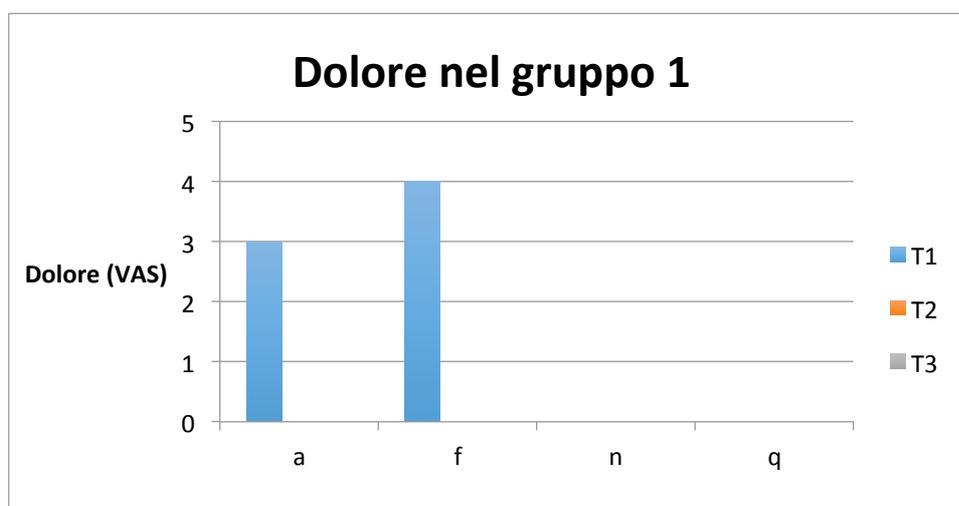


Grafico 5.3: dolore misurato con la scala VAS ai controlli del gruppo 1

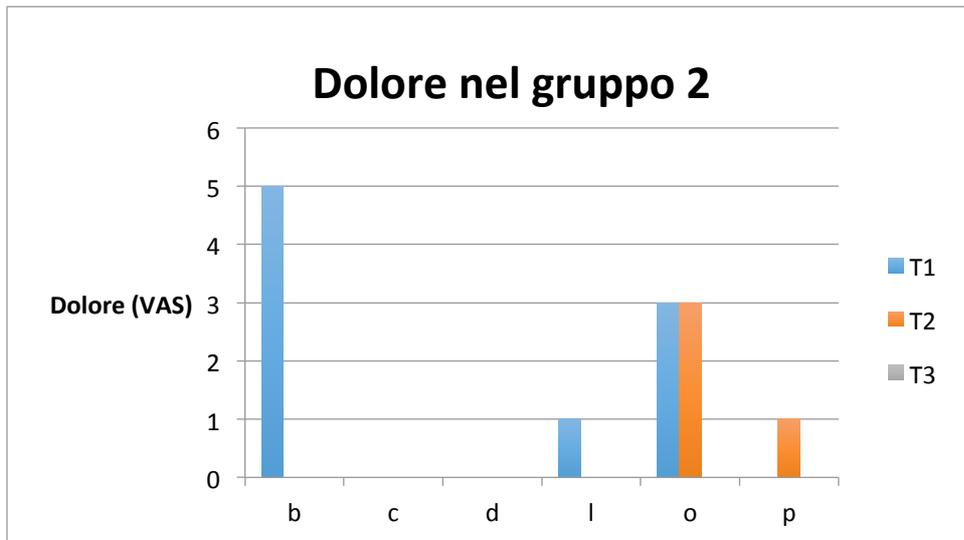


Grafico 5.4: dolore misurato con la scala VAS ai controlli del gruppo 2

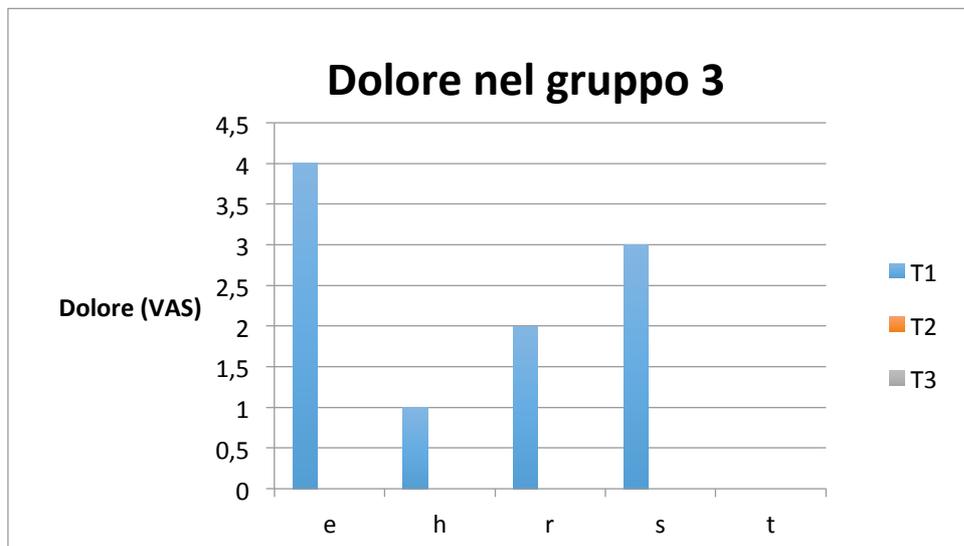


Grafico 5.5: dolore misurato con la scala VAS ai controlli del gruppo 3

- **Pus:** non si è osservata presenza di pus in nessun paziente e a nessun controllo.
- **Temperatura:** non sono state osservate differenze di temperatura significativamente diverse nei vari controlli in nessun paziente.
- **Alveolite:** nessun paziente incluso nello studio ha presentato alveolite.
- **Trisma:** si è osservata una leggera riduzione dell'apertura della bocca solo nel paziente b (appartenente al gruppo 2), che è passata da 45 mm al T0 a 42 mm al T1. La situazione si è normalizzata al tempo T2.

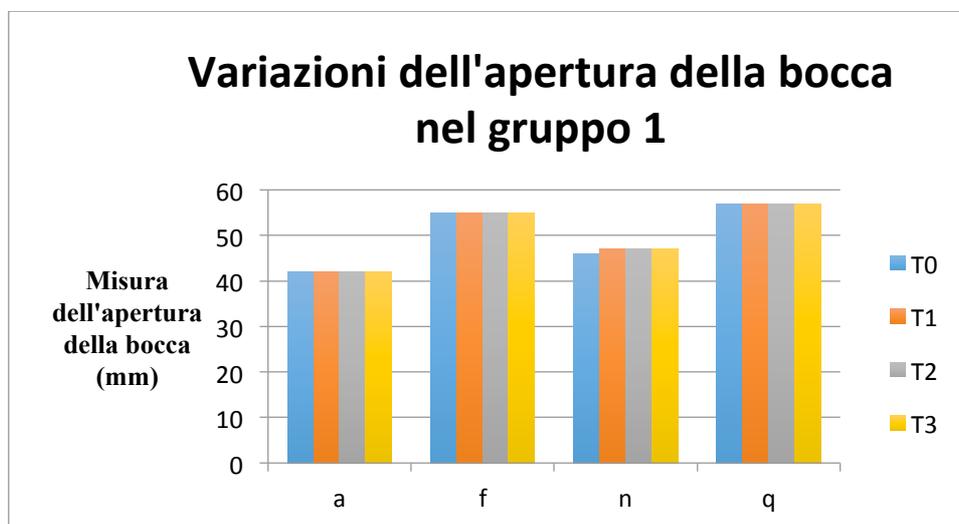


Grafico 5.6: variazione dell'apertura massima della bocca ai controlli nel gruppo 1

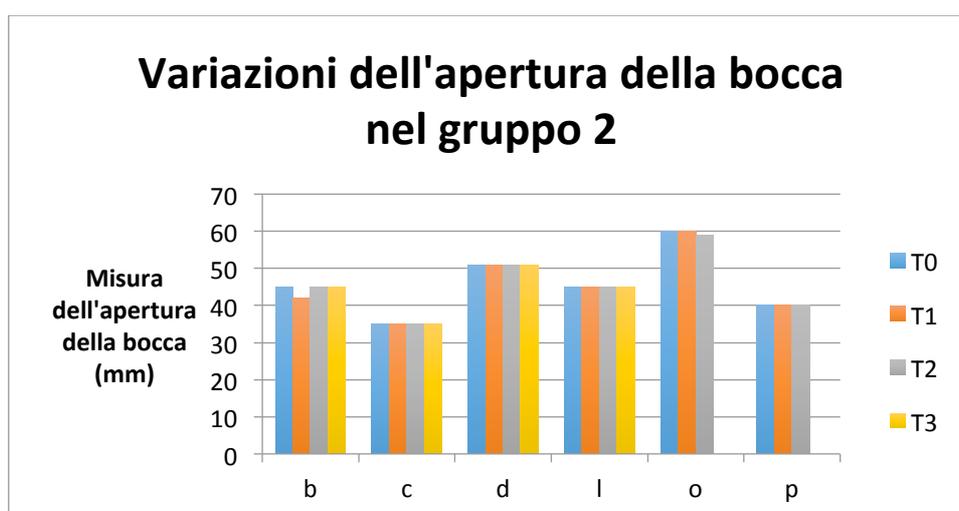


Grafico 5.7: variazione dell'apertura massima della bocca ai controlli nel gruppo 2

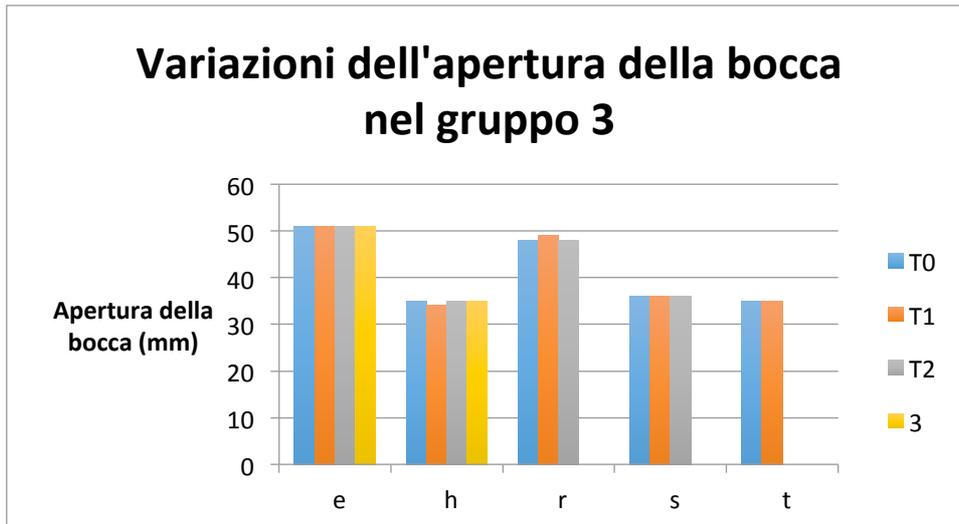


Grafico 5.8: variazione dell'apertura massima della bocca ai controlli nel gruppo 3

- **Segni di infiammazione locali:** al controllo T1 erano presenti segni di infiammazione locale in 3 pazienti su 15 (uno appartenente a ciascun gruppo). Nel paziente appartenente al gruppo 3 l'infiammazione non era ancora risolta al T2 (e neanche al T3), mentre nei pazienti appartenenti ai gruppi 1 e 2, l'infiammazione non era più presente al controllo T2. Inoltre 2 pazienti del gruppo 2, che al controllo T1 non presentavano segni di infiammazione, li hanno presentati al controllo T2.
- **Difficoltà alla masticazione:** La difficoltà alla masticazione al controllo T1 si è presentata in 9 pazienti su 15 (1 del gruppo 1, 5 del gruppo 2 e 3 del gruppo 3) ma si è risolta in tutti i pazienti ai controlli T2 e T3.

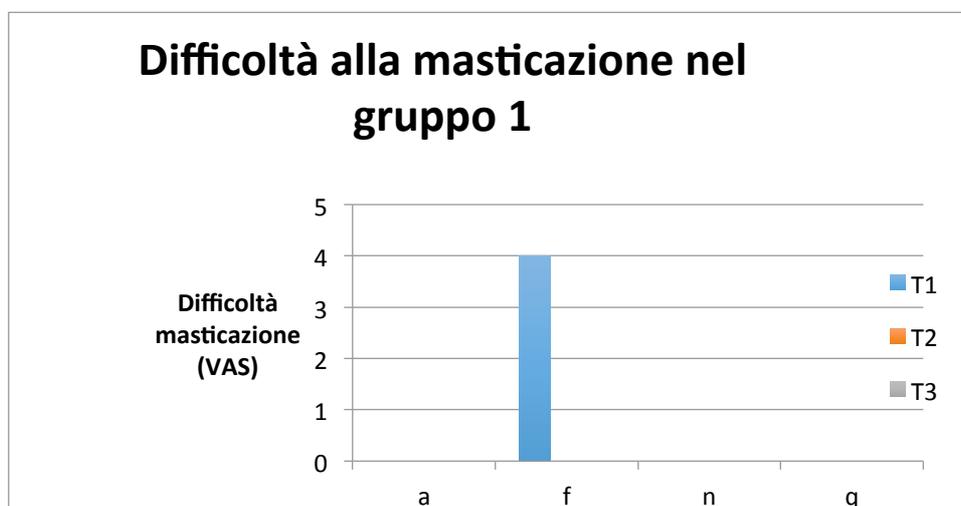


Grafico 5.9: difficoltà alla masticazione nel gruppo 1

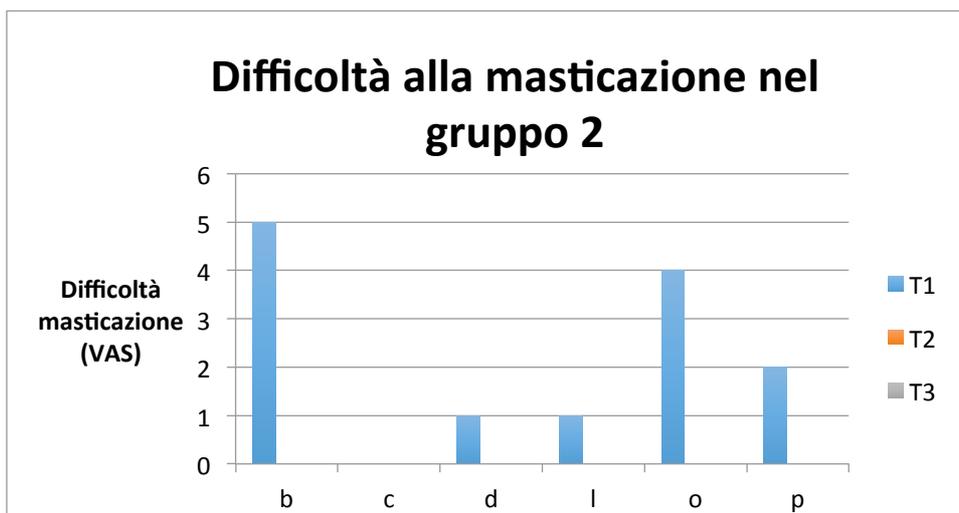


Grafico 5.10: difficoltà alla masticazione nel gruppo 2



Grafico 5.11: difficoltà alla masticazione nel gruppo 3

- **Difficoltà nell'eloquio:** si è presentata in 4 pazienti su 15 (1 nel gruppo 1, 1 nel gruppo 2 e 2 nel gruppo 3). Si è risolta in tutti i pazienti ai controlli T2 e T3.
- **Difficoltà nelle manovre di igiene orale:** si è presentata in 3 pazienti al controllo T1 (uno per ciascun gruppo). Nei pazienti dei gruppi 2 e 3 non si è risolta al tempo T2 (ma si è ridotta di intensità), nel paziente del gruppo 1 invece si è risolta. Inoltre al controllo T2 è comparsa in 2 pazienti che prima non l'avevano manifestata (1 del gruppo 2 e uno appartenente al gruppo 3)
- **Analgesici:** 5 pazienti su 15 hanno assunto farmaci antinfiammatori/analgesici (1 del gruppo 1, 2 del gruppo 2 e 2 del gruppo 3). Il paziente del primo gruppo ha assunto ibuprofene per 6 gg, i pazienti del gruppo 2 hanno assunto ketoprofene (per

1-2 gg) mentre i pazienti del gruppo 3 hanno assunto nimesulide (1gg) e paracetamolo+codeina (7gg).

- **Disturbi gastro-intestinali:** al controllo T1 si sono presentati 3 pazienti che riferivano disturbi gastro-intestinali (1 appartenente al gruppo 1 e 2 appartenenti al gruppo 2). I pazienti che non hanno ricevuto antibiotico non hanno avuto disturbi. I disturbi gastro-intestinali sono stati comunque lievi e transitori e sono scomparsi ai controlli T2 e T3 in tutti i pazienti.

CAPITOLO 6

DISCUSSIONE

Dei 15 pazienti inclusi nello studio, solo 3 non hanno riportato alcun genere di complicanza post-operatoria. Occorre però ricordare che la gamma di complicanze che poteva insorgere era molto ampia e sono state considerate complicanze, anche lievi limitazioni delle attività giornaliere (difficoltà alla masticazione, nell'eloquio e nelle manovre di igiene orale quotidiane etc.), dolore con valori VAS ridotti e segni lievi di infiammazione locale. Nella presente discussione, prenderemo in esame ciascun parametro misurato nello studio:

- **Dolore:** i valori presi in esame con la scala VAS (dolore, difficoltà alla masticazione, difficoltà nell'eloquio e difficoltà nel compiere le normali manovre di igiene orale) sono estremamente soggettivi e potremmo considerare i valori 1-3 come intensità bassa, da 4 a 6 intensità media e 7-10 intensità elevata.

I 2 pazienti del gruppo 1 hanno presentato una media di dolore al tempo T1 (misurata con la scala VAS) di 3,5 e non lo hanno presentato ai controlli T2 e T3.

I pazienti del gruppo 2 che presentavano dolore al T1 erano 3 su 6, (valori VAS= 1, 3 e 5), con una media di 3.

I pazienti del gruppo 3 inclusi (5) presentavano dolore in 4 casi (valori VAS= 4,1, 2 e 3), con una media dei valori VAS di 2,5. Tenendo ben presente che i risultati non sono statisticamente significativi in nessun gruppo, non sembrano esserci differenze tra i gruppi per quanto riguarda questo parametro. Al controllo T2 presentavano ancora dolore 2 pazienti appartenenti al gruppo 2 ed 1 appartenente al gruppo 3. Al controllo T3 nessun paziente riferiva dolore.

- **Pus:** è stata valutata la presenza o l'assenza di essudato purulento nell'alveolo post-estrattivo. Questa eventualità non si è verificata in nessuno dei pazienti presi in esame.

- **Temperatura corporea:** è stata valutata la temperatura corporea dei pazienti sottoposti ad estrazione dentaria, per confrontarla con quella rilevata ai controlli successivi. Veniva considerata febbre una $T > 37$ °C. Nessun paziente ha riportato febbre al momento dell'estrazione. Ai controlli successivi la temperatura ha presentato lievi variazioni (fisiologiche) ma in nessun caso è stata osservata febbre.

- **Alveolite:** segni clinici di alveolite non sono stati riscontrati in nessun paziente. Nonostante l'eziologia dell'alveolite non sia ancora stata ben definita, sembra che questa sia dovuta alla dissoluzione del coagulo ematico dall'alveolo post-estrattivo e ad una successiva sovra-infezione batterica (Cardoso et al. 2010), ma potrebbe essere plausibile anche il contrario, ossia che l'infezione possa essere la causa stessa della dissoluzione.

- **Trisma:** la presenza di trisma è stata valutata come la riduzione dell'apertura massima della bocca rispetto al tempo basale (misurata prima dell'estrazione). Non sono state rilevate variazioni dell'apertura della bocca in nessun paziente, ad eccezione di un paziente del gruppo 2, che si è sottoposto all'estrazione semplice di un residuo radicolare. Questo paziente ha presentato una riduzione minima dell'apertura della bocca (da 45 mm a 42 mm) solo al controllo T1, inoltre ha riferito molti sintomi con valori medi (dolore= 5, difficoltà alla masticazione= 5, difficoltà alla fonazione= 6, difficoltà nelle manovre di igiene orale= 5). In questo caso, l'eventualità delle complicanze post-operatorie non era legata alla complessità dell'intervento (diversamente da quanto affermato da Lee et al. 2013 sulle estrazioni dei denti del giudizio).

- **Segni di infiammazione locale:** i segni locali dell'infiammazione sono stati osservati in 3 pazienti, uno appartenente a ciascun gruppo. I pazienti che presentavano i segni locali dell'infiammazione erano anche quelli che avevano maggiori difficoltà alla masticazione, alla fonazione e nelle manovre di igiene orale, indicando che probabilmente la causa di queste difficoltà risiede nel maggior grado di infiammazione locale, che rende queste manovre più dolorose per il paziente. Le estrazioni che hanno portato allo sviluppo di infiammazione locale sono state semplici nei pazienti dei

primi 2 gruppi (trattati con antibiotico) ed una complessa (nel paziente che non ha ricevuto l'antibiotico).

- **Edema:** l'edema, inteso come una tumefazione visibile della faccia, è stato riscontrato in 2 pazienti: uno appartenente al secondo gruppo (trattato con antibiotico, sottoposto ad un'estrazione semplice del residuo radicolare dell'elemento 2.2), mentre l'altro era il paziente che si era sottoposto a terapia antibiotica prescritta dal medico. L'edema si è comunque risolto nel paziente del secondo gruppo al controllo successivo.
- **Difficoltà alla masticazione:** la difficoltà alla masticazione è stata una complicanza piuttosto comune, con una maggior incidenza nel gruppo 2 (5 pazienti su 6 sottoposti ad estrazione, di cui 4 semplici ed una complessa). Il parametro è molto soggettivo ed è stato riferito dolore quando, durante la masticazione, il cibo impatta sull'alveolo post-estrattivo. Nel gruppo 1 la complicanza si è avuta per l'estrazione di un residuo radicolare con ascesso concomitante, mentre nell'ultimo gruppo, 3 pazienti su 5 hanno presentato dolore alla masticazione.
- **Difficoltà nell'eloquio:** si è presentata in pazienti che avevano anche una difficoltà alla masticazione. I valori denotano una difficoltà media nei tre gruppi di 4,5 (scala VAS) nell'eloquio, con valori più elevati nei primi 2 gruppi (VAS=6).
- **Difficoltà nelle manovre di igiene orale:** In generale l'igiene orale non ha dato problemi nel post-operatorio (solo 3 pazienti, uno per ciascun gruppo, la riferiva), i pazienti riferivano che ovviavano a questo problema non passando con lo spazzolino nelle vicinanze dell'alveolo post-estrattivo. I valori VAS si sono presentati medio-alti (6 e 5 per i pazienti dei primi 2 gruppi, 7 per quello del terzo gruppo). Si nota come al controllo successivo la situazione si risolveva in un paziente (gruppo 1), si riduceva di intensità per il paziente del gruppo 2, ma si presenta in 2 nuovi pazienti (con bassi valori VAS), probabilmente a causa della ripresa delle manovre di igiene orale anche nella zona post-estrattiva.

Le complicanze post-estrattive sono state, come sottolineato da Lodi et al. (2012), in genere lievi, facilmente trattabili e autolimitanti. Solo 2 sono i casi scabri da complicanze, probabilmente perché abbiamo considerato come complicanze anche piccole limitazioni

delle attività giornaliere. Non ci sono stati casi in cui i pazienti fossero seriamente limitati nelle loro attività (valutato come giorni di lavoro/studio persi). Ad eccezione di un paziente che ha sviluppato edema, non ci sono stati altri casi, nemmeno in pazienti sottoposti ad estrazioni complesse, con o senza profilassi antibiotica.

Per quanto riguarda questi sintomi, occorre ricordare che sono normali dopo un intervento chirurgico, seppur piccolo, e non sono sempre conseguenza di un sovra-infezione batterica; ad esempio, secondo uno studio di Sekhar et al. (2001), l'incidenza di edema post-operatorio dopo estrazioni di denti del giudizio è uguale in pazienti trattati con antibiotici e nel gruppo placebo.

Anche nei pazienti che già avevano un'infezione granulomatosa cronica l'incidenza di complicanze post-operatorie a T1 non è stata elevata (entrambi i pazienti appartenevano al gruppo che non seguiva una profilassi antibiotica), mentre un paziente del gruppo 1 con ascesso ha avuto sintomi post-operatori (comunque transitori e scomparsi al controllo T2). L'ultimo paziente che aveva ascesso al momento dell'estrazione non ha presentato sintomi a T1 e nemmeno ai controlli successivi.

Per quanto riguarda i disturbi gastro-intestinali, che si sono presentati in 3 pazienti su 15 inclusi nello studio (con un'incidenza del 20%), si può osservare come siano stati lievi e transitori, scomparsi in tutti i pazienti prima del controllo a 14 gg (T2). Si sono osservati solo nei pazienti che avevano seguito la profilassi antibiotica, supportando il fatto che sono causati proprio da quest'ultima. 2 dei pazienti che hanno presentato questi sintomi avevano assunto il probiotico, occorrono comunque campioni più ampi per poter osservare se ci siano differenze statisticamente significative tra i 2 gruppi (antibiotico + probiotico VS antibiotico).

In questo caso si può dire che le estrazioni dentarie sono state procedure a basso rischio di complicanze post-estrattive importanti.

CAPITOLO 7

CONCLUSIONI

Nonostante il numero del campione molto esiguo e che i dati presentati siano assolutamente preliminari, questo studio, che possiamo definire “pilota”, sembra confermare quanto già detto da Lodi et al. (2012), ossia che le complicanze post-estrattive sono, nella maggior parte dei casi, lievi e autolimitanti.

Non ci sono differenze statisticamente significative tra parametri misurati tra nessun gruppo. Per quanto riguarda i disturbi gastro-intestinali, essi si sono presentati in 3 pazienti appartenenti ai 2 gruppi che avevano assunto il farmaco antibiotico (1 appartenente al primo gruppo e 2 appartenenti al secondo gruppo), ma anche in questo caso sono stati lievi e si sono risolti entro il secondo controllo (a 14 gg). Il ruolo del probiotico nel prevenire le complicanze derivanti dall'antibiotico non è stato ancora stabilito, servirà un campione più grande.

In generale, le complicanze osservate comunque in tutti e 3 i gruppi, sono state lievi e si sono risolte in breve tempo. Comunque, allo stato attuale, non esiste un'evidenza scientifica univoca che supporti o meno l'utilizzo della profilassi antibiotica nelle estrazioni dentarie. I risultati dello studio non sono significativi a causa della scarsità del campione. Difatti, il progetto sperimentale, come spiegato nel capitolo dei materiali e metodi, prevede l'arruolamento di un numero maggiore di pazienti (con un minimo di 150 pazienti, 50 per gruppo sperimentale).

BIBLIOGRAFIA

- 1) Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005;43(11):5721-5732. doi:10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005.
- 2) Adam D, de Visser I, Koeppe P. Pharmacokinetics of amoxicillin and clavulanic acid administered alone and in combination. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1982;22(3):353-357
- 3) Addy M, Martin MV. Systemic antimicrobials in the treatment of chronic periodontal diseases: a dilemma. *Oral Dis* 2003 9: 38–44.
- 4) Aguilar, L., M. Martín, I. P. Balcabao, M. L. Gómez-Lus, R. Dal-Ré, e J. Prieto. «In Vitro Assessment of the Effect of Clavulanic Acid at Concentrations Achieved in Human Serum on the Bactericidal Activity of Amoxicillin at Physiological Concentrations against Staphylococcus Aureus: Implications for Dosage Regimens». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 41, n. 6 (giugno 1997): 1403–5.
- 5) Ali Q. S. and Farid A. J. and Kabeir B. M. and Zamberi S. and Shuhaimi M. and Ghazali H. M. and Yazid A. M. «Adhesion Properties of Bifidobacterium Pseudocatenulatum G4 and Bifidobacterium Longum BB536 on HT-29 Human Epithelium Cell Line at Different Times and pH». *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 3 (febbraio 2009): 91–96.
- 6) Altemeier, W. A. «Clinical Aspects in Surgical Patients». *Antibiotics and Chemotherapy* 21 (1976): 184–86.
- 7) American Academy of Microbiology. Antibiotic Resistance: An Ecological Perspective on an Old Problem. A report from the American academy of microbiology. (2009). Available from: <http://academy.asm.org/images/stories/documents/antibioticresistance.pdf>. Accessed 26 February 2014
- 8) American Academy of Orthopaedic Surgeons Information Statement. Available at: www.aaos.org/about/papers/advistmt/1033.asp. Accessed October 12, 2010
- 9) Amico-Roxas M, Caputi A, Del Tacca M “*Farmacologia in odontoiatria*” (2003), UTET scienze mediche
- 10) Aminov, Rustam I. «A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and

- Challenges for the Future». *Frontiers in Microbiology* 1 (8 dicembre 2010). doi:10.3389/fmicb.2010.00134.
- 11) Andremont, Antoine. "Commensal Flora May Play Key Role in Spreading Antibiotic Resistance We need to learn more about commensal flora if we are to better manage this particular window of vulnerability to antibiotic resistance." *ASM News-American Society for Microbiology* 69.12 (2003): 601-607.
 - 12) Antonelli G, Clementi M., Pozzi G., Rossolini G.M "Principi di microbiologia medica" (2008), casa editrice Ambrosiana
 - 13) Aronovich S, Skope LW, Kelly JP, et al. The relationship of glycemic control to the outcomes of dental extractions. *J Oral Maxillofac Surg* 2010;68:2955–61
 - 14) Arteagoitia M-I, Ramos E, Santamaría G, Álvarez J, Barbier L, Santamaría J. Survey of Spanish dentists on the prescription of antibiotics and antiseptics in surgery for impacted lower third molars. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2016;21(1):e82-e87. doi:10.4317/medoral.20669.
 - 15) Atrih A, Bacher G, Allmaier G, Williamson MP, Foster SJ. Analysis of Peptidoglycan Structure from Vegetative Cells of *Bacillus subtilis* 168 and Role of PBP 5 in Peptidoglycan Maturation. *Journal of Bacteriology*. 1999;181(13):3956-3966
 - 16) Barcus, Victoria A., et al. "Genetics of high level penicillin resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*." *FEMS microbiology letters* 126.3 (1995): 299-304.
 - 17) Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
 - 18) Barone A. , Bianchi A.E. "Manuale di chirurgia orale" (2011), Elsevier
 - 19) Bennett Vogelman, William A. Craig, Kinetics of antimicrobial activity, *The Journal of Pediatrics*, Volume 108, Issue 5, Part 2, May 1986, Pages 835-840, ISSN 0022-3476, [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(86\)80754-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(86)80754-5)
 - 20) Beović, Bojana. "The issue of antimicrobial resistance in human medicine." *International journal of food microbiology* 112.3 (2006): 280-287.
 - 21) Blum IR: Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): A clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: A critical review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31:309, 2002
 - 22) Bodey GP, Nance J. Amoxicillin: in-vitro and pharmacological studies. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 1972; 1(4): 358- 362.

- 23) Bortoluzzi MC, Manfro R, De Déa BE, Dutra TC. Incidence of dry socket, alveolar infection, and postoperative pain following the extraction of erupted teeth. *Journal of Contemporary Dental Practice* 2010;11(1):E033–40
- 24) Boxx, Charles D., and Daniel M. Laskin. "Patients' Perception of the Need for Antibiotics Following Routine Tooth Extraction." *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 73.5 (2015): 802-803.
- 25) Bresco -Salinas M, Costa-Riu N, Berini-Ayt es L et al. Antibiotic susceptibility of the bacteria causing odontogenic infections. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006 11: E70–E75.
- 26) Bryskier, A. "Viridans group streptococci: a reservoir of resistant bacteria in oral cavities." *Clinical Microbiology and Infection* 8.2 (2002): 65-69.
- 27) Burke J.F. The effective period of preventive antibiotic action in experimental incisions and dermal lesions. *Surgery* 1961 Jul;50:161-8
- 28) Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995;39(6):1211-1233.
- 29) Bush K. β -lactam antibiotics: Penicillin, and other β -lactam antibiotics. In: Finch RG, Greenwood D, Norrby SR., and Whitley RJ. *Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy*. 8th ed. Philadelphia (USA): Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier Science Limited; 2003. p. 224-78.
- 30) Cardoso, Camila Lopes, Moacyr Tadeu Vicente Rodrigues, Osny Ferreira Júnior, Gustavo Pompermaier Garlet, e Paulo Sérgio Perri de Carvalho. «Clinical Concepts of Dry Socket». *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 68, n. 8 (agosto 2010): 1922–32. doi:10.1016/j.joms.2009.09.085.
- 31) Carey WD, Brotman M. Clindamycin colitis--an emerging problem. *Western Journal of Medicine*. 1974;121(6):504-507.
- 32) Cédric Foucault, Philippe Brouqui. How to fight antimicrobial resistance. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* Mar 2007, 49 (2) 173-183; DOI: 10.1111/j.1574-695X.2006.00172.x
- 33) Chain, E., Florey, H. W., Gardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A., Orr-Ewing, J., and Sanders, A. G. (2005). The classic: penicillin as a chemotherapeutic agent. 1940. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 439, 23–26.

- 34) Chardin, H., et al. "Reduced susceptibility to amoxicillin of oral streptococci following amoxicillin exposure." *Journal of medical microbiology* 58.8 (2009): 1092-1097.
- 35) Chi, Fang, et al. "Crossing the barrier: evolution and spread of a major class of mosaic pbp2x in *Streptococcus pneumoniae*, *S. mitis* and *S. oralis*." *International Journal of Medical Microbiology* 297.7 (2007): 503-512.
- 36) Chopra, I., Hesse, L., and O'Neill, A. (2002). "Discovery and development of new anti-bacterial drugs," in *Pharmacochemistry Library*, Vol. 32, *Trends in Drug Research III*, ed. H. van der Goot (Amsterdam: Elsevier), 213–225.
- 37) Dajani AS, Taubert KA, Wilson W et al. Prevention of bacterial endocarditis: recommendations of American heart association. *J Am Dent Assoc* 1997 277: 1794–1801.
- 38) Del Solar G, Giraldo R, Ruiz-Echevarría MJ, Espinosa M, Díaz-Orejas R. Replication and Control of Circular Bacterial Plasmids. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1998;62(2):434-464.
- 39) Delahaye F, Ecochard R, Degevigney G, Barjhoux C, Malquarti V, Saradarian W, et al. The long-term prognosis of infective endocarditis. *European Heart Journal* 1995;16: 48–53.
- 40) Diz Dios P, Feijoo J, Vazquez Garcia E. Tooth extraction in HIV sero-positive patients. *Int Dent J* 1999;49: 317–21.
- 41) Dodson TB. HIV status and the risk of post-extraction complications. *J Dent Res* 1977;76:1644–52.
- 42) Dogan, Belgin, et al. "Distribution of serotypes and antimicrobial resistance genes among *Streptococcus agalactiae* isolates from bovine and human hosts." *Journal of clinical microbiology* 43.12 (2005): 5899-5906.
- 43) Drusano, G. L., e W. A. Craig. «Relevance of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in the Selection of Antibiotics for Respiratory Tract Infections». *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)* 9 Suppl 3 (maggio 1997): 38–44.
- 44) Ehrlich P. & Hata, S. (1910). *Die Experimentelle Chemotherapie der Spirilosien*. Berlin: Julius Springer.
- 45) Ellervall, E., E. Vinge, M. Rohlin, e K. Knutsson. «Antibiotic Prophylaxis in Oral Healthcare - the Agreement between Swedish Recommendations and Evidence». *British Dental Journal* 208, n. 3 (13 febbraio 2010): E5; discussion 114-115. doi:10.1038/sj.bdj.2010.107.

- 46) Epstein JB, Chong S, Le ND. A survey of antibiotic use in dentistry. *J Am Dent Assoc* 2000; 131(11):1600–9.
- 47) Errington, Jeff, Jonathan Bath, e Ling Juan Wu. «DNA transport in bacteria». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2, n. 7 (luglio 2001): 538–45. doi:10.1038/35080005.
- 48) European Centre for Disease Prevention and Control. The bacterial challenge: time to react. Stockholm: ECDC; 2009.
- 49) Farmahan, Samir, et al. "Microbiological examination and antibiotic sensitivity of infections in the head and neck. Has anything changed?." *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 52.7 (2014): 632-635.
- 50) Fine DH, Hammond BF, Loesche WJ. Clinical use of antibiotics in dental practice. *Int J Antimicrob Agents* 1998 9: 235–238.
- 51) Fred Griffith. The Significance of Pneumococcal Types. 1928 *Journal of Hygiene*, 27, pp 113-159. doi:10.1017/S0022172400031879.
- 52) French Health Products Safety Agency (Afssaps). «Prescribing Antibiotics in Odontology and Stomatology. Recommendations by the French Health Products Safety Agency». *Fundamental & Clinical Pharmacology* 17, n. 6 (dicembre 2003): 725–29.
- 53) Furuya, E. Yoko, e Franklin D. Lowy. «Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting». *Nature Reviews Microbiology* 4, n. 1 (gennaio 2006): 36–45. doi:10.1038/nrmicro1325.
- 54) Gendron, R., D. Grenier, e L. Maheu-Robert. «The Oral Cavity as a Reservoir of Bacterial Pathogens for Focal Infections». *Microbes and Infection / Institut Pasteur* 2, n. 8 (luglio 2000): 897–906.
- 55) Glenny, Anne-Marie, Richard Oliver, Graham J. Roberts, Lee Hooper, e Helen V. Worthington. «Antibiotics for the Prophylaxis of Bacterial Endocarditis in Dentistry». *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 10 (2013): CD003813. doi:10.1002/14651858.CD003813.pub4.
- 56) Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics Edited by Joel G. Hardman, Lee E. Limbird, Perry B. Molinoff, and Raymond W. Ruddon. McGraw-Hill, New York *Journal of Medicinal Chemistry* 1997 40 (16), 2657-2658 DOI: 10.1021/jm9703146

- 57) Gordon R.C., Regamey C., Kirby W. Comparative clinical pharmacology of amoxicillin and ampicillin administered orally. 1972 March, Antimicrobial agents and chemotherapy vol 1, p. 504-507
- 58) Guillemot, Didier, et al. "Low dosage and long treatment duration of β -lactam: risk factors for carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*." *Jama* 279.5 (1998): 365-370.
- 59) Hakenbeck, R., Grebe, T., Zähler, D. and Stock, J. B. (1999), β -Lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*: penicillin-binding proteins and non-penicillin-binding proteins. *Molecular Microbiology*, 33: 673–678. doi:10.1046/j.1365-2958.1999.01521.x
- 60) Hale T.L, Sansonetti P.J, Schad P.A, Austin S, Formal S.B. Characterization of Virulence Plasmids and Plasmid-Associated Outer Membrane Proteins in *Shigella flexneri*, *shigella sonnei* and *Escherichia coli*. 1983 *Infection and immunity*, 40, p 340-350 0019-9567/83/040340-11\$02.00/0
- 61) Hedner E, Vahln A, Kahnberg KE, et al. Reactivated herpes simplex virus infections a possible cause of infected socket after tooth extraction. *J Oral Maxillofacial Surg* 1993 51: 370-376
- 62) Heinemann J.A, Sprague G.F Jr. Bacterial conjugative plasmids mobilize DNA transfer between bacteria and yeast. 1989 *Nature*, 40, pp 205-209.
- 63) Istituto Superiore di Sanità .European Antibiotic Awareness Day: responsible use to control antibiotic-resistance. Edited by Annalisa Pantosti and Maria Del Grosso 2009, 42 p. Rapporti ISTISAN 09/32
- 64) Kaur, S. P., Rao, R. E. K. H. A., & Nanda, S. A. N. J. U. (2011). Amoxicillin: a broad spectrum antibiotic. *Int J Pharm Pharm Sci*, 3(3), 30-37.
- 65) Kirkwood KL. Update on antibiotics used to treat orofacial infections. *Alpha Omegan* 2003 96: 28–34.
- 66) Kolár M, Urbánek K, Látal T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. *Int J Antimicrob Agents*. 2001 May;17(5):357-63.
- 67) Kolenbrander, Paul E., Robert J. Palmer, Saravanan Periasamy, e Nicholas S. Jakubovics. «Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance». *Nature Reviews Microbiology* 8, n. 7 (1 giugno 2010): 471–80. doi:10.1038/nrmicro2381.
- 68) Lee, J. Y., H. S. Do, J. H. Lim, H. S. Jang, J. S. Rim, J. J. Kwon, e E. S. Lee. «Correlation of Antibiotic Prophylaxis and Difficulty of Extraction with

- Postoperative Inflammatory Complications in the Lower Third Molar Surgery». *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* 52, n. 1 (gennaio 2014): 54–57.
doi:10.1016/j.bjoms.2013.08.010.
- 69) Lewis MA. Why we must reduce dental prescription of antibiotics: European Union Antibiotic Awareness Day. *Br Dent J* 2008 205: 537–538.
 - 70) Little JW, Falace DA, Miller CS, et al. Dental management of the medically compromised patient. 7th edition. St Louis (MO): Mosby Inc; 2008.
 - 71) Livermore, David M. "Introduction: the challenge of multiresistance." *International journal of antimicrobial agents* 29 (2007): S1-S7.
 - 72) Lockhart PB, Brennan MT, Kent ML, Norton HJ, Weinrib DA. Impact of amoxicillin prophylaxis on the incidence, nature, and duration of bacteremia in children after intubation and dental procedures. *Circulation* 2004; **109**: 2878–84.
 - 73) Lockhart PB., Brennan MT., Howell C. Sasser, Philip C. Fox, Bruce J. Paster, e Farah K. Bahrani-Mougeot. «Bacteremia Associated with Toothbrushing and Dental Extraction». *Circulation* 117, n. 24 (17 giugno 2008): 3118–25.
doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.758524.
 - 74) Lodi G, Figini L, Sardella A, Carrassi A, Del Fabbro M, Furness S. Antibiotics to prevent complications following tooth extractions. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 11. Art. No.: CD003811. DOI: 10.1002/14651858.CD003811.pub2
 - 75) Lönnerdal, B., e S. Iyer. «Lactoferrin: Molecular Structure and Biological Function». *Annual Review of Nutrition* 15 (1995): 93–110.
doi:10.1146/annurev.nu.15.070195.000521.
 - 76) Maestre-Vera JR, Gómez-Lus Centelles ML. Antimicrobial prophylaxis in oral surgery and dental procedures. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12:E44-52
 - 77) Mahoney, J., Arnold, R., and Harris, A. (1943). Penicillin treatment of early syphilis. A preliminary report. *Verer. Dis. Inform.* 24, 355–357
 - 78) Mangin I, Lévêque C, Magne F, Suau A, Pochart P. Long-term changes in human colonic Bifidobacterium populations induced by a 5-day oral amoxicillin-clavulanic acid treatment. *PLoS One*. 2012;7(11):e50257
 - 79) Mc Farland L.V. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic-associated diarrhea. *Digestive Disease* 1998;16:292-307
 - 80) McCaul LK, Jenkins WMM, Kay EJ. The reason for extraction of permanent teeth in

- Scotland: a 15-year follow-up study. *British Dental Journal* 2001; 190(12):658-62
- 81) Mougeot, Farah K. Bahrani, Sabrina E. Saunders, Michael T. Brennan, e Peter B. Lockhart. «Associations between Bacteremia from Oral Sources and Distant-Site Infections: Tooth Brushing versus Single Tooth Extraction». *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* 119, n. 4 (aprile 2015): 430–35. doi:10.1016/j.oooo.2015.01.009.
 - 82) Namba K, Hatano M, Yaeshima T, Yakase M, Suzuki K. Effects of Bifidobacterium longum BB536 administration on influenza infection, influenza vaccine antibody titer, and cell-mediated immunity in the elderly. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 2010;74:939-45
 - 83) Neu HC, Wilson APR, Grv ñeberg RN. Amoxicillin/clavulanic acid: a review of its efficacy in over 38,500 patients from 1979 to 1992. *J Chemother* 1993;5:67–93.
 - 84) Oberoi, Sukhvinder S., Chandan Dhingra, Gaurav Sharma, e Divesh Sardana. «Antibiotics in Dental Practice: How Justified Are We». *International Dental Journal* 65, n. 1 (febbraio 2015): 4–10. doi:10.1111/idj.12146.
 - 85) Pallasch TJ. Antibiotics in endodontics. *Dent Clin North America* 1979; 23: 737-746.
 - 86) Pasteur, Louis, e Jules Joubert. *Charbon et septicémie*. Paris: E. Martinet, 1877.
 - 87) Paul L. Marino “*The ICU book*”, Lippincott Williams & Wilkins, 2007
 - 88) Peter J. Russel, “*Genetics* “(2002) Napoli, Edises
 - 89) Prendergast BD. The changing face of infective endocarditis. *Heart* 2006; **92**: 879–85.
 - 90) R. P. Ambler . The structure of β - lactamase. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 1980 289 321-331; DOI: 10.1098/rstb.1980.0049.
 - 91) Rahman MU, Kim WS, Tanaka T, et al. Lactoferrin effects on the growth of bifidobacteria. *FFI Journal* 2006;9:763-70
 - 92) Riedl MA, Casillas AM. Adverse drug reactions: types and treatment options. *Am Fam Physician*. 2003 Nov;68(9) 1781-1790. PMID: 14620598.
 - 93) Robinson PG, Cooper H, Hatt J. Healing after dental extractions in men with HIV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1992;74:426–30.
 - 94) Roda RP, Jimenez Y, Carbonell E, et al. Bacteremia originating in the oral cavity. A review. *Med Oral Pa- tol Oral Cir Bucal* 2008;13:355–62.
 - 95) Rosan, Burton, and Richard J. Lamont. "Dental plaque formation." *Microbes and infection* 2.13 (2000): 1599-1607.

- 96) S. Sujatha and Ira Praharaj, "Glycopeptide Resistance in Gram-Positive Cocci: A Review," *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, vol. 2012, Article ID 781679, 10 pages, 2012. doi:10.1155/2012/781679
- 97) Salako N, Rotimi VO, Adib SM et al. Pattern of antibiotic prescription in the management of oral diseases among dentists in Kuwait. *J Dent* 2004 32: 503–509.
- 98) Sancho-Puchades, Manuel, José-María Herráez-Vilas, Eduardo Valmaseda-Castellón, Leonardo Berini-Aytés, e Cosme Gay-Escoda. «Analysis of the Antibiotic Prophylaxis Prescribed by Spanish Oral Surgeons». *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal* 14, n. 10 (ottobre 2009): e533-537.
- 99) Sauvage, Eric, et al. "The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis." *FEMS microbiology reviews* 32.2 (2008): 234-258.
- 100) Sekhar, C. H., V. Narayanan, e M. F. Baig. «Role of Antimicrobials in Third Molar Surgery: Prospective, Double Blind, randomized, Placebo-Controlled Clinical Study». *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* 39, n. 2 (aprile 2001): 134–37. doi:10.1054/bjom.2000.0557.
- 101) Seppälä, Helena, et al. "Antimicrobial susceptibility patterns and macrolide resistance genes of viridans group streptococci from normal flora." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52.4 (2003): 636-644.
- 102) Simon, E., e M. Matee. «Post-Extraction Complications Seen at a Referral Dental Clinic in Dar Es Salaam, Tanzania». *International Dental Journal* 51, n. 4 (agosto 2001): 273–76.
- 103) Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., & Kent, R. L. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, 25(2), 134-144.
- 104) Spahn, C. M., Blaha, G., Agrawal, R. K., Penczek, P., Grassucci, R. A., Trieber, C. A., ... & Frank, J. (2001). Localization of the ribosomal protection protein Tet (O) on the ribosome and the mechanism of tetracycline resistance. *Molecular cell*, 7(5), 1037-1045.
- 105) Spellberg B, Powers JH, Brass EP, Miller LG, Edwards JE Jr. Trends in antimicrobial drug development: implications for the future. *Clin Infect Dis* 2004;38:1279-86
- 106) Strom BL, Abrutyn E, Berlin JA, et al. Dental and cardiac risk factors for infective endocarditis: a population-based, case-control study. *Ann Intern Med* 1998; **129**: 761–69.

- 107) Swift JQ, Gulden WS. Antibiotic therapy managing odontogenic infections. *Dent Clin North Am* 2002 46: 623–633.
- 108) Tomas, I., et al. "In vitro activity of moxifloxacin compared to other antimicrobials against streptococci isolated from iatrogenic oral bacteremia in Spain." *Oral microbiology and immunology* 19.5 (2004): 331-335.
- 109) Tomoda T, Nakano Y, Kageyama T. The variation and adherence of the species of Bifidobacterium in the intestine during oral administration of Bifidobacterium. *Medicine and biology* 1986;113:125-8
- 110) Tong DC, Rothwell BR. Antibiotic prophylaxis in dentistry. A review and practice recommendation. *JADA* 2000; 131: 366-374.
- 111) Ubukata, K., Nonoguchi, R., Matsushashi, M., & Konno, M. (1989). Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* gene, which encodes a methicillin-resistant *S. aureus*-specific penicillin-binding protein. *Journal of Bacteriology*, 171(5), 2882-2885.
- 112) Wang, Hua H., et al. "Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes." *FEMS Microbiology Letters* 254.2 (2006): 226-231.
- 113) Wenus C, Goll R, Loken EB, Biong AS, Halvorsen DS, Florholmen J. Prevention of antibiotic-associated diarrhea by fermented probiotic milk drink. *European Journal of Clinical Nutrition* 2008; 62:299-301
- 114) Westermann EL.: Postsplenectomy sepsis and antibiotic prophylaxis before dental work. *Am J Infect Control* 19:254-5;1991
- 115) Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, et al. Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation* 2007; **116**: 1736–54.
- 116) Wise R, Hart T, Cars O et al. Antimicrobial resistance is a major threat to public health. *BMJ* 1998 317: 609–610.
- 117) Xiao JZ, Kondo S, Yanagisawa N et al. Clinical efficacy of probiotic Bifidobacterium longum for the treatment of symptoms of Japanese cedar pollen

allergy in subjects evaluated in an environmental exposure unit. *Allergology International* 2007;56:67-75

- 118) Yaeshima T, Takahashi S, Ogura A et al. Effect of non-fermented milk containing *Bifidobacterium longum* BB536 on the defecation frequency and fecal characteristics in healthy adults. *J Nutr Food* 2001;4:1-6
- 119) Zapun, André, Carlos Contreras-Martel, and Thierry Vernet. "Penicillin-binding proteins and β -lactam resistance." *FEMS microbiology reviews* 32.2 (2008): 361-385.
- 120) Zolezzi, Paula Cerdá, et al. "Molecular basis of resistance to macrolides and other antibiotics in commensal viridans group streptococci and *Gemella* spp. and transfer of resistance genes to *Streptococcus pneumoniae*." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 48.9 (2004): 3462-3467.