



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI GENOVA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

Corso di Laurea Magistrale in Odontoiatria e Protesi Dentaria

**EFFETTO DI DIVERSI PROTOCOLLI ANTIBIOTICI PER LA
CHIRURGIA DEGLI IMPIANTI DENTALI SUL MICROBIOTA
ORALE**

Relatrice: Prof.ssa Maria Menini

Candidata: Sanaz Dialameh

Matricola: S5027859

Anno Accademico 2025–2026

“Wherever the art of medicine is loved, there is also a love of humanity.”

— Hippocrates

INDICE

Capitolo 1. Introduzione.....	5
Capitolo 2. Materiali e Metodi.....	49
1. Disegno dello Studio.....	49
2. Selezione del Campione e Inquadramento Clinico.....	51
3. Protocolli Antibiotici e Randomizzazione.....	54
4. Procedure Chirurgiche e Protesiche.....	55
7. Outcome dello Studio e Parametri di Valutazione.....	57
5. Analisi del Microbiota del Fluido Crevicolare.....	57
6. Analisi Statistica ed Elaborazione Dati.....	64
Capitolo 3. Risultati.....	67
1. Campione di Studio e Caratteristiche Basali.....	67
2. Sopravvivenza Implantare e Complicanze.....	68
3. Riassorbimento Osseo Marginale e Profondità di Sondaggio.....	68
Analisi del Microbiota del Fluido Crevicolare.....	72
4. Raccolta dei Campioni e Metodologia di Analisi.....	72
5. Stabilità Ecologica del Microbiota nel Tempo.....	73
6. Tre Profili di Pazienti in Base al Comportamento del Microbiota.....	75
7. La Composizione Batterica Prima dell'Intervento Predice il Comportamento Futuro...75	
Suscettibilità Fenotipica ad Amoxicillina nel Fluido Crevicolare.....	79
8. Effetto dei Protocolli Antibiotici sulla Suscettibilità Batterica.....	79
Sintesi dei Risultati.....	83
Capitolo 4. Discussione e Conclusioni.....	85
1. Inquadramento Generale dei Risultati.....	85
2. Esiti Clinici.....	85
Discussione del Microbiota Crevicolare.....	88
3. Stabilità Ecologica del Microbiota.....	88
4. Fenotipi Dinamici del Microbiota.....	89
5. Phyla Predittivi e Architettura del Biofilm.....	90
Discussione sulla Suscettibilità Fenotipica ad Amoxicillina.....	91
6. Suscettibilità Fenotipica ad Amoxicillina.....	91
Confronto con la Letteratura e Posizionamento dello Studio.....	93
7. Posizionamento rispetto alle Revisioni Sistematiche.....	93
8. Limiti dello Studio.....	93
9. Implicazioni Cliniche e per la Stewardship Antibiotica.....	94
10. Direzioni Future della Ricerca.....	96

Conclusioni.....	97
Bibliografia.....	100
Ringraziamenti.....	103

CAPITOLO 1. INTRODUZIONE

L'impatto dell'edentulismo e il ruolo della terapia implantare :

La perdita totale o parziale degli elementi dentari, definita **edentulismo**, costituisce una problematica sanitaria di rilievo, con profonde ripercussioni che spaziano dalla compromissione delle funzioni masticatorie e fonetiche fino a un significativo deterioramento dell'estetica del volto. Tali deficit non si limitano all'aspetto funzionale, ma coinvolgono la sfera psicologica del paziente, influenzandone negativamente la qualità della vita. Nonostante il costante miglioramento dei protocolli di igiene e prevenzione a livello globale, l'edentulismo rimane una condizione clinica di vasta diffusione e di natura irreversibile.

Epidemiologia dell'Edentulismo

L'edentulismo rappresenta una delle condizioni di disabilità orale più diffuse a livello mondiale. Secondo le stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), la prevalenza globale di adulti completamente edentuli di età superiore ai 60 anni è pari al 23% [9]. I dati provenienti dal Global Burden of Disease Study 2021 confermano che, nonostante i progressi nei protocolli preventivi, il carico globale dell'edentulismo è aumentato rispetto al 1990, con marcate disparità geografiche e socioeconomiche: le regioni con basso indice di sviluppo sociodemografico (SDI) registrano i valori più elevati, evidenziando come l'accesso alle cure odontoiatriche rimanga profondamente diseguale [10].

Le conseguenze dell'edentulismo non si esauriscono nella sfera funzionale, ma si estendono a molteplici dimensioni della salute sistemica. Una recente revisione sistematica ha documentato associazioni significative tra edentulismo e fragilità, malnutrizione, deterioramento cognitivo e riduzione della qualità della vita nei soggetti anziani, sottolineando come questa condizione costituisca un indicatore di svantaggio socioeconomico e sanitario cumulativo [9]. In tale contesto, la riabilitazione implanto-protetica emerge non soltanto come soluzione estetica e funzionale, ma come intervento di salute pubblica con ricadute sistemiche rilevanti.

Nella pianificazione di percorsi terapeutici mirati, la valutazione dei dati relativi al successo clinico a lungo termine è essenziale per guidare il clinico e il paziente verso la scelta più appropriata. In questo contesto, l'**implantologia dentale** si configura come una soluzione terapeutica d'elezione e altamente affidabile per la riabilitazione di arcate parzialmente o totalmente edentule. È tuttavia fondamentale sottolineare che l'esito positivo della

riabilitazione implantare è strettamente condizionato dalla qualità dell'integrazione del dispositivo all'interno dei tessuti biologici, coinvolgendo sia le componenti dure (osso) che quelle molli (mucosa).



Cenni Storici: Da Brånemark all'Implantologia Moderna

Le basi scientifiche dell'implantologia moderna affondano nelle ricerche del chirurgo svedese Per-Ingvar Brånemark, che negli anni Sessanta del Novecento, durante studi sulla microcircolazione ossea, osservò accidentalmente l'integrazione diretta del titanio con il tessuto osseo. Questo fenomeno, da lui definito osteointegrazione, ovvero “una connessione strutturale e funzionale diretta tra osso vivente e la superficie di un impianto sottoposto a carico funzionale”, divenne il fondamento biologico di tutta la moderna implantologia [12]. Nel 1965, Brånemark applicò per la prima volta questo principio a un paziente edentulo, impiantando fixture in titanio nella mandibola. I risultati a lungo termine, pubblicati a partire dagli anni '70 e '80, dimostrarono tassi di sopravvivenza notevolmente elevati, rivoluzionando l'approccio alla riabilitazione della perdita dentaria [12].

Dalla codifica del protocollo originale a due fasi chirurgiche di Brånemark, l'implantologia ha subito una profonda evoluzione. I progressi nelle superfici implantari — dall'originale superficie liscia alle moderne superfici sabbiato-mordenzate (SLA) e ai rivestimenti bioattivi — hanno ridotto i tempi di osteointegrazione e ampliato le indicazioni cliniche.

Parallelamente, l'introduzione dei protocolli di carico immediato, delle tecniche di rigenerazione ossea guidata (GBR) e della pianificazione digitale tridimensionale ha trasformato l'implantologia in una disciplina caratterizzata da alta predicibilità e personalizzazione del trattamento [12].



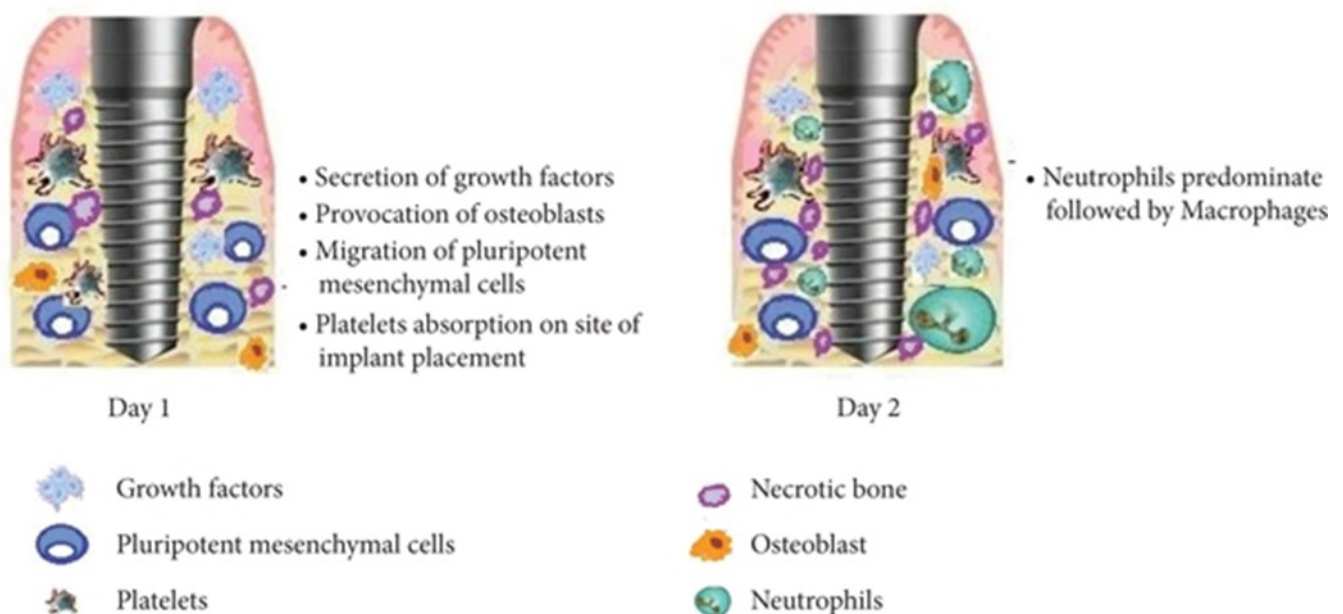
Processi di guarigione: Osteointegrazione e Periointegrazione

Il successo biologico dell'impianto si fonda su due processi distinti ma sinergici.

L'**osteointegrazione** è intesa come il legame strutturale e funzionale diretto che si stabilisce tra l'osso neoformato e la superficie del dispositivo implantare; tale fenomeno rappresenta il presupposto biologico della cosiddetta stabilità secondaria.

Da un punto di vista fisiologico, questo processo si articola in una serie di eventi biochimici paragonabili alla guarigione delle fratture ossee, completandosi solitamente in un arco temporale compreso tra i 3 e i 6 mesi dall'inserimento nell'osso alveolare. Sotto il profilo genetico e molecolare, l'osteointegrazione è guidata da una specifica modulazione della risposta immuno-infiammatoria, la quale stimola la sovraespressione di geni chiave per l'osteogenesi, l'angiogenesi e la neurogenesi durante le fasi cruciali della rigenerazione.

Parallelamente, la **periointegrazione** descrive il processo di formazione e stabilizzazione dei tessuti molli attorno alla componente transmucosale (abutment). Questo fenomeno è vitale per creare una barriera tra l'ambiente endosseo e il cavo orale. La maturazione di questo sigillo mucoso avviene generalmente tra le 8 e le 12 settimane successive al posizionamento dell'abutment, garantendo la protezione necessaria alla stabilità a lungo termine del complesso impianto-protetico.



Fasi del processo di osteointegrazione. Adattato da: Pandey C, Rokaya D, Bhattarai BP. Contemporary Concepts in Osseointegration of Dental Implants. Biomed Res Int. 2022 [12].



Day 3

-  Growth factors
-  Pluripotent mesenchymal cells
-  Platelets

- Activation of Runx2 and Op (osteoblast-related transcription factors)

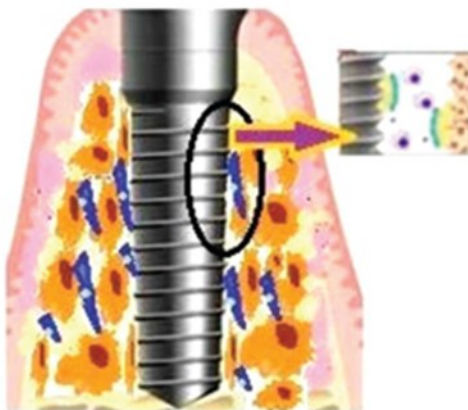


Day 4

-  Necrotic bone
-  Osteoblast
-  Neutrophils

- Necrotic bone resorption
- Formation of some new bone

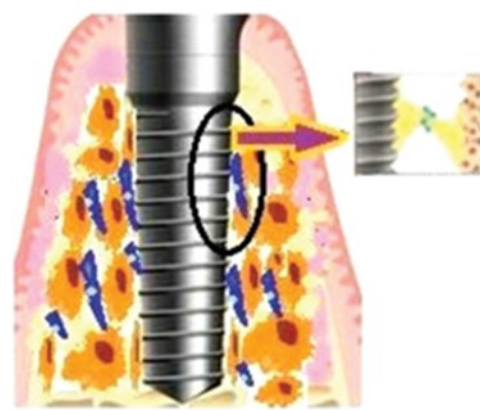
Eventi cellulari e molecolari dell'osteointegrazione. Adattato da: Pandey et al., Biomed Res Int, 2022 [12].



Day 28

- Formation of a volume of tissue layer comprised of collagen fibers and osteoblasts adjacent to the implants

-  Bone matrix formation
-  Osteoblast



End of 12th week

- Establishment of a bone connection of mature lamellar one with titanium surface

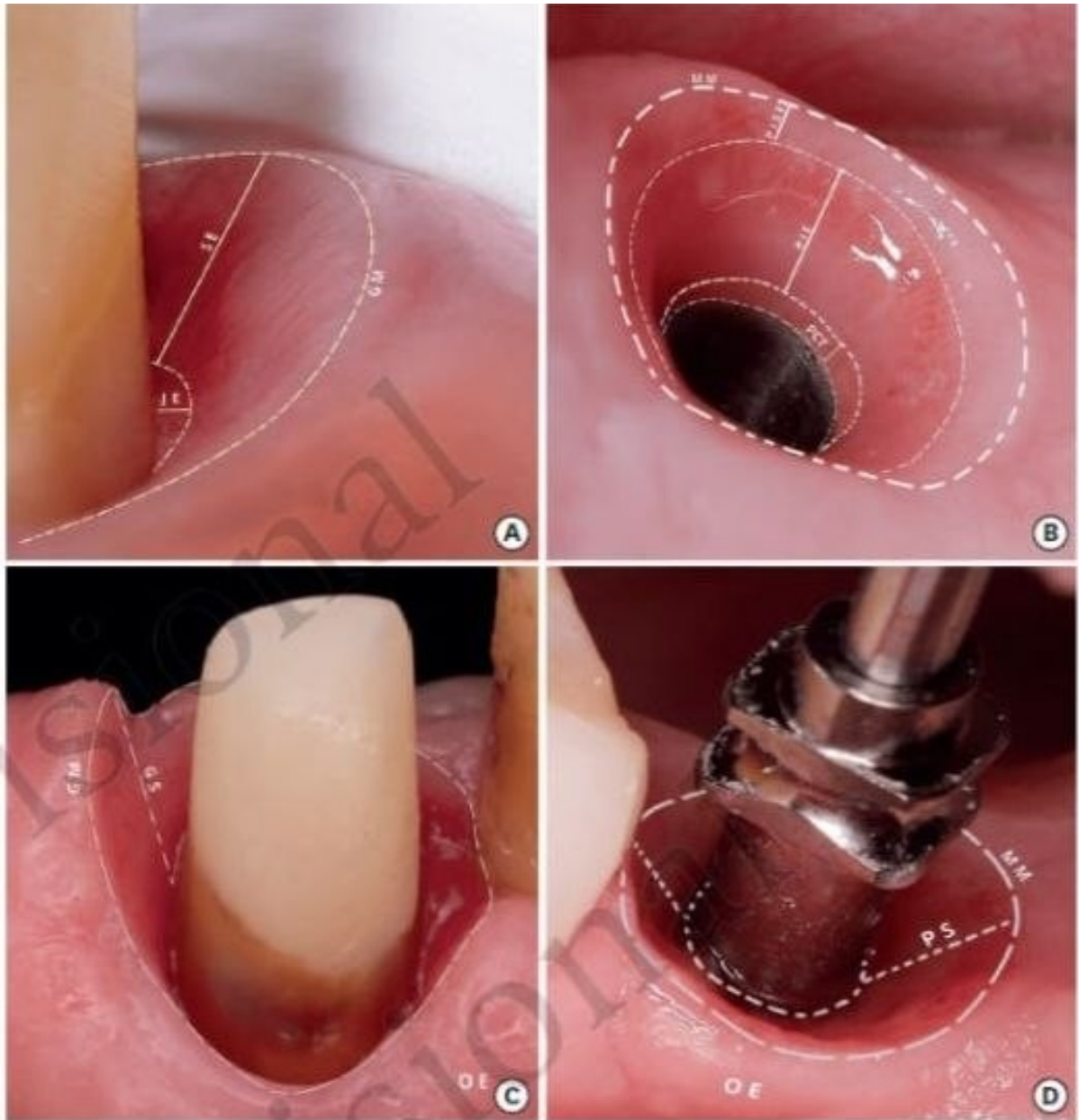
-  Fibroblast
-  Bone connection with titanium

Stadi dell'osteointegrazione implantare. Adattato da: Pandey et al., Biomed Res Int, 2022 [12].

I Tessuti Molli Perimplantari e l'Eziologia delle Patologie Infiammatorie

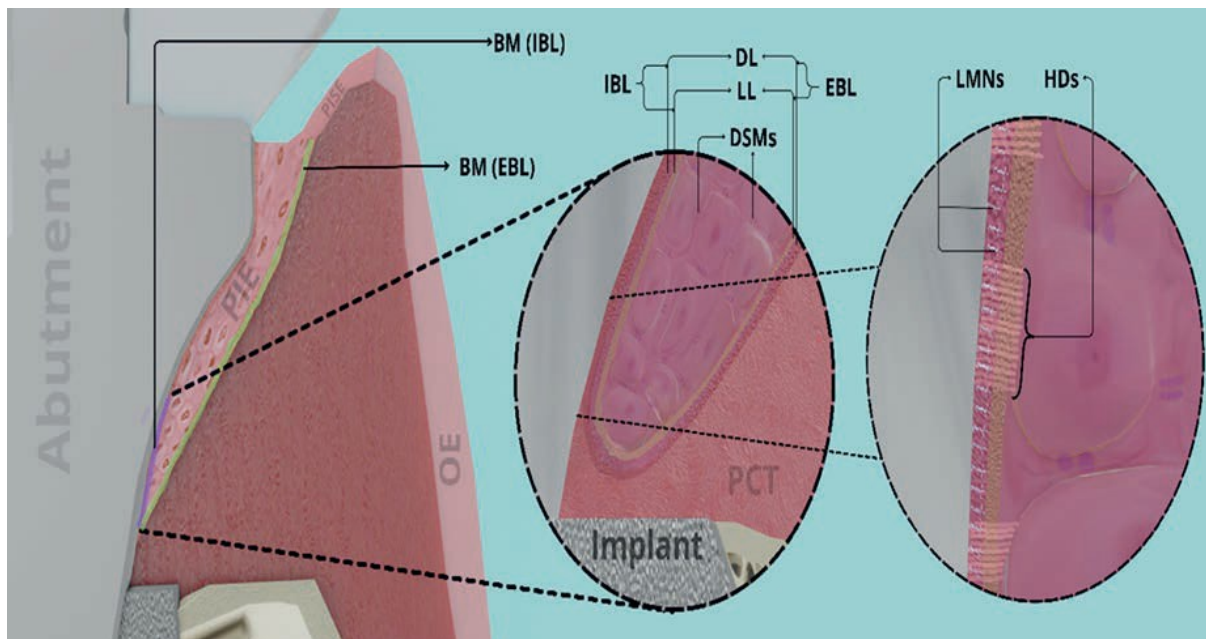
La morfogenesi dei tessuti molli che circondano l'impianto è il risultato di un processo di guarigione conseguente al trauma chirurgico, ed è fortemente influenzata dalle proprietà chimico-fisiche, dalla topografia e dal design delle superfici implantari e protesiche. Questi fattori concorrono alla formazione di un'architettura tissutale con caratteristiche istologiche e morfologiche uniche.

In ambito clinico, è stato dimostrato che la presenza di un fenotipo mucoso adeguato — caratterizzato da uno **spessore minimo di 2 mm** e da una banda di **mucosa cheratinizzata di almeno 2 mm** — sia essenziale per favorire una corretta integrazione e la formazione di un **sigillo biologico (SB)** efficace all'interfaccia mucosa-impianto. Questo sigillo funge da barriera contro la penetrazione dei patogeni, proteggendo l'osso sottostante e riducendo la suscettibilità alle **malattie infiammatorie perimplantari (IPD)**.



Confronto della larghezza biologica tra tessuto parodontale e perimplantare. Adattato da: Ríos-Osorio N et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Figura 1. Confronto anatomico tra tessuti parodontali (A, C) e perimplantari (B, D). JE: epitelio giunzionale; PIE: epitelio perimplantare; PCT: tessuto connettivo perimplantare. Adattato da: Ríos-Osorio et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].



Confronto schematico tra tessuto connettivo parodontale e perimplantare (PCT). Adattato da: Ríos-Osorio N et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

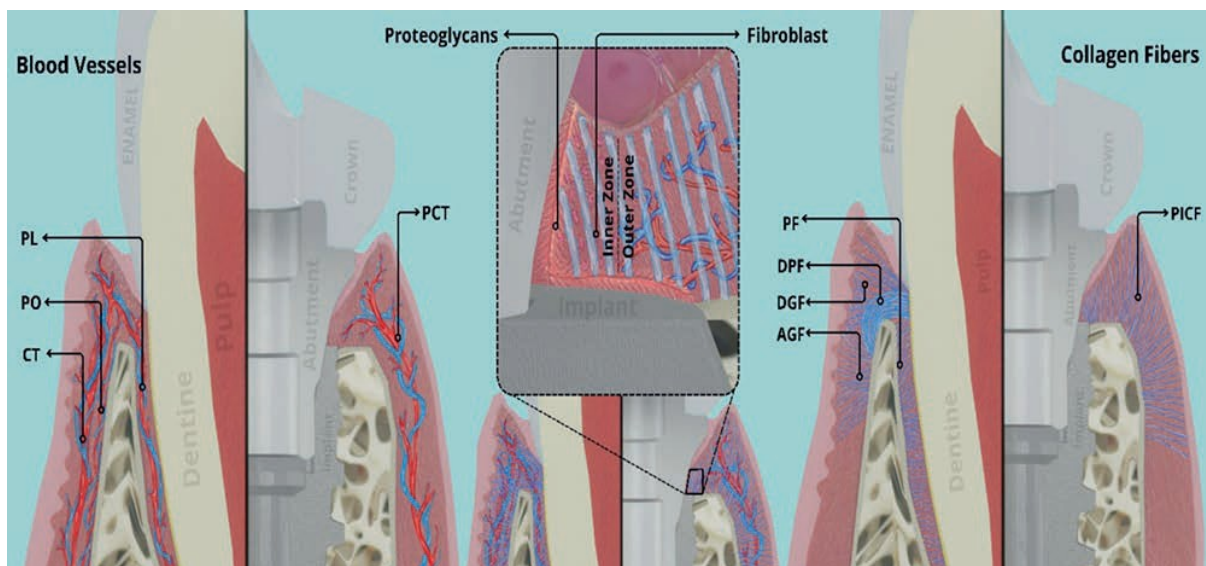
Figura 2. Rappresentazione schematica dell'epitelio perimplantare (PIE) e della sua membrana basale. IBL: lamina basale interna; EBL: lamina basale esterna; HD: emidesmosoma; LMN: laminina. Adattato da: Ríos-Osorio et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Differenze Strutturali e Vulnerabilità

A differenza dell'apparato parodontale, che si sviluppa fisiologicamente durante l'eruzione dentale, i tessuti perimplantari presentano una natura cicatriziale che ne limita le capacità difensive. Le principali discrepanze strutturali includono:

- **Assenza del legamento parodontale**, che riduce la resilienza meccanica del complesso;
- **Ridotto apporto vascolare**, derivante dalla natura del tessuto di riparazione;
- **Solco perimplantare (PS) più profondo**, che può favorire il ristagno del biofilm;
- **Differenze nell'orientamento delle fibre** del tessuto connettivo (PCT) e nell'adesione dell'epitelio perimplantare (PIE).

Queste peculiarità istologiche rendono il sigillo biologico attorno agli impianti meno ermetico e meno resistente rispetto a quello dei denti naturali [15]. Tali carenze strutturali sono direttamente correlate all'insorgenza e alla progressione delle patologie perimplantari, la cui prevalenza è in costante aumento, rappresentando oggi la causa principale di fallimento terapeutico.



Orientamento delle fibre di collagene perimplantari (PICF). Adattato da: Ríos-Orsorio N et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Figura 3. Confronto schematico tra il tessuto connettivo parodontale e il tessuto connettivo perimplantare (PCT). PL: legamento parodontale; PICF: fibre di collagene perimplantari.
Adattato da: Ríos-Osorio et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Classificazione delle Patologie Perimplantari

La salute perimplantare è definita dall'assenza di segni clinici quali eritema, edema, suppurazione o sanguinamento al sondaggio. Quando l'omeostasi viene interrotta dall'accumulo di placca batterica, si manifestano quadri patologici distinti:

1. **Mucosite Perimplantare:** È una reazione infiammatoria reversibile limitata ai tessuti molli. Il principale indicatore clinico è il sanguinamento al sondaggio delicato, spesso accompagnato da gonfiore o suppurazione. L'aumento della profondità di sondaggio in questa fase è solitamente dovuto all'edema e alla minor resistenza del tessuto infiammato, piuttosto che a una perdita di supporto.
2. **Perimplantite:** È una condizione patologica irreversibile associata alla placca che colpisce i tessuti profondi. Oltre ai segni infiammatori della mucosa, si osserva una progressiva perdita dell'osso di supporto alveolare. Clinicamente, si manifesta con aumento della profondità di sondaggio, recessione del margine mucosale e chiara evidenza radiografica di riassorbimento osseo.

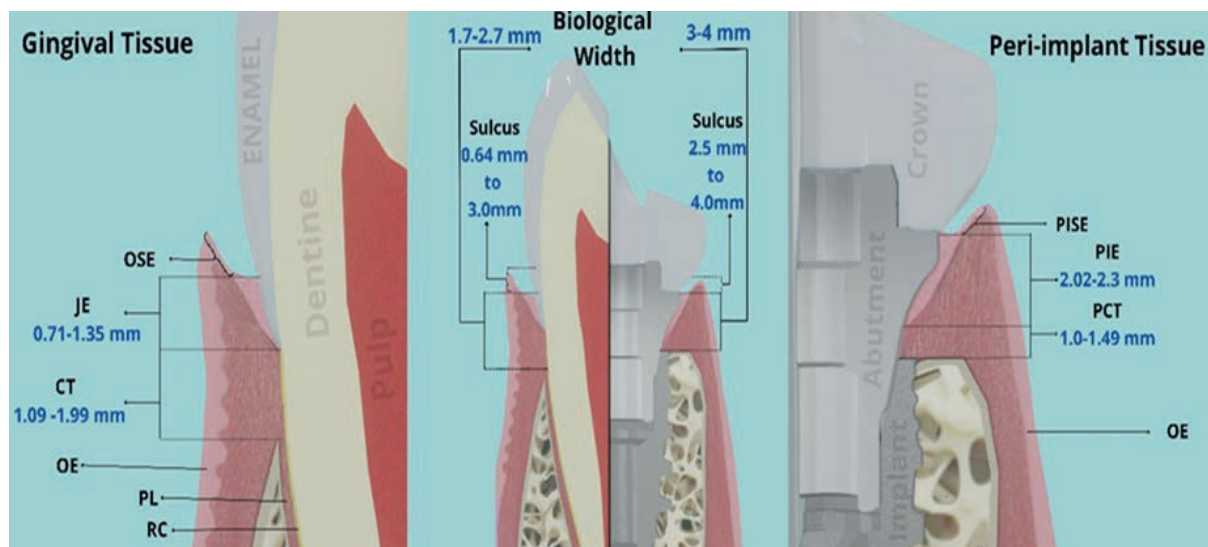


Figura 4. Confronto della larghezza biologica tra tessuti parodontali e perimplantari. JE: epitelio giunzionale; PIE: epitelio perimplantare; PCT: tessuto connettivo perimplantare. Adattato da: Ríos-Orsorio et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

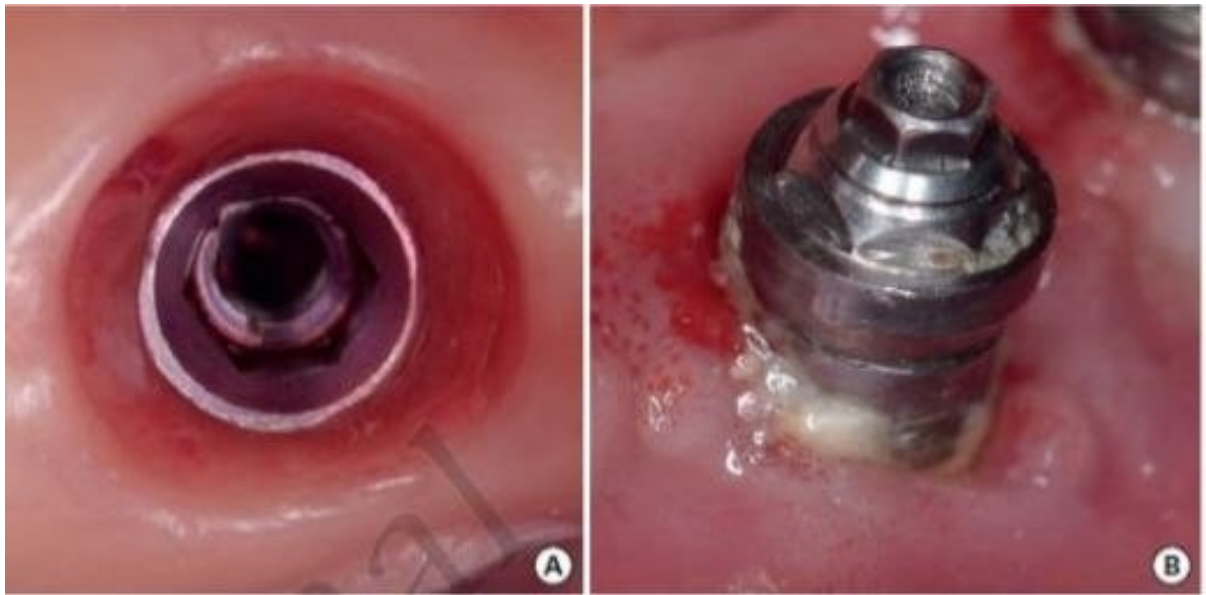


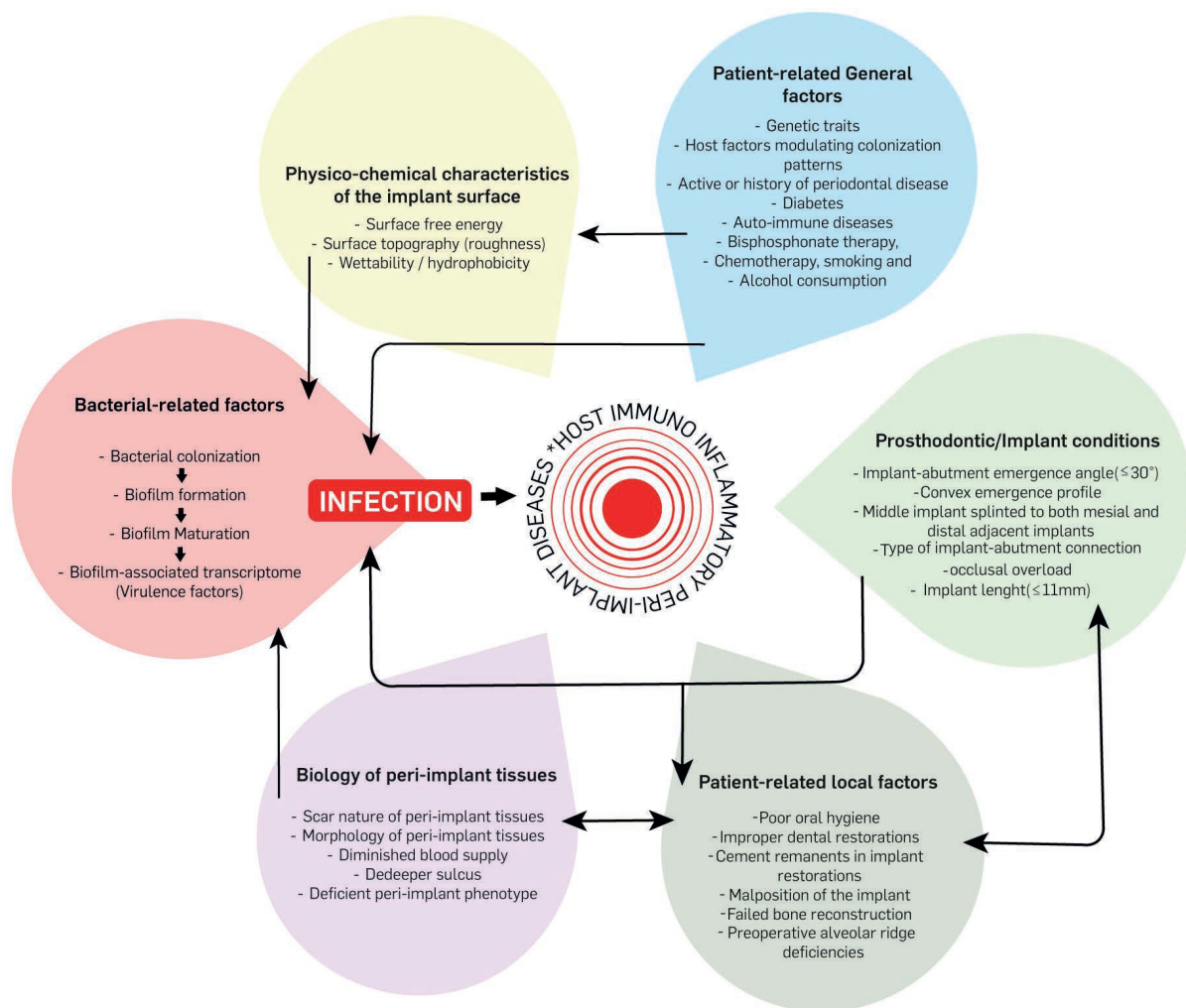
Figura 5. (A) Tessuti perimplantari sani. (B) Perimplantite con segni di infiammazione.

Adattato da: Ríos-Osorio et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Fattori di Rischio per il Fallimento Implantare

Il successo della terapia implantare dipende da una complessa interazione di fattori biologici, sistemici e comportamentali. Tra i fattori di rischio più documentati, il fumo di tabacco occupa un ruolo di primo piano: i fumatori presentano un rischio di fallimento implantare circa 1,92 volte superiore rispetto ai non fumatori (RR = 1,92; IC 95%: 1,67–2,21), con un impatto particolarmente marcato nella sede mascellare [4]. I meccanismi patogenetici includono la riduzione della perfusione vascolare locale, la compromissione della risposta immunitaria, l'inibizione della proliferazione osteoblastica e il ritardo nella guarigione dei tessuti molli, tutti processi indotti dalla nicotina e dal monossido di carbonio [4].

Il diabete mellito rappresenta un ulteriore fattore di rischio rilevante, con un aumento del rischio relativo di fallimento implantare documentato in letteratura (RR = 1,61; IC 95%: 1,23–2,12) [4]. L'iperglicemia cronica compromette la funzione dei neutrofili e dei macrofagi, altera la sintesi del collagene e ostacola l'angiogenesi, determinando un microambiente tissutale sfavorevole all'osteointegrazione. Tuttavia, studi recenti hanno dimostrato che nei pazienti diabetici ben compensati ($HbA1c < 7\%$) i tassi di sopravvivenza implantare sono comparabili a quelli dei soggetti sani, sottolineando l'importanza del controllo metabolico pre-implantare [4]. Ulteriori condizioni che impattano negativamente sull'outcome implantare includono l'osteoporosi, la radioterapia del distretto testa-collo, la terapia con bisfosfonati e una storia pregressa di parodontite, quest'ultima considerata un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di perimplantite [4].



Co-occorrenza dei principali fattori di rischio per le patologie perimplantari. Adattato da: Ríos-Orsorio N et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Figura 6. Co-occorrenza dei principali fattori di rischio associati all'insorgenza e progressione delle patologie perimplantari. Adattato da: Ríos-Orsorio et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Eziologia Batterica e Necessità di Intervento

Il fattore eziologico primario di entrambe le condizioni è l'accumulo di **biofilm batterico**.

Studi sperimentali condotti sia su modelli animali che sull'uomo forniscono prove inconfutabili: la placca è il motore che innesca la risposta infiammatoria iniziale.

Tuttavia, mentre la mucosite è un processo reversibile se trattato tempestivamente, la perimplantite comporta un danno strutturale permanente all'osso di supporto. Questa progressione patologica, spesso rapida e difficile da controllare, ha spinto la comunità scientifica a cercare strategie preventive efficaci. In questo scenario, l'uso degli antibiotici è diventato una pratica comune nel tentativo di abbattere la carica batterica durante e dopo l'intervento, cercando di proteggere l'impianto proprio nelle fasi più delicate della guarigione. [2]

L'incremento della **resistenza antimicrobica (AMR)** rappresenta oggi una delle principali minacce per la salute pubblica globale. La progressiva perdita di efficacia degli antibiotici rende il trattamento delle patologie infettive estremamente complesso, con ripercussioni dirette sia in ambito umano che veterinario. In questo scenario, l'uso prudente e mirato dei farmaci antimicrobici è imperativo: la somministrazione deve essere limitata ai casi di effettiva necessità clinica, seguendo rigorosamente le evidenze scientifiche validate per contrastare lo sviluppo di ceppi batterici resistenti.

Farmacologia degli Antibiotici Utilizzati in Implantologia

L'amoxicillina, aminopenicillina di seconda generazione, rappresenta l'antibiotico di prima scelta per la profilassi in chirurgia implantare grazie al suo ampio spettro d'azione, all'eccellente biodisponibilità orale (circa 90%) e al favorevole profilo di sicurezza [13]. Dal punto di vista del meccanismo d'azione, l'amoxicillina appartiene alla classe dei beta-lattamici: agisce inibendo la sintesi della parete cellulare batterica mediante il legame irreversibile alle proteine leganti la penicillina (PBP, Penicillin-Binding Proteins). Questo legame blocca la transpeptidazione, tappa finale della sintesi del peptidoglicano, determinando l'indebolimento strutturale della parete e la lisi osmotica della cellula batterica [13]. L'aggiunta di un gruppo amminico alla struttura dell'ampicillina ha conferito all'amoxicillina una maggiore penetrazione nella parete batterica gram-negativa, ampliandone lo spettro d'azione rispetto alle penicilline di prima generazione [13].

La resistenza agli antibiotici beta-lattamici si sviluppa principalmente attraverso tre meccanismi: la produzione di beta-lattamasi (enzimi che idrolizzano l'anello beta-lattamico

rendendolo inattivo), la modificazione o riduzione dell'espressione delle PBP bersaglio, e la riduzione della permeabilità della membrana esterna nei gram-negativi [13]. In ambito odontoiatrico, la prevalenza di batteri produttori di beta-lattamasi nel cavo orale è in aumento, il che giustifica in alcune situazioni l'utilizzo dell'associazione amoxicillina-acido clavulanico. La clindamicina, indicata nei soggetti allergici alle penicilline, agisce invece inibendo la sintesi proteica batterica a livello della subunità ribosomiale 50S; tuttavia, la sua associazione a un rischio significativamente più elevato di infezione da *Clostridioides difficile* e la crescente prevalenza di resistenza ne limitano progressivamente l'uso profilattico di routine [13].

Il Problema Globale dell'AMR in Odontoiatria

L'odontoiatria è responsabile di circa il 10% di tutte le prescrizioni antibiotiche nel contesto dell'assistenza sanitaria primaria a livello mondiale [20]. Dati recenti suggeriscono che fino all'80% di queste prescrizioni possa essere inappropriata o non necessaria, con ampie variazioni tra i diversi Paesi europei [20]. Questa situazione è particolarmente preoccupante alla luce dell'attuale emergenza globale dell'antimicrobial resistance (AMR): secondo i rapporti congiunti ECDC-OMS, la resistenza antimicrobica ha causato nel 2023 un numero di decessi significativamente superiore a quello di AIDS e malaria messe insieme, confermandosi come una delle principali minacce per la salute pubblica globale [7]. In questo scenario, ogni prescrizione non giustificata di antibiotici in ambito odontoiatrico contribuisce al pool di resistenze nell'ecosistema microbico umano, con conseguenze che si propagano ben oltre il singolo paziente trattato.

A livello europeo, la sorveglianza ECDC documenta trend preoccupanti di resistenza in specie batteriche di interesse odontoiatrico, con percentuali di resistenza alle penicilline in alcune specie streptococciche in costante aumento dal 2019 [7]. Per l'odontoiatria implantare, questo si traduce in un doppio imperativo: da un lato, ridurre le prescrizioni non necessarie per preservare l'efficacia degli antibiotici disponibili; dall'altro, quando la profilassi è indicata, scegliere il principio attivo, la dose e la durata più appropriati sulla base delle evidenze cliniche disponibili. La mancata aderenza a questi principi non solo espone il singolo paziente a rischi inutili, ma alimenta la selezione di ceppi resistenti nel microbiota orale, con potenziale diffusione attraverso meccanismi di trasferimento genico orizzontale [1].

Evoluzione dei Protocolli e Revisioni della Letteratura

Storicamente, per massimizzare l'alto tasso di successo della chirurgia implantare e prevenire complicanze infettive precoci, sono stati adottati regimi antibiotici empirici molto estesi. I protocolli iniziali prevedevano la somministrazione di penicillina V un'ora prima dell'intervento, seguita da una terapia post-operatoria della durata di dieci giorni. Tuttavia, la letteratura scientifica ha iniziato a mettere in discussione tali raccomandazioni per la mancanza di prove cliniche a supporto. [19]

Un punto di svolta è rappresentato dalla **revisione sistematica Cochrane del 2013 [6]**, la quale ha evidenziato come l'assunzione pre-operatoria di 2 g di amoxicillina in dose singola riduca significativamente il rischio di fallimento implantare precoce, con una riduzione del rischio assoluto stimata intorno al **4%**.

Lo Stato dell'Arte: Consensi e Divergenze

Attualmente, la comunità scientifica concorda sul fatto che, sebbene la profilassi antibiotica riduca il rischio di fallimento, l'entità di tale beneficio non giustifica un uso indiscriminato degli antimicrobici. Nel 2017, l'EAO ha aggiornato la propria posizione, limitando la raccomandazione di una dose singola pre-operatoria esclusivamente alle procedure di innesto osseo o casi complessi.

In conclusione, nonostante la proliferazione di revisioni sistematiche, persiste una marcata eterogeneità nelle opinioni cliniche. Emerge dunque l'urgente necessità di studi clinici controllati randomizzati (RCT) su larga scala e con un design metodologico rigoroso. Solo attraverso nuove evidenze sarà possibile definire l'esatta efficacia della profilassi pre-operatoria nella prevenzione delle infezioni post-operatorie, tutelando al contempo l'efficacia degli antibiotici per le generazioni future.

Tabella 0. Principali revisioni sistematiche e RCT sulla profilassi antibiotica in implantologia.

Conclusioni	Outcome principale	Protocollo confrontato	Disegno	Autore, anno
Riduzione rischio assoluto ~4%, NNT=25	Fallimento precoce	Amoxicillina pre-op vs placebo	Revisione sistematica	Esposito et al., 2013 (Cochrane)
Dose singola pre-op sufficiente a ridurre fallimenti precoci; nessuna differenza vs regime combinato pre+post-op	Fallimento precoce implantare	Amoxicillina pre-op vs pre+post-op vs nessuna	Revisione sistematica e meta-analisi	Roca-Millan et al., 2021 [21]
Nessun beneficio significativo	Sopravvivenza e MBL	Amoxicillina 2 g pre-op vs placebo	RCT multicentrico placebo-controllato	Momand et al., 2022 [11]
Raccomandazione forte per dose singola pre-op	Prevenzione infezioni	Singola dose (2-3 g) vs prolungato	Consensus SEI (GRADE)	Salgado-Peralvo et al., 2022 [17]

Modelli di Prescrizione Antibiotica in Implantologia: Il Contesto Europeo

Negli ultimi decenni, l'implantologia dentale (ID) si è consolidata come il trattamento d'elezione per la riabilitazione dell'edentulismo, grazie a tassi di successo estremamente elevati: circa il **98,9% a 5 anni** e il **94% a 15 anni**. Questa affidabilità ha portato a una crescita esponenziale delle procedure; basti pensare che, dai circa 100.000-300.000 impianti annui registrati a livello globale nel 1988, si è giunti oggi a milioni di inserimenti annuali, con una crescita costante che riflette l'alta domanda clinica.

Dalla Profilassi alla Terapia Antibiotica Preventiva (TAP)

Storicamente, l'intervento implantare è stato considerato ad alto rischio infettivo a causa della complessa biodiversità del cavo orale, che ospita tra le **500 e le 700 specie batteriche**. Per questo motivo, sin dagli anni '80, la chirurgia è stata sistematicamente associata all'uso di antibiotici. Recentemente, la terminologia si è evoluta: il concetto tradizionale di "profilassi" è stato sostituito da quello di **Terapia Antibiotica Preventiva (TAP)**, termine che definisce più precisamente la somministrazione di farmaci in pazienti sani allo scopo di scongiurare il fallimento precoce del dispositivo o l'insorgenza di complicanze post-operatorie.

Il Paradosso dell'Efficacia: Analisi dell'NNT

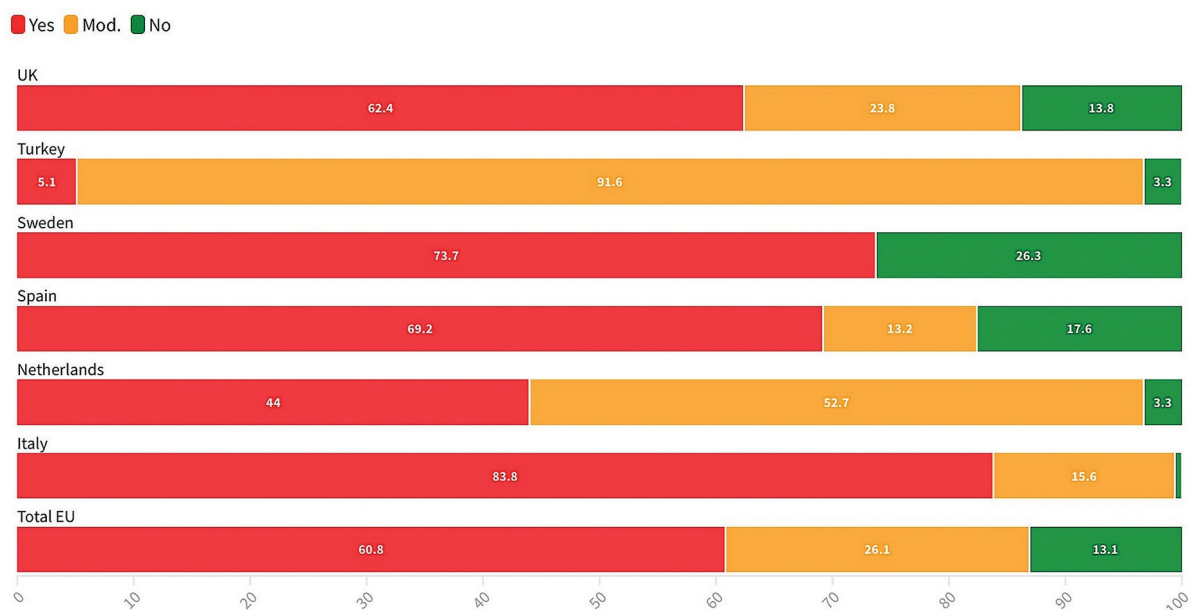
Nonostante la diffusione della TAP, l'analisi dei dati basata sull'indice NNT (Number Needed to Treat) solleva dubbi significativi sul suo reale beneficio: per prevenire un singolo fallimento implantare precoce, è necessario trattare tra i 24 e i 55 pazienti ($NNT = 24-55$), mentre per la prevenzione delle infezioni post-operatorie l'efficacia cala drasticamente ($NNT = 100$ per la TAP pre-operatoria; $NNT = 143$ per quella post-operatoria). Questi dati ridimensionano considerevolmente il beneficio assoluto della TAP di routine in pazienti sani. Queste evidenze sono cruciali se inquadrare nel contesto della crisi globale della resistenza antimicrobica. Si stima che le infezioni resistenti siano state associate a circa **5 milioni di decessi nel 2019**. In questo scenario, l'odontoiatria gioca un ruolo determinante, essendo responsabile del **10% delle prescrizioni antibiotiche mondiali**, di cui — secondo diverse indagini — circa il **66% risulta clinicamente non indicato**.

Linee Guida e Nuovi Standard: Il Caso della SEI

Per rispondere alla mancanza di consenso, sono state implementate strategie di gestione più rigorose. Nel 2022, la **Società Spagnola di Impianti (SEI)** ha pubblicato la prima Linea Guida di Pratica Clinica (LPC) basata sul sistema GRADE. Questo documento fornisce raccomandazioni specifiche: [17]

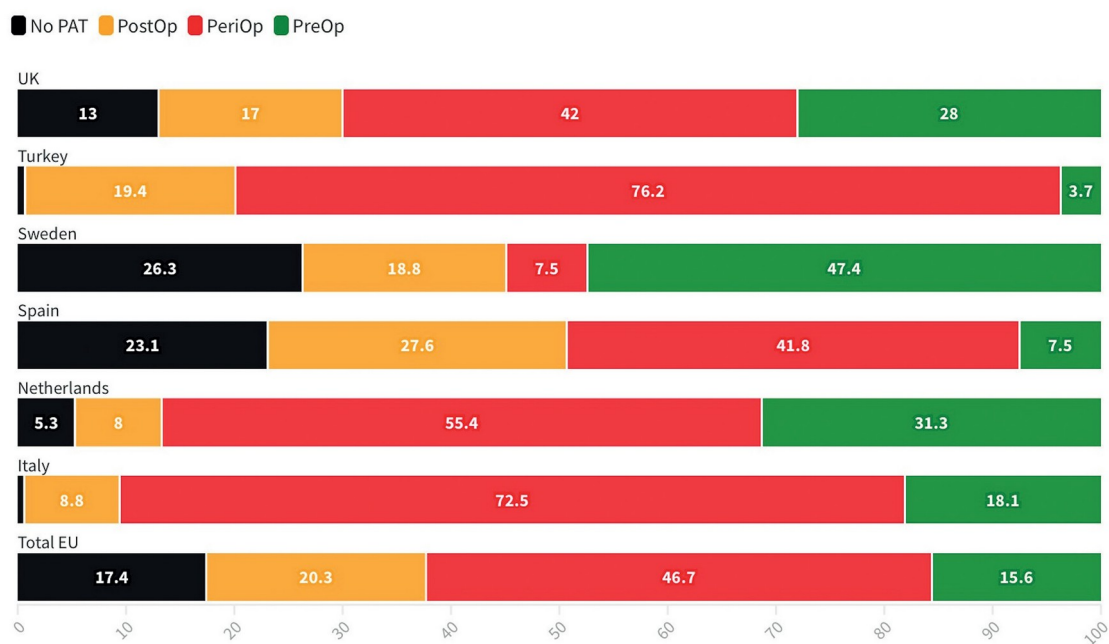
- **Pazienti sani e chirurgia semplice:** È raccomandata la somministrazione di **2-3 g di amoxicillina un'ora prima** dell'intervento (Grado A).
- **Approccio conservativo:** La non-prescrizione in casi selezionati è considerata un'opzione valida (Grado B).

Alla luce di queste premesse, il presente lavoro di revisione si propone di indagare i modelli prescrittivi adottati dai professionisti europei nel posizionamento di impianti senza limitazioni anatomiche, confrontandone l'adeguatezza con le raccomandazioni internazionali più recenti e con gli standard della SEI [18].



Distribuzione della frequenza di prescrizione della TAP per Paese europeo. Adattato da: Salgado-Peralvo ÁO et al., Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2024 [18].

Figura 7. Distribuzione della frequenza di prescrizione della TAP per Paese europeo. Fonte: Salgado-Peralvo et al., Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2024 [18].



Tipo di TAP prescritta per Paese europeo. Adattato da: Salgado-Peralvo ÁO et al., Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2024 [18].

Figura 8. Tipo di TAP prescritta per Paese europeo. Fonte: Salgado-Peralvo et al., Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2024 [18].

Protocolli Farmacologici della TAP: Molecole, Dosaggi e Tempistiche

L'analisi dei regimi terapeutici adottati dai professionisti europei rivela una netta prevalenza per l'utilizzo delle penicilline, con l'amoxicillina che si conferma il farmaco d'elezione sia nei protocolli pre che post-operatori.

La Terapia Pre-operatoria: Tempistiche e Dosaggi

Per quanto concerne la fase prechirurgica, la maggioranza dei clinici (**54,9%**, n=708) opta per una somministrazione immediata o un'ora prima dell'intervento. In questo scenario, l'**amoxicillina** è utilizzata nel **91,2%** dei casi, con una preferenza per la dose singola da **2 g (36,3%)** o **3 g (10,5%)**, in linea con le attuali raccomandazioni per la profilassi a breve termine.

Tuttavia, persiste una quota rilevante di professionisti (**39%**) che preferisce iniziare la terapia 1 o 2 giorni prima dell'atto chirurgico. In questi casi, il protocollo si diversifica tra:

- **Amoxicillina semplice:** alla dose di 500 mg tre volte al giorno (TID) (**6,9%**).
- **Amoxicillina/Acido Clavulanico:** alla dose di 875/125 mg TID (**6%**). [14]

È opportuno notare che la frequenza d'uso di queste molecole potrebbe essere superiore a quanto riportato, a causa di variabili nella registrazione dei dati combinati, come evidenziato negli studi di Yalcin-Ulker et al., dove il regime da 1 g due volte al giorno (BID) risulta particolarmente diffuso.

La Terapia Post-operatoria e la Durata del Trattamento

Nel post-operatorio, la tendenza clinica si sposta verso terapie di lunga durata, con il **61,2%** degli intervistati che prescrive l'antibiotico per un periodo compreso tra **5 e 7 giorni**. Anche in questa fase, l'amoxicillina rimane la molecola predominante (**49,2%**), somministrata generalmente al dosaggio di 500 mg TID.

L'associazione amoxicillina/acido clavulanico rappresenta la seconda scelta (**13,7%**), con un dosaggio tipico di 875/125 mg BID per 6 giorni. È interessante rilevare come l'uso prolungato di questi farmaci nel post-operatorio sia uno dei punti di maggiore discussione, poiché spesso eccede le reali necessità cliniche per la prevenzione delle infezioni in pazienti sani.

Vie di Somministrazione

La **via orale** si conferma la scelta elettiva assoluta per la quasi totalità dei professionisti. L'utilizzo di vie alternative, come quella intramuscolare (IM) o endovenosa (IV), rimane un'eccezione marginale (inferiore al **3%**), limitata a casi specifici o all'impiego di molecole alternative come le cefalosporine o la clindamicina.

Alternative Farmacologiche nei Pazienti Allergici alla Penicillina

La gestione dei pazienti che riferiscono allergia alle penicilline mostra una notevole variabilità geografica nei protocolli europei, con una netta distinzione tra l'uso di lincosamidi e macrolidi.

Protocolli Nazionali e Scelte Terapeutiche

In Spagna e nel Regno Unito, la **clindamicina** si conferma il farmaco d'elezione per questa categoria di pazienti, con percentuali di utilizzo che in Spagna raggiungono la totalità del campione analizzato in alcuni studi. Al contrario, in **Italia**, la preferenza clinica si sposta decisamente verso i **macrolidi (84%)**, con la claritromicina come molecola più prescritta (66%).

Il Regno Unito presenta un quadro ancora più diversificato: se per la fase pre-operatoria la clindamicina (600 mg) rimane la prima scelta, nel post-operatorio si osserva un ampio ricorso al **metronidazolo** (200-400 mg TID) o all'eritromicina. È interessante notare come una quota minoritaria di clinici britannici (circa il 14-15%) scelga di non somministrare alcuna profilassi pre-operatoria nei soggetti allergici, riflettendo un approccio più cauto.

Rischi Associati e "Finestra di Selezione dei Mutanti"

La prescrizione sistematica della TAP in pazienti sani deve essere valutata con estrema cautela. Poiché la riduzione del rischio di fallimento implantare è stimata solo al **2%** e l'efficacia nella prevenzione delle infezioni post-operatorie è limitata, il rapporto rischio-beneficio risulta spesso sfavorevole.

Un aspetto critico è legato alla farmacocinetica: per essere efficace, l'antibiotico deve raggiungere una concentrazione ematica che superi di 2-4 volte la **Concentrazione Minima Inibitoria (MIC)** almeno un'ora prima dell'intervento. Errori nel dosaggio o nella tempistica possono creare la cosiddetta "**finestra di selezione dei mutanti**", un intervallo terapeutico in cui i batteri non vengono eradicati ma stimolati a sviluppare resistenze, modificando permanentemente il resistoma orale.

Considerazioni Cliniche e Reazioni Avverse

L'uso estensivo di antibiotici, spesso prolungato in caso di complicanze infettive (nel 93,2% dei casi), espone il paziente a rischi non trascurabili:

- **Reazioni avverse:** Tossicità d'organo, interazioni farmacologiche e reazioni idiosincratice.
- **Disbiosi:** Alterazioni profonde della normale flora batterica delle mucose.
- **Il paradosso dell'allergia:** Recenti evidenze suggeriscono che i pazienti con auto-dichiarata allergia alla penicillina presentano un **rischio di fallimento implantare triplicato**. Non è ancora chiaro se tale dato sia imputabile all'uso della clindamicina (meno efficace o più tossica), alla biologia del paziente allergico o a una combinazione di entrambi i fattori.

In conclusione, la non-prescrizione della TAP potrebbe rappresentare un approccio corretto in pazienti a basso rischio (giovani, non fumatori) o in procedure minimamente invasive, come la chirurgia guidata *flapless*. La necessità di test allergologici precisi appare dunque fondamentale per evitare l'uso superfluo di molecole alternative potenzialmente meno efficaci.

Il Microbiota Perimplantare: Caratteristiche e Topografia

Il microbiota che si sviluppa attorno agli impianti dentali presenta differenze sostanziali rispetto a quello dei denti naturali, sia in condizioni di salute che di patologia. Queste discrepanze sono riconducibili principalmente alla natura delle superfici implantari, che differiscono strutturalmente e chimicamente dai tessuti dentari naturali.

Fattori che influenzano l'adesione batterica

- **Energia superficiale e bagnabilità:** determinano la velocità con cui le proteine salivari e i primi batteri aderiscono.

L'adesione iniziale e la successiva organizzazione del biofilm perimplantare sono regolate da una serie di parametri biofisici della superficie implantare, tra cui:

- **Topografia e rugosità:** influenzano la capacità dei microrganismi di "ancorarsi" e proteggersi dalle forze di taglio meccaniche.
- **Cariche elettrochimiche:** giocano un ruolo nel legame ionico tra le membrane batteriche e il metallo (tipicamente titanio o zirconia).

Inoltre, la peculiare morfogenesi dei tessuti molli perimplantari — meno vascolarizzati e privi di legamento — contribuisce a creare un microambiente che rende il sito implantare intrinsecamente più vulnerabile alle aggressioni microbiche.

Standardizzazione delle zone di colonizzazione

Per una corretta analisi clinica e scientifica, il biofilm perimplantare viene classificato in base alla sua posizione rispetto al margine mucosale:

- **Biofilm Supramucosale:** localizzato al di sopra del margine della mucosa, si sviluppa principalmente sulla componente protesica (corona).
- **Biofilm Sottomucosale:** situato al di sotto del margine mucosale, nella regione transmucosale dell'impianto. In condizioni di salute, questa zona è protetta dal sigillo biologico; in presenza di patologia, diventa il sito primario della disbiosi.

Nei quadri clinici di **perimplantite**, la perdita di supporto osseo e l'eventuale recessione mucosa espongono le spire dell'impianto alla colonizzazione batterica. In questi casi, la distinzione tra biofilm sopra e sottomucosale rimane valida, ma la topografia cambia

drasticamente poiché il biofilm penetra in profondità lungo il corpo dell'impianto, rendendo estremamente difficile la sua decontaminazione meccanica.

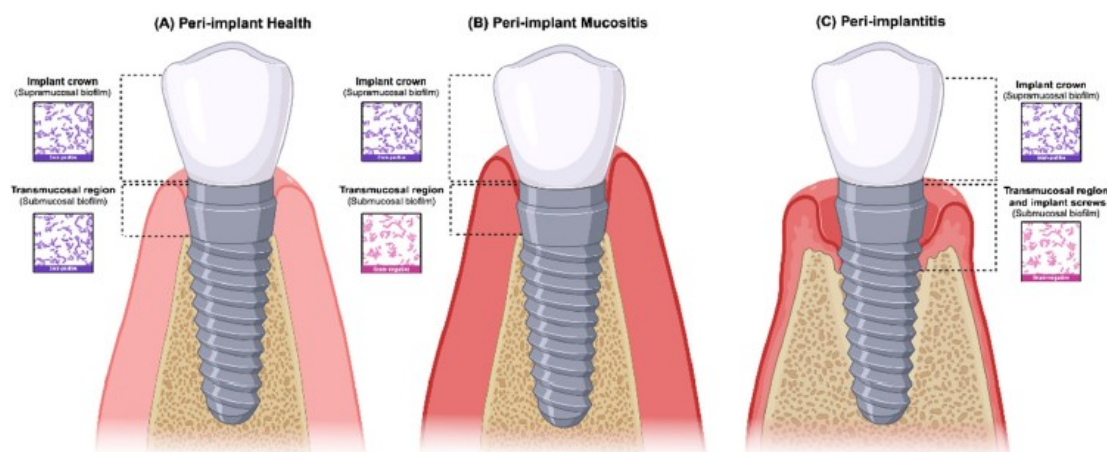


Figure 1. Classification of the peri-implant biofilm in health and disease and the type of microbiota associated with each condition. (A) Peri-implant health: the supramucosal biofilm is located on the implant crown and the submucosal biofilm is located in the transmucosal region. Both supramucosal and submucosal peri-implant biofilm support a unique microbiota dominated by facultative Gram-positive bacteria (peri-implant sulcus); (B) peri-implant mucositis: the supramucosal biofilm is located in the implant crown and the submucosal biofilm is located in the transmucosal region. In peri-implant mucositis, a shift occurs in the submucosal microbiota, harboring a high number of anaerobic Gram-negative bacteria (peri-implant pockets); (C) peri-implantitis: the supramucosal biofilm is located on the implant crown and the submucosal biofilm is located in the transmucosal region and implant screws. In peri-implantitis, the submucosal microbiota hosts abundant anaerobic Gram-negative species (peri-implant pockets). Created with BioRender.com (License number: bAK273B6HQL).

Dinamiche del Biofilm Perimplantare: Oltre la Semplice Colonizzazione

All'interno della cavità orale, il biofilm è definito come una comunità microbica complessa e altamente organizzata, capace di aderire sia alle superfici dentali naturali che a quelle implantari. Questa struttura non è un semplice aggregato di batteri, ma un'entità biologica caratterizzata da un'elevata densità cellulare e immersa in una **matrice extracellulare polimerica (EPS)** autoprodotta. Tale matrice funge da barriera protettiva contro gli agenti esterni ostili — inclusi i farmaci antimicrobici e le difese immunitarie dell'ospite — garantendo al contempo il mantenimento di un equilibrio omeostatico all'interno dell'ecosistema.

Le interazioni tra i microrganismi all'interno del biofilm sono regolate da raffinati sistemi di comunicazione intercellulare noti come "**quorum sensing**". Questo meccanismo permette alla popolazione batterica di coordinare l'espressione genica e le attività metaboliche in base

alla densità cellulare e alle caratteristiche biochimiche dell'ambiente circostante. Di conseguenza, il microbiota orale risulta organizzato sia funzionalmente che strutturalmente: le proprietà della comunità microbica nel suo insieme superano la semplice somma delle singole specie che la compongono.

In questo scenario, la comprensione delle reti di co-occorrenza batterica e delle gerarchie strutturali delle comunità è un passaggio imprescindibile. Analizzare come la **perimplantite** alteri queste reti di interazione è fondamentale per chiarire l'impatto della patologia sul microbiota orale e per sviluppare strategie terapeutiche in grado di ripristinare l'eubiosi.

Genesi e Dinamiche di Colonizzazione del Biofilm Perimplantare

La Pellicola Salivare Acquisita

Il processo di colonizzazione batterica ha inizio immediatamente dopo l'esposizione dell'impianto all'ambiente orale, attraverso l'assorbimento di proteine salivari sulla sua superficie che porta alla formazione della **pellicola salivare acquisita (SAP)**. Questa struttura proteica fornisce i recettori specifici per le adesine presenti sulla superficie cellulare dei microrganismi orali, facilitando l'adesione batterica iniziale.

È interessante notare come la composizione della SAP sulle superfici in titanio differisca significativamente da quella presente sugli elementi dentari naturali. Studi *in vitro* hanno evidenziato che, mentre sulla superficie dentale si riscontrano frequentemente cistatine e mucine a basso peso molecolare, la pellicola formata sul titanio è caratterizzata dalla presenza di **alfa-amilasi, mucine ad alto peso molecolare, proteine ricche di prolina (PRP) e IgA secretorie**. Questa specificità biochimica gioca un ruolo cruciale nel determinare quali specie batteriche si stabiliranno inizialmente sul dispositivo.

Fasi dell'Adesione e Successione Ecologica

La colonizzazione microbica segue una progressione dinamica mediata da forze fisiche e interazioni biologiche:

1. **Adesione Iniziale:** Avviene prevalentemente in aree protette dalle forze di taglio idrodinamiche ed è mediata da interazioni elettrostatiche, forze di van der Waals e legami idrofobici.

2. **Adesione Irreversibile:** Segue il legame specifico tra le proteine della SAP e i recettori batterici.
3. **Maturazione e Co-aggregazione:** Le interconnessioni intercellulari portano alla formazione di microcolonie. In questa fase, le nucleasi e le proteasi regolano la densità del biofilm, permettendo la dispersione delle cellule in stadio planctonico per la colonizzazione di nuovi siti.

Nelle fasi precoci, il biofilm è dominato da cocci Gram-positivi facoltativi e bacilli non mobili. Specie come lo *Streptococcus sanguinis* e l'*Actinomyces naeslundii* figurano tra i primi colonizzatori. Tuttavia, le superfici metalliche degli impianti e i relativi prodotti di dissoluzione locale creano un microambiente unico che sembra favorire una successione ecologica distinta rispetto ai denti naturali, con una minore presenza di *A. naeslundii* e una frequente co-aggregazione con *Veillonella spp.*

Transizione verso la Patologia

La maturazione del biofilm, se non interrotta, porta alla sostituzione dei colonizzatori precoci con specie secondarie più aggressive. Dopo alcune settimane, questo cambiamento qualitativo, se associato a una suscettibilità immunitaria dell'ospite, può innescare la **mucosite perimplantare**.

Il passaggio critico dalla salute (eubiosi) alla malattia (disbiosi) è segnato da un incremento di:

1. **Cocchi Gram-negativi;**
2. **Spirochete;**
3. **Bacilli mobili.**

Questa transizione microbica è particolarmente evidente nel comparto sottomucosale. Nonostante le analogie con il biofilm dentale, quello perimplantare appare qualitativamente meno eterogeneo ma potenzialmente più pericoloso. La fragilità strutturale dei tessuti perimplantari — caratterizzati da una vascolarizzazione ridotta e da un solco più profondo — rende l'impianto, anche se perfettamente integrato, intrinsecamente più vulnerabile alle infiltrazioni batteriche e alla successiva distruzione tissutale.

Il Profilo Microbico Perimplantare: Dalla Salute alla Disbiosi

Sebbene la letteratura riporti dati talvolta discordanti sulla ricchezza del microbiota, studi recenti suggeriscono l'esistenza di un "core" microbiotico strutturato in modo caratteristico a seconda dello stato di salute o di malattia. La transizione dal solco sano alla tasca patologica [5] è legata a variazioni batteriche influenzate non solo da fattori locali, ma anche da variabili sistemiche e comportamentali, quali la salute generale del paziente, l'area geografica, il fumo e la dieta.

Evoluzione delle Tecniche di Indagine

Storicamente, la caratterizzazione del microbiota perimplantare si è basata su analisi colturali e microscopia in campo oscuro. Tuttavia, questi metodi presentavano limiti intrinseci, poiché molti microrganismi orali sono difficili da coltivare *in vitro*. L'avvento delle moderne **tecniche molecolari** (come il sequenziamento del gene 16S rRNA) ha permesso di superare questi ostacoli, fornendo una panoramica dettagliata della diversità microbica e identificando taxa precedentemente sconosciuti.

Il Microbiota in Condizioni di Salute

In uno stato di eubiosi, il microbiota perimplantare è composto prevalentemente da cocchi Gram-positivi e bacilli non mobili, con una presenza minima di specie anaerobiche Gram-negative.

- **Comparto Sopramucosale:** Sebbene meno studiato, questo ambiente vede la prevalenza di specie come *Prevotella multiformis*, *Kingella oralis*, *Actinomyces massiliensis* e *Lautropia mirabilis*, considerate indicatori di equilibrio nelle comunità sane.
- **Comparto Sottomucosale:** Rappresenta il principale gruppo di controllo nella ricerca clinica. Le specie più frequentemente identificate includono diversi ceppi di *Streptococcus* (*S. sanguinis*, *S. salivarius*, *S. oralis*), *Actinomyces* (*A. naeslundii*, *A. oris*, *A. meyeri*), *Veillonella spp.*, *Rothia* (*R. dentocariosa*, *R. aeria*) e generi quali *Neisseria*, *Haemophilus* e *Capnocytophaga*.

È importante notare che anche in un solco sano possono essere presenti, in proporzioni molto ridotte, patogeni parodontali classici come *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*. Tuttavia, in pazienti con igiene orale ottimale e stabilità parodontale, la semplice presenza di questi patogeni non

compromette il successo clinico, dimostrando che la salute è determinata più dall'equilibrio complessivo della comunità microbica (omeostasi) che dalla totale assenza di batteri "cattivi".

Conclusioni sul Profilo di Salute

Nonostante la crescente mole di dati, la definizione di un "microbiota centrale" (core microbiome) definitivo per gli impianti sani rimane ancora oggetto di studio. Questo suggerisce che, oltre alla colonizzazione iniziale, esistono dinamiche ecologiche e fattori legati all'ospite ancora da chiarire per comprendere appieno la suscettibilità alle infezioni.

Le Patologie Perimplantari: Un'Eziologia Polimicrobica ed Endogena

La **mucosite perimplantare** e la **perimplantite** sono attualmente classificate come patologie infettive non specifiche, eterogenee e di natura polimicrobica. A differenza di altre infezioni, queste malattie presentano una componente endogena predominante, derivante dalla rottura dell'equilibrio tra l'ospite e il microbiota residente. La letteratura scientifica ha ampiamente documentato le variazioni del microbiota associate a queste condizioni, evidenziando come la gravità del quadro clinico rifletta la complessità dell'ecosistema batterico sottostante.

Per una migliore comprensione didattica e clinica, i profili microbiologici riportati negli studi vengono generalmente suddivisi in base allo stadio della malattia:

- **Mucosite Perimplantare:** Caratterizzata da una fase iniziale di disbiosi in cui la flora simbiote viene gradualmente sostituita da ceppi più virulenti, pur rimanendo confinata ai tessuti molli.
- **Perimplantite:** Rappresenta lo stadio avanzato dell'infezione, in cui la diversità tassonomica aumenta ulteriormente verso specie anaerobiche obbligate, portando alla distruzione dei tessuti di supporto osseo.

Table 1. Most prevalent microorganisms identified in the supramucosal and submucosal microbiota associated with peri-implant health and disease.

	Supramucosal	Submucosal
		<i>A. massiliensis</i> <i>A. meyeri</i> <i>A. naeslundii</i> <i>A. oris</i> <i>Actinomyces</i> sp. Actinomycetia class Bacilli class (genus <i>Granulicatella</i>) <i>C. sputigena</i> <i>C. matruchotii</i> <i>E. corrodens</i> Epsilonproteobacteria class (genus <i>Campylobacter</i>) <i>Fusobacterium</i> sp. Gammaproteobacteria class (genus <i>Vibrio</i>) genus <i>Acinetobacter</i> genus <i>Bradyrhizobium</i> genus <i>Dialister</i> genus <i>Filifactor</i>
Peri-implant Health [22,33,44,58,88–94,104]	<i>A. massiliensis</i> <i>K. oralis</i> <i>L. mirabilis</i> <i>P. multiformis</i>	

Microbiota centrale dei diversi stati perimplantari (salute, mucosite, perimplantite). Adattato da: Ríos-Osorio N et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Supramucosal	Submucosal
	genus <i>Mogibacterium</i> genus <i>Paludibacter</i> genus <i>Propionibacterium</i> genus <i>Staphylococcus</i> <i>H. parainfluenzae</i> <i>L. hofstadii</i> <i>L. wadei</i> <i>M. salivarium</i> <i>Neisseria</i> sp. <i>P. melaninogenica</i> <i>R. aeria</i> <i>R. dentocariosa</i> <i>Rothia</i> sp. <i>S. oralis</i> <i>S. salivaris</i> <i>S. sanguinis</i> <i>Streptococcus</i> sp. <i>V. dispar</i> <i>Veillonella</i> sp.
Peri-implant mucositis [89,105–108]	- <i>A. gerencseriae</i> <i>C. rectus</i> <i>C. ochracea</i> <i>D. pneumosintes</i> <i>Fusobacterium</i> sp. Genera <i>Fusobacterium</i> Genera <i>Prevotella</i> <i>P. micros</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. denticola</i> <i>P. intermedia</i> <i>T. forsythia</i> <i>T. denticola</i>

Via infiammatoria delle patologie perimplantari. Adattato da: Ríos-Osorio N et al., *J Periodontal Implant Sci*, 2025 [15].

Supramucosal	Submucosal
	<i>Neisseria</i> sp. <i>Peptostreptococcus</i> sp. <i>P. endodontali</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. nigrescens</i> <i>P. oris</i> <i>Porphyromonas</i> spp. HOT-395 <i>P. intermedia</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Spirochaetes</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> Synergistia class (species <i>Synergistetes</i> spp. HOT-360) <i>T. forsythia</i> <i>Tenericutes</i> spp. <i>T. denticola</i> <i>T. maltophilum</i>

Principali citochine anti-infiammatorie coinvolte nelle patologie perimplantari. Adattato da: Ríos-Osorio N et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15].

Peri-implantitis [18,22,23,31,58,72,81,83,90,95,104,107-121]	-	Actinobacteria class (genus <i>Micrococcus</i>)
		<i>A. actinomycetemcomitans</i>
		Bacteroidia class
		<i>Candida</i> sp.
		<i>C. leadbetteri</i>
		<i>Chloroflexi</i> spp.
		Clostridia class (species <i>Catonella morbi</i> and <i>Clostridiales</i> spp.
		HOT-093)
		Deltaproteobacteria class
		<i>D. invisus</i>
		<i>E. aerogenes</i>
		<i>E. cloacae</i>
		Epstein-Barr virus
		<i>E. coli</i>
		<i>E. saphenum</i>
		<i>F. alocis</i>
		<i>F. fastidiosum</i>
		<i>Fretibacterium</i> HMT 360
		<i>F. nucleatum</i>
		Gammaproteobacteria (genus <i>Moraxella</i> and <i>Acinetobacter</i>)
		class
		<i>H. pylori</i>
		Human cytomegalovirus
		<i>L. lactis</i>
		<i>Mitsuokella</i> spp. HOT 131

Principali citochine pro-infiammatorie coinvolte nelle patologie perimplantari. Adattato da: Ríos-Osorio N et al., J Periodontal Implant Sci, 2025 [15]

L'Interazione tra Sistema Immunitario e Microbiota Perimplantare

Il mantenimento della salute perimplantare non dipende esclusivamente dall'assenza di patogeni, ma dall'equilibrio dinamico tra il sistema immunitario dell'ospite e il biofilm residente. Quando questo equilibrio si rompe, si instaura un circolo vizioso in cui la disbiosi microbica e l'infiammazione sostenuta si alimentano a vicenda, accelerando la progressione della perimplantite.

Meccanismi di Difesa: Immunità Innata e Adattativa

La risposta immunitaria si articola in due linee difensive complementari:

- **Immunità Innata:** Rappresenta la prima linea di difesa immediata e aspecifica. Include barriere biochimiche come la saliva e i peptidi antimicrobici, oltre a cellule specializzate come macrofagi e neutrofili, capaci di riconoscere pattern microbici comuni e intervenire rapidamente per tentare di eliminare l'insulto batterico.
- **Immunità Adattativa:** È una risposta specifica e dotata di memoria, mediata dai linfociti. I linfociti B producono anticorpi mirati, mentre i linfociti T coordinano l'immunità cellulare. Sebbene richieda più tempo per attivarsi dopo il primo contatto, garantisce risposte estremamente efficaci e rapide in caso di esposizioni successive.

La Cascata Infiammatoria e la Distruzione Tissutale

La migrazione dei leucociti polimorfonucleati verso il sito perimplantare è stimolata dai sottoprodotti batterici, innescando vasodilatazione e il rilascio di citochine pro-infiammatorie. Tuttavia, il biofilm può "ingannare" queste difese creando barriere fisiche (la matrice extracellulare) che impediscono l'ingresso delle cellule immunitarie, portando a un'infiammazione cronica.

Lo sforzo persistente del sistema immunitario per eradicare il biofilm causa una deregolazione infiammatoria mediata da macrofagi, cellule dendritiche e mastociti. I neutrofili, pur essendo essenziali, possono paradossalmente diventare agenti distruttivi: stimolano la liberazione di mediatori come l'interleuchina-1 (IL-1) e il TNF-alpha, che attivano i processi osteolitici a carico dell'osso alveolare.

Studi biochimici confermano che nel fluido crevicolare di siti con perimplantite si riscontrano concentrazioni significativamente elevate di:

- **Citochine:** IL-1beta, IL-6, IL-8 e TNF-alpha.

- **Fattori di crescita e regolatori:** VEGF, OPG e l'inibitore delle metalloproteinasi-2 (TIMP-2).

Efficacia vs Impatto Ecologico: Il Dilemma degli Antibiotici

In questo scenario immunologico, l'uso degli antibiotici presenta un delicato bilancio tra benefici e rischi. Se da un lato l'antimicrobico mira a ridurre il carico batterico per alleviare la pressione sul sistema immunitario, dall'altro può causare una **disbiosi iatrogena**.

L'alterazione dell'equilibrio della comunità microbica residente può, paradossalmente, favorire la colonizzazione da parte di specie più resistenti o patogene nel tempo, complicando ulteriormente il quadro clinico e la gestione della salute perimplantare a lungo termine.

L'Antimicrobico-Resistenza (AMR) e il Ruolo del Resistoma Orale

Il fenomeno della resistenza antimicrobica (AMR) rappresenta una delle sfide sanitarie più critiche del nostro secolo, con un impatto stimato di circa **1,2 milioni di decessi annui** a livello globale. Oltre alla minaccia diretta per la vita umana, l'AMR comporta un onere economico imponente: nella sola Unione Europea, i costi correlati al trattamento delle infezioni resistenti e alla perdita di produttività ammontano a circa **1,5 miliardi di euro ogni anno**.

Meccanismi di Diffusione e Serbatoi Genetici

Per contrastare efficacemente l'AMR, è prioritario mappare i serbatoi di geni di resistenza agli antimicrobici (**ARGs**) e comprenderne le vie di diffusione tra ambiente, animali e strutture ospedaliere. L'acquisizione della resistenza batterica avviene principalmente attraverso due percorsi:

- **Mutazioni cromosomiche** spontanee.
- **Trasferimento Genico Orizzontale (HGT)**: è la via prevalente e avviene tramite elementi genetici mobili (come plasmidi o trasposoni) che trasmettono gli ARGs tra diverse specie batteriche.

La Cavità Orale come Serbatoio di ARGs

Il microbiota orale, caratterizzato da oltre **1.000 taxa microbici** organizzati in complessi biofilm, costituisce un ambiente ideale per l'HGT a causa dell'estrema vicinanza cellulare tipica della placca batterica. È fondamentale notare che il cavo orale non è un sistema isolato: i microbi orali e i relativi ARGs possono migrare verso l'intestino, diffondersi nel flusso ematico o essere trasmessi ad altri individui tramite il distacco di flocculi di biofilm.

Sebbene il microbiota in stato di salute presenti già una ricca dotazione di ARGs, i cambiamenti indotti dalla **disbiosi** (come in caso di carie o parodontite) possono alterare profondamente la composizione del **resistoma** — l'insieme totale dei geni di resistenza presenti in un determinato ecosistema.

Obiettivi e Metodologia della Ricerca

Partendo dall'ipotesi che il biofilm orale sia un serbatoio diversificato di resistenza condizionato dallo stato patologico del sito, questo studio si propone di analizzare le differenze nel resistoma tra tre gruppi di individui:

- **Sani (H)**
- **Con carie attiva (C)**
- **Con parodontite cronica (P)**

L'approccio metodologico integra l'**analisi metagenomica shotgun** (per una caratterizzazione genotipica di diversità e abbondanza degli ARGs) con le **tecniche culturali tradizionali**, volte a verificare l'espressione fenotipica della resistenza e collegarla a specifiche specie microbiche.

Il Microbiota Orale come Serbatoio di Resistenza

L'indagine condotta su un campione di 179 partecipanti ha permesso di mappare il resistoma orale attraverso un approccio combinato di **sequenziamento metagenomico shotgun** e **analisi culturale**. I risultati confermano l'ipotesi che il microbiota orale funga da vasto serbatoio di geni di resistenza antimicrobica (ARGs), organizzati in specifici "resistotipi" correlati allo stato clinico del soggetto (Salute, Carie o Parodontite).

1. Caratterizzazione Tassonomica per Condizione Orale

L'analisi ha rivelato composizioni microbiche distintive per ciascun gruppo, confermando la natura polimicrobica delle patologie orali:

1. **Salute (H):** Caratterizzata dalla dominanza di *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Veillonella* e *Neisseria*. Quest'ultima, insieme al phylum *Proteobacteria*, si conferma come marcatore biologico dello stato di salute.
2. **Carie (C):** Mostra un arricchimento di *Veillonella*, *Prevotella* e *S. mutans*, riflettendo la struttura della placca cariogena.
3. **Parodontite (P):** Presenta un'elevata abbondanza di taxa patogeni quali *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia*.

2. Il Paradosso della Resistenza negli Individui Sani

Contrariamente alle aspettative cliniche tradizionali, la prevalenza degli ARGs è risultata massima nel gruppo sano (H) e significativamente superiore rispetto al gruppo parodontite

(P). Questo dato suggerisce che i **batteri commensali** (come gli streptococchi non-mutans: *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pneumoniae*) fungano da principali custodi genetici per la resistenza a tetracicline, macrolidi e fluorochinoloni.

3. Concordezza tra Genotipo e Fenotipo

Lo studio ha evidenziato una concordanza del **60%** tra la presenza di geni di resistenza e l'effettiva resistenza fenotipica misurata tramite E-test.

- **Resistenze Prevalenti:** Macrolidi-lincosamidi (azitromicina, clindamicina), fluorochinoloni (ciprofloxacina) e beta-lattamici (penicillina).
- **Dati Critici:** È stata rilevata una percentuale significativa di isolati resistenti alla **colistina** (un antibiotico di riserva) e alla tigeciclina, evidenziando un potenziale rischio per la gestione di infezioni sistemiche gravi.

4. Analisi Critica delle Metodologie

La discordanza riscontrata in alcuni casi tra dati metagenomici e fenotipici (es. per le tetracicline o la fosfomicina) è attribuibile a diversi fattori tecnici:

- **Espressione Genica:** Un batterio può possedere un ARG che non viene espresso fenotipicamente.
- **Limiti Metodologici:** Il sequenziamento shotgun può non rilevare specie a bassissima abbondanza o mutazioni puntiformi specifiche senza una ricostruzione genomica completa.
- **Elementi Mobili:** Geni codificati su plasmidi rendono difficile l'attribuzione della resistenza a una singola specie tramite sola metagenomica.

Conclusioni e Implicazioni Cliniche

La cavità orale non è un sistema isolato. La capacità dei batteri orali di migrare verso altri siti corporei (come l'intestino o il flusso ematico) trasforma il resistoma orale in una potenziale fonte di diffusione sistemica dell'antimicrobico-resistenza.

Alla luce di queste evidenze, emerge la necessità di:

1. **Stewardship Antibiotica:** Un uso estremamente prudente degli antibiotici in odontoiatria, limitandoli ai casi di reale necessità clinica.
2. **Nuova Ricerca:** Approfondire i meccanismi di trasferimento genico orizzontale (HGT) all'interno del biofilm, dove la vicinanza cellulare facilita lo scambio di elementi genetici mobili.

In conclusione, la salute dell'impianto e dell'intero organismo richiede una gestione del microbiota che non si limiti alla sola eliminazione dei patogeni, ma che consideri la protezione dell'eubiosi e la prevenzione della selezione di ceppi multi-resistenti.

Valutazione Clinica a Lungo Termine: Oltre il Successo Implantare

La letteratura scientifica e le meta-analisi prevalenti si sono storicamente concentrate sulla prevenzione del **fallimento precoce** degli impianti, inteso come perdita del dispositivo nelle prime fasi della guarigione. Tuttavia, un approccio clinico moderno richiede di spostare l'attenzione sull'impatto a lungo termine che i protocolli antibiotici esercitano sulla salute dei tessuti peri-implantari.

Parametri Clinici come Predittori di Salute

Per determinare l'efficacia reale di un regime antibiotico, non è sufficiente valutare la sola sopravvivenza dell'impianto. È essenziale monitorare gli indici clinici che fungono da sentinelle per le complicanze infiammatorie (mucosite e perimplantite):

- **Indice di Placca (PI) e Indice Gengivale (GI):** indicatori del controllo del biofilm e dell'infiammazione superficiale.
- **Sanguinamento al Sondaggio (BoP):** il principale indicatore clinico di attività patologica nei tessuti molli.
- **Profondità di Sondaggio (PPD):** parametro fondamentale per valutare l'integrità del sigillo biologico e la stabilità dei livelli ossei.

Il Gap nella Letteratura: Dose Singola vs Regimi Prolungati

Sebbene revisioni autorevoli [3] suggeriscano che una singola dose pre-operatoria sia sufficiente e che non vi sia alcun beneficio dimostrato nell'estendere la profilassi nel post-operatorio [8], persiste una lacuna significativa nella ricerca. Pochi studi [6] hanno analizzato come la durata dell'esposizione antibiotica influenzi la **resilienza del sigillo biologico** a distanza di mesi. [11]

Esiste infatti il rischio teorico che regimi antibiotici prolungati, alterando il microbiota commensale e potenzialmente il resistoma orale (come documentato nella sezione precedente), possano paradossalmente rendere i tessuti più vulnerabili a colonizzazioni da parte di specie opportuniste resistenti, influenzando negativamente la stabilità dei tessuti molli nel tempo.

RAZIONALE DELLO STUDIO E CONTESTO OPERATIVO

In sintesi, la letteratura scientifica evidenzia chiaramente l'importanza del ripristino tissutale e della stabilità microbica per il successo a lungo termine degli impianti, ma al contempo rivela importanti lacune cliniche. Permane, infatti, una controversia fondamentale sulla durata ottimale della profilassi antibiotica: mentre le linee guida più recenti raccomandano una singola dose pre-operatoria, la pratica clinica in molti Paesi, tra cui l'Italia, predilige ancora regimi peri-operatori più estesi. [16]

In questo scenario, la necessità di un approccio più sofisticato e responsabile appare impellente, specialmente alla luce dell'emergenza globale dell'antibiotico-resistenza (AMR). Poiché la comprensione di come i diversi protocolli antibiotici (lungo vs. breve termine) influenzino la selezione dei geni di resistenza (resistoma) e il delicato equilibrio del microbiota e microbioma orale è ancora limitata, il presente studio si propone di fornire evidenze cliniche, microbiologiche e molecolari di alto livello attraverso un trial clinico randomizzato (RCT). L'obiettivo è colmare le attuali incertezze per guidare protocolli clinici futuri più prudenti e scientificamente fondati.

OBIETTIVI DELLA TESI

Il presente lavoro si pone i seguenti obiettivi:

Obiettivo Principale

L'obiettivo primario dello studio è valutare e confrontare l'efficacia e l'impatto di due distinte modalità di somministrazione di Amoxicillina — una terapia a lungo termine (long-span) rispetto a una profilassi a dose singola pre-operatoria (short-span) — sulla sopravvivenza a lungo termine degli impianti dentali, sulla salute dei tessuti peri-implantari e sull'ecosistema microbico orale, inclusa la resistenza microbica.

Obiettivi Specifici

- **Valutazione dell'impatto clinico** : monitorare l'andamento degli indici di salute peri-implantare, inclusi l'Indice di Placca (PI), il Sanguinamento al Sondaggio (BoP), la Profondità di Sondaggio (PPD) e la presenza di suppurazione. Verranno inoltre misurati il riassorbimento osseo marginale (MBL)
- **Analisi del microbiota orale: identificare e quantificare le variazioni nel microbiota crevicolare peri-implantare (batterico e fungino) e nel resistoma orale, indotte dai due diversi protocolli antibiotici, mediante sequenziamento NGS del gene 16S rRNA e valutazione della suscettibilità fenotipica ad amoxicillina (test di Kirby-Bauer), per comprendere in che misura la durata dell'assunzione di antibiotico influenzi la disbiosi e la selezione di ceppi antibiotico-resistenti.**

CAPITOLO 2. MATERIALI E METODI

1. Disegno dello Studio

Il presente progetto di ricerca è configurato come un trial clinico controllato randomizzato (RCT) multicentrico, approvato dal Comitato Etico Territoriale di regione Liguria e da AIFA (Measure EU CT 2023-510391-31-00 ID IN 17239) e finanziato nell'ambito del programma PRIN PNRR 2022 (NextGenerationEU). La sperimentazione clinica e di laboratorio vede la cooperazione sinergica tra le Unità di Ricerca dell'Università di Genova (centro coordinatore per la fase clinica), dell'Università di Torino e dell'Università di Milano.

L'Unità di Ricerca dell'Università di Torino (UniToRU, prof. Federico Mussano) si è occupata dello sviluppo di un modello osseo tridimensionale basato su un bioreattore microfluidico, in grado di replicare il processo di guarigione ossea di ciascun paziente a partire dalle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) prelevate al momento dell'intervento chirurgico nei primi 30 pazienti arruolati; tale modello ha permesso di valutare l'effetto dell'amoxicillina sull'osteoclastogenesi e sull'osteoblastogenesi. L'Unità di Ricerca dell'Università di Milano (UniMiRU, prof. Giovanni Damiani) ha condotto l'analisi statistica dei dati clinici raccolti da UniGeRU e l'analisi dei microRNA salivari (miRNomica) sui campioni di saliva prelevati da UniGeRU, con l'obiettivo di identificare potenziali biomarcatori di mucosite e perimplantite. Nella presente tesi sono riportati i risultati preliminari relativi alla sola Unità di Ricerca dell'Università di Genova (UniGeRU), incentrata sulla fase clinica dello studio e sull'analisi del microbiota del fluido crevicolare peri-implantare.

L'obiettivo primario dello studio consiste nella valutazione comparativa dell'efficacia di due differenti protocolli di prescrizione antibiotica per os sulla salute dei tessuti peri-implantari,

nonché sul monitoraggio longitudinale della stabilità del microbiota del cavo orale e della resistenza microbica. Il disegno sperimentale si articola secondo una sequenza temporale standardizzata, dettagliata nel cronoprogramma operativo riportato nella Tabella 1.

Tabella 1: Cronoprogramma Operativo del Progetto di Ricerca

Fase	Intervallo Temporale	Diagnostica e Protocolli di Laboratorio	Procedura Clinica
-1 Set.	-1 Settimana	CBCT di pianificazione, prelievo di fluido crevicolare (GCF) mediante 6 coni di carta, prelievo di saliva e test di sensibilità all'antibiotico (AST)	Screening iniziale, ablazione del tartaro ed igiene orale professionale
T0	Fase Chirurgica	Esame radiografico periapicale basale*	Inserimento implantare con approccio chirurgico one-stage
T2	2 Mesi	Secondo prelievo di GCF mediante 6 coni di carta, prelievo di saliva e test di sensibilità all'antibiotico (AST)	Monitoraggio clinico della guarigione dei tessuti molli peri-implantari
T4	4 Mesi	Rilevamento delle scansioni intraorali definitive; registrazione degli indici di salute peri-implantare (PI, BoP, PD, suppurazione, sanguinamento spontaneo, recessione)	Valutazione della stabilità clinica peri-implantare
T4.5	4.5 Mesi	Radiografie digitali periapicali	Adattamento protesico, calibrazione oclusale e gnatologica; consegna e avvitamento della protesi definitiva in Zirconia (connessione protesica avvitata)
T6	6 Mesi	Terzo prelievo di GCF mediante 6 coni di carta e test di sensibilità all'antibiotico (AST)	Follow-up clinico post-carico protesico; igiene orale professionale
T7.5	7.5 Mesi	Rilevamento degli indici clinici parodontali e peri-implantari (PI, BoP, PD, suppurazione, sanguinamento spontaneo, recessione)	Monitoraggio peri-implantare longitudinale
T10.5	10.5 Mesi	Radiografie digitali periapicali; rilevamento degli indici clinici parodontali e peri-implantari (PI, BoP, PD, suppurazione, sanguinamento spontaneo, recessione)	Monitoraggio peri-implantare longitudinale
T12	12 Mesi	—	Follow-up clinico annuale dalla fase chirurgica; igiene orale professionale
T16.5	16.5 Mesi (12 mesi dopo la protesizzazione)	Analisi del livello osseo marginale mediante radiografie endorali (MBL); indice di sopravvivenza implantare (CSR); rilevamento degli indici clinici parodontali e peri-implantari	Follow-up finale (12 mesi dall'applicazione del carico protesico)

(PI, BoP, PD, suppurazione, sanguinamento spontaneo, recessione); registrazione di eventuali complicanze

Legenda: GCF: Gingival Crevicular Fluid (Fluido Crevicolare Gengivale); AST: Antibiotic Susceptibility Test (Test di Sensibilità Antibiotica); MBL: Marginal Bone Loss (Perdita Ossea Marginale); PI: Plaque Index (Indice di Placca); BoP: Bleeding on Probing (Sanguinamento al Sondaggio); PD: Probing Depth (Profondità di Sondaggio); CSR: Cumulative Survival Rate (Indice di Sopravvivenza Implantare Cumulativo).

2. Selezione del Campione e Inquadramento Clinico

Per la conduzione della presente ricerca è stato reclutato un campione complessivo di 84 pazienti, i quali hanno espresso il proprio consenso informato scritto, dopo essere stati accuratamente informati relativamente agli obiettivi e alla metodologia di questo studio.

La coorte è stata suddivisa in due bracci sperimentali: un gruppo *short-span* (n = 43) e un gruppo *long-span* (n = 41).

Criteri di Inclusione:

- Soggetti di età pari o superiore a 18 anni.
- Piena capacità legale e cognitiva di comprendere il protocollo e fornire il consenso informato.
- Stato sistemico generale classificato come ASA I o ASA II (secondo la *American Society of Anesthesiologists*).
- Condizione di salute parodontale stabilizzata (pazienti parodontalmente sani o affetti da parodontite trattata con successo e posta in terapia di supporto, in accordo con la Classificazione Internazionale del 2017, Caton et al, J Clin Periodontol 2018).
- Necessità clinica di riabilitazione impianto-protetica singola o parziale nei settori posteriori (premolari/molari).
- Presenza di siti edentuli che presentino una guarigione ossea e tessutale da almeno 4 mesi dall'estrazione dell'elemento dentario nativo.
- Disponibilità di osso residuo nativo con altezza minima di 10 mm e larghezza della cresta alveolare non inferiore a 7 mm.
- Volume osseo tridimensionale idoneo a garantire il corretto inserimento dell'impianto senza ricorso a tecniche di rigenerazione ossea guidata (GBR) o innesti.
- Totale compliance e disponibilità del soggetto a presenziare a tutte le sedute di follow-up previste dal protocollo.
- Suddivisione e categorizzazione del campione in base all'abitudine tabagica: soggetti non fumatori, fumatori leggeri (fino a 10 sigarette/die) e forti fumatori (oltre 11 sigarette/die).

Criteri di Esclusione:

3. Presenza di patologie sistemiche non compensate o scarsamente controllate (es. diabete mellito scompensato, patologie cardiovascolari severe).
4. Stati patologici o farmacologici di immunodepressione o immunocompromissione grave.
5. Storia clinica di radioterapia terapeutica somministrata nel distretto maxillo-facciale o testa-collo.
6. Presenza di parodontite in fase attiva o scarsa igiene orale, evidenziata da un indice di placca (PI) superiore al 20%.
7. Stato di gravidanza accertata o di allattamento in corso.
8. Ipersensibilità o allergia nota alle penicilline o ad altre molecole antibiotiche equivalenti.
9. Terapia farmacologica pregressa o in corso con ammino-bisfosfonati somministrati per via endovenosa (o altre terapie correlate ad alto rischio di osteonecrosi dei mascellari).
10. Dipendenza o abuso conclamato di sostanze alcoliche o stupefacenti.
11. Presenza di foci infettivi acuti, ascessualizzazioni o suppurazioni attive nel sito chirurgico d'interesse.
12. Necessità clinica di interventi concomitanti di aumento del volume osseo, quali rigenerazione ossea guidata (GBR), grande o piccolo rialzo del seno mascellare (*sinus lift*) o tecniche di espansione di cresta (*split crest*).

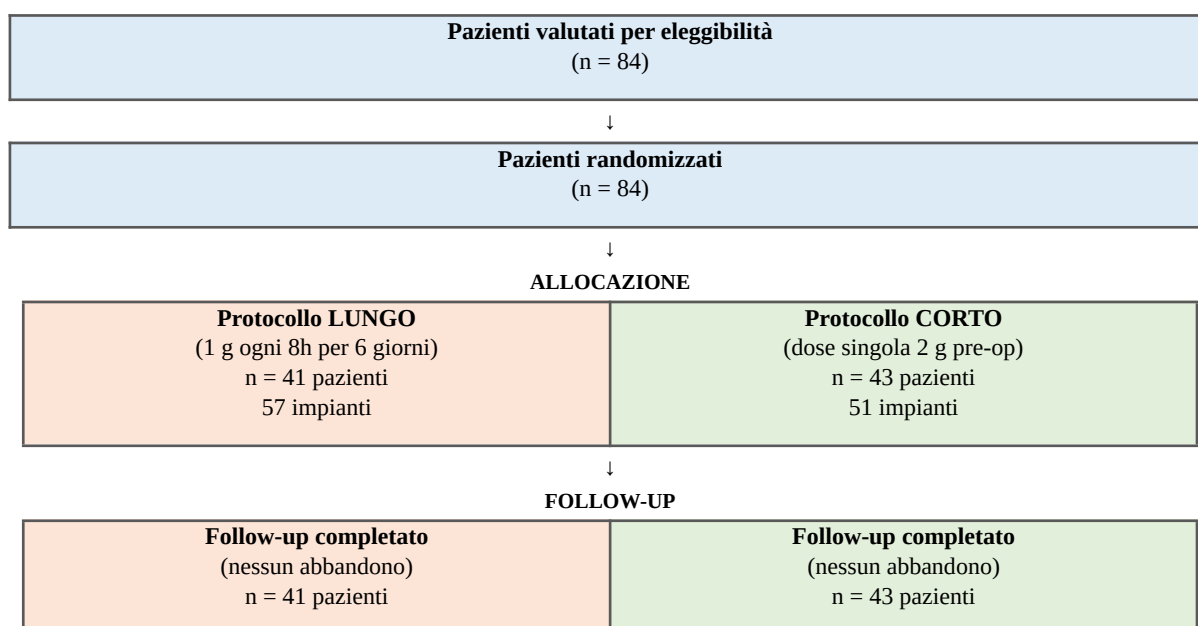
3. Protocolli Antibiotici e Randomizzazione

I pazienti inclusi nello studio sono stati assegnati in modo casuale, tramite una sequenza di randomizzazione generata al computer, a uno dei seguenti due bracci di trattamento antibiotico sistemico:

- **Gruppo Long-span:** Somministrazione per via orale di Amoxicillina (1 g ogni 8 ore), a partire dalle 24 ore precedenti l'intervento chirurgico e proseguendo per i 5 giorni successivi alla chirurgia (terapia post-operatoria).
- **Gruppo Short-span:** Somministrazione per via orale di Amoxicillina (2 g in un'unica somministrazione), effettuata un'ora prima dell'inizio della procedura chirurgica (profilassi peri-operatoria in bolo singolo).

Tutti i soggetti appartenenti a entrambi i bracci sperimentali hanno integrato la terapia sistemica con un protocollo antisettico topico, consistente in sciacqui orali con un collutorio a base di Clorexidina digluconato allo 0.12%, da eseguirsi due volte al giorno per la durata di 10 giorni post-intervento.

DIAGRAMMA CONSORT



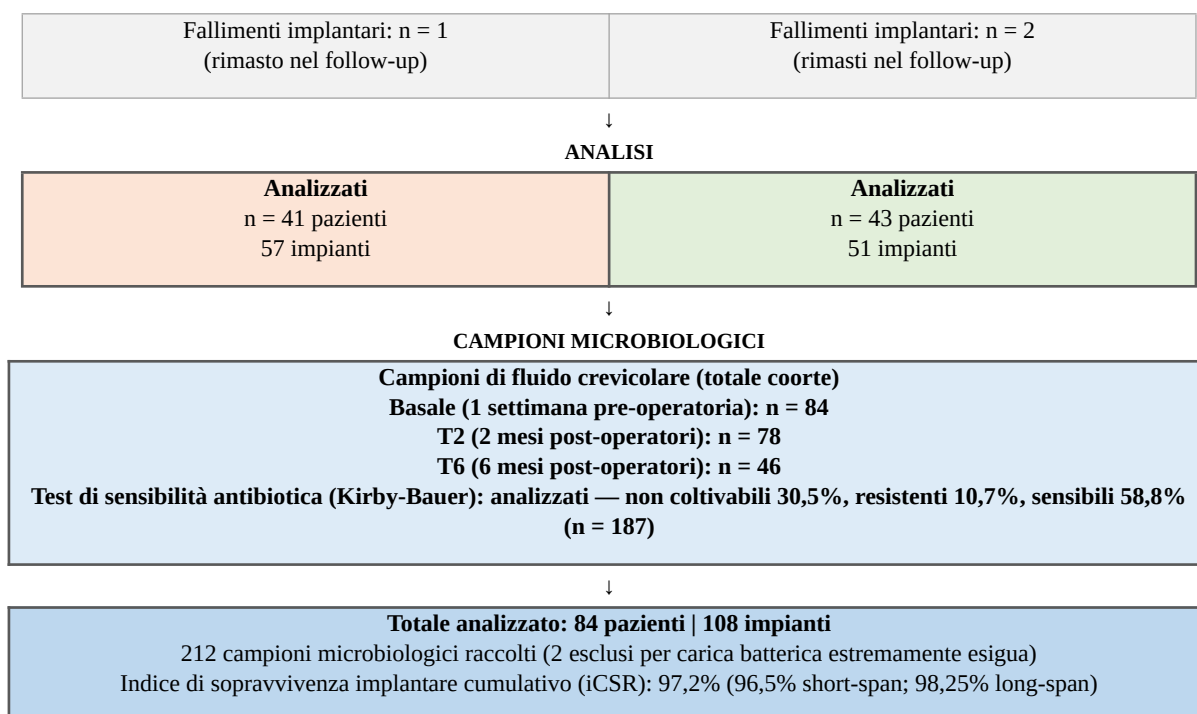


Figura CONSORT. Flow-chart dei pazienti inclusi nello studio. 84 pazienti arruolati e randomizzati: 43 al protocollo corto (51 impianti) e 41 al protocollo lungo (57 impianti). Nessun abbandono. 108 impianti totali analizzati (3 fallimenti: 2 short-span, 1 long-span; iCSR 97,2%). 212 campioni microbiologici raccolti, 2 esclusi per carica batterica estremamente esigua. Dati desunti dalla Relazione Tecnico-Scientifica del progetto PRIN.

4. Procedure Chirurgiche e Protesiche

Tutti gli atti chirurgici sono stati condotti da operatori clinici esperti. Complessivamente sono stati inseriti 108 impianti dentali (51 nel gruppo short-span e 57 nel gruppo long-span).

Al fine di azzerare le variabili legate al dispositivo medico, tutti i pazienti hanno ricevuto impianti caratterizzati da macro- e micro-struttura identiche (NobelActive TiUltra NP o RP, Nobel Biocare), realizzati in titanio di grado 4 commercialmente puro con superficie anodizzata a porosità graduale ed elevata idrofilia.

L'approccio chirurgico adottato è stato di tipo *one-stage*, associato a un protocollo di carico ritardato (*delayed loading*); tale metodica ha previsto l'esposizione transmucosa dell'impianto

mediante l'inserimento contestuale della vite di guarigione, evitando un secondo intervento di riapertura.

A una distanza di 4 mesi dalla fase chirurgica, previa verifica della stabilità clinica, è stata rilevata l'impronta ottica definitiva mediante l'utilizzo di uno scanner intraorale. I pazienti sono stati successivamente riabilitati mediante manufatti protesici definitivi fissi in zirconia (corone singole o ponti parziali), solidarizzati agli impianti tramite connessione protesica avvvitata.

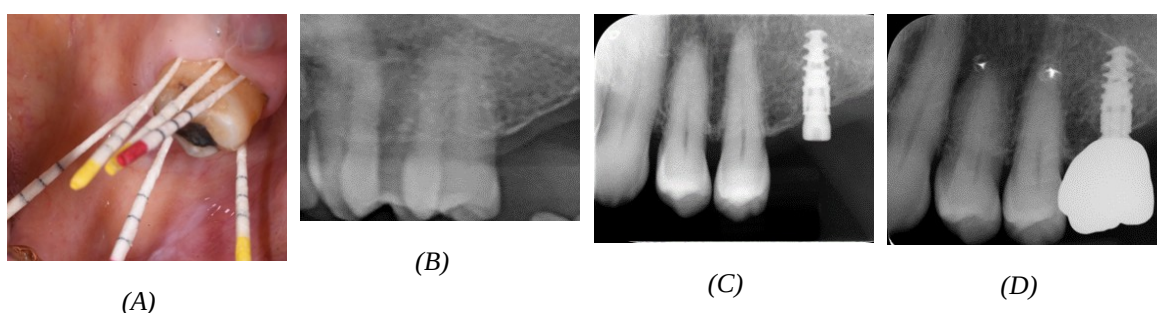


Figura 1. Paziente 1 (esempio rappresentativo). (A) Tecnica di prelievo del fluido crevicolare mediante coni di carta sterili; (B) Radiografia endorale pre-operatoria; (C) Radiografia al momento dell'inserimento implantare; (D) Radiografia a 6 mesi di guarigione.

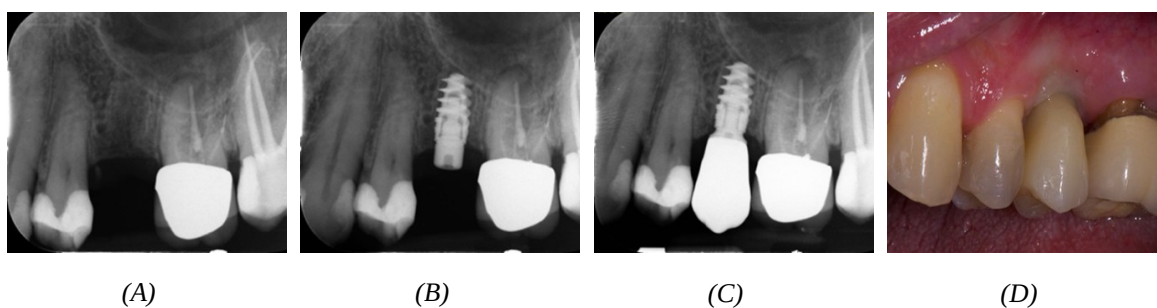


Figura 2. Paziente 2, gruppo a protocollo corto (profilassi a dose singola). (A) Radiografia pre-operatoria; (B) Al momento dell'inserimento implantare; (C) A 6 mesi di guarigione; (D) Fotografia intraorale immediatamente dopo la consegna della protesi definitiva.

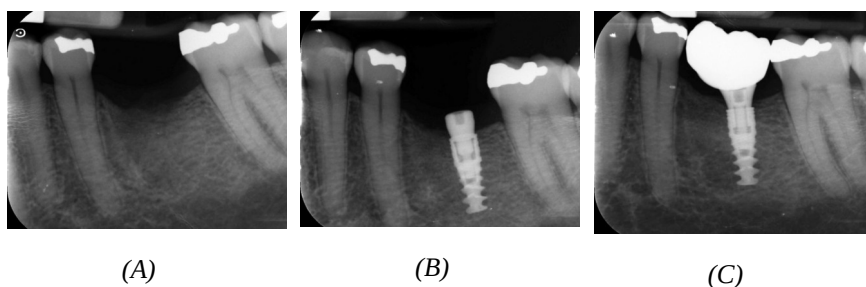


Figura 3. Paziente 3 (esempio rappresentativo). (A) Radiografia endorale pre-operatoria; (B) Al momento dell'inserimento implantare; (C) Radiografia a 6 mesi di guarigione.

7. Outcome dello Studio e Parametri di Valutazione

La valutazione clinica, radiografica e biologica dei due differenti protocolli antibiotici si fonda sul monitoraggio dei seguenti outcome predefiniti:

- Outcome Primario: Tasso di successo e tasso di sopravvivenza implantare (secondo i criteri di Albrektsson e Zarb), determinati al follow-up finale stabilito a 12 mesi dall'applicazione del carico protesico definitivo (T16.5).
- Outcome Clinici Secondari: Valutazione dello stato di salute e di flogosi dei tessuti molli peri-implantari mediante la registrazione semestrale dei parametri parodontali standardizzati: Indice di Placca (PI), Sanguinamento al Sondaggio (BoP, espresso in percentuale) e Profondità di Sondaggio (PPD, misurata in millimetri mediante sonda millimetrata parodontale). I rilievi vengono eseguiti in sei siti per ciascun impianto (mesio-vestibolare, vestibolare, disto-vestibolare, mesio-linguale, linguale, disto-linguale).
- Outcome Radiografici: Quantificazione millimetrica della perdita ossea marginale lineare (MBL - Marginal Bone Loss). La valutazione viene condotta mediante il software di analisi d'immagine ImageJ, operando una comparazione densitometrica e metrica tra i radiogrammi periapicali digitalizzati eseguiti al baseline chirurgico (T0) e al follow-up finale (T16.5), utilizzando le spire implantari note come fattore di calibrazione interna.
- Outcome Microbiologici: Analisi longitudinale delle fluttuazioni tassonomiche, degli indici di alfa- e beta-diversità del microbioma peri-implantare e monitoraggio qualitativo e quantitativo della comparsa, persistenza o clearance di determinati determinanti genici di resistenza antibiotica (ARG) all'interno del microbiota orale.

5. Analisi del Microbiota del Fluido Crevicolare

5.1. Protocollo di Campionamento e Conservazione del Fluido Crevicolare

Il prelievo del fluido crevicolare peri-implantare (GCF) è stato eseguito a scadenze temporali fisse: una settimana prima dell'intervento chirurgico (baseline), a due mesi dalla chirurgia (T2) e a sei mesi dall'inserimento dell'impianto (T6). La procedura prevede l'isolamento del sito tramite rulli di cotone, la delicata rimozione della placca sopragengivale e il successivo inserimento *in situ* all'interno del solco peri-implantare di coni di carta assorbente sterili per un tempo standardizzato di 30 secondi.



I dispositivi di raccolta vengono immediatamente distribuiti in due distinte provette contenenti terreni specifici per le successive analisi molecolari e microbiologiche:

- **Prima aliquota (Analisi Colturale e Suscettibilità Antibiotica):** i coni di carta (2 unità) vengono immersi in 0.5 mL di brodo di coltura *Mueller-Hinton*, idoneo a preservare la vitalità batterica per l'esecuzione del test di sensibilità antibiotica (AST). I campioni vengono tempestivamente seminati su piastre di terreno agarizzato *Columbia Blood Agar* per consentire la crescita della quasi totalità delle specie microbiche costituenti l'ecosistema del fluido crevicolare.
- **Seconda aliquota (Metagenomica NGS):** i coni di carta (4 unità) vengono stoccati in 0.5 mL di soluzione stabilizzante *DNA/RNA Shield* (eNAT medium, Seegene), formulata specificamente per inibire la replicazione batterica istantanea e salvaguardare l'integrità degli acidi nucleici. Tale aliquota viene immediatamente trasferita in regime di catena del freddo e conservata a una temperatura di -30 °C fino alle successive fasi di estrazione e sequenziamento.

5.2. Avanzamento del Campionamento e Flusso d'Analisi

Ai fini della validazione metodologica e della conduzione dell'analisi *ad-interim* documentata nel presente report, il flusso di lavoro di laboratorio ha previsto la processazione iniziale di un totale di 212 campioni biologici isolati dalla coorte di 84 pazienti. Di questi, una quota minima pari a 2 campioni (2/212) è stata esclusa dalle successive fasi analitiche a causa del riscontro di una carica batterica estremamente esigua, non idonea a soddisfare i criteri qualitativi della pipeline.

Il disegno analitico corrente si fonda sulla seguente ripartizione logistica dei campioni biologici attualmente completati ed inseriti nella pipeline bioinformatica:

- **Baseline (1 settimana pre-operatoria):** 84 campioni validati e processati.
- **T2 (2 mesi post-operatori):** 78 campioni validati e processati.
- **T6 (6 mesi post-operatori):** 46 campioni validati e processati.

La raccolta e l'elaborazione dei restanti campioni biologici previsti dal disegno sperimentale proseguiranno regolarmente nei successivi mesi di follow-up clinico. L'attuale numerosità campionaria garantisce la piena potenza e congruenza statistica per la formulazione delle valutazioni preliminari *ad-interim*.

5.3. Estrazione del DNA e Sequenziamento Next-Generation (NGS)

Per la caratterizzazione del microbioma peri-implantare mediante l'analisi del gene batterico 16S rRNA tramite sequenziamento di nuova generazione (NGS), i coni di carta stoccati vengono sottoposti a un processo di vortexazione vigorosa ed estesa al fine di massimizzare il recupero del fluido biologico. L'estrazione automatizzata degli acidi nucleici viene eseguita a partire da un volume standard di 200 µL di terreno eNAT, impiegando la piattaforma robotizzata *SeePrep32* abbinata a tubi d'estrazione *STARMag 96 ProPrep* (Seegene Inc., Seoul, Repubblica di Corea). Il sistema sfrutta aste magnetiche automatizzate per il trasferimento dei complessi biglie magnetiche-acido nucleico attraverso i diversi pozzetti, eseguendo in sequenza standardizzata le fasi di lisi cellulare, adsorbimento, lavaggio purificante ed eluizione finale.

La concentrazione del DNA purificato ottenuto viene misurata quantitativamente mediante l'utilizzo di un fluorometro *Qubit* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) e stoccata in congelatore fino al momento della processazione.

L'amplificazione tramite reazione a catena della polimerasi (PCR) viene eseguita impiegando i primer specifici forniti nel kit commerciale *Microbiota Solution* (Arrow Diagnostics,

Genova, Italia), in stretta osservanza delle direttive del produttore. La soluzione *Enzyme Mix 1* viene utilizzata per l'amplificazione enzimatica del target genico. I prodotti di PCR così ottenuti vengono quantificati tramite fluorometro *Qubit*, e la loro integrità molecolare viene valutata mediante elettroforesi su gel d'agarosio pre-fuso, sfruttando il sistema *E-Gel Power Snap Electrophoresis System* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). I prodotti di PCR validati vengono purificati mediante l'impiego di biglie magnetiche *AMPure XP Beads* (Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, USA).

Successivamente alla purificazione, gli ampliconi vengono sottoposti a indicizzazione (*indexing*) mediante l'utilizzo di:

- *Enzyme Mix 2* (miscela enzimatica deputata alla reazione di *indexing*);
- *Amp Mix V3-V6* (oligonucleotidi degenerati mirati specificamente alle regioni ipervariabili V3-V4-V6 del gene 16S rRNA batterico);
- Soluzione oligonucleotidica *IndexMix* per la marcatura e il riconoscimento biunivoco del singolo campione.

5.4. Pipeline Bioinformatica e Assegnazione Tassonomica

I dati grezzi generati dal sequenziamento (*raw reads*) vengono caricati e processati all'interno di una pipeline bioinformatica dedicata. L'assegnazione tassonomica e le analisi bioinformatiche di downstream vengono eseguite mediante il software specializzato *MicrobAT®* (*Microbiota Analysis Tool*, versione 1.3.0; SmartSeq S.r.l., Alessandria, Italia).

La fase di elaborazione iniziale prevede l'applicazione di filtri di qualità (*quality-filtering*) stringenti, volti a eliminare le letture corte, incomplete o caratterizzate da un basso punteggio di risoluzione (Phred score). Le *reads* qualitative superstiti vengono allineate filogeneticamente contro il database di riferimento *Ribosomal Database Project (RDP)*

(release 11, update 5). L'assegnazione tassonomica al livello di specie viene eseguita restrittivamente solo ed esclusivamente per le sequenze nucleotidiche che soddisfano i seguenti criteri di allineamento predefiniti:

- Lunghezza dell'allineamento pari o superiore all'80% della sequenza biologica di riferimento.
- Similarità di sequenza nucleotidica pari o superiore al 97%.

I risultati analitici finali vengono espressi come numero assoluto e relativo di letture (*reads*) assegnate a ciascun taxon, e strutturati gerarchicamente secondo i ranghi tassonomici standard: phylum, classe, ordine, famiglia, genere e specie.

5.5. Protocollo di Controllo di Qualità (Quality Control)

Al fine di monitorare la riproducibilità tecnica, la stabilità temporale e l'assenza di scostamenti sistematici (*inter-run variability*) della metodica NGS all'interno del laboratorio, è stato implementato un programma di controllo qualità a cadenza mensile per l'intero arco di 8 mesi di attività analitica. A tale scopo, una matrice biologica complessa standardizzata (campione di feci) viene conservata congelata in aliquote omogenee e scongelata in concomitanza di ogni run. Ogni aliquota di controllo viene sottoposta alle medesime fasi di estrazione, amplificazione enzimatica e sequenziamento in parallelo con i campioni clinici di fluido crevicolare peri-implantare, registrando puntualmente i dati tassonomici ottenuti per verificarne la deviazione standard.

5.6. Valutazione della Suscettibilità Fenotipica ad Amoxicillina (Test di Kirby-Bauer)

Parallelamente all'analisi molecolare del microbiota, è stata valutata la risposta fenotipica dei batteri del fluido crevicolare all'amoxicillina mediante il test di diffusione su disco (metodo Kirby-Bauer). Si tratta di una metodica microbiologica convenzionale, distinta dall'analisi genomica del suscettibilità fenotipica, che consente di stabilire se le popolazioni batteriche coltivabili presenti nel fluido crevicolare vengano inibite o meno dall'antibiotico in condizioni standardizzate di laboratorio.

I campioni raccolti nella prima aliquota (brodo Mueller-Hinton) vengono seminati su piastre di agar Columbia sangue e incubati per 24 ore a 37 °C in atmosfera arricchita di CO₂. Su ogni piastra viene posizionato un dischetto standardizzato di amoxicillina da 10 µg. Dopo il periodo di incubazione, viene misurato il diametro dell'alone di inibizione (zona priva di crescita batterica attorno al dischetto) in millimetri.

I campioni vengono classificati secondo i seguenti criteri predefiniti:

Resistente (R): alone di inibizione < 14 mm. Le popolazioni batteriche non vengono inibite dall'amoxicillina.

Suscettibile (S): alone di inibizione ≥ 14 mm. Le popolazioni batteriche vengono efficacemente inibite dall'amoxicillina.

Non Coltivabile (NC): assenza di crescita batterica sulla piastra. Questi campioni vengono esclusi dalla classificazione R/S.

Il test viene eseguito ai tre intervalli temporali previsti per il campionamento microbiologico: basale (pre-operatorio), T2 (2 mesi post-chirurgia) e T6 (6 mesi post-chirurgia). I confronti trasversali tra i due gruppi (protocollo corto vs lungo) a ciascun intervallo temporale vengono eseguiti mediante il test esatto di Fisher; le variazioni longitudinali intra-gruppo (basale vs T2) mediante il test di McNemar per dati categorici appaiati. La significatività statistica è fissata a $p < 0,05$ per tutti i test.

6. Analisi Statistica ed Elaborazione Dati

6.1. Analisi dei Parametri Clinici

L'elaborazione dei dati clinici generali e dei parametri parodontali viene eseguita mediante l'ausilio del software statistico *STATA 17*. L'architettura statistica prevede:

4. **Analisi descrittiva:** determinazione dei valori di media e deviazione standard per le variabili quantitative continue, e calcolo delle frequenze assolute e relative per le variabili categoriche qualitative.
5. **Statistica inferenziale:** applicazione del Test t di Student o del modello ANOVA per il confronto di variabili parametriche, e ricorso ai test non parametrici di Wilcoxon o di Kruskal-Wallis per distribuzioni non normali. Il livello di significatività statistica per tutti i test inferenziali è fissato a un valore di $p < 0.05$.

6.2. Analisi Bioinformatica e Statistica del Microbioma

I dati quantitativi relativi ai conteggi e alle abbondanze del microbioma peri-implantare vengono analizzati ed elaborati all'interno dell'ambiente di computazione statistica **R** (*R Foundation for Statistical Computing*). Il protocollo di modellazione matematica si articola secondo le seguenti fasi:

4. **Trasformazione dei Dati:** I conteggi grezzi delle letture (*raw read counts*) vengono standardizzati mediante la trasformazione log-ratio centrata (CLR - *Centered Log-*

Ratio). Per ovviare al problema matematico della presenza di valori pari a zero (assenza di letture per determinati taxa), viene preventivamente addizionato un valore di *pseudocount* pari a 0.5 a tutte le frequenze.

5. **Metodiche di Beta-Diversità:** La dissimiglianza ecologica tra i differenti campioni biologici viene quantificata applicando la *Distanza di Aitchison* (definita matematicamente come la distanza Euclidea calcolata nello spazio geometrico CLR).
6. **Analisi della Composizione delle Comunità:** Le fluttuazioni della dispersione multivariata tra i diversi intervalli temporali dello studio vengono valutate mediante l'analisi permutazionale della dispersione multivariata (**PERMDISP**). L'effetto longitudinale esercitato dal fattore tempo sulla composizione globale della comunità batterica viene determinato tramite l'applicazione del test **PERMANOVA** (funzione *adonis2*), impostando il singolo soggetto clinico come fattore di stratificazione vincolato (*blocking factor*), al fine di controllare l'effetto statistico delle misure ripetute.
7. **Distanze Intra-Soggetto e Dinamiche Temporali:** Il confronto statistico tra le distanze *within-subject* (intra-soggetto) e *between-subject* (inter-soggetto) viene eseguito mediante il test dei ranghi equivalenti di Wilcoxon (*Wilcoxon rank-sum test*). Lo spostamento ecologico temporale viene quantificato calcolando la Distanza di Aitchison intercorsa tra punti temporali consecutivi all'interno del medesimo soggetto.
8. **Clustering e Fenotipizzazione:** La coorte dei soggetti viene classificata in differenti "fenotipi dinamici" mediante l'applicazione di un algoritmo di clustering **k-means** (fissando il parametro $k=3$), basato sui valori di spostamento medio e massimo registrati a livello intra-soggetto. Eventuali eterogeneità o differenze statistiche al baseline tra i cluster dinamici così identificati vengono verificate mediante un ulteriore test PERMANOVA dedicato.

Per tutte le analisi statistiche e bioinformatiche applicate alla metagenomica, la soglia di significatività statistica per il rifiuto dell'ipotesi nulla è fissata rigorosamente a $p < 0.05$.

CAPITOLO 3. RISULTATI

1. Campione di Studio e Caratteristiche Basali

Lo studio ha arruolato 84 pazienti in buona salute generale, nei quali sono stati inseriti complessivamente 108 impianti dentali (media 1,29 impianti per paziente). Prima dell'intervento ogni paziente ha eseguito un test di sensibilità antibiotica (AST) e ha fornito campioni per l'analisi del microbiota del fluido crevicolare. I pazienti sono stati poi assegnati in modo casuale (randomizzazione) a uno dei due protocolli antibiotici:

Protocollo corto: 2 g di amoxicillina per via orale, dose singola 1 ora prima dell'intervento (43 pazienti, 51 impianti).

Protocollo lungo: 1 g di amoxicillina ogni 8 ore a partire dal giorno precedente la chirurgia e per 5 giorni successivi all'intervento, per una durata totale di 6 giorni (41 pazienti, 57 impianti).

Tutti i pazienti hanno ricevuto impianti della stessa marca e tipologia (NobelActive TiUltra NP o RP, Nobel Biocare), inseriti con la stessa tecnica chirurgica monofasica con carico differito. Le protesi definitive in zirconia sono state consegnate dopo scansione digitale intraorale a 4 mesi dall'intervento. Nessun paziente ha abbandonato lo studio. Come riportato nella Tabella 1, le caratteristiche demografiche e cliniche dei due gruppi erano comparabili al momento dell'arruolamento.

Tabella 1. Caratteristiche basali del campione di studio (livello paziente). Dati espressi come media (DS) salvo diversa indicazione.

Caratteristica	Totale (N=84)	Protocollo corto (N=43)	Protocollo lungo (N=41)	p-value
Età, anni — media (DS)	60,3 (9,9)	59,0 (9,2)	61,8 (10,6)	0,220
Sesso femminile, n (%)	50 (58,8%)	24 (54,5%)	26 (63,4%)	0,509
Sesso maschile, n (%)	34 (41,2%)	19 (45,5%)	15 (36,6%)	—
Chirurgo: DB, n (%)	5 (5,9%)	2 (4,5%)	3 (7,3%)	0,148
Chirurgo: NDA, n (%)	45 (54,1%)	19 (45,5%)	26 (63,4%)	—

Chirurgo: PP, n (%)	34 (40,0%)	22 (50,0%)	12 (29,3%)	—
Impianti per paziente — media (DS)	1,3 (0,5)	1,2 (0,4)	1,4 (0,7)	0,074

2. Sopravvivenza Implantare e Complicanze Biologiche e Tecniche

Durante il periodo di follow-up si sono verificati tre fallimenti implantari: 2 nel gruppo a protocollo corto e 1 nel gruppo a protocollo lungo. Il tasso di sopravvivenza implantare cumulativo (iCSR) è risultato pari al 97,2% (96,5% nel gruppo corto; 98,25% nel gruppo lungo), in linea con i dati della letteratura per pazienti sani.

Le complicanze biologiche post-operatorie sono state rare e autolimitanti. Nel gruppo a protocollo corto si sono verificati: una rosacea post-chirurgica in un paziente di sesso maschile e una fistola in una paziente di sesso femminile, rilevata al primo controllo post-operatorio. Nel gruppo a protocollo lungo si sono registrati: un ematoma e un gonfiore post-operatorio in due pazienti di sesso femminile. Tutte le complicanze biologiche si sono spontaneamente risolte nell'arco di pochi giorni, senza necessità di ulteriori trattamenti. Non si sono verificate complicanze tecniche intraoperatorie, ad eccezione di una vite allentata durante il follow-up. Nessun paziente ha riferito reazioni avverse alla terapia antibiotica prescritta.

Il confronto del tasso di sopravvivenza tra i due gruppi mediante test esatto di Fisher non ha evidenziato differenze statisticamente significative ($p = 0,61$), confermando l'equivalenza dei due protocolli in termini di sopravvivenza implantare nel periodo di osservazione.

3. Riassorbimento Osseo Marginale e Profondità di Sondaggio

Il riassorbimento osseo marginale radiografico (MBL) e la profondità di sondaggio perimplantare (PD) rappresentano i principali indicatori clinici della salute dei tessuti attorno all'impianto. Il MBL è stato definito come la media delle misurazioni mesiale e distale ottenute da radiografie standardizzate; la PD è stata calcolata come la media di sei siti di sondaggio perimplantari.

I dati clinici sono stati analizzati con modelli lineari a effetti misti con intercetta casuale per paziente, per tenere conto del fatto che alcuni pazienti avevano ricevuto più di un impianto. Tutti i modelli sono stati aggiustati per chirurgo, età e sesso. Il numero di impianti valutabili

per ciascun outcome è riportato in Tabella 2, si tratta infatti di dati preliminari, non essendo il follow-up completo per tutti i pazienti. I valori descrittivi non aggiustati sono riportati in Tabella 3 e i risultati dei modelli aggiustati in Tabella 4.

Tabella 2. Numero di impianti valutabili per ciascun esito e intervallo temporale.

Esito / Intervallo temporale	Impianti valutabili (n)
Riassorbimento osseo, T4,5 mesi	88
Riassorbimento osseo, T6 mesi	74
Riassorbimento osseo, T7,5 mesi	50
Profondità di sondaggio, T7,5 mesi	56

Tabella 3. Valori descrittivi degli esiti clinici per protocollo antibiotico. Valori medi (DS) non aggiustati a livello implantare.(n= numero di impianti valutati)

Esito	Protocollo corto	Protocollo lungo
Riass. osseo T4,5 mesi — n	45	43
Riass. osseo T4,5 mesi — media (DS), mm	-0,52 (0,64)	-0,53 (0,66)
Riass. osseo T6 mesi — n	35	39
Riass. osseo T6 mesi — media (DS), mm	-0,57 (0,70)	-0,57 (0,57)
Riass. osseo T7,5 mesi — n	27	23
Riass. osseo T7,5 mesi — media (DS), mm	-0,84 (0,87)	-0,63 (0,63)
Prof. sondaggio T7,5 mesi — n	26	30
Prof. sondaggio T7,5 mesi — media (DS), mm	2,81 (1,32)	2,92 (1,01)

Tabella 4. Risultati dei modelli lineari a effetti misti aggiustati (Lungo vs Corto). IC: intervallo di confidenza al 95%.

Esito	Differenza aggiustata (Lungo vs Corto)	IC 95%	p-value
Riass. osseo T4,5 mesi	0,101 mm	-0,181 / +0,384	0,485
Riass. osseo T6 mesi	0,091 mm	-0,211 / +0,393	0,557
Riass. osseo T7,5 mesi	0,394 mm	-0,051 / +0,839	0,091
Prof. sondaggio T7,5 mesi	0,124 mm	-0,538 / +0,786	0,715

I modelli aggiustati non hanno evidenziato differenze statisticamente significative tra i due protocolli in nessun intervallo temporale. A 4,5 mesi la differenza media stimata era 0,101 mm (IC 95%: -0,181/+0,384; $p = 0,485$); a 6 mesi 0,091 mm (IC 95%: -0,211/+0,393; $p = 0,557$); a 7,5 mesi 0,394 mm (IC 95%: -0,051/+0,839; $p = 0,091$). Quest'ultimo valore, pur mostrando una tendenza verso maggior riassorbimento nel gruppo lungo, non raggiunge la significatività statistica e deve essere interpretato con cautela poiché l'intervallo di confidenza include il valore nullo. Anche la profondità di sondaggio a 7,5 mesi non differiva significativamente tra i gruppi (differenza = 0,124 mm; IC 95%: -0,538/+0,786; $p = 0,715$). Nel complesso, questi risultati suggeriscono che l'estensione della profilassi antibiotica da dose singola a 6 giorni non conferisce alcun vantaggio misurabile nella guarigione ossea perimplantare precoce. Il Grafico 1 visualizza questi risultati.

È opportuno notare che la differenza aggiustata a 7,5 mesi (0,394 mm; IC 95%: -0,051/+0,839), pur non raggiungendo la significatività statistica, presenta un limite superiore dell'intervallo di confidenza prossimo a 0,84 mm. Questo suggerisce una possibile tendenza che potrebbe emergere come significativa in studi con maggiore potenza statistica o con follow-up più prolungati, e rappresenta un'area prioritaria per la valutazione definitiva nel dataset completo.

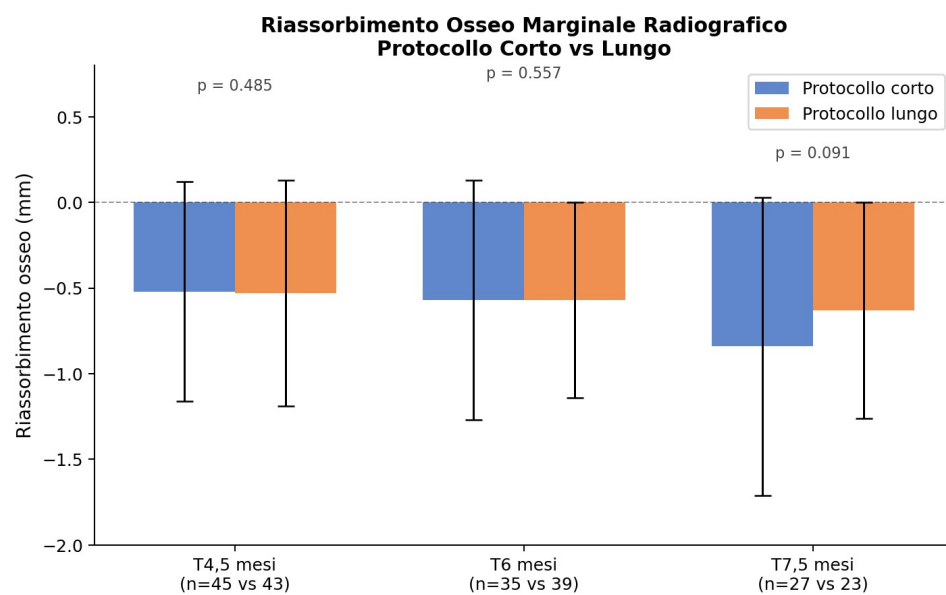


Grafico 1. Riassorbimento osseo marginale (mm, media $\pm$ DS) nei due gruppi a T4,5, T6 e T7,5 mesi. Nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata in nessun intervallo temporale ($p > 0,05$ in tutti i confronti).

ANALISI DEL MICROBIOTA DEL FLUIDO CREVICOLARE

4. Raccolta dei Campioni e Metodologia di Analisi del Microbiota

Il fluido crevicolare è il liquido presente nel solco tra la gengiva e l'impianto. Contiene la comunità batterica (microbiota) che colonizza i tessuti perimplantari e riflette direttamente lo stato di salute microbica locale. I campioni sono stati raccolti tramite paper point — piccoli coni di carta assorbente inseriti nel solco perimplantare per 30 secondi — nei seguenti momenti:

Basale: 1 settimana prima dell'inserimento implantare, prima di qualsiasi esposizione antibiotica.

T2: 2 mesi dopo l'inserimento implantare.

T6: 6 mesi dopo l'inserimento implantare.

Ogni campione è stato diviso in due aliquote: la prima conservata in brodo Muller-Hinton per la coltura batterica e il test di suscettibilità antibiotica; la seconda in DNA/RNA shield per la conservazione degli acidi nucleici e l'analisi molecolare. Il microbiota è stato caratterizzato attraverso il sequenziamento di nuova generazione (NGS) del gene ribosomale batterico 16S rRNA, sulle regioni ipervariabili V3-V4-V6, su piattaforma Illumina MiSeq. L'analisi bioinformatica è stata effettuata con il software MicrobAT® (versione 1.3.0), con assegnazione tassonomica rispetto al database RDP (release 11, update 5), applicando soglie di similarità $\geq 97\%$ e copertura $\geq 80\%$.

Su 212 campioni totali raccolti da 84 pazienti, 2 sono stati esclusi per qualità insufficiente (conta batterica troppo bassa). Al momento dell'analisi ad interim erano disponibili: 84 campioni al basale, 78 a T2 e 46 a T6. L'analisi attuale si concentra sul livello di phylum; l'analisi a livelli tassonomici inferiori (classe, genere, specie) sarà completata quando tutti i dati saranno disponibili.

4.1 Controllo di Qualità del Sequenziamento

Per garantire la riproducibilità e l'affidabilità dei risultati nel tempo, ogni mese per 8 mesi è stato sequenziato in parallelo un campione fecale standardizzato conservato in aliquote congelate. La Tabella 5 mostra i risultati di questo programma di controllo qualità: tutti i phyla principali presentavano un Coefficiente di Variazione (CV) inferiore al 10%,

confermando l'elevata stabilità e riproducibilità delle analisi nel corso dell'intero periodo di studio.

Tabella 5. Risultati del programma di controllo qualità (8 mesi): media, mediana e CV dei principali phyla nel campione fecale di riferimento. CV < 10% indica alta riproducibilità.

Phylum	Media (%)	Mediana (%)	CV (%)
Bacteroidetes	35,11	35,49	7,73
Firmicutes	33,66	33,98	7,15
Tenericutes	28,28	27,77	6,04
Actinobacteria	1,86	1,85	19,59
Proteobacteria	0,75	0,75	19,40

5. Stabilità Ecologica del Microbiota nel Tempo: Il Microbiota Non Cambia con gli Antibiotici

La domanda centrale di questa sezione è: gli antibiotici modificano stabilmente la composizione batterica del fluido crevicolare? I risultati indicano che no — la comunità batterica rimane globalmente stabile nel tempo, indipendentemente dal protocollo antibiotico ricevuto.

Per rispondere a questa domanda è stata misurata la distanza ecologica tra i campioni utilizzando la distanza di Aitchison, calcolata su dati trasformati con la trasformazione centred log-ratio (CLR). Maggiore è questa distanza, più diversa è la composizione batterica tra due campioni.

Stabilità della dispersione ecologica nel tempo (test PERMDISP): $F = 1,20$; $p = 0,273$. La variabilità ecologica interna ai soggetti è comparabile tra basale, T2 e T6: non si osserva un aumento dell'instabilità né una convergenza progressiva nel tempo. Gli antibiotici non hanno destabilizzato la comunità batterica.

Effetto del tempo sulla composizione microbica (PERMANOVA): $R^2 = 0,016$; $F = 1,09$; $p = 0,182$. Solo l'1,6% della varianza ecologica totale è spiegata dal fattore tempo. La principale

fonte di variazione è rappresentata dalle differenze tra individui diversi, non dal tipo di antibiotico ricevuto né dal tempo trascorso dall'intervento.

Firma ecologica individuale (test di Wilcoxon): Le distanze ecologiche tra campioni dello stesso paziente in momenti diversi (media = 7,25 unità) erano significativamente inferiori alle distanze tra campioni di pazienti diversi (media = 8,7 unità; $p = 1,0 \times 10^{-6}$). Ciascun paziente mantiene quindi una propria composizione batterica caratteristica nel tempo, come una sorta di "impronta microbica" personale.

In sintesi: il microbiota crevicolare fluttua leggermente da una visita all'altra (spostamento ecologico mediano = 6,56 unità di Aitchison) — come è normale in qualsiasi ecosistema vivente — ma queste fluttuazioni avvengono attorno a un equilibrio personale stabile. Solo il 4,3% delle transizioni mostrava variazioni minime (< 3 unità), mentre una piccola minoranza mostrava oscillazioni ampie (massimo circa 16,6 unità), suggestive di eventi di perturbazione. Il Grafico 2 illustra la differenza tra variabilità intra-soggetto e inter-soggetto.

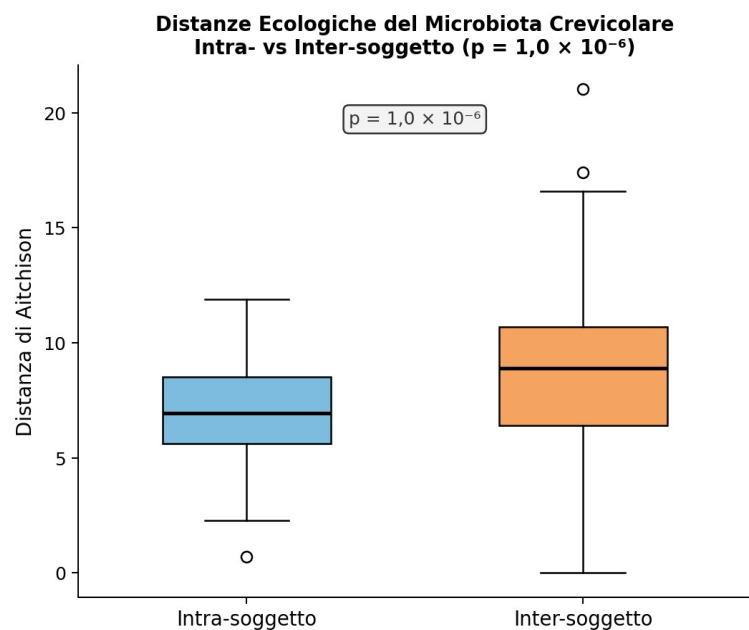


Grafico 2. Boxplot delle distanze di Aitchison intra-soggetto (campioni dello stesso paziente in momenti diversi) e inter-soggetto (campioni di pazienti diversi). Le distanze intra-soggetto sono significativamente inferiori ($p = 1,0 \times 10^{-6}$), dimostrando che ciascun paziente mantiene la propria configurazione microbica caratteristica nel tempo

6. Tre Profili di Pazienti in Base al Comportamento del Loro Microbiota nel Tempo

Pur essendo il microbiota globalmente stabile, i pazienti non si comportano tutti allo stesso modo: c'è chi ha un microbiota più rigido e stabile, e chi lo ha più variabile. Per quantificare e classificare questo comportamento individuale, è stata calcolata per ogni paziente l'entità dello spostamento ecologico tra una visita e l'altra (distanza di Aitchison tra timepoint consecutivi), e successivamente applicata un'analisi di raggruppamento automatica (clustering K-means, $k = 3$). Questa analisi ha identificato tre profili distinti di comportamento dinamico del microbiota, riportati nella Tabella 6 e nel Grafico 3.

Cluster 1 — Fenotipo Resiliente (57% dei pazienti): il microbiota cambia pochissimo nel tempo (spostamento medio circa 4,96 unità di Aitchison). Le variazioni osservate rientrano nell'oscillazione fisiologica normale di qualsiasi ecosistema sano. Sono i pazienti con il microbiota più robusto e stabile.

Cluster 2 — Fenotipo Elastico (38% dei pazienti): il microbiota mostra variazioni più marcate (spostamento medio circa 8,66 unità), ma di tipo transitorio: la comunità batterica si riconfigura per poi tendere a ritornare verso la sua composizione di partenza, come un elastico che viene allungato e poi torna alla posizione originale.

Cluster 3 — Fenotipo Instabile (5% dei pazienti): una piccola minoranza di pazienti mostra variazioni ecologiche molto ampie (spostamento medio circa 14,96 unità), compatibili con una vera ristrutturazione della comunità batterica e una potenziale transizione verso uno stato ecologico diverso.

Complessivamente, oltre il 95% dei pazienti appartiene ai fenotipi stabile o moderatamente variabile. La marcata instabilità ecologica è confinata a una piccola minoranza (~5%), confermando che il microbiota crevicolare ha un comportamento ecologico prevalentemente resiliente nella popolazione studiata.

Tabella 6. Fenotipi dinamici del microbiota crevicolare identificati mediante clustering K-means ($k = 3$).

Fenotipo	Cluster	Pazienti (%)	Spostamento medio	Caratteristica
Resiliente	1	57%	circa 4,96 unità	Microbiota molto stabile, oscillazioni fisiologiche
Elastico	2	38%	circa 8,66 unità	Cambia ma ritorna alla configurazione di partenza
Instabile	3	5%	circa 14,96 unità	Ristrutturazione ecologica marcata e persistente

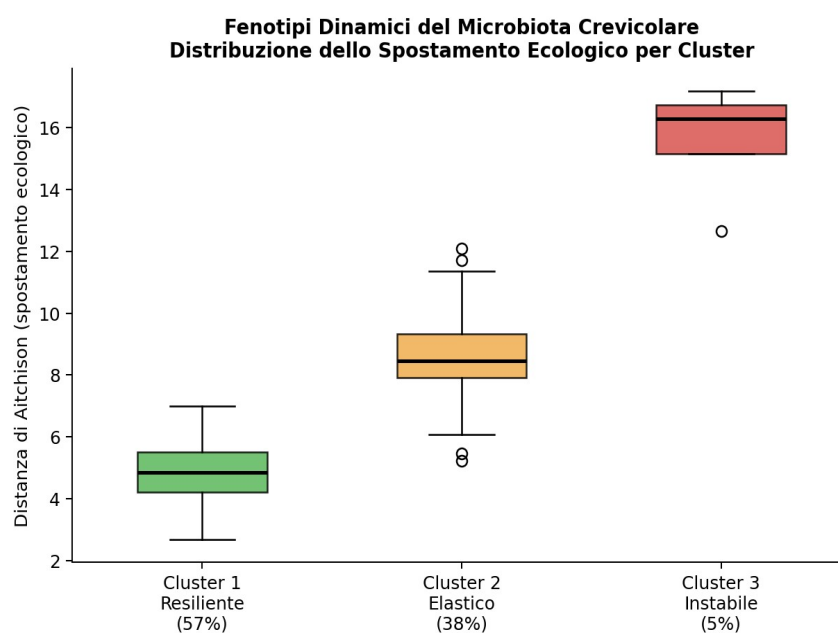


Grafico 3. Distribuzione dello spostamento ecologico (distanza di Aitchison) per ciascun cluster dinamico. Cluster 1 (verde): fenotipo resiliente; Cluster 2 (arancione): fenotipo elastico; Cluster 3 (rosso): fenotipo instabile

7. La Composizione Batterica Prima dell'Intervento Predice già il Comportamento Futuro del Microbiota

Un risultato particolarmente rilevante e originale emerso dallo studio è che i tre fenotipi dinamici erano già distinguibili al campionamento basale, cioè prima dell'intervento chirurgico e prima di qualsiasi esposizione agli antibiotici. Questo significa che è possibile prevedere come si comporterà il microbiota di un paziente nei mesi successivi all'implantologia semplicemente analizzandone la composizione batterica prima dell'operazione.

La conferma statistica di questa osservazione è molto solida: la PERMANOVA eseguita sulla composizione microbica basale, con cluster dinamico come variabile di raggruppamento, ha mostrato $R^2 = 0,181$; $F = 4,74$; $p = 0,002$. Questo significa che circa il 18% della variabilità ecologica misurata al baseline è già spiegata dal fenotipo dinamico che il paziente svilupperà in futuro. Il fenotipo dinamico è quindi strutturalmente codificato nella configurazione batterica del paziente, non è casuale e non dipende dall'antibiotico ricevuto.

Per identificare quali gruppi batterici al baseline sono i più predittivi dei tre fenotipi, è stata eseguita un'analisi della varianza (ANOVA) sui valori CLR per phylum. I phyla con il segnale predittivo statisticamente più forte erano: Fusobacteria (p circa 10^{-11}), Lentisphaerae (p circa 10^{-6}), Bacteroidetes (p circa 10^{-4}), Candidatus Saccharibacteria/TM7 (p circa 7×10^{-4}), Verrucomicrobia (p circa 0,002), Firmicutes (p circa 0,006) e Spirochaetes (p circa 0,013).

Non mostravano invece un segnale predittivo significativo: Proteobacteria, Actinobacteria, SR1 e Chloroflexi.

Il significato biologico di questi risultati è che l'instabilità ecologica non dipende semplicemente da variazioni nella quantità di batteri, ma da alterazioni nella struttura e nell'organizzazione del biofilm batterico. Fusobacteria e Spirochaetes svolgono un ruolo strutturale chiave: quando sono presenti in modo equilibrato (fenotipo resiliente), il biofilm è compatto e stabile; quando sono alterati (fenotipo instabile), la struttura del biofilm risulta fragile. Queste osservazioni hanno potenziale rilevanza clinica: in futuro l'analisi del microbiota basale potrebbe aiutare a identificare i pazienti a maggior rischio di instabilità microbica e di complicanze perimplantari.

SUSCETTIBILITÀ FENOTIPICA AD AMOXICILLINA NEL FLUIDO CREVICOLARE

8. Effetto dei Protocolli Antibiotici sulla Suscettibilità Batterica ad Amoxicillina

Parallelamente all'analisi molecolare del microbiota, è stata valutata la risposta fenotipica dei batteri del fluido crevicolare all'amoxicillina — ovvero se i batteri vengono inibiti o meno dall'antibiotico in condizioni di coltura. Si tratta di un'analisi microbiologica classica, distinta dall'analisi del resistoma (che richiede il sequenziamento genomico dei geni di resistenza e non è stata eseguita in questo studio).

8.1 Metodo: Test Kirby-Bauer

I campioni di fluido crevicolare sono stati coltivati su piastre di agar Columbia sangue e quindi esposti a dischetti di amoxicillina (10 µg). Dopo 24 ore di incubazione a 37 °C, è stato misurato il diametro dell'alone di inibizione (la zona senza crescita batterica attorno al dischetto). I campioni sono stati classificati in tre categorie:

Resistente (R): alone di inibizione < 14 mm. I batteri crescono vicino al dischetto, non vengono bloccati dall'amoxicillina.

Suscettibile (S): alone di inibizione ≥ 14 mm. I batteri non crescono vicino al dischetto, vengono inibiti dall'amoxicillina.

Non Coltivabile (NC): nessuna crescita batterica nella coltura. Questi campioni sono stati esclusi dalla classificazione R/S.

Per i confronti trasversali tra i gruppi (protocollo corto vs lungo) è stato utilizzato il test esatto di Fisher; per le variazioni longitudinali all'interno dei gruppi il test di McNemar. La significatività statistica è stata fissata a $p < 0,05$.

8.2 Distribuzione dei Fenotipi di Suscettibilità

Su 187 campioni totali analizzati: il 30,5% era non coltivabile (NC); il 10,7% mostrava popolazioni di tipo resistente (R); il 58,8% presentava popolazioni di tipo suscettibile (S). Considerando solo i campioni con crescita batterica, la quota resistente era del 15,4% e quella suscettibile dell'84,6%. La resistenza fenotipica all'amoxicillina non è quindi dominante nella comunità batterica coltivabile del fluido crevicolare perimplantare. La distribuzione per intervallo temporale è riportata nella Tabella 7 e visualizzata nel Grafico 4.

Tabella 7. Distribuzione delle popolazioni batteriche non coltivabili (NC), resistenti (R) e suscettibili (S) ad amoxicillina per intervallo temporale. NC = nessuna crescita; R = alone < 14 mm; S = alone ≥ 14 mm. Valori espressi come n (%).

Intervallo temporale	NC, n (%)	R, n (%)	S, n (%)	Totale
Basale	31 (38,3%)	11 (13,6%)	39 (48,1%)	81
T2 — 2 mesi	18 (28,6%)	3 (4,8%)	42 (66,7%)	63
T6 — 6 mesi	8 (22,9%)	4 (11,4%)	23 (65,7%)	35

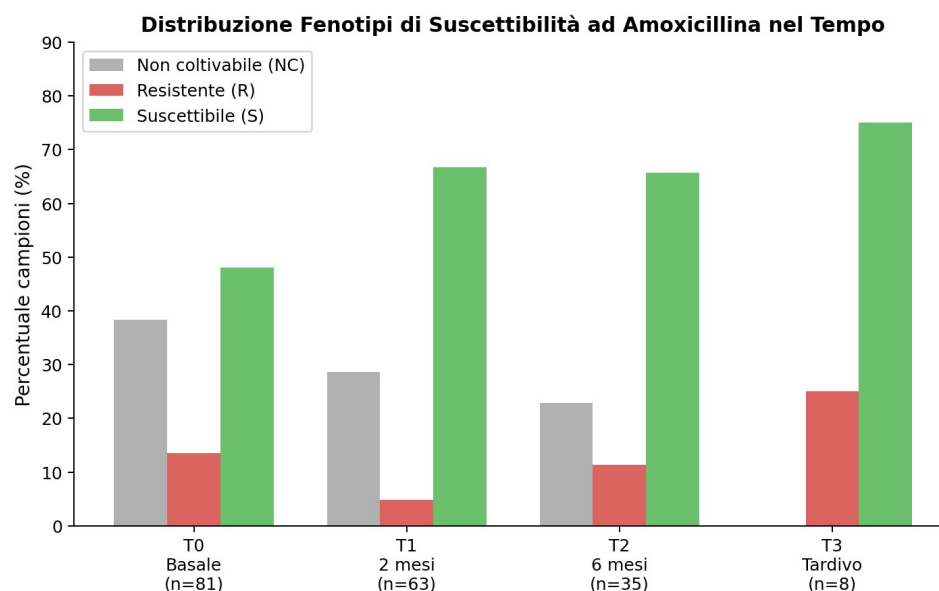


Grafico 4. Distribuzione percentuale dei fenotipi batterici NC (grigio), R resistenti (rosso) e S suscettibili (verde) per intervallo temporale. La tendenza dominante è la progressiva riduzione dei campioni NC e l'aumento delle comunità suscettibili

8.3 Dinamica Longitudinale della Suscettibilità

L'analisi nel tempo ha evidenziato un quadro complessivamente rassicurante, privo di segnali di selezione progressiva per la resistenza:

Riduzione progressiva dei campioni non coltivabili: da 38,3% al basale a 28,6% a 2 mesi (T2) e 22,9% a 6 mesi (T6), fino a 0% all'intervallo tardivo. Questo suggerisce una progressiva stabilizzazione ecologica della comunità batterica nel tempo.

Calo netto delle popolazioni resistenti a 2 mesi (T2): da 13,6% al basale a soli 4,8% a T2. Il lieve incremento a T6 (11,4%) non è sostenuto nel tempo e i numeri assoluti rimangono piccoli. Questo andamento non è compatibile con una selezione progressiva per la resistenza indotta dall'antibiotico.

Aumento delle comunità suscettibili nel tempo: da 48,1% al basale a 66,7% a T2 e 65,7% a T6. La dinamica dominante è quindi orientata verso un aumento delle popolazioni batteriche suscettibili all'amoxicillina.

L'analisi delle transizioni individuali tra basale e T2 ha mostrato che la grande maggioranza dei campioni non coltivabili al baseline diventava suscettibile a 2 mesi, e nessuno diventava resistente (0 transizioni NC → R). Questo rappresenta un'evidenza forte contro la selezione antibiotica per la resistenza nel fluido crevicolare perimplantare.

8.4 Confronto tra Protocollo Corto e Protocollo Lungo

Al basale, la proporzione di campioni resistenti era identica nei due gruppi (circa 29% in entrambi; test esatto di Fisher, $p = 1,000$), confermando l'assenza di differenze iniziali. Dopo il trattamento antibiotico, l'analisi trasversale a T2 non ha evidenziato differenze significative tra i due protocolli. L'analisi longitudinale intra-gruppo con il test di McNemar non ha dimostrato variazioni significative della resistenza tra basale e T2 in nessuno dei due gruppi. Nel gruppo a protocollo corto si osservavano esclusivamente transizioni S → R (4 casi, nessuna R → S), ma il numero limitato di coppie discordanti non raggiungeva la potenza statistica sufficiente ($p = 0,134$).

Conclusione: non sono state rilevate differenze statisticamente significative nella suscettibilità fenotipica ad amoxicillina tra il protocollo corto e quello lungo. L'analisi longitudinale non ha fornito evidenza di selezione sostenuta per la resistenza in nessuno dei due gruppi. La tendenza spontanea nel tempo va verso comunità batteriche sempre più suscettibili e coltivabili, indipendentemente dalla durata della profilassi antibiotica.

SINTESI DEI RISULTATI

I risultati dello studio, focalizzato sull'effetto di diversi protocolli antibiotici per la chirurgia implantare dentale sul microbiota orale, possono essere sintetizzati nei seguenti cinque punti principali:

1. Equivalenza clinica dei due protocolli: il tasso di sopravvivenza implantare (97,2%), il riassorbimento osseo marginale e la profondità di sondaggio perimplantare non mostravano differenze statisticamente significative tra protocollo corto e lungo a nessun intervallo temporale esaminato ($p > 0,05$ in tutti i confronti). Estendere la profilassi da una dose singola a 6 giorni non apporta benefici clinici misurabili nel breve termine.

2. Stabilità ecologica del microbiota crevicolare: la comunità batterica del fluido crevicolare rimane globalmente stabile nel tempo, indipendentemente dal protocollo antibiotico. Solo l'1,6% della varianza ecologica è spiegata dal fattore tempo ($R^2 = 0,016$; $p = 0,182$). Ogni paziente mantiene la propria firma batterica individuale, intorno alla quale avvengono le fluttuazioni temporali.

3. Tre fenotipi dinamici distinti e strutturalmente codificati: il clustering ha identificato tre profili: resiliente (57% dei pazienti), elastico (38%) e instabile (5%). Questi profili non dipendono dall'antibiotico ricevuto, ma sono già visibili nella composizione batterica basale, prima dell'intervento (PERMANOVA: $R^2 = 0,181$; $p = 0,002$).

4. Assenza di selezione per la resistenza fenotipica ad amoxicillina: la resistenza fenotipica non è dominante nel fluido crevicolare (15,4% dei campioni coltivabili). La dinamica longitudinale va verso un progressivo aumento delle comunità suscettibili. Nessuna differenza significativa è stata rilevata tra protocollo corto e lungo. L'analisi longitudinale non ha supportato una selezione sostenuta per la resistenza.

CAPITOLO 4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

1. Inquadramento Generale dei Risultati

Il presente studio ha confrontato due strategie sostanzialmente diverse di gestione antibiotica in pazienti sani sottoposti a chirurgia implantare dentale: una profilassi a dose singola pre-operatoria di 2 g di amoxicillina (protocollo corto, short-span) e una terapia estesa di 1 g ogni 8 ore per 6 giorni comple

Questi dati si inseriscono in un dibattito scientifico ancora aperto. Come discusso nell'introduzione, la letteratura ha storicamente mostrato marcata eterogeneità nelle raccomandazioni prescrittive, con una parte della comunità clinica — specialmente in Italia e in molti Paesi europei — ancora orientata verso regimi peri-operatori estesi, nonostante le evidenze disponibili supportino la non-inferiorità della dose singola. Il presente studio, con il suo disegno randomizzato controllato multicentrico e l'analisi integrata degli esiti clinici e microbiologici, contribuisce a colmare questa lacuna con dati originali di alto livello metodologico.

2. Esiti Clinici: Sopravvivenza Implantare, Riassorbimento Osseo e Profondità di Sondaggio

2.1 Sopravvivenza Implantare

Il tasso di sopravvivenza implantare cumulativo (iCSR) registrato nello studio è stato del 97,2% (96,5% nel gruppo corto; 98,25% nel gruppo lungo), con soli 3 fallimenti su 108 impianti. Il confronto tra i due gruppi mediante test esatto di Fisher non ha evidenziato differenze statisticamente significative ($p = 0,61$). Questo dato è pienamente in linea con i tassi riportati in letteratura per pazienti sani trattati con protocolli implantari standardizzati. Roca-Millan et al. (2021), in una revisione sistematica e meta-analisi, hanno dimostrato che una singola dose pre-operatoria di amoxicillina è sufficiente a ridurre significativamente i fallimenti implantari precoci, senza differenze rispetto ai regimi combinati pre- e post-operatori, in pazienti sani (RR = 0,30; IC 95%: 0,19–0,47; $p < 0,00001$) [21].

Tali dati sono coerenti con le evidenze della revisione sistematica Cochrane di Esposito et al. (2013) [6], che aveva già dimostrato come la profilassi antibiotica riduca il rischio di fallimento precoce ma con un impatto clinico modesto (riduzione assoluta del rischio ~4%, NNT = 25). Studi successivi, tra cui l'RCT multicentrico di Esposito et al. (2015), non hanno trovato

vantaggi significativi di regimi prolungati rispetto alla dose singola pre-operatoria in pazienti sani. In accordo con queste evidenze, l'American Dental Association (ADA) raccomanda di limitare la profilassi antibiotica in odontoiatria a una singola dose pre-operatoria nei pazienti non a rischio (Sollecito et al., 2020). Il presente studio non evidenzia alcun vantaggio aggiuntivo derivante dall'estensione del regime antibiotico.

Le complicanze biologiche osservate — rosacea, fistola, ematoma, gonfiore — erano tutte rare, autolimitanti e distribuite tra i due gruppi senza pattern sistematici, confermando che nessuno dei due protocolli espone il paziente a un rischio maggiore di complicanze post-operatorie.

2.2 Riassorbimento Osseo Marginale

Il riassorbimento osseo marginale (MBL) è stato valutato radiograficamente a 4,5, 6 e 7,5 mesi dall'inserimento implantare. In nessun intervallo temporale sono state rilevate differenze statisticamente significative tra i due protocolli nei modelli lineari a effetti misti aggiustati per chirurgo, età e sesso. Le differenze medie stimate erano di entità molto ridotta: 0,101 mm a 4,5 mesi ($p = 0,485$), 0,091 mm a 6 mesi ($p = 0,557$) e 0,394 mm a 7,5 mesi ($p = 0,091$).

L'unico dato che merita attenzione critica è la tendenza — non significativa — verso un maggior riassorbimento osseo nel gruppo a protocollo lungo a 7,5 mesi ($-0,63$ mm vs $-0,84$ mm nel gruppo corto). Sebbene la differenza non raggiunga la significatività statistica e l'intervallo di confidenza includa il valore nullo (IC 95%: $-0,051/+0,839$), la stima puntuale e il limite superiore prossimo a $0,84$ mm suggeriscono una possibile tendenza che potrebbe emergere come significativa in studi con maggiore potenza statistica o con follow-up più prolungati. È ipotizzabile che un'esposizione antibiotica più prolungata possa alterare in modo sottile il microbiota commensale, favorendo specie con potenziale infiammatorio diverso, come già osservato in altri distretti corporei (Langdon et al., 2016). Tuttavia, i dati del presente studio sul microbiota creicolare non supportano questa ipotesi, come discusso nelle sezioni successive.

I valori assoluti di MBL registrati ($-0,52/-0,53$ mm a 4,5 mesi; $-0,57/-0,57$ mm a 6 mesi) sono nel range fisiologico atteso per impianti NobelActive TiUltra nel primo anno di carico, confermando una risposta ossea complessivamente favorevole in entrambi i gruppi.

2.3 Profondità di Sondaggio Perimplantare

La profondità di sondaggio media (PD) a 7,5 mesi non differiva significativamente tra i due gruppi ($2,81 \pm 1,32$ mm nel gruppo corto vs $2,92 \pm 1,01$ mm nel gruppo lungo; differenza aggiustata = $0,124$ mm, IC 95%: $-0,538/+0,786$; $p = 0,715$). Questi valori rientrano

nell'intervallo considerato normale per siti perimplantari sani. L'assenza di differenze nella PD tra i gruppi suggerisce che la durata della profilassi antibiotica non influenza lo stato dei tessuti molli perimplantari nel breve termine. La convergenza di tutti gli indicatori clinici — sopravvivenza, MBL e PD — verso l'assenza di differenza tra i due protocolli sostiene con coerenza l'ipotesi di non-inferiorità del regime breve.

DISCUSSIONE DEL MICROBIOTA CREVICOLARE

3. Stabilità Ecologica del Microbiota: Una Firma Individuale Resiliente

L'analisi del microbiota crevicolare perimplantare mediante sequenziamento NGS del gene 16S rRNA e l'applicazione di metriche ecologiche avanzate (distanza di Aitchison, PERMANOVA, PERMDISP) rappresenta l'aspetto più originale e innovativo di questo studio. I risultati mostrano che la comunità batterica del fluido crevicolare è un sistema ecologicamente stabile nel tempo, indipendentemente dal tipo di antibiotico somministrato.

Il test PERMDISP ha dimostrato l'omogeneità della dispersione ecologica tra i diversi intervalli temporali ($F = 1,20$; $p = 0,273$), mentre la PERMANOVA ha mostrato che solo l'1,6% della varianza ecologica totale è attribuibile al fattore tempo ($R^2 = 0,016$; $F = 1,09$; $p = 0,182$). Questo dato indica che la composizione microbica è determinata principalmente da fattori individuali preesistenti piuttosto che dall'intervento chirurgico o dall'esposizione antibiotica. La principale fonte di variazione è rappresentata dalle differenze inter-individuali.

La differenza altamente significativa tra distanze intra-soggetto e inter-soggetto (media intra = 7,25 vs inter = 8,7 unità di Aitchison; $p = 1,0 \times 10^{-6}$) dimostra l'esistenza di una vera e propria "impronta microbica" personale, un concetto già descritto per il microbiota intestinale da Franzosa et al. (2015) — che hanno dimostrato come i profili metagenomici individuali rimangano stabili e identificabili nel tempo — ma meno consolidato per il sito perimplantare. I nostri dati mostrano che il microbiota crevicolare fluttua attorno a un equilibrio personale (spostamento ecologico mediano = 6,56 unità di Aitchison) senza una tendenza sistematica alla convergenza o alla divergenza nel tempo, suggerendo che l'ecosistema perimplantare, in assenza di patologie, possiede una notevole resilienza intrinseca.

4. Fenotipi Dinamici del Microbiota: Resiliente, Elastico e Instabile

L'identificazione di tre fenotipi dinamici attraverso il clustering K-means ($k = 3$) rappresenta un'innovazione metodologica e concettuale. Mentre il fenotipo resiliente (57% dei pazienti, spostamento medio circa 4,96 unità di Aitchison) e quello elastico (38%, spostamento medio circa 8,66 unità) mostrano una capacità di mantenere o ritornare verso la configurazione basale, il fenotipo instabile (5%, spostamento medio circa 14,96 unità) presenta variazioni ecologiche ampie compatibili con una ristrutturazione della comunità.

È importante sottolineare che questi fenotipi erano già distinguibili al basale, prima di qualsiasi esposizione antibiotica o chirurgica (PERMANOVA: $R^2 = 0,181$; $F = 4,74$; $p = 0,002$). Questo risultato ha implicazioni potenzialmente rilevanti per la medicina personalizzata: l'analisi del microbiota basale potrebbe identificare i soggetti a maggior rischio di instabilità microbica post-operatoria, aprendo la prospettiva — da esplorare con dati longitudinali più maturi — di utilizzarla come strumento predittivo per stratificare il rischio del paziente prima dell'intervento implantare.

La prevalenza dominante dei fenotipi stabile ed elastico (95% dei pazienti totali) costituisce un dato rassicurante: il microbiota crevicolare della popolazione studiata è prevalentemente resiliente, e questa resilienza non sembra influenzata dalla durata del protocollo antibiotico.

5. Phyla Predittivi e Architettura del Biofilm Perimplantare

L'identificazione di Fusobacteria (p circa 10^{-11}), Lentisphaerae (p circa 10^{-6}), Bacteroidetes (p circa 10^{-4}), Candidatus Saccharibacteria/TM7 (p circa 7×10^{-4}), Verrucomicrobia (p circa 0,002), Firmicutes (p circa 0,006) e Spirochaetes (p circa 0,013) come phyla predittivi del fenotipo dinamico è biologicamente plausibile e coerente con le conoscenze sull'ecologia del biofilm orale.

In particolare, i Fusobacteria e gli Spirochaetes sono noti per il loro ruolo strutturale nel biofilm orale, agendo come “ponti batterici” che facilitano la coaggregazione tra specie precoci e tardive nella formazione del biofilm (Kolenbrander et al., 2010). Un'alterazione del loro equilibrio potrebbe compromettere l'integrità strutturale del biofilm, rendendolo più suscettibile a perturbazioni esterne. Questo dato è in accordo con osservazioni in parodontologia, dove la disbiosi associata a *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola* è correlata con la progressione della malattia (Díaz-Zúñiga et al., 2019).

Complessivamente, questi dati suggeriscono che l'instabilità ecologica non dipende semplicemente da variazioni di abbondanza assoluta dei taxa, ma da alterazioni nella struttura e nelle reti di interazione del biofilm batterico, rendendo il sistema più o meno suscettibile alle perturbazioni esterne. Tuttavia, il fatto che l'instabilità microbica non si traduca necessariamente in esiti clinici differenti — i tre fallimenti implantari erano distribuiti indipendentemente dal fenotipo dinamico — suggerisce che l'instabilità microbica, di per sé, non è sufficiente a causare complicanze in assenza di altri fattori di rischio nel breve termine.

DISCUSSIONE SULLA SUSCETTIBILITÀ FENOTIPICA AD AMOXICILLINA

6. Suscettibilità Fenotipica ad Amoxicillina: Assenza di Selezione per la Resistenza

6.1 Distribuzione Basale e Dinamica Longitudinale

La valutazione della suscettibilità fenotipica batterica ad amoxicillina mediante il test di Kirby-Bauer ha prodotto risultati complessivamente rassicuranti rispetto al rischio di selezione per la resistenza indotta dalla profilassi antibiotica. Su 187 campioni analizzati, il 30,5% era non coltivabile (NC), il 10,7% mostrava popolazioni di tipo resistente (R) e il 58,8% di tipo suscettibile (S). Tra i soli campioni con crescita batterica, la quota resistente era del 15,4%.

L'analisi longitudinale ha rivelato un quadro dinamico favorevole: riduzione progressiva dei campioni NC (dal 38,3% basale a 0% all'intervallo tardivo), calo netto delle popolazioni resistenti a 2 mesi (da 13,6% a 4,8%), con un parziale incremento a 6 mesi (11,4%) su numeri assoluti ridotti, e aumento delle comunità suscettibili nel tempo (dal 48,1% basale a 66,7% a T2). Il dato più significativo è che nessun campione non coltivabile al baseline (NC) è diventato resistente (R) a 2 mesi: tutte le transizioni da NC erano dirette verso la suscettibilità (S). Questo risultato costituisce un'evidenza diretta contro l'ipotesi di selezione antibiotica per la resistenza nel fluido crevicolare perimplantare.

6.2 Confronto tra Protocollo Corto e Protocollo Lungo

Al baseline, la proporzione di campioni resistenti era identica nei due gruppi (circa 29%; test esatto di Fisher, $p = 1,000$). A 2 mesi, l'analisi trasversale non ha evidenziato differenze significative tra i due protocolli, e il test di McNemar non ha dimostrato variazioni longitudinali significative della resistenza in nessun gruppo. L'unica asimmetria osservata — 4 transizioni $S \rightarrow R$ nel gruppo corto, senza transizioni $R \rightarrow S$ — non raggiungeva la significatività statistica ($p = 0,134$) per insufficiente potenza statistica. Questo dato richiede monitoraggio nel follow-up finale.

Nel complesso, questi risultati sono in linea con il concetto di “resilienza del microbiota”: analogamente a quanto osservato per la composizione tassonomica, anche il profilo di suscettibilità batterica tende a mantenere la sua caratteristica individuale nel tempo, ritornando verso l'equilibrio pre-antibiotico piuttosto che subendo una deriva stabile verso la resistenza.

6.3 Resistenza Fenotipica vs Genotipica: Una Distinzione Fondamentale

I nostri risultati sono apparentemente in contrasto con alcuni studi che hanno documentato un aumento dei geni di resistenza nel microbiota orale dopo terapia antibiotica (Zaura et al., 2015). Tuttavia, è fondamentale distinguere tra resistenza fenotipica (misurata come alone di inibizione) e resistenza genotipica (presenza di geni di resistenza). Il test di Kirby-Bauer misura l'effetto netto della comunità batterica coltivabile, che può includere meccanismi di resistenza intrinseca, acquisita o tolleranza. L'aumento delle comunità suscettibili nel tempo suggerisce che, se vi è stata una pressione selettiva, questa non è stata sufficiente a modificare stabilmente il fenotipo dominante.

Una possibile spiegazione è che l'amoxicillina, nei dosaggi utilizzati, raggiunga concentrazioni subinibenti nel fluido crevicolare, favorendo temporaneamente alcuni taxa senza eliminare definitivamente i sensibili, come osservato in modelli di biofilm (Larsen & Fiehn, 2017). La concordanza tra genotipo e fenotipo di resistenza nel microbiota orale misto è peraltro stimata intorno al 60%, il che significa che la sola analisi fenotipica — pur clinicamente rilevante — non cattura l'intera architettura genomica della resistenza. L'analisi del resistoma in senso stretto (sequenziamento metagenomico shotgun per geni di resistenza ed elementi mobili) non rientrava negli obiettivi del presente studio ma rappresenta un'importante direzione futura.

CONFRONTO CON LA LETTERATURA E POSIZIONAMENTO DELLO STUDIO

7. Posizionamento rispetto alle Revisioni Sistematiche e alle Linee Guida

I risultati clinici del presente studio sono coerenti con le principali evidenze disponibili in letteratura. La revisione sistematica Cochrane di Esposito et al. (2013) [6] aveva già documentato l'efficacia della dose singola pre-operatoria, con un NNT di 25. Studi successivi e meta-analisi hanno ulteriormente ridimensionato il beneficio assoluto (NNT fino a 50 in alcuni contesti), spingendo l'EAO a limitare la raccomandazione alla sola dose singola pre-operatoria per i casi non complicati. La meta-analisi di Roca-Millan et al. (2021) [21] ha confermato l'assenza di differenze significative nella sopravvivenza implantare tra diversi protocolli antibiotici in pazienti sani, in perfetto accordo con i nostri dati.

Il presente studio si distingue dalla letteratura precedente per almeno tre aspetti metodologici rilevanti. In primo luogo, adotta un design RCT multicentrico con randomizzazione controllata, che riduce i bias di selezione. In secondo luogo, integra l'analisi degli esiti clinici con la caratterizzazione mol

Il confronto con il consensus report dell'EAO del 2017 e con le linee guida della SEI (Salgado-Peralvo et al., 2022) [17] è particolarmente rilevante: entrambi raccomandano la dose singola pre-operatoria come standard, ma riconoscono la mancanza di dati sull'impatto microbiologico. Il presente studio contribuisce proprio a colmare questo gap. Rispetto allo studio di Salgado-Peralvo et al. (2024) [18] — che documentava l'ampia variabilità nei pattern prescrittivi europei — i presenti risultati suggeriscono che la pratica dei regimi estesi non sia giustificata da un beneficio aggiuntivo né clinico né microbiologico.

8. Limiti dello Studio

1. Analisi ad interim: i dati presentati sono preliminari (84 campioni al basale, 78 a T2, 46 a T6). I risultati definitivi potrebbero mostrare pattern differenti rispetto a quanto osservato.

2. Follow-up limitato (7,5 mesi): insufficiente per valutare complicanze perimplantari tardive — mucosite e perimplantite — che richiedono osservazione di almeno 12-24 mesi (Berglundh et al., 2018). Il completamento del follow-up fino a 16,5 mesi è indispensabile.

3. Analisi al livello di phylum: l'analisi a livello di genere e specie potrebbe rivelare differenze più fini non catturate in questa sede, inclusa l'identificazione di patogeni perimplantari specifici e specie produttrici di beta-lattamasi.

4. Valutazione fenotipica della suscettibilità: il test Kirby-Bauer è eseguito su colture miste che non riflettono completamente la complessità del biofilm in vivo. L'analisi genomica del resistoma non rientrava negli obiettivi di questo studio.

5. Potenza statistica limitata per alcuni sottogruppi: la numerosità campionaria potrebbe non essere sufficiente per rilevare differenze sottili nei fenotipi microbici rari (cluster instabile = 5% dei pazienti) e alcune analisi — test di McNemar, modelli a 7,5 mesi con $n = 50$ — potrebbero non avere potenza adeguata.

6. Assenza di dati completi su PI e BoP: i dati sull'indice di placca (PI) e sul sanguinamento al sondaggio (BoP), previsti dal protocollo, non sono ancora disponibili nella loro completezza e saranno fondamentali per la valutazione conclusiva della salute dei tessuti molli.

7. Assenza di un gruppo placebo: non consente di stimare l'effetto assoluto della profilassi rispetto all'assenza di trattamento. Tuttavia, in molti contesti clinici un gruppo senza antibiotico è considerato non etico per la chirurgia implantare.

9. Implicazioni Cliniche e per la Stewardship Antibiotica

Complessivamente, i risultati preliminari sul profilo di suscettibilità batterica ad amoxicillina rafforzano il principio di minimizzazione dell'esposizione antibiotica in implantologia, in linea con le attuali raccomandazioni internazionali per il contrasto all'antibiotico-resistenza (AMR).

Nonostante i limiti legati alla natura preliminare del dataset, i risultati ad interim hanno implicazioni pratiche rilevanti. In primo luogo, i dati supportano l'adozione della dose singola pre-operatoria di 2 g di amoxicillina come standard di riferimento per la profilassi in pazienti sani, in linea con le raccomandazioni internazionali per la stewardship antibiotica (World Health Organization, 2019) e con le linee guida dell'ADA (Sollecito et al., 2020).

In secondo luogo, la dimostrazione di tre fenotipi dinamici del microbiota già visibili al baseline apre prospettive di medicina personalizzata: in futuro, pazienti con firma microbica "instabile" potrebbero beneficiare di un monitoraggio più stretto o di strategie pre-operatorie di modulazione del microbiota (probiotici, clorexidina), sebbene ciò richieda studi prospettici dedicati.

In terzo luogo, l'assenza di selezione per la resistenza fenotipica ad amoxicillina in entrambi i gruppi costituisce un dato rassicurante nel contesto dell'emergenza AMR. L'odontoiatria è responsabile di circa il 10% delle prescrizioni antibiotiche mondiali, con una quota stimata del 66% di prescrizioni non necessarie. Ogni evidenza che supporti la riduzione dell'esposizione antibiotica nei pazienti sani contribuisce alla tutela dell'efficacia degli antibiotici per le generazioni future.

10. Direzioni Future della Ricerca

Studi successivi dovrebbero: 1) estendere il follow-up almeno a 24 mesi per valutare la stabilità degli esiti clinici e la possibile comparsa di perimplantite (Berglundh et al., 2018); 2) completare l'analisi tassonomica a livello di genere e specie, inclusa l'analisi funzionale del metagenoma (shotgun sequencing) per identificare geni di resistenza e vie metaboliche; 3) replicare i risultati in coorti indipendenti e in pazienti a rischio (diabete, parodontite pregressa); 4) esplorare se l'instabilità microbica basale predica effettivamente eventi avversi a lungo termine; 5) valutare l'effetto di altri antibiotici (clindamicina, azitromicina) in pazienti allergici alle penicilline.

CONCLUSIONI

Il presente studio randomizzato controllato multicentrico ha confrontato, in pazienti sani sottoposti a chirurgia implantare dentale, l'effetto di un protocollo antibiotico a dose singola pre-operatoria (2 g di amoxicillina 1 ora prima dell'intervento) rispetto a un regime prolungato peri-operatorio (1 g ogni 8 ore dal giorno precedente la chirurgia per 5 giorni post-operatori, durata totale 6 giorni), valutando esiti clinici, radiografici, ecologici del microbiota crevicolare e di suscettibilità fenotipica ad amoxicillina.

Sulla base dei risultati ad interim disponibili — 84 pazienti, 108 impianti, analisi microbiologica su 84/78/46 campioni ai timepoint basale/T2/T6 — è possibile formulare le seguenti conclusioni principali, che devono essere considerate preliminari in attesa del completamento del follow-up fino a 16,5 mesi previsto dal protocollo PRIN:

- 1. Efficacia clinica e radiografica sovrapponibile tra i due protocolli.** Non sono emerse differenze statisticamente significative tra i due gruppi per nessuno degli esiti clinici misurati: tasso di sopravvivenza implantare (97,2% complessivo; 96,5% vs 98,25%; Fisher $p = 0,61$), riassorbimento osseo marginale a 4,5, 6 e 7,5 mesi ($p = 0,485$; 0,557; 0,091 rispettivamente) e profondità di sondaggio perimplantare a 7,5 mesi ($p = 0,715$). Entrambi i protocolli si sono dimostrati efficaci nel garantire il successo implantare a breve termine. La tendenza — non significativa — verso un maggiore riassorbimento osseo nel gruppo a protocollo lungo a 7,5 mesi (0,394 mm; IC 95%: -0,051/+0,839) merita monitoraggio nel follow-up completo.
- 2. Stabilità ecologica del microbiota crevicolare: nessuna perturbazione significativa indotta da nessuno dei due protocolli.** L'analisi longitudinale del microbiota del fluido crevicolare ha dimostrato che la comunità batterica perimplantare si comporta come un sistema ecologicamente stabile nel tempo, indipendentemente dal protocollo antibiotico ricevuto. Il fattore “tipo di antibiotico” e il fattore “tempo” spiegano complessivamente solo l'1,6% della varianza ecologica totale (PERMANOVA: $R^2 = 0,016$; $p = 0,182$). La fonte dominante di variazione è l'identità individuale del paziente, confermata dalla differenza altamente significativa tra distanze intra-soggetto e inter-soggetto ($p = 1,0 \times 10^{-6}$). Né la dose singola né il regime prolungato inducono una deriva ecologica stabile del microbiota crevicolare.
- 3. Identificazione di tre fenotipi dinamici del microbiota: un risultato di potenziale rilevanza clinica.** Il clustering K-means ($k = 3$) ha identificato tre profili dinamici del

microbiota già distinguibili al basale pre-operatorio: fenotipo resiliente (57% dei pazienti, spostamento ecologico medio circa 4,96 unità di Aitchison), fenotipo elastico (38%, circa 8,66 unità) e fenotipo instabile (5%, circa 14,96 unità). La composizione batterica basale spiega il 18% della varianza del comportamento dinamico futuro (PERMANOVA: $R^2 = 0,181$; $p = 0,002$), indicando che il fenotipo dinamico è strutturalmente codificato nell'ecologia microbica individuale del paziente prima dell'intervento e non dipende dall'antibiotico ricevuto. I phyla Fusobacteria, Lentisphaerae, Bacteroidetes, Candidatus Saccharibacteria/TM7, Verrucomicrobia, Firmicutes e Spirochaetes risultano i più predittivi del comportamento ecologico futuro.

4. Assenza di selezione sostenuta per la resistenza fenotipica ad amoxicillina in entrambi i protocolli.

Il test di Kirby-Bauer ha mostrato che la resistenza fenotipica non è dominante nella comunità batterica coltivabile del fluido crevicolare (15,4% dei campioni con crescita). La proporzione di campioni resistenti era identica nei due gruppi al baseline (circa 29% in entrambi; Fisher $p = 1,000$) e non differiva significativamente dopo il trattamento. L'analisi longitudinale intra-gruppo (test di McNemar) non ha dimostrato selezione sostenuta per la resistenza in nessun gruppo. La dinamica dominante nel tempo va verso un aumento delle comunità suscettibili (dal 48,1% basale a 66,7% a T2) e verso la riduzione dei campioni non coltivabili (da 38,3% a 0%). Nessun campione NC al baseline è diventato resistente a 2 mesi (0 transizioni NC → R), costituendo un'evidenza forte contro la selezione antibiotica per la resistenza.

5. Implicazioni per la pratica clinica e la stewardship antibiotica. In assenza di un chiaro beneficio clinico aggiuntivo e senza evidenze di effetti differenziali sul microbiota o sulla suscettibilità batterica, l'uso routinario di protocolli antibiotici prolungati nella chirurgia implantare in pazienti sani non appare giustificato. Una singola dose pre-operatoria di 2 g di amoxicillina — o, in caso di allergia alle penicilline, clindamicina o azitromicina — rappresenta il compromesso più ragionevole tra prevenzione delle complicanze post-operatorie e minimizzazione dei rischi correlati all'esposizione antibiotica (disbiosi iatrogena, pressione selettiva per la resistenza, effetti avversi). Questa conclusione è coerente con le raccomandazioni delle principali società scientifiche internazionali (EAO, SEI, ADA) e con le evidenze delle più recenti revisioni sistematiche [6, 17, 21].

6. Limiti principali e necessità di conferma. I risultati devono essere interpretati alla luce delle seguenti limitazioni: natura preliminare dell'analisi ad interim; follow-up clinico di 7,5 mesi

insufficiente per valutare mucosite e perimplantite (che richiedono almeno 12-24 mesi di osservazione); analisi del microbiota al livello di phylum senza approfondimento a genere e specie; valutazione della sola resistenza fenotipica senza analisi genomica del resistoma; mancanza di un gruppo placebo (non etico nel contesto implantare). Il completamento del follow-up fino a 16,5 mesi e l'analisi del dataset finale sono indispensabili per conclusioni definitive.

In conclusione, questo studio dimostra che, in pazienti sani sottoposti a chirurgia implantare, il protocollo antibiotico a dose singola pre-operatoria è equivalente al regime prolungato di 6 giorni sia per gli esiti clinici sia per l'impatto sul microbiota crevicolare e sulla suscettibilità fenotipica ad amoxicillina, senza evidenze di selezione sostenuta per la resistenza in nessuno dei due gruppi. La scoperta di tre fenotipi dinamici del microbiota — già distinguibili prima dell'intervento — rappresenta un contributo originale verso un approccio personalizzato alla profilassi in implantologia, aprendo la strada a future strategie di stratificazione del rischio basate sull'analisi pre-operatoria del microbiota crevicolare.

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson AC, von Ohle C, Frese C, et al. The oral microbiota is a reservoir for antimicrobial resistance: resistome and phenotypic resistance characteristics of oral biofilm in health, caries, and periodontitis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2023;22:37.
2. Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, et al. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S286–S291.
3. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S1–S8.
4. Chen H, Liu N, Xu X, Qu X, Lu E. Smoking, Radiotherapy, Diabetes and Osteoporosis as Risk Factors for Dental Implant Failure: A Meta-Analysis. *PLoS One.* 2013;8(8):e71955.
5. de Campos Kajimoto N, de Paiva Buischi Y, Mohamadzadeh M, Loomer P. The oral microbiome of peri-implant health and disease: a narrative review. *Dent J.* 2024;12(10):299.
6. Díaz-Zúñiga J, Muñoz Y, Melgar-Rodríguez S, et al. Serological response to *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in periodontitis and health. *J Oral Microbiol.* 2019;11(1):1588087.
7. Esposito M, Cannizzaro G, Bozzoli P, et al. Efficacy of prophylactic antibiotics for dental implants: a multicentre randomized controlled trial. *Eur J Oral Implantol.* 2015;8(Suppl 2):S11–S20.
8. Esposito M, Grusovin MG, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: antibiotics at dental implant placement to prevent complications. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;(7):CD004152.

9. European Centre for Disease Prevention and Control; WHO Regional Office for Europe. Surveillance of Antimicrobial Resistance in Europe, 2023 Data: Executive Summary. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2024.
10. Franzosa EA, Huang K, Meadow JF, et al. Identifying personal microbiomes using metagenomic codes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(22):E2930–E2938.
11. French D, Ofec R, Levin L. Long term clinical performance of 10,871 dental implants with up to 22 years of follow-up: a cohort study in 4247 patients. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2021;23(3):289–297.
12. Hunter E, Congdon N, de Moura Brito L, et al. The Global Impact of Edentulism: A Systematic Review. *Eur J Public Health*. 2023;33(Suppl 2):ckad160.1134.
13. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(7):471–480.
14. Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med*. 2016;8(1):39.
15. Larsen T, Fiehn NE. Dental biofilm infections – an update. *APMIS*. 2017;125(4):376–384.
16. Li P, He Y, Lin Y, Chen Y, Wang J, Wan Y. Global, Regional and National Burden of Edentulism and Periodontal Diseases from 1990 to 2021: Analysis of Risk Factors and Prediction of Trends in 2050. *In Vivo*. 2025;39(2):1148–1168.
17. Momand P, Becktor JP, Naimi-Akbar A, Tobin G, Götrick B. Effect of antibiotic prophylaxis in dental implant surgery: a multicenter placebo-controlled double-blinded randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2022;24:116–124.
18. Pandey C, Rokaya D, Bhattarai BP. Contemporary Concepts in Osseointegration of Dental Implants: A Review. *Biomed Res Int*. 2022;2022:6170452.
19. Pandey N, Cascella M. Beta-Lactam Antibiotics. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026.

20. Peter JU, Ladewig J, Stoll C, Zolk O. Antibiotic prophylaxis in oral implant surgery in Germany: a cross-sectional study. *Int J Implant Dent*. 2024;10:62.
21. Roca-Millan E, Estrugo-Devesa A, Merlos A, Jané-Salas E, Vinuesa T, López-López J. Systemic Antibiotic Prophylaxis to Reduce Early Implant Failure: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(6):698.
22. Rodríguez Sánchez F, Arteagoitia I, Rodríguez Andrés C, Caiazzo A. Antibiotic prophylaxis habits in oral implant surgery among dentists in Italy: a cross-sectional survey. *BMC Oral Health*. 2019;19:265.
23. Ríos-Osorio N, Ladino LG, Guerrero-Torres M. Structure, biology, and function of peri-implant soft tissues in health and disease: a comprehensive review of the literature. *J Periodontal Implant Sci*. 2025;55(2):e10.
24. Salgado-Peralvo ÁO, Garcia-Sanchez A, Kewalramani N, et al. Consensus Report on Preventive Antibiotic Therapy in Dental Implant Procedures: Summary of Recommendations from the Spanish Society of Implants. *Antibiotics*. 2022;11(5):655.
25. Salgado-Peralvo ÁO, Kewalramani N, Pérez-Jardón A, Pérez-Sayáns M, Mateos-Moreno MV, Arriba-Fuente L. Antibiotic prescribing patterns in the placement of dental implants in Europe: a systematic review of survey-based studies. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2024;29(3):e441–e450.
26. Sartoretto SC, Shibli JA, Javid K, et al. Comparing the long-term success rates of tooth preservation and dental implants: a critical review. *J Funct Biomater*. 2023;14(3):142.
27. Sollecito TP, Abt E, Lockhart PB, et al. The use of prophylactic antibiotics prior to dental procedures in patients with prosthetic joints. *J Am Dent Assoc*. 2020;151(1):3–14.
28. Sutherland S, Born K, Singhal S. Moving the needle on dental antibiotic overuse in Canada post COVID-19. *Can Commun Dis Rep*. 2022;48(11–12):537–540.
29. World Health Organization. WHO report on surveillance of antibiotic consumption. Geneva: WHO; 2019.

RINGRAZIAMENTI

Il mio primo ringraziamento va alla Professoressa Maria Menini, relatrice di questa tesi, per avermi guidato con competenza e dedizione in ogni fase di questo percorso di ricerca. La ringrazio profondamente per la sua disponibilità, il rigore scientifico e la passione per la ricerca che ha sempre saputo trasmettermi, e per avermi dato l'opportunità di partecipare a un progetto così stimolante come il Progetto PRIN PNRR P2022RTTFC.

Un sentito ringraziamento va a tutto il team del progetto, per la collaborazione e il supporto costante offerti nella raccolta e nell'analisi dei dati che hanno reso possibile questo lavoro.

Voglio inoltre esprimere la mia più profonda gratitudine alla mia famiglia, che è stata il mio punto fermo in ogni momento di questo lungo percorso, sostenendomi con amore e pazienza infinita e condividendo con me ogni fatica e ogni soddisfazione.

Un grazie speciale e di cuore va alle mie sorelle, che sono sempre state al mio fianco, pronte a incoraggiarmi nei momenti di difficoltà e a festeggiare con me ogni piccolo traguardo raggiunto. Senza il loro affetto e il loro sostegno costante, questo percorso sarebbe stato molto più difficile da affrontare.

Ringrazio infine tutti gli amici, le persone care e i colleghi che, con una parola, un gesto o un sorriso, mi hanno accompagnato lungo il cammino di questi anni di studio. Ognuno di voi ha lasciato un segno in questo percorso, e porto con me questo traguardo anche grazie a voi.