On Medicine
RIVISTA SCIENTIFICA INDIPENDENTE TRIMESTRALE

On Medicine
Anno XII, Numero 2 - giugno 2018

APPROFONDIMENTI

Valutazione dell'efficacia antibatterica dell'olio di girasole ozonizzato sulla flora crevicolare. Estratto di tesi di master di II livello in ossigeno-ozono terapia

Ciavanni R

Da tempo l'attenzione del mondo odontoiatrico si è focalizzata sui problemi che la malattia paradontale provoca nei pazienti, soprattutto con l'avanzare dell'età. Spesso, infatti, giungono alla visita dello specialista odontoiatra soggetti (dai 30-35 anni in avanti) con infiammazione cronica delle gengive che si manifesta con sanguinamento, edemi e piccoli ascessi. Le gengiviti di sovente si evolvono in "tasche" gengivali che nel tempo minano la stabilità del dente, provocandone anche la rimozione. Tetracicline, metronidazolo, β-lattamici, macrolidi e clorexidina sono le molecole farmacologiche più impiegate per questo disturbo, ma anche le terapie fotodinamiche, il laser, l'ablazione e le levigature radicolari sono tra i trattamenti non chirurgici più comuni, mirati a curare o ad attenuare le parodontopatie riducendo l'aggressività della flora batterica locale. Tutto ciò deve sempre essere accompagnato da un'igiene domiciliare giornaliera e continua, integrata necessariamente dall'igiene professionale (presso un igienista o un odontoiatra).

Ogni Ozonoterapista conosce molto bene le qualità e la validità terapeutica dell'Ozono, molecola caratterizzata da azione battericida (sia sui gram negativi sia sui gram positivi), fungicida e virustatica. Purtroppo nel passato la volatilità che caratterizza l'Ozono (in soli 5 minuti infatti si scinde in Ossigeno O2+O radicale libero) ne ha permesso l'impiego soltanto presso gli studi odontoiatrici, ma oggi, grazie alla tecnologia dell'ozonizzazione di oli vegetali ad alta insaturazione che permette di mantenere nel tempo l'azione della molecola, si è reso possibile anche l'utilizzo domiciliare della sua forma in gel. Lo scopo di questo lavoro è stato quindi di valutare l'azione battericida dell'Ozono, sotto forma di un gel orale mucoadesivo al 15% di olio di semi di girasole ozonizzato, sulla microflora orale e in particolar modo su quella nel solco parodontale (cioè della flora crevicolare) considerata, per la sua aggressività, la principale causa di gengiviti e parodontiti. Il metodo utilizzato è innovativo ed è stato quello di concentrare l'azione del "gel orale" sulla struttura gengivo-dentaria attraverso l'impiego

di mascherine personalizzate appositamente confezionate.

Il protocollo dello studio: un metodo personalizzato

Lo studio ha coinvolto tre pazienti, di sesso femminile ed età differente (25, 34 e 56 anni). Tutte le pazienti si sono sottoposte a cicli di igiene professionale per gengiviti ricorrenti e formazione di tartaro; una di queste (che abbiamo denominato "caso 2") presentava anche un'elevata propensione alla carie.
Prima di prendere parte allo studio ogni paziente è stata adeguatamente informata e ha fornito il consenso scritto a partecipare.
Nel corso della prima visita, insieme alla consegna del foglio informativo, sono state prese a ogni paziente le impronte in alginato di entrambe le arcate dentarie.
In occasione dell'incontro successivo le pazienti sono state sottoposte a prelievo del fluido crevicolare mediante coni di carta sterili in 5 diversi siti (2 denti superiori e 3 denti inferiori, definiti e segnalati in cartella). Il campione è stato poi inviato al laboratorio per l'analisi BPA (*Bacterial Periodontal Assessment*), è un'indagine in grado di fornire un risultato qualitativo e quantitativo relativamente ai principali agenti patogeni responsabili della parodontite e delle complicanze legate all'implantologia.
In parallelo le pazienti sono state istruite a utilizzare a domicilio due mascherine personalizzate trasparenti, una superiore e una inferiore, realizzate con un particolare materiale termoplastico (Etilene Vinil Acetato -EVA) sulla base dei modelli in gesso ricavati dalle impronte prese durante la prima visita (**Figura 1**).

Figura 1. La mascherina personalizzata realizzata in EVA indossata a domicilio dalla paziente.

Le pazienti dovevano posizionare queste mascherine dopo avervi applicato il gel e indossarle per 15 minuti alla sera, dopo cena e dopo l'igiene orale. Questa procedura doveva essere ripetuta ogni giorno per 15 giorni.
Dopo questo periodo, le pazienti sono state nuovamente sottoposte a prelievo per l'analisi BPA.

L'analisi microbiologica

I prelievi sono stati analizzati da un laboratorio specializzato e i risultati sono stati organizzati in una scheda campione utile per le analisi e le conclusioni finali. L'analisi è stata effettuata tramite metodica "PCR Real Time in doppio", metodo che simultaneamente amplifica e quantifica il DNA permettendo la conta delle copie presenti nel campione. La classificazione microbiologica utilizzata è stata quella di Socransky, che divide i batteri maggiormente presenti nel solco gengivale in tre complessi, come illustrato in Tabella 1.

Tabella 1. Classificazione microbiologica di Socransky

Aggregatibacter Actinomycetemcomitans	*Fusobacterium nucleatum ssp*	*Eikenella corrodens*
Tannerella forsythensis	*Prevotella intermedia*	
Porphyromonas gingivalis	*Campylobacter rectus*	
Treponema denticola		
Peptostreptococcus micros		

La patogenicità dei batteri varia in funzione del colore. I complessi rosso e arancione, prevalentemente Gram-negativi, costituiscono i principali agenti eziologici delle malattie parodontali. Il complesso rosso è correlato alla profondità delle tasche parodontali, al sanguinamento e al sondaggio (quindi alla progressione della malattia) e laddove questi batteri sono presenti in maggioranza si riscontrano lesioni paradontali più gravi e croniche. Il complesso arancione invece

esplica la sua pericolosità precedendo la colonizzazione e permettendo una maggiore aggregazione batterica. Tutti questi microrganismi, chi in misura chi in specificità, risultano essere i principali colpevoli dell'avvio del lento e distruttivo processo proprio della malattia paradontale.
La flora batterica è particolarmente concentrata nel cavo orale, in un millilitro di saliva si ritrovano oltre 500 milioni di batteri e in 1 grammo di placca dentaria ben 10 miliardi. Il microbiota orale è estremamente complesso e specializzato a sopravvivere nell'ecosistema orale, molte sono le specie differenti che lo caratterizzano (circa 600) e non tutte sono state identificate e/o classificate. Tutto ciò rende impossibile ottenere una conta definitiva di tutti i batteri, ma l'analisi di laboratorio è utile ai fini della ricerca di questa tesi per dimostrare l'azione diretta dell'Ozono su determinati batteri appartenenti a una zona anatomica difficile da trattare e curare quale il solco gengivale.

Risultati in sintesi

La prima analisi, quella più importante, ci ha permesso di osservare l'efficace azione di riduzione della flora batterica paradontale dell'olio ozonizzato (**Tabella 2**). Nonostante la brevità della terapia (15 giorni) e la sua comodità (una sola somministrazione) l'azione locale dell'Ozono è stata sottolineata dalla riduzione del 55% della carica batterica totale, ma anche, complessivamente, di quella patogena e dei saprofiti (**Tabelle 3 e 4**). L'uso di mascherine anatomiche ha permesso un contatto diretto della sostanza con la parete del dente e il relativo solco gengivale e ne ha sicuramente potenziato l'effetto. Vista l'efficacia si può pensare a una maggior azione battericida con la doppia somministrazione giornaliera. Considerando la facilità d'uso e i possibili cicli ripetitivi della terapia e il fatto che questo trattamento non comporti alcun effetto collaterale, si potrebbe osservare anche un buon mantenimento dell'effetto terapeutico nel tempo.
I risultati della seconda analisi (**Tabella 5**) ci hanno indicato che il complesso rosso di Socransky, ricco di batteri con una spiccata patogenicità verso le lesioni paradontali, risulta essere quello più sensibile all'Ozono, mentre appare più resistente il complesso arancione che, come evidenziato in precedenza, lascia costante il rischio di futura ricrescita e aggregazione dei batteri patogeni. Il mutamento della flora a favore di batteri meno invasivi è comunque un risultato positivo. Anche in questo caso raddoppiare la somministrazione del gel e/o allungare la terapia può portare solo a un miglioramento.
La Tabella 6 indica, per la paziente del caso 2, la presenza insolita nella flora crevicolare di due batteri: il "*Mutans*" e il "*Salivarius*". Questi ultimi sono pericolosi in quanto sono i primi responsabili della carie. Il risultato sorprendente di riduzione a meno di 100 copie dimostra ancora una volta l'efficacia dell'azione battericida della molecola.

Tabella 2. Riduzione della carica batterica totale

Carica batterica totale	28/09/2016	14/10/2016	%
Caso 1 (anni 56)	11.200.000	6.720.000	-40%
Caso 2 (anni 34)	11.500.000	2.540.000	-78%
Caso 3 (anni 25)	3.560.000	2.530.000	-29%
Totale	26.260.000	11.790.000	-55%

Tabella 3. Riduzione della carica batterica patogena

Carica batterica patogena	28/09/2016	14/10/2016	%
Caso 1 (anni 56)	1.680.000	678.720	-60%
Caso 2 (anni 34)	2.111.400	689.610	-67%
Caso 3 (anni 25)	108.580	283.613	+161%
Totale	3.899.980	1.651.943	-58%

Tabella 4. Riduzione della carica batterica saprofiti

Carica batterica patogena	28/09/2016	14/10/2016	%
Caso 1 (anni 56)	9.520.000	6.041.280	-37%
Caso 2 (anni 34)	9.388.600	1.850.390	-80%
Caso 3 (anni 25)	3.451.420	2.246.134	-35%
Totale	22.360.020	10.137.804	-55%

Tabella 5. Riassuntiva dei tre casi

Totale	28/09/2016	14/10/2016	%
Differenza complesso rosso	3.506.053	1.139.002	-67,51%
Differenza complesso arancione	315.744	492.071	+55,85%
Differenza complesso verde	77.794	20.721	-73,36%
	3.899.590	1.651.795	-57,64%

Tabella 6. Dati provenienti dal Caso 2 (anni 34)

Batteri prettamente salivari	N° copie	
Streptococco mutans	290	<100
Lactobacillus salivarius	1.100	<100
Evidente differenza in riduzione nei due prelievi	28/09/2016	14/10/2016

In generale l'analisi mostra una ottima risposta in tutti e tre i casi in termini di riduzione della flora batterica totale. Solo il caso 3 si discosta da questo trend, ma va detto che il +161% evidenziato nella Tabella 3 (come anche il +55,85% registrato in Tabella 5) è dovuto solo a un incremento del complesso arancione, quindi a una condizione meno "temibile". Il dato essenziale è che nel 100% dei casi abbiamo osservato comunque un decremento della flora totale e che l'Ozono è sicuramente efficace nel 66% dei pazienti nel ridurre i tre complessi patogeni.

Conclusioni

I progressi nella comprensione della malattia paradontale sono stati notevoli, sia per quel che riguarda la sua patogenesi sia anche la sua possibile associazione (in forma diretta o indiretta) con malattie sistemiche come quelle cardiovascolari, il diabete, le patologie polmonari e i tumori all'esofago. Gli stessi avanzamenti in campo terapeutico non chirurgico sono quasi sempre discutibili per la loro efficacia, effetti collaterali, complessità e costi.
Le ragioni che ci hanno spinto a verificare la validità di questo protocollo anche con esami di laboratorio sono diverse:

1. L'evidenza clinica del beneficio parodontale legato all'utilizzo del gel orale mucoadesivo al 15% di olio di semi di girasole ozonizzato;
2. la sicurezza della molecola, il cui impiego non comporta alcun effetto collaterale anche nel lungo periodo (come dimostrato dalla numerosa bibliografia);
3. la praticità della formulazione idrogel e le sue proprietà terapeutiche;
4. la comodità per il paziente nell'eseguire la terapia a domicilio.

I risultati ottenuti da questo studio, seppur effettuato su pochi pazienti, confermano l'efficacia dell'azione dell'Ozono nel ridurre la flora batterica presente nel fluido crevicolare. L'incoraggiante risultato può dare adito a ulteriori indagini e approfondimenti, quali:

- verificare con ulteriore test a distanza il mantenimento delle concentrazioni batteriche;
- ripetere il test con due somministrazioni, mattina e sera, in pazienti con gravi parodontopatie;
- ripetere la ricerca finalizzandola alla valutazione dell'efficacia dell'Ozono sulla flora batterica salivare, nel ridurre cioè il rischio di carie.

Resta inteso che la prevenzione primaria effettuata con un'igiene domiciliare scrupolosa e quotidiana, insieme a quella professionale programmata e alle buone abitudini alimentari e comportamentali, rimangono una regola fondamentale da praticare per non inficiare qualsiasi terapia e annullarne gli effetti positivi in breve tempo. Il mantenimento del cavo orale in uno stato di buona salute permette anche di ridurre rischi di malattie generali ben più gravi e debilitanti, nonché di una perdita globale dei denti.

A cura di Raffaele Ciavanni
Medico Chirurgo, Odontoiatra, Ozonoterapista

Bibliografia

- Linee guida nazionali per la promozione della salute orale e la prevenzione delle patologie orali in età adulta. Aggiornamento anno 2015. A cura di Ministero della Salute.
- Teti G, Mattina R. Microbiologia del cavo orale; in Poli G, Cocuzza G, Nicoletti G, Clementi M (II ed). Microbiologia medica. UTET, 2002.
- Bocci V et al: Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. Lymphokine Cytokine Res. 1993 Apr;12(2):121-6.
- Guinesi AS et al. Ozonized oils: a qualitative and quantitative analysis Braz Dent J. 2011;22(1):37-40.
- Geweely NSI. Antifungal activity of ozonized Olive Oils (Oleozone). Int. J. Agri. Biol. 2006;8(5):670-5.
- Zanardi I et al. What is the best strategy for enhancing the effects of topically applied ozonated oils in cutaneous infections? Biomed Res Int. 2013;2013:702949.
- Sanseverino R. Aspetti immunologici dell'ozonoterapia. Rivista Italiana di Omotossicologia. 1989;3:19-24.
- Di Pierro F. Argomenti di terapia batterica. CEC editore, 2015.
- Malattie Parodontali e sistemiche. Revisione Letteratura. A cura della SIdP (Società Italiana di Parodontologia)http://www.sidp.it/progetti/www.periomedicine.it/?f=http://www.sidp.it/progetti /www.periomedicine.it/parodontite/letteratura/index.html
- Pseudomonas-Gengivalis, Tumore Esofago, Il Dentista Moderno. 2016, 5.