



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

---

Corso di Laurea in IGIENE DENTALE  
*Presidente: Prof. A. Putignano*

**Il ruolo dei probiotici nella salute orale:  
applicazioni e prospettive future**

Relatore: Chiar.mo  
**Prof. Andrea Santarelli**

Tesi di Laurea di:  
**Giulia Santacchi**

*Anno Accademico 2018/2019*

# INDICE

<i>Introduzione.....</i>	<i>pag 3</i>
<i>La carie.....</i>	<i>pag 4</i>
<i>Eziopatogenesi della carie.....</i>	<i>pag 4</i>
<i>Manifestazioni cliniche.....</i>	<i>pag 7</i>
<i>Diagnosi.....</i>	<i>pag 8</i>
<i>Prevenzione.....</i>	<i>pag 12</i>
<i>Classificazione della carie.....</i>	<i>pag 20</i>
<i>Probiotici.....</i>	<i>pag 34</i>
<i>Salute orale: applicazione dei probiotici.....</i>	<i>pag 39</i>
<i>Bibliografia.....</i>	<i>pag 52</i>

## INTRODUZIONE

Il termine “probiotico” deriva dall’unione della preposizione latina “pro” (a favore di) e dell’aggettivo greco “bios” (vita). L’Organizzazione Mondiale della Sanità ha ufficialmente definito i probiotici come “organismi vivi che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell’ospite. È stato dimostrato, infatti, che forniscono effetti benefici all’organismo grazie alla stabilizzazione della flora microbica e al controllo del sistema immunitario dell’ospite. Studi recenti hanno anche sottolineato l’utilità dei probiotici nel trattamento di alcune patologie del cavo orale come gengiviti, parodontiti e carie, cioè quelle maggiormente legate alla composizione della flora microbica e all’attività delle specie batteriche. L’obiettivo principale dell’utilizzo dei probiotici è di sostituire i batteri cariogeni, come lo *Streptococcus Mutans*, con batteri non cariogeni. Il parametro più usato per dimostrare i benefici della terapia con probiotici è la variazione del numero di batteri. Numerosi studi sono stati condotti per dimostrare gli effetti dei probiotici sulla placca batterica, nella prevenzione e nel trattamento delle carie. Tra i vari risultati è emerso che i batteri probiotici non colonizzano il cavo orale in maniera permanente, quindi è necessaria un’assunzione quotidiana. E questo aspetto è molto importante da valutare quando si prende in considerazione la collaborazione del paziente. L’obiettivo di questa tesi di laurea è di fornire un quadro generale sull’uso dei probiotici, di analizzare più specificatamente i loro effetti a livello orale e le possibili applicazioni future. Nel primo capitolo si offre un’introduzione ai probiotici. Nei capitoli successivi vengono discussi vari studi effettuati in questo campo.

# LA CARIE

L'Organizzazione Mondiale della Sanità definisce la carie come “un processo patologico esterno, localizzato, che insorge dopo l'eruzione del dente e comporta un rammollimento dei tessuti duri con conseguente formazione di cavità”.

La carie è una malattia cronica molto diffusa e la categoria più a rischio è rappresentata dalla popolazione pediatrica (Pitts, 2004; Selwitz et al., 2007). E' la causa principale del dolore orale e della perdita di denti (Kidd et al., 2000). La carie è inoltre una malattia infettiva e trasmissibile.

## EZIOPATOGENESI DELLA CARIE

Il processo che porta alla formazione della carie è un fenomeno complesso, che si instaura per l'azione combinata di fattori determinanti locali e fattori predisponenti locali e/o legati alle condizioni sistemiche dell'ospite. I fattori determinanti o causali della carie sono rappresentati da (Cariogramma di Keyes) (Keyes, 1960):

- Batteri
- Alimentazione
- Suscettibilità dell'ospite

La patogenesi della carie prevede dei fattori ritenuti causali, mentre la sua incidenza può derivare da fattori predisponenti. In ogni singolo momento si

può intervenire attraverso una terapia causale (individuale) al fine di ridurre l'insorgenza del processo carioso.

La formazione di una cavità sulla superficie dentale è il risultato di un gran numero di cicli di demineralizzazione e remineralizzazione all'interno del cavo orale. Questo fenomeno è continuo e costituisce un equilibrio dinamico (Featherstone, 2004 e 2008). La prevalenza di uno dei due fenomeni porta alla destrutturazione del dente: prima lo smalto e successivamente dentina e polpa.

Quindi aumenta l'acidità: infatti l'abbassamento del pH al di sotto di un valore critico (5,2-5,5) induce la dissoluzione della parte inorganica dello smalto. Il processo attraverso cui si passa da uno stato di integrità strutturale dei tessuti duri del dente ad uno in cui questi vengono indeboliti (carie iniziale), con l'eventuale formazione di cavità (carie conclamata), è il seguente:

- I batteri acidogeni presenti all'interno della placca orale fermentano i carboidrati introdotti attraverso la dieta producendo acidi organici;
- I minerali della parte inorganica del dente, una volta dissolti, diffondono a loro volta nella saliva, creando una cavità qualora il processo di demineralizzazione prosegua;
- Il processo di demineralizzazione del dente è reversibile e i sali minerali possono reintegrarsi all'interno della struttura dentale, se le loro concentrazioni sono elevate in soluzione, precipitando. In questo modo la struttura neoformata è addirittura più resistente alla dissoluzione acida;

- Tale fenomeno di demineralizzazione e remineralizzazione ricorre numerose volte nel corso di una singola giornata ed il suo esito dipende da diversi fattori.

## **Batteri**

Un battere viene definito batterio cariogeno nel caso in cui:

- sopravvive in ambiente acido;
- è capace di produrre metaboliti acidi dalla fermentazione di carboidrati alimentari;
- è capace di colonizzare la superficie dentaria;
- sintetizza polisaccaridi extracellulari a partire dai carboidrati introdotti con la dieta

Così come avviene nella malattia parodontale e tipicamente in qualsiasi malattia infettiva a genesi multifattoriale, alcune specie batteriche sono dotate di caratteristiche che le rendono maggiormente aggressive. Nel caso della patologia della carie hanno un ruolo primario i lattobacilli e gli streptococchi (specie *S. sobrinus* e *S. mutans*).

Ad oggi sappiamo che il primato, in relazione all'acido tolleranza, spetta ai lattobacilli seguiti dagli streptococchi, specie *S. mutans* e *S. salivarius*. Ad ognuna di queste specie microbiche resistenti agli ambienti acidi si associa una elevata acidogenicità. Ciononostante, tra i batteri succitati, solo lo *S. mutans* sembra possedere una spiccata abilità nel colonizzare le superfici lisce del

dente; tale caratteristica lo rende la specie più cariogena di tutte (Teti e Mattina, 2002).

## **MANIFESTAZIONI CLINICHE**

I sintomi della carie dentale comprendono la sensibilità agli stimoli fisici/chimici e la comparsa di dolore.

Nella fase iniziale, quando la carie interessa lo strato duro del dente, smalto e superficie della dentina, il paziente non avverte sintomi e la carie può essere rivelata solo tramite visita odontoiatrica o esame radiografico.

A volte può esserci sensibilità al freddo e/o al caldo o a determinate sostanze, ad esempio zucchero o acidi. Quando, viceversa, la carie progredisce e interessa gli strati più interni della dentina fino alla polpa del dente, compare la sintomatologia dolorosa tipica: dolore indotto da stimoli esogeni, intenso, pulsante, diffuso.

Se non curata, la carie può andare incontro a complicanze quali pulpite, ascesso dentale, cisti e granuloma.

## **DIAGNOSI**

La diagnosi di carie dentale può essere suddivisa in diagnosi di presenza, diagnosi di attività e diagnosi di rischio.

### **Diagnosi di presenza**

La diagnosi di presenza della carie si fonda sull'esame obiettivo e strumentale. L'esame obiettivo classico per la diagnosi di carie prevede l'osservazione diretta delle superfici interessate accessibili dopo aver pulito, asciugato e illuminato correttamente i denti. Ciò che deve essere valutato è la colorazione dello smalto e la presenza di cavità aperte con interessamento dentinale.

L'esame strumentale si avvale di diverse metodiche: esplorazione specillare, fluorescenza laser e esame radiografico.

Lo scopo dell'esame strumentale è di valutare la presenza di carie nascoste nelle quali un tetto di smalto sano cela un deterioramento dentinale, e carie interprossimali, difficili da valutare alla semplice ispezione visiva. Secondo alcuni autori le "carie nascoste" sarebbero presenti nel 10-50% degli adolescenti.

L'utilizzo di specilli molto appuntiti sulla superficie del dente (premolari e molari) potrebbe indurre, secondo alcuni ricercatori, la formazione di cavitazioni iatrogene irreversibili in zone dove lo smalto è solamente demineralizzato e quindi ancora potenzialmente recuperabile. Considerando quindi la difficoltà di standardizzare la pressione con cui si utilizza lo specillo



sul dente e il rischio di indurre cavità iatrogene, l'uso dello specillo non appuntito dovrebbe essere riservato alle sole carie radicolari (che interessano cioè la radice del dente).

La fluorescenza laser rappresenta un'evoluzione in campo odontoiatrico, utilissima per la valutazione di presenza di carie occlusali nascoste. L'irradiazione luminosa di un diodo laser a livello della superficie determina la fluorescenza del tessuto dentale alterato. Tale alterazione viene poi "tradotta" in un valore numerico, che indica la presenza ed eventualmente il grado di demineralizzazione del tessuto duro del dente.

L'esame radiografico tradizionale e digitale risulta indispensabile per la corretta diagnosi soprattutto di carie interprossimali. Alcuni autori sostengono che l'assenza di un esame radiografico può comportare la mancata diagnosi dell'80% delle carie presenti. Dall'attento esame della radiografia possono essere desunte molte informazioni, tra cui:

- La presenza di carie interprossimali ed occlusali;
- La valutazione dei rapporti carie-tessuto pulpare;
- La quantità di dentina residua;
- Il volume della camera pulpare;
- L'adattamento marginale dei restauri, deborda menti;
- Il tartaro.

## **Diagnosi di attività**

La diagnosi di attività della carie è prevalentemente basata sull'attenta osservazione del colore e della consistenza dei tessuti del dente. Sullo smalto le carie iniziali attive appaiono come lesioni biancastre o “white spot” mentre quelle arrestate sembrerebbero essere lesioni di tipo brunastro o “brown spot”.

A livello di dentina la presenza di tessuto chiaro, molle e sensibile indicherebbe una carie attiva mentre una colorazione più scura e una maggiore durezza accompagnata da mancanza di sensibilità a stimoli esterni sembrerebbe rappresentare una carie a progressione ridotta o arrestata.

A livello radicolare il colore della dentina avrebbe minore importanza mentre assumerebbe rilievo massimo la consistenza, che si accompagna a diagnosi certa di carie in caso di rammollimento.

È doveroso sottolineare l'importanza relativa di tali distinzioni in clinica, in cui si auspica la totale rimozione del tessuto intaccato qualunque sia lo stato della carie.

## **Diagnosi di rischio**

I fattori principali per la valutazione del rischio di carie sono principalmente 3:

- predisposizione (saliva, familiarità, fluoro, igiene);
- presenza di batteri acidogeni;
- tipo di alimentazione (carboidrati)

La valutazione del rischio di carie permette di mettere in atto misure preventive in pazienti ad alto rischio e ritardare i tempi di intervento nei pazienti a basso rischio di carie. Tali finalità rientrano fra i principi cardine della moderna odontoiatria, conservativa e minimamente invasiva: evitare o ritardare l'esecuzione del restauro.

I parametri principali da ricollegarsi ai fattori di valutazione del rischio di carie sono:

- età del paziente e stato di salute della bocca;
- caratteristiche della saliva (flusso salivare e potere tampone);
- grado di fluorurazione;
- igiene orale;
- dieta ed abitudini alimentari.

In base ai vari parametri considerati è possibile distinguere i pazienti in tre classi di rischio: assenza di rischio, basso rischio ed alto rischio.

Per i soggetti non a rischio di carie non è previsto alcun tipo di intervento. Per i soggetti ad alto e basso rischio di carie devono essere messe in atto misure preventive volte a correggere i fattori che predispongono allo sviluppo di carie e che coincidono con i fattori determinanti e con i co-fattori della lesione cariosa. Le condizioni di rischio elevate comprendono:

- La presenza di patologie sistemiche predisponenti alla carie;
- dieta ricca di zuccheri;

- igiene orale scadente;
- assenza assoluta di fluoroprofilassi;
- elevate concentrazioni salivari di Streptococcus mutans e lattobacilli;
- ridotto flusso salivare e potere tampone;
- esperienza di carie del paziente (diagnosi recente di carie cavitate, che interessano cioè la dentina, e presenza di carie a livello delle superfici linguali o degli incisivi inferiori).

## **PREVENZIONE**

La prevenzione della carie si articola su quattro pilastri fondamentali:

- fluoroprofilassi;
- attuazione di misure protettive della superficie dei denti (sigillatura);
- igiene orale;
- alimentazione.

### **Fluoroprofilassi**

Il ruolo del fluoro nella prevenzione della carie è riconosciuto dall'OMS e validato da evidenze scientifiche.

Sulla base dei dati di epidemiologia che registrano un'elevata incidenza della carie nella popolazione italiana, le linee guida nazionali raccomandano la fluoroprofilassi per tutti gli individui (Ministero della Salute, 2013).

Il fluoro svolge la propria funzione preventiva attraverso i seguenti meccanismi:

- Formazione di fluorapatite, che rende lo smalto più resistente all'aumento di acidità dovuto alla fermentazione batterica;
- Remineralizzazione dello smalto;
- Azione antibatterica, impedendo l'adesione dello *S. mutans* ai tessuti orali.

Il fluoro aiuta a prevenire la carie perché durante la formazione della struttura minerale dello smalto va a sostituire gli ioni idrogeno, formando al posto dell'idrossiapatite, normale costituente dello smalto dei denti, la fluorapatite, sostanza più resistente alla demineralizzazione e all'attacco di acidi e placca batterica. Sul dente già nato (erotto), il meccanismo d'azione del fluoro si basa sulla possibilità di remineralizzazione dello smalto già attaccato dagli acidi della placca batterica.

Nell'organismo il contenuto totale di fluoro ammonta a circa 2,6 g, principalmente distribuito nelle ossa e nei denti. La concentrazione di fluoro nel sangue è compresa fra 0,15 e 0,20 mg/L. Il fluoro viene assorbito dall'organismo sotto forma di sale (ioni fluoruro), ad esempio dall'acqua, oppure legato alle proteine attraverso gli alimenti. L'assorbimento del fluoro, che avviene nello stomaco e nel tratto prossimale dell'intestino tenue, è più veloce e completo quando l'elemento è in forma ionica. La presenza di altri

ioni può influenzare l'assorbimento gastrointestinale dello ione fluoruro. Il fluoro è escreto per via renale; circa il 50-60% dello ione presente nel tubulo renale viene riassorbito.

Il fabbisogno giornaliero di fluoro nella popolazione adulta è di 1,5-4 mg. Una delle fonti principali di fluoro è rappresentata dall'acqua potabile. In Italia la maggior parte dell'acqua potabile contiene una quantità di ioni fluoro non sufficiente a garantire un effetto di protezione verso la carie. Fanno eccezioni le acque di origine vulcanica, quali quelle presenti in alcune zone della Campania e del Lazio. Poiché l'idea di aggiungere fluoro all'acqua potabile non è perseguibile in Italia per la numerosità delle fonti, per gli elevati costi economici e per l'elevato consumo di acque minerali l'apporto di fluoro in quantità sufficiente per prevenire la formazione della carie deve essere soddisfatto in altra maniera (Istat, 2011).

Il fluoro può essere somministrato per via topica e per via sistemica.

#### Fluoroprofilassi topica

La fluoroprofilassi topica si effettua con l'uso di dentifrici fluorurati oppure con l'applicazione di gel fluorurati sui denti. L'uso di dentifrici fluorurati per l'igiene orale quotidiana riduce l'incidenza di carie sia nella popolazione pediatrica sia in quella adulta. I dentifrici al fluoro sono disponibili in tre concentrazioni (Br. Dent. J., 1997):

- a bassa concentrazione, con meno di 600 ppm;
- a concentrazione standard, con circa 1000 ppm;

- ad alta concentrazione, con circa 1500 ppm

Dall'età di 6 anni, quando i denti anteriori non sono più a rischio di fluorosi, si può ricorrere all'uso di dentifrici ad alte concentrazioni. Sotto i 6 anni, nei bambini con basso rischio di carie va usato un dentifricio a bassa concentrazione di fluoro, mentre nei bambini ad alto rischio di carie è raccomandato l'uso di un dentifricio a media concentrazione di fluoro.

La fluorosi è causata dall'assunzione di quantità eccessive di fluoro durante la produzione dello smalto dei denti. La conseguenza più evidente è rappresentata dall'alterazione della colorazione dei denti, in particolare sugli incisivi permanenti. Sono a rischio di fluorosi dello smalto i bambini fino a circa i 3 anni di età. E' infatti nei primi tre anni di vita che si forma lo smalto degli incisivi permanenti nelle ossa mascellari (Linee Guida Nazionali Prevenzione carie e gengiviti) (Cagnetti et al., 2009).

A questa età il rischio di assunzione eccessiva di fluoro avviene per l'ingestione continuata da parte del bambino piccolo di dentifrici fluorurati a causa dell'incapacità di controllare la deglutizione (Franzman et al., 2006). Per ridurre il rischio di fluorosi, le linee guida raccomandano l'uso di quantità minime (pea-size) di dentifricio fluorurato (Ministero della Salute, 2013). In alternativa si può evitare l'uso di paste dentifricie al fluoro prima dei 3 anni di età del bambino, quindi usare dentifrici a basso contenuto di fluoro (500 ppm) due volte al giorno dai 3 ai 6 anni e dentifrici a più alto contenuto di fluoro dopo i 6 anni (almeno 1000 ppm) integrando quando è necessario il fluoro per via sistemica (Lewis, Milgrom, 2003; Jenkins et al., 1993).

Nell'individuo adulto a rischio di carie medio-bassa, è sufficiente l'uso di dentifrici con contenuto standard di fluoro (Ministero della Salute, 2010).

La fluoroprofilassi topica può essere effettuata anche con l'applicazione periodica di gel a base di fluoro tramite macchinari che ne favoriscono l'assorbimento. La tecnica più diffusa è quella della ionoforesi che provoca il passaggio rapido di ioni nei tessuti attraverso una differenza di potenziale elettrico (Truin et al., 2005).

In sintesi, la fluoroprofilassi topica può essere effettuata in modo domiciliare o professionale. La fluoroprofilassi domiciliare è detta a bassa potenza e ad alta frequenza. Si attua con colluttori e dentifrici contenenti fluoruro di sodio alla concentrazione dello 0,005%. Il fluoro ionico lega i radicali liberi presenti nello smalto, ostacolando l'azione di formazione della carie dai parte delle specie batteriche presenti nel cavo orale. L'uso di dentifrici a base di fluoro 2-3 volte al giorno può ridurre il rischio di carie del 25-35%. Con il collutorio (contenente fluoruro di sodio 0,05%), usato giornalmente o settimanalmente, la riduzione della formazione della carie può arrivare al 35%.

La fluoroprofilassi professionale, detta ad alta potenza e bassa frequenza, è praticata tramite gel applicato con cucchiari funzionali da personale specializzato. La precipitazione di ioni fluoruro sullo smalto fornisce una protezione verso la carie che dura qualche mese. L'alta concentrazione del fluoro determina anche un'azione battericida (lesione della membrana dei batteri). Prima di poter procedere con la fluoroprofilassi professionale è necessaria un'accurata pulizia dei denti. I gel applicati possono contenere:

- Fluoruro di sodio al 2%;



- Fluoruro stannoso all' 8-10%;
- Fluoruro fosfato acidulato;
- Gel o vernici al fluoro allo 0,5%

### Fluoroprofilassi sistemica

La fluoroprofilassi sistemica si attua con la somministrazione orale di fluoro ed è indicata nei bambini fino ai 6 anni. Dopo quest'età infatti le linee guida raccomandano l'uso di dentifrici a base di fluoro (almeno 1000 ppm) due volte al giorno.

Il ricorso all'integrazione di fluoro per via sistemica deve essere prescritta dal pediatra in presenza di effettiva difficoltà all'uso di paste dentifrici o in associazione all'uso di queste ultime nei bambini con elevato rischio di carie (Ministero della Salute, 2013).

Sulla base dei dati clinici ed epidemiologici infatti, per prevenire la formazione della carie la fluoroprofilassi topica dopo eruzione dei denti è risultata più efficace della profilassi sistemica somministrata prima della fuoriuscita dei denti (Tubert-Jeannin et al., 2011; Espelied, 2009).

In sintesi quindi la fluoroprofilassi sistemica prevede la somministrazione di fluoro in gocce alla dose di 0,25 mg/die nei bambini dai 6 mesi fino ai 3 anni e la somministrazione di fluoro in gocce o compresse alla dose di 0,50 mg/die dai 3 fino ai 6 anni (Ministero della Salute, 2013).

La somministrazione di fluoro durante la gravidanza come forma di profilassi della carie nel bambino non è supportata da chiara evidenza scientifica (European Academy Paediatric Dentist - EAPD, 2009). In gravidanza comunque possono essere somministrati integratori polivitaminici che contengano anche fluoro (0,7-1 mg) sempre sotto controllo medico.

### **Sigillatura dei molari**

La sigillatura dei molari consiste nell'attenuare i solchi che caratterizzano la superficie dei molari con l'applicazione di appositi gel o vernici a base resinosa o similare. La sigillatura protegge la superficie del dente dall'eventuale formazione di carie e ne facilita la pulizia meccanica dovuta allo spazzolamento dei denti. È raccomandata subito dopo l'eruzione dei molari. L'efficacia della sigillatura nel prevenire la carie è risultata pari all'87,1% dopo tre anni, al 76,3% dopo 4 anni e al 65,0% dopo 9 anni (Nilchian et al., 2011; Beauchamp et al., 2008).

### **Igiene orale**

L'igiene orale è un elemento chiave nella profilassi della carie perchè favorisce la rimozione della placca batterica e dei residui di cibo, fattori di rischio per lo sviluppo del processo cariogeno.

L'igiene orale si basa sull'uso corretto dello spazzolino (tipo di spazzolino e corretta spazzolatura dei denti) e del filo interdentale. Mentre con lo spazzolino, se usato correttamente, è possibile rimuovere residui alimentari dalla superficie dei denti e a livello dei colletti, con il filo interdentale si può

eseguire una pulizia accurata degli spazi fra dente e dente, non raggiungibili con lo spazzolino.

L'uso corretto dello spazzolino da denti è in grado di rimuovere fino al 78% della placca dentale, mentre con il filo interdentale è possibile rimuovere fino all'80% della placca interprossimale (Ministero della Salute, 2010).

Lo spazzolino deve essere usato dopo i pasti principali e cambiato circa ogni 3 mesi circa o quando le setole iniziano a rovinarsi. Lo spazzolino elettrico è preferibile rispetto ad uno manuale (Ministero della Salute, 2010).

### **Alimentazione**

L'alimento più pericoloso per la formazione della carie è rappresentato dallo zucchero da cucina o saccarosio. Il saccarosio è un carboidrato semplice (formato da due zuccheri, il glucosio e il fruttosio) e rappresenta il carboidrato preferito dai batteri cariogeni per il loro sviluppo (Steyn, Temple, 2012). Oltre al saccarosio, altri carboidrati metabolizzati dai batteri cariogeni sono il glucosio, il fruttosio, il maltosio e il lattosio (Karjalainen, 2007). I carboidrati complessi come l'amido giocano invece un ruolo limitato nello sviluppo dei batteri che provocano la carie (Harris et al., 2012). L'aspetto più importante, ai fini della profilassi della carie, è la frequenza con cui si assumo i carboidrati, non la quantità totale assunta. Le linee guida nazionali raccomandano di evitare il consumo di bevande o alimenti contenenti zuccheri semplici lontano dai pasti principali. In particolare nei bambini molto piccoli, è assolutamente sconsigliato usare succhiotti intinti in zucchero o miele o altre sostanze dolci e somministrare bevande dolci con il biberon (Ministero della Salute, 2013).

## CLASSIFICAZIONE DELLA CARIE

Dal punto di vista storico, la classificazione di Black è sicuramente la più datata e contemporaneamente quella che ha riscosso maggior successo nell'utilizzo clinico. Ma anche altre classificazioni sono state proposte sulla base di criteri topografici, radiografici, anatomo-patologici e clinici.

La classificazione distingue:

- La classificazione secondo Black;
- La classificazione secondo Mount e Hume Si/Sta.

### Classificazione secondo Black

Black classifica le carie in 6 classi, indicate con numerazione romana (I, II, III, IV, V, VI).

- **I CLASSE:** la carie interessa la superficie oclusale a livello dei solchi e delle fossette, e le superfici vestibolari e linguali a livello dei forami ciechi molari o delle fossette linguali incisive.
- **II CLASSE:** la carie si localizza tra dente e dente (pareti interprossimali) dei denti molari e premolari (denti diatorici).
- **III CLASSE:** la carie interessa le pareti interprossimali di incisivi e canini senza coinvolgimento del margine.

- **IV CLASSE:** la carie coinvolge incisivi e canini interessandone contemporaneamente le pareti interprossimali e il margine.
- **V CLASSE:** la carie interessa i colletti sia dei denti frontali che dei denti posteriori.
- **VI CLASSE:** la carie interessa il margine incisale degli elementi frontali o la sommità delle cuspidi di canini e molari e premolari (denti diatorici).

### **Classificazione secondo Mount e Hume Si/Sta**

Questa classificazione tiene in considerazione contemporaneamente la posizione della carie e la sua dimensione (Mount, Hume, 1997). In base alla posizione della carie si distinguono:

- **Sito 1:** solchi occlusali dei denti posteriori e superfici lisce dei denti anteriori;
- **Sito 2:** superfici interprossimali, punti di contatto;
- **Sito 3:** terzo cervicale e radici esposte.

Abbinata alla posizione si considera anche la dimensione della carie:

- **Stadio 1:** piccole dimensioni, minimo coinvolgimento della dentina;
- **Stadio 2:** medie dimensioni, coinvolgimento moderato della dentina;
- **Stadio 3:** grandi dimensioni con interessamento importante della dentina;
- **Stadio 4:** lesioni molto estese, con perdita importante di struttura dentaria.

## **Classificazione radiologica della carie secondo Marthaler e Lutz**

Le radiografie della lesione della carie devono essere scattate con tecnica bite-wing. Questa tecnica consente di lasciare fuori dall'immagine l'apice del dente e di fotografare la corona sia dei denti superiori che inferiori; è la tecnica usata in caso di carie interprossimali (tra dente e dente).

Bisogna tenere in considerazione che l'immagine radiografica tende a sottostimare la reale estensione della carie, pertanto secondo alcuni autori i gradi che garantirebbero una maggior coincidenza tra le lesioni cliniche e le immagini radiografiche sarebbero le D0 E D4, mentre i gradi intermedi mostrerebbero un grado di coincidenza inferiore:

- D0: assenza di radio trasparenza
- D1: radiotrasparenza che interessa la metà esterna dello smalto
- D2: : radiotrasparenza che interessa metà esterna ed interna
- D3: radio trasparenza che interessa la metà esterna della dentina
- Radio trasparenza che interessa la metà interna della dentina

## **Classificazione anatomo-patologica della carie**

### Classificazione di Carlier

#### **Carie dello smalto**

- **Zona trans lucente:** zona più interna, di avanzamento;

- **Zona scura:** superficiale, che si estende fino alla superficie dello smalto in ogni lato;
- **Corpo della lesione:** demineralizzato e situato tra le due precedenti zone.

## **Carie della dentina**

- **Zona di distruzione:** dentina destrutturata e necrotica;
- **Zona di rammollimento:** dentina parzialmente demineralizzata, infarcita da flora batterica;
- **Zona di intorbidamento:** primi fenomeni di totale decalcificazione;
- **Zona di trasparenza:** iniziale obliterazione dei tubuli dentinali;
- **Zona dura:** dentina terziaria.

Un'ulteriore classificazione prevede 4 gradi:

- 1° grado: interessamento del solo smalto;
- 2° grado: interessamento di smalto e dentina senza coinvolgimento pulpare;
- 3° grado: interessamento pulpare con conservazione della vitalità del dente;
- 4° grado: alterazione totale della polpa e perdita della vitalità del dente.

### **Classificazione clinica: classificazione della carie secondo Baume e Holtz**

Questo tipo di classificazione, basata sul grado di penetrazione della carie, distingue:

- Carie iniziale: senza cavità, interessa solo lo smalto, con aspetto di macchia biancastra, ruvida e gessosa; è l'unica reversibile con la fluorurazione;
- Carie superficiale: supera la giunzione smalto-dentinale, quindi inizia ad invadere la dentina;
- Carie profonda: si estende in profondità interessando il corpo dentinale;
- Carie penetrante: determina una reazione da parte dell'organo pulpo-dentinale con formazione di dentina terziaria;
- Carie perforante: comporta esposizione pulpare.

### **Classificazione sintomatologica della carie**

La carie iniziale dello smalto si presenta asintomatica, con aree scure pigmentate nei solchi e con aree biancastre lattescenti su tutte le superfici lisce, particolarmente quelle interprossimali.

Alla carie conclamata che si è spinta fino alla dentina appartiene invece una sintomatologia più evidente che orienta la diagnosi per il dolore dentinale, caratterizzata da dolore provocato da stimoli esogeni, localizzato ed evocato immediatamente (cessa rapidamente dopo stimolazione).



Non esiste variazione clinica al variare del tipo di stimolazione (assenza di correlazione tra quadro anatomico patologico e clinico). Inoltre esso non è classificabile secondo una scala di intensità e viene evocato in risposta a stimolo: meccanico, chimico e termico.

Scoprire l'evoluzione della ricerca sulle carie è interessante. Infatti le scoperte in campo batteriologico nella seconda metà dell'Ottocento e nei primi decenni del Novecento, sembrerebbero il risultato di geniali o fortunate soluzioni di ricercatori isolati: nel 1879 Albert Neisser (1820- 1896) scopre il gonococco; nel 1880 Carl Joseph Eberth (1835-1911) il bacillo del tifo; nel 1894 Alexandre Yersin (1863-1943) il bacillo della peste. In realtà è attorno a pochi grandi problemi socio-sanitari che si concentrò la ricerca, al cui centro sono le figure carismatiche di Louis Pasteur (1822-1895) e Robert Koch (1843-1910) che, circondati da allievi e collaboratori, condizionarono lo sviluppo della nascente microbiologia. Così nacquero gli "Istituti Pasteur". Per la vittoria su una grave malattia come la tubercolosi, si formarono uno stuolo di microbiologi che arrivarono alla scoperta dell'eziologia anche di molte altre malattie, non solo polmonari. Nei principali laboratori universitari di microbiologia, si staccarono altri gruppi che focalizzavano meglio l'attenzione sulle nuove problematiche di ricerca. È nei laboratori di R. Koch che si formò W.D. Miller (Aguzzi A, 1907) che, nel 1898 espose la teoria sull'eziologia "chimico-parassitaria" della carie dentaria, patologia diffusissima, le cui cause, nei secoli, avevano suscitato una ridda di ipotesi, alcune veramente fantasiose. Allora, come anche in epoche precedenti, altissimi erano i costi umani - intesi sia come gravi invalidità causate da perdita quasi totale di elementi dentari, ma anche come numero di decessi per ascessi non curabili - senza contare quelli economici da sostenere

per una malattia che prima o poi colpiva tutti e di cui non si conosceva l'eziologia. Willoughby Dayton Miller, laureato nel 1875 in chimica, fisica e matematica all'Università del Michigan, andò in Europa per continuare gli studi di chimica e fisica. A Berlino conobbe un dentista americano, Frank Abbott che gli consigliò di intraprendere anche gli studi di medicina e odontoiatria in quanto tale disciplina aveva bisogno di uomini con le sue ampie competenze scientifiche. Tornato negli USA, si laureò in Odontoiatria all'Università della Pennsylvania. Ritornato in Germania, proseguì gli studi medici, laureandosi anche in questa materia, e, in particolare, si appassionò alla microbiologia, potendo frequentare i laboratori di R. Koch. Le ricerche che lo fecero entrare nella storia della microbiologia, furono quelle sulle cause della carie dentaria e le infezioni focali, al cui proposito evidenziò:

- 1) che la bocca umana è il terreno fecondo per la moltiplicazione di un'enorme quantità di microrganismi, in gran parte patogeni;
- 2) che i germi della cavità orale possono diffondersi in altre parti del corpo creando patologie anche assai gravi.

Se si passano in rassegna tutte le cure che attraverso i secoli sono state adottate per combattere il “mal di denti”, si arriva a concludere che la fantasia dell'uomo non ha veramente confini. Qualunque sostanza di origine animale, vegetale e minerale, è stata prima o poi “sperimentata”: all'interno delle cavità cariose si può dire sia stato messo di tutto: semi di piante, poltiglie ottenute mescolando sterco animale con altri “miracolosi” ingredienti, polveri minerali a volte molto preziose, ecc. – segno che, quando il dolore è forte, si è disposti ad accettare qualunque tortura. Senza dimenticare poi le terapie generali che si

affiancavano a quelle locali, rappresentate da digiuni, salassi, purghe, accompagnate da somministrazioni di vari “farmaci” dati non sempre solo per via orale. Nei tempi più remoti la causa della carie dentaria si pensava fosse solo una: un verme, annidatosi in bocca, ne avrebbe progressivamente distrutto i denti. Tale credenza nacque probabilmente dalla fortuita osservazione del fascio vascolo-nervoso che costituisce la polpa dentaria e che, asportato, può effettivamente assomigliare ad un vermetto. Già gli Assiro-Babilonesi avevano individuato il “verme roditore dei denti”, (Bellagarda g, 1987) come testimonia una poesia trovata incisa, con caratteri cuneiformi, su una tavoletta di creta, risalente a 4000 anni fa: “...il verme... andò dunque dal dio della giustizia... mettimi tra i denti dell’uomo, dammi un posto tra le sue mascelle perché io possa bere il sangue dei suoi denti e nutrirmi delle radici delle sue mascelle...e così fu...il verme fa strage di denti...ma il dentista...lo attacca e lo uccide...” Il verme lo si poteva distruggere con mezzi farmacologici, ma qualora avesse avuto la meglio, non restava che estrarre tutto il dente. In una civiltà completamente diversa, come la Cinese, si trova ancora la stessa teoria del “verme roditore della carie”, come si ricava dal Nei Ching o Canone di Medicina del 2668 a.C. Con Ippocrate (460 a.C.-370 a.C.) la teoria verminosa si arricchì di altri contenuti: purtroppo non sono giunte fino a noi le opere del Corpus Hippocraticum che trattano specificatamente di stomatologia, ma comunque da quelle che possiamo ancora consultare, possiamo farci un’idea del suo pensiero. Perché si formi una carie, non basta l’aggressione del parassita, ma vi deve essere anche un terreno adatto per il suo sviluppo: come tutte le malattie, compare quando vi è uno squilibrio tra i tre umori fondamentali (sangue, bile nera, bile gialla), e quindi ad una terapia locale ne andrà associata una che ristabilisca tale equilibrio. La teoria verminosa restò in

auge anche nella Scuola Romana: sia Aulo Cornelio Celso (I sec. d.C.), che Claudio Galeno (131-201) accettarono le teorie dei predecessori: dei “vermi” dovevano combinarsi con umori acidi e corrosivi provenienti dall’organismo o introdotti dall’esterno. Si può dire quindi che ad una causa esclusivamente “parassitaria” se ne affiancò stabilmente, d’ora in poi, una “chimica”. E queste due ipotesi rimarranno le uniche per molti secoli, con scuole di pensiero che ne prediligeranno ora l’una ora l’altra. Ad esempio Paolo d’Egina (625-690) sostenne che gli acidi dello stomaco vomitati o arrivati in bocca per evaporazione, attaccano i denti corrodendoli: sulla lesione iniziale si impianterebbero solo successivamente degli “animaletti” che la farebbero progredire. Avicenna (980-1037), invece, ritenne sufficiente la sola azione dei “vermi” rodenti. CARIE rimase a lungo un termine generico per indicare un qualunque disfacimento, indipendentemente dalla causa: dei denti, ma anche delle ossa e dei tessuti molli e persino, in agricoltura, l’erosione di certi alberi. Quando Anton von Leeuwenhoek (1632-1723) nel 1695 descrisse degli “animaletti”, di varie forme e dimensioni, allungati a bastoncino, arrotondati, sferici riuniti a coppie, che aveva visto, con l’ausilio del microscopio, tra i residui di cibo tra i denti, né lui, né altri, li misero in relazione con la probabile formazione di carie. Nel Settecento, le correnti ideologiche vitaliste condizionarono inevitabilmente anche la stomatologia; John Hunter (1728-1793), chirurgo e odontoiatra londinese, esponente di tale Scuola, formulò una nuova ipotesi che espose nel suo *A practical treatise on the diseases of the teeth* (Londra, 1778). La carie sarebbe una malattia che insorge come le altre: quando nel distretto orale si verificano dei mutamenti, rispetto alle condizioni normali, la risposta dell’organismo sarebbe la comparsa di processi necrotici che darebbero luogo alle tipiche lesioni dentali. Secondo Hunter,

quindi, si potrebbe avere la formazione di carie anche a partenza dall'interno del dente e non solo dalla superficie esterna. Un collega suo contemporaneo, però, propose invece tutt'altro: Thomas Berdmore (1740-1785), dentista di Re Giorgio III sostenne di avere sperimentato gli effetti degli acidi nitrico e solforico su denti estratti che avrebbero causato delle abrasioni caratteristiche sulla superficie dei denti: tali acidi, nel vivo, si sarebbero originati da una secrezione gengivale o da alterazioni cui andrebbero incontro i residui di cibo (Ring M.E, 1989). Per l'autorità dei loro "padri" entrambe queste idee vennero tenute a lungo in seria considerazione ritenendole, per quanto contrastanti, entrambe valide, a seconda delle circostanze. Nell'Ottocento, alle precedenti teorie, la "classica" verminosa, la vitalista di Runter e la chimica di Berdmore, se ne aggiunsero altre:

La teoria "elettrolitica", proposta da D. Bridgemann e C. Chase, che negli Atti della Società Odontologica di Londra, 1 Giugno 1863 e nel British Journal of Dental Science, dimostrarono che i denti si possono distruggere mediante elettricità galvanica. Paragonarono la bocca ad una pila in cui le corone dentali rappresenterebbero, in condizioni normali, i poli positivi; invece i tessuti circostanti e le radici, i poli negativi; la saliva il mezzo conduttore. In condizioni patologiche si verificherebbe un'elettrolisi in cui le corone cedrebbero i sali di calcio al polo negativo, ove si depositerebbero formando il tartaro.

La teoria "chimica-vitale" di J. Tomes (1836-1895): la carie sarebbe la espressione della morte e successiva decomposizione di parte del dente. La dentina, dopo avere perso vitalità, non potrebbe più resistere alla azione dei fluidi buccali.

La teoria “parassitaria” di T. Leber e J.B. Rottenstein. Nel 1867 colorando la dentina con soluzione di iodio, osservarono nei tubuli dentinali dei corpuscoli granulari che identificarono per una “pianta parassitaria” a sviluppo lineare, a mezzo di filamenti, che chiamarono *Leptotrix buccalis*. La carie inizierebbe, quindi, come lesione puramente chimica;(Scervini P,1899) non appena lo smalto e la dentina si presentino un po’ decalcificati, subirebbero la colonizzazione della leptotrix che, penetrando nei tubuli dentinali, e dilatandoli, favorirebbe la successiva invasione degli acidi alimentari che a loro volta farebbero progredire la malattia. È qui che Miller iniziò i suoi studi. L’impostazione “kochiana” (Jacobs F.O,1893) lo indusse prima di tutto a sottoporre a rigorosa verifica scientifica le teorie dei predecessori e con fior di esperimenti le confutò tutte. Contro la vitalista, dimostrò che anche un dente non vitale, estratto e rimontato su apparecchi di protesi e quindi rimesso in questo modo in bocca, può ricariarsi, proprio come un dente vitale, con lesioni identiche, anche dal punto di vista microscopico, e comunque partendo sempre dalla superficie esterna dei denti. Alla teoria chimica oppose come non esista alcuna reazione capace di provocare, da sola, lesioni anche solo simili a quelle cariose, a qualunque stadio si analizzino. Contro quella elettrolitica (Black G.V.,1895) notò che i tessuti dentari non sono affatto dei buoni conduttori, anzi si comportano elettricamente come terra. Dimostrò quindi come fosse indispensabile l’azione iniziale di germi capaci di produrre, in particolare, acido lattico; mantenne in termostato, in una poltiglia di pane e saliva, rinnovata ogni settimana, denti estratti rivestiti di cera, lasciandone scoperto solo qualche punto. I germi presenti nella saliva causavano un processo fermentativo con produzione di acido lattico in tale quantità da intaccare lo smalto scoperto dei denti e produrre una lesione. Suppose che in bocca, gli

acidi derivanti dalla fermentazione endorale dei residui alimentari, decalcificassero lo smalto distruggendolo completamente, e la dentina, ridotta a una massa ruvida e spugnosa, soggetta all'invasione di un gran numero di altri batteri. Secondo Miller tutti i batteri in grado di produrre acido lattico, sarebbero stati potenzialmente cariogeni, però concentrò le sue ricerche in particolare su due: uno ritrovato negli strati superficiali della dentina cariata e da lui chiamato *Bacillus dentalis viridans*, bacillo curvo, con estremità appuntite, che, iniettato sottocute negli animali da laboratorio, provocava una infiammazione acuta con suppurazione e, a volte, morte per setticemia. L'altro, estratto dalla polpa dentale necrotica, lo battezzò *Bacillus pulpae piogenes*, diverso dal precedente per forma e caratteristica delle colonie di coltura e sempre letale quando iniettato negli animali. Con una cartina tornasole dimostrò la presenza di una reazione acida in oltre il 90% di cavità cariose; l'acido lattico venne evidenziato mediante la Reazione di Ewald, modificata. Con il suo imponente lavoro, dimostrò, una volta per tutte, essere la carie una malattia infettiva a tutti gli effetti, che soggiaceva perfettamente ai famosi quattro postulati di Koch (Miller V.D, 1882), chiarendone sia l'agente eziologico, che il meccanismo patogenetico. Gli studi successivi non poterono più non tenere conto delle conclusioni di Miller, però alcuni ricercatori opposero alla sua teoria chimico-parassitaria, una teoria parassitaria pura: gli acidi derivanti dalla fermentazione dei residui alimentari, formandosi in concentrazioni tanto basse (0,75%) non avrebbero potuto provocare l'inizio della carie, non riuscendo a sciogliere il contenuto in calcio di un dente. Gli acidi "corrosivi" sarebbero stati il risultato del solo metabolismo batterico, senza particolare importanza dei resti di cibo (Marzuok MA, 1989) . Dagli anni '50 del nostro secolo si è tornato a rivalutare, invece, l'importanza di

un'accurata igiene orale dopo ogni pasto, proprio per asportare le sostanze cariogene presenti negli alimenti. Per quanto riguarda la microbiologia orale, gli studi si sono rivolti soprattutto all'individuazione dei batteri responsabili della formazione di carie: Miller stesso, infatti, pur avendo dimostrato il loro ruolo indispensabile, non ne aveva indicato UNO in particolare, come era avvenuto per altre patologie, come abbiamo detto all'inizio. I ricercatori di tutto il mondo sono quindi scatenati da più di un secolo per trovare IL germe della carie e parallelamente a mettere a punto improbabili vaccini e terapie antibiotiche, per debellarla per sempre. La vittoria è comunque ancora lontana, con buona pace dei dentisti che, almeno per il prossimo secolo, non vedranno diminuire le "vittime" di un microbo ancora imprevedibile.



# I PROBIOTICI

Fin dagli inizi del XX secolo si è andata sviluppando l'idea secondo la quale i microrganismi all'interno del nostro corpo potessero in qualche modo influenzare le funzioni fisiologiche dell'organismo. In particolare, Metchinkoff (Metchnikoff E. *Essais optimistes*. Paris, 1907) pensava che la presenza di batteri nell'intestino influenzasse positivamente la salute dell'uomo, ipotizzando che la flora batterica fosse capace di controllare la produzione di tossine. A suffragare empiricamente questa ipotesi vi era l'osservazione della longevità di alcune popolazioni balcaniche, le quali per tradizione erano forti consumatrici di yogurt. Le stesse teorie erano condivise da Tissier, (Tissier H.

1900). che identificò nell'intestino di neonati sani ceppi di *Bifidobacteria*, assenti nei neonati affetti da episodi diarroici. Da qui l'ipotesi che la presenza di questi microrganismi concorresse a determinare lo stato di salute di tali neonati. Il termine "probiotico" venne usato per la prima volta da Lilley e Stillwell nel 1965 (Lilley DM, Stillwell RJ. *Probiotic*) per descrivere sostanze secrete da un batterio capaci di favorire la proliferazione di un altro batterio, evidenziando quindi un meccanismo diametralmente opposto a quello dell'antibiotico. Nel 1971 Sperti (Sperti GS. *Probiotics*, 1971) utilizzò tale termine per descrivere estratti tissutali capaci di stimolare l'accrescimento microbico. Nel 1974 (Parker RB., 1974) per la prima volta il termine "probiotico" fu usato da Parker per indicare un supplemento dietetico di origine microbica descrivendolo come un insieme di "organismi e sostanze che contribuiscono al bilancio microbico intestinale". Questa definizione fu

modificata da Fuller nel 1989 (Fuller R. 1989) in “integratore alimentare contenente microbi vivi che ha effetto benefico sull’ospite migliorando il suo bilancio microbico intestinale”. La definizione internazionalmente attualmente accettata di probiotico è quella del 2001 (FAO/WHO Expert Consultation.

2001) enunciata dalla FAO e dalla WHO nel seguente modo: “Live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host”. In Italia i probiotici sono stati definiti dal Ministero della Salute come “microrganismi che si dimostrano in grado, una volta ingeriti in adeguate quantità, di esercitare funzioni benefiche per l’organismo”, allineandosi alle definizioni riconosciute a livello internazionale.

I probiotici possono essere utilizzati come alimento, come farmaco (qualsiasi sostanza, diversa da un alimento, in grado di influenzare la struttura o la funzione del corpo) e come bioterapeutico (preparato contenente microrganismi vivi con effetto terapeutico nell’uomo). Gli alimenti contenenti i soli fermenti lattici sono i più comuni derivati del latte ottenuti con i fermenti dello yogurt (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*). I ceppi appartenenti alla categoria di integratori alimentari sono per esempio il *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus rhamnosus*. Alla base del loro meccanismo c’è la loro capacità di interagire con le cellule epiteliali intestinali dell’ospite e con altre cellule umane con meccanismi fisico-chimici o segnali immunologici. In generale, i microrganismi utilizzati come alimenti, farmaci o bioterapeutici hanno una lunga storia di uso sicuro e sono classificati come GRAS (Generally Recognized As Safe); devono essere di origine umana, vivi, resistenti al pH acido dello stomaco e a quello alcalino della bile e dell’intestino tenue, capaci di aderire alla mucosa collocandosi tra altri batteri

vivi (microbiota) e di esercitare attività metabolica. Fra ceppi diversi della stessa specie ci può essere una grande differenza genomica e queste differenze provocano una risposta diversa nell'uomo, aspetto poco considerato nella presentazione dei dati di probiotici di ceppo diverso. Le specie microbiche usate dall'uomo devono quindi rispettare le seguenti caratteristiche:

- essere sicure per l'utilizzo umano;
- non essere portatrici di antibiotico-resistenze acquisite e/o trasmissibili;
- essere attive e vitali a livello intestinale tanto da giustificare gli eventuali effetti benefici;
- essere in grado di aderire alla mucosa intestinale, persistere e moltiplicarsi;
- conferire un beneficio fisiologico;
- essere correttamente identificate in etichetta in accordo con le denominazioni validate da organismi internazionali.

I batteri lattici, rappresentati per la maggior parte dai lattobacilli, e i bifidobatteri sono i microrganismi probiotici più comunemente impiegati. I fermenti lattici vengono consumati grazie ad alimenti fermentati che li contengono, come lo yogurt. Ma i due fermenti all'interno di questi prodotti apportano scarsi benefici all'organismo umano in quanto muoiono appena vengono in contatto con i succhi gastrici. Quindi secondo le linee guida della FAO/OMS sono probiotici solo quei microrganismi che, una volta ingeriti, esercitano funzioni benefiche per l'organismo. I benefici descritti nei vari studi non sono sempre da intendersi come effetti generali, ma ogni effetto è

riconducibile ad un singolo ceppo. Comunque i vari ceppi dei probiotici apportano effetti benefici molto studiati; come per gli intolleranti al lattosio che, assumendo batteri lattici, riescono a digerire molto più lattosio di quanto riuscirebbero altrimenti. Benefici anche contro la diarrea associata agli antibiotici, che creano uno squilibrio nel microbiota del colon, alterando il metabolismo dei carboidrati. Il trattamento con probiotici riduce la severità della diarrea associata ad antibiotici. Uno studio del 2007 (Hickson M, 2007) condotto nel Regno Unito ha dimostrato che il consumo preventivo di un prodotto a base di latte fermentato con il probiotico *L. casei* DN-114001 insieme ai fermenti dello yogurt (*L. bulgaricus* e *S. termophilus*) può ridurre l'incidenza della diarrea associata ad antibiotici. Un altro studio del 2010, condotto dalla University of Pennsylvania school of medicine, (University of Pennsylvania School of Medicine 2010) afferma che gli effetti positivi dei probiotici nella prevenzione di infezioni secondarie possono derivare dal fatto che i batteri buoni mantengono attivo il sistema immunitario, mentre gli antibiotici tendono ad attenuarlo. Per quanto riguarda il rapporto dei probiotici con il sistema immunitario, ci sono alcune evidenze sul fatto che alcuni ceppi di probiotici stabiliscono un dialogo con il sistema immunitario intestinale e di avere un effetto su di esso. Anche l'obesità trova una possibile causa nell'alterazione della flora microbica; alcuni dati suggeriscono che l'uso di ceppi di bifidobatteri sarebbe efficace nel ridurre il rischio di obesità. Ne consegue che tra le strategie terapeutiche prese in considerazione, è suggerito l'utilizzo dei probiotici assunti nello yogurt o in supplementi alimentari. Inoltre, effettuando studi su piccoli gruppi di persone, è emerso che il consumo di prodotti lattiero-caseari fermentati con diversi ceppi di batteri lattici può provocare una diminuzione della pressione sanguigna. Alcuni studi clinici

hanno anche evidenziato il fatto che i probiotici possono diminuire l'incidenza di carie nei bambini; infatti, il *Lactobacillus rhamnosus* sembra essere l'antagonista di molti batteri, incluso lo streptococco mutans.

L'uso dei probiotici si basa sul microbial interference treatment (MIT) (Donovan SM, 2012) che favorisce un microbiota equilibrato, ostacolando i patogeni e inviando segnali alle cellule epiteliali intestinali e ai macrofagi. Oltre ai vari meccanismi d'azione, i probiotici producono anche peptidi ad attività antibiotica, le "batteriocine", (Nishant T, 2011) che contrastano alcuni patogeni. Sono classificate in quattro gruppi in base alla massa molecolare, alla termostabilità, alla sensibilità enzimatica e alla modalità di azione:

- *Batteriocine classe I*: piccoli peptidi inibitori
- *Batteriocine classe II*: peptidi stabili al calore con massa molecolare <10 kDa
- *Batteriocine classe III*: antibiotici peptidici labili al calore e massa molecolare >30 kDa
- *Batteriocine classe IV*: glicoproteine o lipoproteine

Altri meccanismi d'azione dei probiotici comprendono:

- *La modifica del pH luminale* che, attraverso la produzione di acido lattico e acido acetico, crea un ambiente sfavorevole per i patogeni
- *Rottura della comunicazione inter batterica*
- *Innalzamento della funzione della barriera mucosa* attraverso l'incremento della secrezione di muco delle cellule epiteliali, la ridotta adesione dei batteri alle cellule epiteliali, la stabilizzazione delle tight

Junction e ridotta secrezione di cloruro e acqua, la rigenerazione delle cellule epiteliali e riduzione dell'apoptosi.

- *Resistenza alla colonizzazione* grazie alla competizione dei probiotici con i patogeni per i nutrienti
- *Effetti immunologici*

Per quanto riguarda gli studi, secondo gli esperti (Gibson GR, 2011, Donovan SM, 2012) i ricercatori devono sempre formulare un'ipotesi precisa e concreta prima di iniziare lo studio, con parametri appropriati. Devono utilizzare una dose disponibile in prodotti commerciali, assicurare un'appropriata durata dell'esperimento per raggiungere i risultati previsti, reclutare volontari che riflettano la popolazione generale e caratterizzare il prodotto probiotico, includendo dimostrazioni della sua vitalità e delle sue caratteristiche biologiche e genetiche all'inizio e al termine dello studio. Sulla base di queste affermazioni, si andranno ad analizzare vari trials che evidenziano gli effetti dell'uso dei probiotici applicati al livello del cavo orale.

## SALUTE ORALE: APPLICAZIONE DEI PROBIOTICI

Lo *Streptococcus mutans* è un batterio Gram positivo e anaerobio facoltativo. I batteri Gram-positivi vengono definiti così perché mantengono una colorazione blu o viola dopo aver subito la colorazione di Gram. Sono in grado di trattenere la colorazione grazie allo strato di peptidoglicano presente nella loro parete cellulare. Questo batterio in particolare è di comune riscontro nella cavità orale ed è considerato uno dei principali responsabili della carie dentaria perché è coinvolto nel metabolismo del saccarosio, uno zucchero con una spiccata proprietà cariogena per l'uomo. Per quanto riguarda il microbiota orale, funziona come parte della difesa dell'ospite fungendo da barriera e creando delle condizioni sfavorevoli per gli organismi esogeni nocivi. Nonostante la maggior parte dei microrganismi della cavità orale siano innocui, in determinate condizioni alcuni possono causare infezioni orali come la carie o la malattia parodontale. Gli streptococchi orali, come lo *Streptococcus mutans*, sono associati a infezioni piogeniche e di altro tipo in vari siti, tra cui la bocca, il cuore, le articolazioni, la pelle, i muscoli e il sistema nervoso centrale. La placca dentale si forma inizialmente con la colonizzazione da parte di Streptococchi non-mutans che creano un ambiente favorevole per la crescita dello *Streptococcus mutans* e l'inizio della formazione del biofilm. La formazione di placca si articola in tre fasi; nella prima fase le prime molecole in sospensione nel mezzo salivare vengono adsorbite a livello dello smalto non appena un dente è stato pulito. Quindi lo smalto è rivestito con una complessa miscela di componenti che includono glicoproteine, proteine acide ricche di prolina, mucine, detriti di cellule batteriche. La seconda fase è caratterizzata

dall'interazione batterica con questa pellicola acquisita attraverso diverse interazioni cellula-superficie. Durante la terza fase altre specie batteriche come *Streptococcus mutans* aderiscono ai colonizzatori primari (*Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus*) mediante interazioni cellula-cellula. La successiva crescita batterica sulla superficie del dente porta alla formazione di biofilm sui denti, chiamato anche placca dentale.

*Streptococcus mutans* dà il nome a un gruppo di sette specie strettamente correlate collettivamente denominate streptococchi mutanti. Gli habitat primari per *Streptococcus mutans* sono bocca, faringe e intestino. Numerosi fattori, come l'aderenza alle superfici dello smalto, la produzione di metaboliti acidi, la capacità di accumulare riserve di glicogeno e la capacità di sintetizzare polisaccaridi extracellulari sono presenti nella carie dentale. *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* hanno un ruolo centrale nell'eziologia della carie dentale perché possono aderire alla pellicola salivare dello smalto e ad altri batteri della placca. Gli streptococchi e i lattobacilli del tipo mutans sono forti produttori di acidi e quindi causano un ambiente acido creando il rischio di cavità. Di solito, la comparsa dello *Streptococcus mutans* nelle cavità dentarie è seguita dalla comparsa di carie dopo un periodo che va dai 6 ai 24 mesi. *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* acidogenici sono in grado di formare polisaccaridi extracellulari (EPS) in presenza di saccarosio, ma anche a partire dal fruttosio e dal glucosio. La produzione di grandi quantità di EPS a partire dal saccarosio è un fattore importante della cariogenicità dello *Streptococcus mutans*. Sono stati effettuati alcuni studi riguardo all'effetto dei probiotici sui batteri cariogeni, in particolare lo *Streptococcus mutans*. Infatti, in uno studio (Lin PP, 2018), è stata testata la capacità di probiotici selezionati di inibire la crescita e la formazione di biofilm ad opera del mutans. Sono stati



sottoposti a screening ceppi di batteri di acido lattico, saliva di adulti sani e feci di neonati. L'attività antimicrobica dell'acido lattico in vitro è stata valutata mediante coltura spot di agar e coltura dei ceppi di mutans. Le sostanze antagoniste sono precipitate mediante estrazione con solfato di ammonio e cloroformio. I risultati della co-cultura mostrano che i tre ceppi di acido lattico sottoposti a trattamento termico hanno mostrato un'attività antimicrobica significativamente elevata e che la formazione di biofilm in vitro da parte del mutans è fortemente modulata dal *Lactobacillus pentosus* e dal *Lactobacillus crispatus*. Si può dedurre che questi due ceppi possano contribuire a prevenire la carie dentale, poichè hanno mostrato un effetto inibitorio sulla crescita e la formazione di biofilm da parte del batterio cariogeno *Streptococcus mutans*. In un altro studio, (Alp S, 2018), si è mirato a determinare l'effetto del consumo probiotico regolare sulla colonizzazione microbica nella saliva dei pazienti ortodontici e a valutare comparativamente la differenza tra il consumo sistemico di prodotti probiotici e l'applicazione orale. Sono stati valutati tre gruppi con 15 pazienti ortodontici in ciascuno. Il gruppo di controllo comprendeva pazienti senza trattamento probiotico: i soggetti nel "gruppo Kefir" consumavano 2x100 ml di kefir, una bevanda ricca di fermenti lattici, ogni giorno e i soggetti nel "gruppo Dentifricio" si lavavano i denti con un dentifricio contenente probiotico due volte al giorno. I campioni sono stati raccolti tre volte: all'inizio dello studio, nelle tre settimane successive e nelle sei settimane successive. Sono stati valutati la portata salivare, la capacità tampone e i livelli di *Streptococcus mutans* e dei Lactobacilli nella saliva. Una riduzione significativa è stata osservata nei livelli di *Streptococcus mutans* e dei Lactobacilli salivari nei gruppi Kefir e Dentifricio rispetto al gruppo di controllo. Un aumento della capacità tampone è stato osservato nel gruppo

dentifricio rispetto ai gruppi Kefir e di controllo. Le variazioni della portata salivare non erano significative. Quindi, concludendo, il consumo regolare di probiotici durante il trattamento ortodontico riduce i livelli di *Streptococcus mutans* e dei Lactobacilli nella saliva. Uno studio simile al precedente (Goyal N, 2019), sempre riguardando i pazienti ortodontici, ha valutato l'effetto dei colluttori probiotici sui livelli di *Porphyromonas gingivalis*. Sono stati analizzati 45 pazienti divisi in tre gruppi: Gruppo A (gruppo di controllo), Gruppo B (pazienti che usano il collutorio Amflor) e Gruppo C (pazienti che usano il collutorio probiotico). Ai pazienti del gruppo C è stato consigliato di usare il collutorio per 60 secondi prima di sciacquare, due volte al giorno. Sono stati raccolti campioni di placca subgingivale in due momenti diversi (T1 e T2), all'inizio e dopo 6 mesi di trattamento ortodontico fisso. Il livello di *Porphyromonas gingivalis* sono stati significativamente ridotti con il collutorio probiotico che può quindi essere usato come misura aggiuntiva per migliorare lo stato parodontale. La ricerca si è espansa anche in ambito pediatrico. Uno studio molto recente (Sarmiento EG, 2019), ha come obiettivo la valutazione dell'effetto del probiotico sul microbiota della saliva dei bambini. Negli esperimenti sono stati preparati e utilizzati il formaggio petit-suisse al gusto di fragola insieme alla farina di banana verde senza *Lactobacillus casei* nel gruppo di controllo e con l'aggiunta di *Lactobacillus casei* nel gruppo Probiotico. L'aggiunta di probiotici alla petit-suisse è stata valutata per 28 giorni. Sono stati raccolti campioni di saliva di volontari che avevano consumato la petit-suisse prima del periodo di consumo dei prodotti (T0), l'ultimo giorno di consumo (T1) e due settimane dopo l'interruzione del consumo (T2). I campioni sono stati immediatamente fissati con paraformaldeide in una concentrazione del 2%; dopodichè i batteri interessati

sono stati identificati e contati con l'aiuto di un microscopio a epifluorescenza. Entrambi i prodotti (senza e con il *Lactobacillus casei*) sono stati in grado di ridurre significativamente il numero totale di microrganismi e *Streptococcus mutans* nella saliva dei volontari. Tuttavia solo il prodotto che presentava il *Lactobacillus casei* ha dimostrato di ridurre la densità dell'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, oltre ad aver mantenuto dei livelli bassi di *Porphyromonas gingivalis* dopo il trattamento. Il formaggio petit-suisse, quindi, ha mostrato la capacità di contenere microrganismi probiotici e di essere una valida alternativa per ridurre il microbiota potenzialmente patogeno della cavità orale. Un altro studio simile a quest'ultimo ha invece utilizzato cioccolatini al posto del formaggio, considerato il target di età piuttosto basso. Quindi in questo studio (Janani RG, 2019) si è messo a confronto l'effetto di tre cioccolatini contenenti probiotici e quello di cioccolatini convenzionali sul pH della placca, sul pH salivare e sulla capacità tampone della saliva dei bambini. Si è anche valutata la loro efficacia antimicrobica nei confronti dello *Streptococcus mutans*. Lo studio in doppio cieco è stato articolato in due fasi. Nella prima fase sono stati casualmente suddivisi in tre gruppi 90 bambini: latte, bianco e cioccolato fondente. Il pH salivare, il pH della placca e la capacità tampone sono stati valutati 10 minuti, 30 minuti e 60 minuti dopo il consumo dei cioccolatini. Dopo un periodo di washout di 20 giorni, i bambini sono stati assegnati ai rispettivi gruppi di cioccolato probiotico e le valutazioni si sono ripetute. In questa seconda fase dello studio, 60 bambini sono stati divisi in tre gruppi: latte probiotico, bianco e cioccolato fondente. Sono stati consumati questi cioccolatini probiotici per 5 giorni consecutivi. Il conteggio delle colonie di *Streptococcus mutans* è stato effettuato all'inizio, post intervento, dopo 15 giorni e 30 giorni. Come risultato

tutti i cioccolatinki probiotici si sono dimostrati efficaci nel ridurre il conteggio delle colonie di *Streptococcus mutans*. Quindi i cioccolatini sono molto utili come veicolo per fornire probiotici ed hanno l'ulteriore vantaggio di renderli tooth-friendly. Dopo questi studi è evidente che usare il cibo negli esperimenti è il metodo migliore per somministrare i probiotici e per valutare il loro effetti. Infatti, un ulteriore studio (Wu CY, 2019) che prende in considerazione un alimento è quello che analizza gli effetti del consumo dello yogurt Yakult. Sembra che il *Lactobacillus* contenuto in esso inibisca la crescita e la formazione di biofilm ad opera dello *Streptococcus mutans*. Tuttavia il saccarosio presente in questo yogurt ha sollevato perplessità e preoccupazioni. Uno studio in vivo dimostra che la presenza di molecole battericide, come gli antibiotici, protegge dalla demineralizzazione dei tessuti dentali. Esistono molti studi che analizzano gli effetti di probiotici isolati contro lo *Streptococcus mutans* usando prodotti caseari, ma è difficile valutare come la presenza di zuccheri e di altri costituenti in un prodotto possa compromettere l'effetto inibitorio dei probiotici. Nelle bevande allo yogurt sono aggiunti zuccheri per migliorare il gusto; per esempio una bottiglia di Yakult contiene 13,6 grammi di zuccheri aggiunti e quello più abbondante risulta essere il saccarosio. Mentre il saccarosio riduce la sensibilità del *Streptococcus mutans* nei confronti degli agenti antimicrobici, lo Yakult riduce lo *Streptococcus mutans* nei bambini che hanno livelli di mutans molto alti. Quindi la domanda che sorge spontanea è: "Può questo drink probiotico e zuccherato inibire l'azione del mutans?". Per questo è stato condotto uno studio per determinare gli effetti di yakult sulla crescita e sull'adesione dello *Streptococcus mutans*. Il mutans è stato coltivato in Yakult diluito, Yakult filtrato e Yakult riscaldato al 20%. Lo *Streptococcus mutans* è stato co-coltivato con lo yogurt in terreni con o senza Yakult filtrato,

diluito o con Yakult in terreni coltivati con o senza zuccheri. Sono state determinate le unità che formano le colonie e i valori di pH delle colture batteriche. Come risultato si è constatato che lo Yakult ha inibito la crescita dello *Streptococcus mutans* ma il suo filtraggio e il suo riscaldamento ha ridotto la sua capacità inibitoria. D'altra parte l'effetto inibitorio del Lactobacillo contro il mutans è stato migliorato se coltivato in presenza di Yakult filtrato al 20%. Il lactobacillo coltivato in substrato di saccarosio per 24 ore inibisce la crescita del mutans; questo effetto, però, era meno evidente quando il lactobacillo veniva coltivato per 48 ore. Il Lactobacillo cresciuto in glucosio o lattosio ha ridotto allo stesso modo la crescita del mutans. La coltura di mutans con il Lactobacillo coltivata in saccarosio o glucosio ha ridotto l'adesione batterica. Infatti i Lactobacilli possono interferire nella formazione del biofilm attraverso geni che sono correlati alla formazione di quest'ultimo. Invece i mutans in coltura con il Lactobacillo, cresciuti nel lattosio, non hanno ridotto l'adesione batterica. In conclusione, questo studio dimostra che lo Yakult riduce i livelli salivari di *Streptococcus mutans* anche se gli zuccheri aggiunti negli yogurt sollevano molti dubbi. Infatti la quantità di zuccheri aggiunti per un bambino con meno di 8 anni deve limitarsi a tre bottiglie di yakult alla settimana. Però d'altra parte, il Lactobacillo coltivato insieme agli zuccheri ha abbassato il pH a meno di 5,5. Considerando che il pH ottimale per l'enzima che mantiene l'omeostasi intracellulare nello *Streptococcus mutans* è 6,31 e che l'attività di glicolisi del mutans viene inibita da un pH extracellulare inferiore a 5, la coltura acidificata dovrebbe inibire l'attività del mutans. Gli studi sulle applicazioni orali dei probiotici, comunque, evolvono sempre di più e rivolgono uno sguardo ottimista al futuro. In una recente review (Zaura E, 2019) sono riportati studi clinici relativi alla carie. Si ritiene che i probiotici

possano avere sia effetti preventivi che terapeutici. Nel contesto della salute orale, gli integratori probiotici possono anche “riparare” un biofilm disbiotico associato a malattie. Ovviamente sono stati analizzati soprattutto I bambini, dato che la prevenzione delle carie ha acquisito sempre più rilevanza negli ultimi anni. Per esempio uno studio condotto presso una scuola dell’infanzia di Helsinki (Nase, 2001) ha evidenziato differenze nell’incremento della carie tra test e placebo quando sono stati analizzati separatamente bambini di 3 e 4 anni. I bambini più piccoli sono stati esclusi perchè ancora non avevano una dentizione primaria completa. Un altro esempio è lo studio di Teanpaisan (Teanpaisan, 2015) nel quale il gruppo è stato suddiviso in base al rischio di sviluppare carie e l’effetto protettivo del probiotico è risultato essere significativo nel gruppo ad alto rischio di carie rispetto al placebo, ma non per quelli con basso rischio di carie. Infatti un’interessante osservazione di vari studi era che l’intervento probiotico sembrava essere più efficace nei bambini in età prescolare classificati con un alto rischio di carie (Hedayati-Hajikand, 2015). Gli studi presenti in letteratura differivano nel tempo di intervento e sono stati condotti con una miscela di specie e di ceppi batterici diversi. Le specie più comuni in studio erano ceppi derivati dai Lactobacilli: *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus reuteri*, ma solo due sembravano essere di origine orale. Inoltre le dosi giornaliere variavano considerevolmente. É quindi necessario analizzare la risposta alle dosi al fine di acquisire conoscenze sulle domande relative a sforzo, dosaggio e modalità di consegna. Nello studio di Taipale (Taipale, 2013) si è dovuto affrontare il problema della somministrazione delle compresse di probiotici attraverso i ciucci che erano spesso respinti dai bambini. Con il crescere dell’età i ciucci sono stati sostituiti da compresse schiacciate e somministrate con il cucchiaino.

Si specifica che in questi progetti in età prescolare e scolastica gli interventi sono stati distribuiti solo nei giorni settimanali. Purtroppo la maggior parte dei ceppi probiotici analizzati in questi studi sono di origine gastrointestinale e potrebbero non essere ottimali per il complesso ambiente della cavità orale. Recentemente sono stati isolati dalla placca di individui sani due ceppi di streptococco commensali e streptococco dentisani. A causa della loro attività inibitoria nei confronti del mutans, entrambi hanno un potenziale come probiotici anti-carie. L'effetto della combinazione di prebiotici, definite come sostanze non digeribili contenute in natura in alcuni elementi, come l'arginina, con i ceppi di probiotici orali in un unico prodotto simbiotico è anche una sfida per il futuro. Sia i pre- che i probiotici sono additivi alimentari naturali ed economici con un rischio piccolo o trascurabile di sviluppare effetti collaterali. Pertanto il concetto potrebbe essere accettato dai consumatori e svolgere un importante ruolo nella gestione delle carie. È stato analizzato un altro ceppo di Lactobacillo (Fang F, 2018), il *Lactobacillus brevis* che ha mostrato una significativa attività antimicrobica contro il mutans grazie alla secrezione di sostanze antimicrobiche come il perossido di idrogeno e l'acido lattico. È stato dimostrato che questo ceppo ha la capacità di aderire alle cellule epiteliali orali. La co-incubazione di *Lactobacillus brevis* con lo *Streptococcus mutans* ha aumentato la produzione di interleuchine nelle cellule del sangue, indicando che il *Lactobacillus brevis* potrebbe alleviare l'infiammazione e conferire benefici per favorire la salute modulando il sistema immunitario. E questo aspetto facilita le applicazioni del Lactobacillo nei prodotti per l'igiene orale. I probiotici sono stati studiati anche in relazione ad altre patologie come mucositi, peri-implantiti e parodontiti. Nel seguente studio (Ince G, 2015) sono stati valutati parametri clinici e biochimici dell'applicazione di probiotici,

in particolare il *Lactobacillus reuteri*, in aggiunta alla terapia parodontale iniziale in pazienti con parodontite cronica. Sono stati coinvolti trenta pazienti con parodontite cronica; ogni paziente aveva, in ciascun quadrante, 2 o più denti con una profondità di sondaggio compresa tra i 5 e i 7 mm e un indice gengivale maggiore o uguale a 2. Il gruppo di test ha ricevuto rootplaning, scaling e pastiglie contenenti probiotici. Il gruppo di controllo ha ricevuto invece pastiglie placebo. Sono stati misurati l'indice di placca, il sanguinamento al sondaggio e il guadagno di attacco clinico. Tutte le valutazioni sono state eseguite all'inizio e nei giorni 21, 90, 180 e 360. Le differenze sono risultate a favore del gruppo Test in tutte le valutazioni. Quindi le pastiglie contenenti il *Lactobacillus reuteri* possono essere un utile supplemento in tasche moderatamente profonde di pazienti con parodontite cronica. Anche le mucositi sono state prese in considerazione; a questo proposito si può citare questa review (Cereda E, 2018) che ha come obiettivo quello di fornire una prospettiva aggiornata sull'uso dei probiotici come strategia di trattamento adiuvante per i pazienti affetti da mucosite o a rischio di svilupparla. secondo questa review vari studi suggeriscono che il microbiota orale ed intestinale potrebbe essere rilevante per lo sviluppo e il trattamento della mucosite. Risultati promettenti di studi clinici suggeriscono l'uso di probiotici in pazienti con mucosite perimplantare o a rischio di mucosite orale correlata al trattamento antitumorale. In generale, gli effetti positivi delle specie di *Lactobacillus*, in particolare il *Lactobacillus reuteri* e il *Lactobacillus brevis* CD2, stanno trovando ampio margine di applicazione nel trattamento della mucosite perimplantare e nella prevenzione della mucosite orale correlata a chemioterapia. Il loro utilizzo sembra essere sicuro. Gli sforzi, negli studi futuri dovrebbero essere concentrati nell'identificazione di pazienti ad alto



rischio che potrebbero beneficiare maggiormente dei probiotici che consentono un miglioramento dei risultati clinici e anche un dimezzamento dei costi. Un recente studio (Galofrè M, 2018) contemporaneo a quest'ultimo e molto simile ha analizzato clinicamente e microbiologicamente l'effetto del probiotico orale *Lactobacillus reuteri* come supplemento alla terapia non chirurgica in impianti soggetti a mucosite o perimplantite in pazienti con una storia di malattie parodontali. È stato effettuato uno studio clinico randomizzato, controllato, a triplo cieco. I pazienti inclusi nello studio erano parzialmente edentuli e avevano impianti con mucosite o perimplantite. Sono stati esclusi gli impianti con perdita ossea radiografica di  $\geq 5$  mm e/o  $\geq 50\%$  della lunghezza dell'impianto ed è stato incluso solo un impianto per paziente. Dopo la terapia meccanica non chirurgica, i soggetti sono stati assegnati casualmente a prendere le pastiglie probiotiche o quelle placebo ogni giorno per 30 giorni. Sono state eseguite misurazioni cliniche in tutta la bocca (indice di placca generale e sanguinamento generale al sondaggio) e nel sito dell'impianto (profondità della tasca di sondaggio, indice di placca e sanguinamento al sondaggio) all'inizio dello studio e, nello stesso momento in cui sono state effettuate le misurazioni cliniche, sono stati eseguiti esami microbiologici dopo 30 e 90 giorni (per identificare *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus* ed *Eikenella corrodens*). È stato esaminato un totale di 44 pazienti - 22 con mucosite e 22 con perimplantite. Il probiotico *Lactobacillus reuteri*, insieme alla terapia meccanica, ha prodotto un ulteriore miglioramento rispetto al trattamento con la sola terapia meccanica, sia nei parametri clinici generali dei pazienti con mucosite (sanguinamento al

sondaggio) sia a livello di impianti con mucosite (profondità della tasca di sondaggio) o perimplantite (sanguinamento al sondaggio e sondaggio della profondità della tasca). Tuttavia, *L. reuteri* ha avuto un effetto molto limitato sul microbiota perimplantare poiché l'unico parametro in cui è stata rilevata una riduzione significativa è stato il carico batterico di *Porphyromonas gingivalis* negli impianti con mucosite ( $P = 0,031$ ). La somministrazione di una pastiglia quotidiana di *Lactobacillus reuteri* per 30 giorni, insieme al debridement meccanico dell'intera bocca, ha migliorato i parametri clinici degli impianti con mucosite o perimplantite per un periodo di almeno 90 giorni, ma l'effetto microbiologico è stato molto più limitato. I probiotici forniscono un approccio terapeutico alternativo da considerare nella prevenzione e nel trattamento delle malattie perimplantari, ma in futuro sono necessari ulteriori studi a lungo termine. È stato studiato anche l'effetto dei probiotici contro la candida orale, considerando che la candidosi orale è un problema di salute in aumento a causa dell'introduzione di nuovi farmaci, dell'invecchiamento della popolazione e della crescente prevalenza di malattie croniche. Un recentissimo studio (Mundula T, 2019) ha esaminato gli effetti dell'assunzione orale di probiotici sulle specie appartenenti alla Candida. A seguito di una ricerca sistematica in letteratura, dodici studi, otto studi clinici randomizzati e quattro studi pre-post, sono risultati idonei per la ricerca. Tutti gli studi hanno analizzato gli effetti dei probiotici. L'effetto del trattamento sembra essere maggiore sui portatori di protesi. I risultati indicano che l'assunzione di probiotici può avere un effetto benefico sulla candidosi orale e che gli effetti potrebbero variare in base alle caratteristiche dei pazienti. Ci sono altre review interessanti, come quella condotta da Hu (Hu L, 2019), che ha analizzato tutti gli studi pubblicati in lingua inglese fino al 1 agosto 2018. Sono stati presi in

considerazione studi clinici controllati randomizzati e studi sperimentali su modelli di animali di topo che confrontano i probiotici (a qualsiasi dosaggio e in qualsiasi forma) con gruppi di controllo (placebo) e riportano i risultati degli effetti profilattici e terapeutici. Sono stati inclusi sei studi clinici controllati randomizzati e 5 esperimenti controllati su modelli animali di topo. Nella meta-analisi sono stati inclusi quattro studi clinici controllati randomizzati che hanno confrontato un gruppo di probiotici con un gruppo placebo su 480 anziani e portatori di protesi. Queste analisi hanno mostrato che c'era una differenza significativa nell'effetto dei probiotici rispetto ai gruppi di controllo negli anziani e portatori di protesi. I restanti 2 studi hanno confrontato i probiotici con altri agenti in una popolazione di età compresa tra 18 e 75 anni e bambini rispettivamente tra 6 e 14 anni e sono stati analizzati in modo descrittivo. Le meta-analisi hanno indicato che i probiotici erano potenzialmente efficaci nel ridurre la percentuale di incidenza della patologia, migliorare i sintomi clinici e ridurre la candidosi orale. I disturbi relativamente comuni riportati dai pazienti erano i disturbi gastrointestinali e la presenza di gusto sgradevole, mentre non sono stati segnalati eventi avversi gravi.

È emerso che i probiotici erano superiori al placebo, nella prevenzione e nel trattamento della candidosi orale negli anziani e nei portatori di protesi. Sebbene i probiotici mostrino un effetto favorevole nel trattamento della candidosi orale, sono necessarie ulteriori prove per garantirne l'efficacia rispetto ai trattamenti antifungini convenzionali.

# **BIBLIOGRAFIA**

## **Capitolo 1**

1. *Beauchamp J. et al., J. Am. Dent. Assoc., 2008, 139 (3), 257.*
2. *Brigo B., Medicina naturale dalla A alla Z, 2006, Tecniche Nuove.*
3. *Bruni A., Farmacognosia Generale e Applicata, 1999, Piccin.*
4. *Cagnetti M.G. et al., Caries and gingivitis prevention. National Guidelines, 2009, Elsevier Masson.*
5. *Ercoli A., Clinica medica in fitogemmoterapia e omeopatia, 2002, Tecniche Nuove.*
6. *Espelied I., Eur. Arch. Paediatr. Dent., 2009, 10 (3), 149.*
7. *European Academy Paediatric Dentist - EAPD, Eur. Arch. Paediatr. Dent., 2009, 10 (3), 129.*
8. *Featherstone J.D., Oral Health Prev. Dent., 2004, 2 Suppl 1, 259.*
9. *Featherstone J.D., Australian Dental Journal, 2008, 53, 286.*
10. *Fitzgerald R.J., Keyes P.H., J. Am. Dent. Assoc., 1960, 61, 9.*
11. *Franzman M.R., et al., JADA, 2006, 137, 645.*
12. *Harris R. et al., Cochrane Database Syst. Rev., 2012, 3, CD006540, Pub 2.*
13. *Istat, Giornata mondiale dell'acqua. Le statistiche dell'ISTAT, 2011, 21 marzo.*
14. *JADA, 1995, 126 Suppl., 1S.*
15. *Jenkins S. et al., J. Clin. Periodontol., 1993, 20 (1), 20.*
16. *Karjalainen S., Dent. Update, 2007, 34 (5), 295.*
17. *Keyes P.H., Arch. Oral. Biol., 1960, 1, 304.*
18. *Kidd E.A. et al., Dent. Update, 2000, 27 (5), 222.*
19. *Lewis C.W., Milgrom P., Pediatr. Rev., 2003, 24 (10), 327.*

20. Loesche W.J., *J. Dent. Rev.*, 1979, 58 (12), 2404.
21. Loesche W.J., *Microbiol. Rev.*, 1986, 50 (4), 353.
22. Masci Walter, *Omeopatia - Tradizione e attualità*, 2003, *Tecniche Nuove*.
23. Micciché G.M., 2010, *Omeopatia e Pediatria*, *Tecniche Nuove*.
24. Ministero della Salute, *Linee guida nazionali per la promozione della salute orale e la prevenzione delle patologie orali in età evolutiva*, 2013, novembre.
25. Ministero della Salute, *Linee guida nazionali per la promozione della salute orale e la prevenzione delle patologie orali in età adulta*, 2010, dicembre.
26. Mount G.J., Hume W.R., *Quintessence Int.*, 1997, 28 (5), 301.
27. Nilchian F. et al., *Community Dent. Health*, 2011, 28 (1), 99.
28. Pitts N.B., *J. Dent. Res.*, 2004, 83 Spec. No C, C43.
29. Selwitz R.H. et al., *Lancet*, 2007, 369 (9555), 51.
30. Steyn N.P., Temple N.J., *BMC Public Health*, 2012, 12, 502.
31. Teti G., Mattina R., *Microbiologia del cavo orale*; in Poli G, Cocuzza G, Nicoletti G, Clementi M (2° ed): *Microbiologia medica*. UTET, 2002, pp 399.
32. Truin G.J. et al., *J. Dent. Res.*, 2005, 84 (5), 418.
33. Tubert-Jeannin S. et al., *Cochrane database Syst. Rev.*, 2011, 12, CD00759.
34. WHO - World Health Organisation, 1993, *Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines*.
35. Aguzzi A. *La vita e le opere di W.D. Miller*. *La Stomatologia*. 6, 39-45, 1907.
36. Bellagarda G., Bellagarda M. *Storia illustrata dell'Arte Dentaria*. Ed. Minerva Medica, Torino, 1987.
37. Ring M.E. *Storia Illustrata dell'Odontoiatria*. Ed. A. Delfino, Roma, 1989.
38. Scervini P. *Trattato di odontoiatria*. Ed. De Angelis Bellisario, Napoli, 1899.
39. Jacobs F.O. *Dr. Miller's Theory of Dental Caries*. *The Dental Cosmos*, 35, 546-548, 1893.

40. Black G.V. *Theories of the cause of caries. The Dental Cosmos*, 30, 352-356, 398-402, 416-21, 1895.
41. Miller W.D. *Einfluss der Microorganismen auf die Caries der Menschlichen Zahne. Arch. fur Exper. Pathologie. XVI*, 220-284, 1882.
42. Marzuok M.A., Gross R.D., Simomton A.L. *Odontoiatria Conservativa. Ed. Piccin, Padova, 1989.*

## **Capitolo 2**

1. Metchnikoff E. *Essais optimistes. Paris, 1907; The pro-longation of life. Optimistic studies. Translated and edited by P. Chalmers Mitchell. London: Heinemann, 1907.*
2. Tissier H. *Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourisson. Thesis, Université de Paris, 1900.*
3. Lilley DM, Stillwell RJ. *Probiotics: growth promoting factors produced by micro-organisms. Science 1965; 147:747-8.*
4. Sperti GS. *Probiotics. West Point, Connecticut: AVI Publishing, 1971*
5. Parker RB. *Probiotics, the other half of the antibiotics story. Animal Nutrition and Health 1974; 29: 4-8.*
6. Fuller R. *Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 1989; 66: 365-78.*
7. *FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food (2002)*  
[www.fao.org](http://www.fao.org).
8. *Ministero della Salute. Linee Guida Nutrizione/Probiotici, 2005.*
9. Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, et al., *Use of probiotic Lactobacillus preparation to prevent diarrhea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial, in BMJ, vol. 335, n° 7610, 2007, p. 80*

10. *University of Pennsylvania School of Medicine, 'Good' bacteria keep immune system primed to fight future infections, in ScienceDaily, 3 febbraio 2010*
11. *Donovan SM, Schneeman B, Gibson GR, et al. Establishing and evaluating health claims for probiotics. Amer Soc Nutr Adv Nutr, 2012, 3: 723-5.*
12. *Nishant T, Sathish KD, Arun KR, Hima BK, Raviteja Y. Bacteriocin producing probiotic lactic acid bacteria. J Microbial Biochem Technol 2011; 3: 5.*
13. *Gibson GR, Brummer RJ, Isolauri E, et al. The design of probiotic studies to substantiate health claims. Gut Microbes 2011; 2: 299-305.*
14. *Donovan SM, Schneeman B, Gibson GR, Sanders ME. Establishing and evaluating health claims for probiotics. Adv Nutr 2012; 3: 723-5.*

### **Capitolo 3**

1. *Sakamoto M, Umeda M, Benno Y. Molecular analysis of human oral microbiota. J. Periodont. Res. 2005; 40:277-285*
2. *Holt J., Krieg N, Sneath P, Staley J, William S. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th. 1994*
3. *Davey M.E., O'toole G.A. microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. Microbiol.mol.biol.rev. 2000; 64:847-867*
4. *Lamont R.J., Demuth D.R, Davis C.A, Malamud D, Rosan B. Salivary-agglutinin-mediated adherence of Streptococcus-mutans to early plaque bacteria. Infect.immun.1991;59:3446-3450*
5. *Marsh P. Dental plaque as a biofilm and a microbial community- implications for health and disease. BMC Oral Health, 2006;6:S14*
6. *Loesche W.J. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol. mol. biol. rev.1986;50:353-380*

7. Trahan L. *Xilitol: a review of its action on mutans streptococci and dental plaque-its clinical significance. Int. Dent. J. 1995;45:77-92*
8. Marsh P.D. *Are dental diseases examples of ecological catastrophes? Microbiology-Sgm.2003;149:279-294*
9. Desoet J.J, Holbrook W.P, Vanamerongen W.E, Schipper E, Homburg C.H.E, Degraaf J. *Prevalence of Streptococcus Sobrinus in relation to dental caries in children from Iceland and the Netherlands. J. Dent. Child. 1990;57:337-342*
10. Tanzer J.M, Livingston J, Thompson A. M. *The microbiology of primary dental caries in humans. J. Dent. Educ. 2001;65:1028-1037*
11. Mayooran B, Robin S, John R.T. *Dental caries is a preventable infectious disease. Aust. Dent. J. 2000;45:235-245*
12. Zero D.T. *Sugars- The arch criminal? Caries Res.2004;38:277-285*
13. Wiater A, Choma A, Szczodrak J. *Insoluble glucans synthesized by cariogenic streptococci: a structural study. J. Basic microbiol. 1999;39:265-273*
14. Shellis R.P, Dibdin G.H. *Analysis of the buffering systems in dental plaque. J. Dent. Res.1988;67:438-446*
15. Lin PP, Hsieh YM, Tsai CC. *Isolation and Characterisation of probiotics for antagonising the cariogenic bacterium streptococcus mutans and preventing biofilm formation. Oral Health Prev. Dent. 2018;16(5):445-455*
16. Alp S, Baka ZM. *Effects of probiotics on salivary streptococcus mutans and lactobacillus levels in orthodontic patients. Am.J. Orthod. Dentofacial Orthop.2018 oct; 154(4):517-523*
17. Goyal N, shamanna PU, Varughese ST, Abraham R, Antony B, Emmatty R, Paul P. *Effects of amine fluoride and probiotic mouthwash on levels of porphyromonas gingivalis in orthodontic patients: a randomized controlled trial.J. Indian Soc. Periodontol, 2019, jul-aug; 23(4):339-344*



18. Sarmiento G, Cesar DE, Martins ML, de Oliveira Góis EG, Furtado Martins EM, da Rocha Campos AN, Del'Duca A, de Oliveira Martins AD. Effect of probiotic bacteria in composition of children's saliva. *Food Res. Int.* 2019 Feb; 116:1282-1288
19. Janani RG, Asokan S, Geetha Priya Pr. Effect of custom-made probiotic chocolates on streptococcus mutans, plaque pH, salivary pH and buffering capacity in children- a randomized controlled trial. *Oral Health Prev. Dent.* 2019;17(1):7-15
20. Wu CY, He SJ, Mar K, Stephen Hsu Cy, Hung SL. Inhibition of streptococcus mutans by a commercial yogurt drink. *J. Dent. Sci.* 2019 Jun; 14(2):198-205
21. Zaura E, Twetman S. Critical appraisal of oral pre- and probiotics for caries prevention and care. *Caries Res.* 2019;53:514-526
22. Twetman S, Jorgensen M, Keller M. Fifteen years of probiotic therapy in the dental context: what has been achieved?. *J. Calif Dent. Assoc.* 2017;45:539-545
23. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res.* 2001 Nov-Dec; 36(6):412-420
24. Teanpaisan R, Piwat S, Tianviwat S, Sophatha B, Kampoo T. Effect of long-term consumption of *Lactobacillus paracasei* SD1 on reducing streptococci mutans and caries risk: a randomized placebo-controlled trial. *Dent J (Basel)*, 2015 Apr; 3(2):43-54
25. Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries- a randomized controlled trial. *BMC Oral Health*, 2015 Sep; 15(1):112

26. Taipale TJ, Pieniakkinen K, Isolauri E, Jokela JT, Soderling EM. *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB-12 in early childhood: a post-trial effect on caries occurrence at four years of age. *Caries Res*,2013; 47(5):364-372
27. Fang F, Xu J, Li Q, Xia X, Du G. Characterization of a *Lactobacillus brevis* strain with potential oral probiotic properties. *BMC Microbiol*,2018 Dec 22; 18(1):221.