



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

**DOTTORATO DI RICERCA IN NEUROSCIENZE
CLINICO-SPERIMENTALI E PSICHIATRIA**

XXX CICLO

**CURRICULA: NEUROPSICOLOGIA E PSICOPATOLOGIA DELLO
SVILUPPO**

Coordinatore: Prof. Marco Salvetti

TESI DI DOTTORATO

**Infezioni da streptococco e Disturbi da Tic. Studio su un
campione di soggetti in età evolutiva e considerazioni sul
management clinico del paziente con tic.**

Tutor

Prof. Vincenzo Leuzzi

Cotutor

Prof. Francesco Cardona

Candidata

Dott.ssa Valeria Neri

INDICE

1. PREFAZIONE	4
2. SOMMARIO E SCOPO DELLA TESI	6
3. SEZIONE I	8
3.1 INTRODUZIONE	8
3.2 STUDIO	13
3.3 DISEGNO DELLO STUDIO	14
3.3.2 Popolazione in studio	16
3.3.3 Procedure dello studio	18
3.4 METODI	24
3.5 RISULTATI	25
3.6 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	26
4. SEZIONE II	28
5. BIBLIOGRAFIA	36
6. ALLEGATI	40

1. PRAFAZIONE

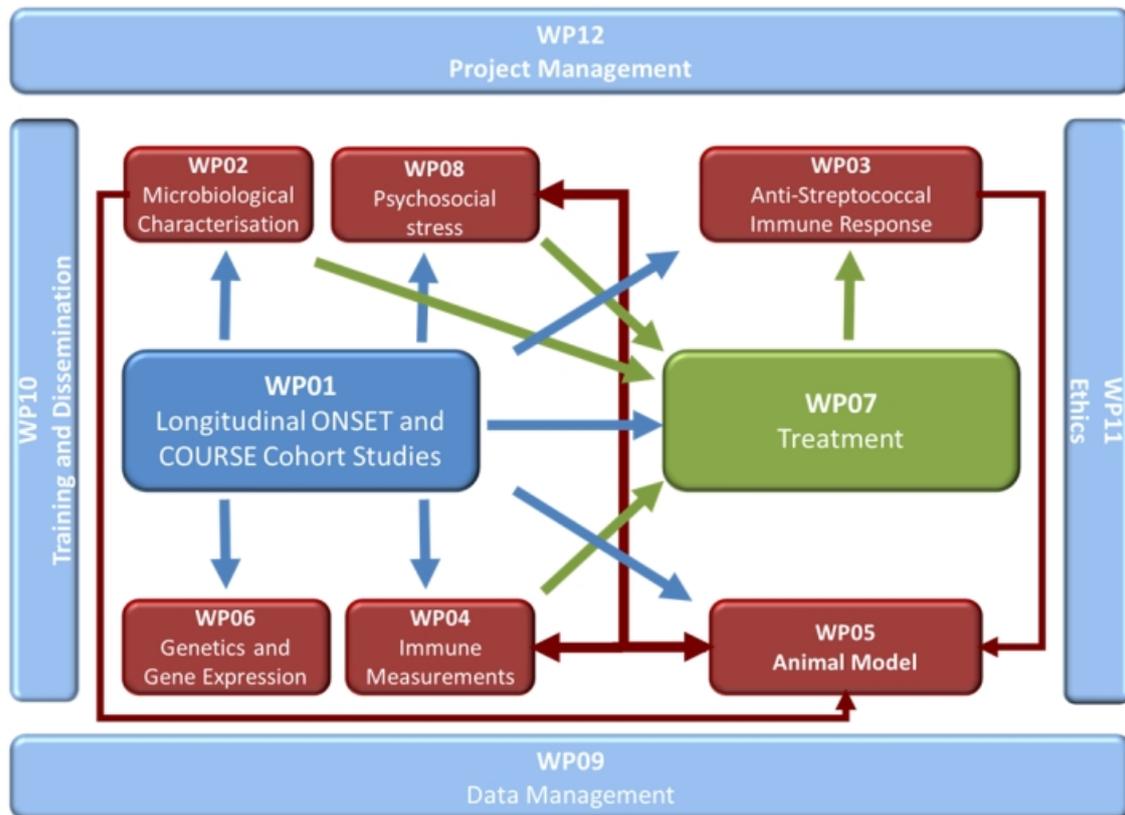
La ricerca e le attività svolte nel corso dei tre anni di dottorato si inseriscono nell'ambito del più vasto studio "EMTICS - EUROPEAN MULTICENTER TICS IN CHILDREN STUDIES", finanziato dalla Unione Europea tramite il programma di finanziamento FP7, che coinvolge 27 partner da 11 differenti nazioni. Tale studio si prepone di migliorare la comprensione della Sindrome di Tourette affrontando l'argomento da molteplici punti di vista: l'influenza dei fattori genetici, il ruolo dell'interazione con fattori ambientali, ed in particolare il ruolo dello stress psico-sociale attraverso l'asse HPA; la presenza di peculiarità o anomalie nella risposta immunitaria e il ruolo dell'autoimmunità, attraverso l'analisi della risposta cellulo-mediata, umorale, e dell'RNA di nuova sintesi in corso di esacerbazioni sintomatologiche e di infezioni streptococciche; l'esposizione a infezione da GAS, e lo studio delle componenti microbiche come catalogo di variabilità antigenica potenzialmente in grado di elicitare la produzione di autoanticorpi diretti verso particolari antigeni dell'ospite.

Lo studio è organizzato in 12 work packages.

In particolare la dott.ssa Neri ha coperto il ruolo di Investigator nello studio "EMTICS – AntibioTICS. Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, sull'efficacia dell'amoxicillina/acido clavulanico in pazienti affetti da Disturbi da Tic e colonizzati da GAS. Studio no-profit" registrato con Codice EudraCT 2012-002430-36.

Lo studio EMTICS – AntibioTICS è espressione del work package WP07-Treatment, che ad integrazione della ricerca nella sua complessità, si inserisce nell'osservazione del decorso del disturbo, e si propone di

verificare l'efficacia del trattamento della colonizzazione da GAS sulla gravità dei sintomi ticcosi.



Con il consenso del PI/leader del WP07, prof. Francesco Cardona, e del dott. Pieter Hoekstra, coordinatore del progetto, si è fatto riferimento ai dati relativi ai soggetti arruolati per lo studio presso il centro clinico afferente all'Ambulatorio dei disturbi del movimento, presso il Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Sapienza Università di Roma.

2. SOMMARIO E SCOPO DELLA TESI

SEZIONE I

L'attività di ricerca è stata finalizzata in particolare alla raccolta dei dati relativi alle infezioni da streptococco nei soggetti con Disturbo da Tic, per quanto riguarda la natura del patogeno (distribuzione dei sierotipi, fattori di virulenza, correlazione con la gravità sintomatologica) al fine di approfondire le relazioni fra le componenti patogene e l'organismo ospite alla luce dei dati di letteratura e di delineare una robusta ipotesi eziopatogenetica alla base del disturbo stesso.

Tale attività di ricerca è stata parallelamente accompagnata dall'attività clinica di osservazione e valutazione dei soggetti arruolati al fine di studiare la presenza di eventuale correlazione fra andamento della sintomatologia ticcosa e infezioni/colonizzazioni da parte di GAS, l'impatto del trattamento farmacologico sulla sintomatologia ticcosa e l'esistenza di eventuali sottogruppi clinicamente differenziabili all'interno della popolazione generale dei soggetti arruolati, con diversa predisposizione a sviluppare infezioni/colonizzazioni da GAS.

In tal modo è stato possibile in particolare raccogliere e registrare i dati relativi a tutti i soggetti arruolati, sia in riferimento all'osservazione clinica della sintomatologia espressa, sia riguardo i campioni organici derivati da prelievi ematici e tamponi faringei.

Sono stati inoltre raccolti i dati relativi alla presenza di eventuali disturbi in comorbidità, analizzando l'andamento delle patologie associate

in relazione a quello della sintomatologia ticcosa e in relazione all'eventuale intercorrenza di infezioni da streptococco.

SEZIONE II

In tale sezione verranno riportate le considerazioni nate durante lo svolgimento della ricerca, in merito alla natura del management del paziente con Disturbo da Tic, in relazione alla complessità del disturbo e alla frequente presenza di disturbi in comorbidità. Tali considerazioni hanno portato alla raccolta e alla registrazione degli interventi effettuati a latere del protocollo di studio originario, al fine di analizzare la natura del bisogno e della domanda dei soggetti arruolati e delle loro famiglie.

3. SEZIONE I

3.1 INTRODUZIONE

Secondo la classificazione del DSM V i disturbi da tic sono rappresentati da 4 categorie diagnostiche differenti: il disturbo di Tourette, il disturbo cronico da tic motori o vocali, il disturbo da tic provvisorio e il disturbo da tic non altrimenti specificato. Tali disturbi sono caratterizzati dalla presenza di molteplici movimenti (tic motori) e/o emissione di suoni (tic vocali/fonici) improvvisi, rapidi, ricorrenti e non ritmici. Il disturbo di Tourette, o sindrome di Tourette (TS), il disturbo cronico da tic da sempre più studiato, presenta una prevalenza compresa tra lo 0,4% e il 3,8% nella popolazione pediatrica e una prevalenza complessiva dell'1% nella popolazione generale (Robertson, 2008; Swain, Scahill, Lombroso, King, & Leckman, 2007); nella TS si riscontra la presenza di tic motori multipli e uno o più tic fonici, per un periodo superiore ad un anno. L'esordio del disturbo si colloca tipicamente nella prima età scolare (in media 7 anni) e presenta un andamento tipico recidivante-remittente. Molti dei soggetti con TS presentano in comorbidità altre condizioni neuro-comportamentali e neuropsichiatriche quali deficit d'attenzione, iperattività, impulsività, sintomi ossessivo-compulsivi e disturbi dell'apprendimento-difficoltà scolastiche (Altman, Staley, & Wener, 2009; Eddy et al., 2011; Elstner, Selai, Trimble, & Robertson, 2001; Storch, Lack, et al., 2007). Secondo i dati di letteratura il legame fra TS e disturbo ossessivo-compulsivo (OCD) è ben rappresentato dal fatto che il 30% dei soggetti con OCD presenti tic in comorbidità e che al contrario, fino ai 2/3 dei bambini con TS possano presentare sintomi ossessivo-compulsivi. Per quanto riguarda il disturbo da

deficit di attenzione e iperattività, la letteratura riporta casi in sovrapposizione sino al 60% nel gruppo dei soggetti con TS; frequenze elevate di comorbidità sono infine riportate per i disturbi d'ansia, per la depressione e per disturbi dell'apprendimento. Inoltre tic e disturbi associati influiscono negativamente sulla qualità della vita, sul funzionamento sociale e sulla possibilità di raggiungere obiettivi accademici e lavorativi (Cubo et al., 2017; Storch, Merlo, et al., 2007).

Nonostante si tratti di un insieme di disturbi piuttosto frequenti, le conoscenze sulla patogenesi e sull'eziologia dei disturbi da tic sono ancora carenti. Tale mancanza di conoscenza si riflette in una limitata disponibilità di opzioni terapeutiche, che, al momento, sono finalizzate al contenimento della sintomatologia ticcosa e dei sintomi in comorbidità, ma che non possono portare ad una risoluzione del disturbo stesso (McNaught & Mink, 2011).

Sulla base di dati empirici farmacologici e sulla base dello studio di neuroimmagini è stato identificato come centrale il coinvolgimento dei circuiti fronto-cortico-striatali e dei neurotrasmettitori dopaminergici nell'alterazione/disfunzione del controllo del funzionamento motorio alla base del disturbo stesso, e altri neurotrasmettitori sembrano inoltre intervenire nel dare forma al quadro clinico della TS. Tuttavia il meccanismo responsabile di tale alterazione rimane sconosciuto. L'interazione fra fattori di vulnerabilità genetici ed ambientali sarebbe all'origine della TS, ma anche tale interazione non è al momento pienamente compresa. Molti studi anche recenti hanno evidenziato un maggior rischio di sviluppare un disturbo da tic in relazione al grado di parentela con soggetti affetti (de Haan, Delucchi, Mathews, & Cath, 2015; Mataix-Cols et al., 2015; Zilhão et al., 2017).

Diversi geni coinvolti nel funzionamento delle vie cortico-striato-talamico-corticali sono stati studiati per l'associazione con la suscettibilità

alla TS, mentre studi di linkage ed associazione, su grandi famiglie con individui multipli affetti o piccole famiglie nucleari con uno o due bambini con TS, hanno anche coinvolto numerose regioni cromosomiche. Ad oggi, nonostante tutti questi tentativi, non è stato trovato un singolo gene con maggiore influenza.

Nel tentativo di una più approfondita comprensione della genesi del disturbo sono stati presi in considerazione anche fattori ambientali associati ai disturbi da tic; in particolare lo stress psicosociale, i problemi gestazionali e perinatali, fattori ormonali, patogeni microbici (Buse, Kirschbaum, Leckman, Münchau, & Roessner, 2014; Cohen & Leckman, 1994; Kurlan, 1992; Pringsheim, Sandor, Lang, Shah, & O'Connor, 2009).

Fra i patogeni microbici lo *Streptococcus pyogenes* di gruppo A beta-emolitico (GAS) è stato largamente studiato nella sua associazione con disturbi neuropsichiatrici; oltre ad essere frequente causa della faringite comune, può essere responsabile di severe complicazioni sistemiche causate dalla cross-reazione di anticorpi contro antigeni del GAS con antigeni dell'ospite, come nel caso della malattia reumatica, della glomerulonefrite post-streptococcica, della corea di Sydenham.

Ipotizzando attraverso un meccanismo simile a tale risposta autoimmune, la possibilità che l'ospite possa produrre anticorpi in seguito all'infezione streptococcica che cross-reagiscono con il tessuto cerebrale, nel 1998 è stato introdotto il concetto di Paediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infections (PANDAS). Swedo e colleghi descrissero 50 casi in cui emergeva una relazione stretta fra sintomi neuropsichiatrici e infezione da streptococco (Swedo et al., 1998). La diagnosi di PANDAS si basava sul riscontro di 5 criteri: 1) insorgenza in età prepuberale; 2) presenza di disturbo ossessivo-compulsivo, tic o entrambi 3) insorgenza "esplosiva" dei sintomi e fasi improvvise di esacerbazioni e remissioni 4) relazione temporale tra le

esacerbazioni dei sintomi con le infezioni da GAS 5) presenza di sintomi neuropsichiatrici e di “soft signs” neurologici durante i periodi di riesacerbazione.

Dopo circa 20 anni dall'introduzione della definizione di PANDAS è in corso un acceso dibattito riguardo l'esistenza o meno di tale entità diagnostica e riguardo la possibilità di introdurre ulteriori o più specifici sottogruppi (Macerollo & Martino, 2013). In particolare grande sforzo si sta facendo per delineare un protocollo diagnostico affidabile e condiviso per affrontare dal punto di vista dell'intervento terapeutico i casi di sospetto PANDAS, scongiurando il ricorso all'uso della terapia antibiotica senza il supporto di evidenza scientifica.

Sebbene sia pertanto ancora controverso se si debbano utilizzare criteri più stringenti per i PANDAS per individuare un'unica entità clinica, la maggior parte delle osservazioni cliniche, epidemiologiche e delle scienze di base spingono verso ulteriori ricerche del ruolo potenziale dell'immunità naturale e adattiva nella patogenesi dei tic e dell'OCD (Martino, Dale, Gilbert, Giovannoni, & Leckman, 2009; Murphy, Kurlan, & Leckman, 2010). Di recente, è stata suggerita un'interessante interazione possibile tra le infezioni da GAS e lo stress psicosociale nel modulare i comportamenti patologici nei pazienti con TS (Lin et al., 2010). Si è ipotizzato che fattori genetici ed ambientali con azione su sistemi regolatori (come il sistema immunitario ed endocrino) possano interagire per determinare una vulnerabilità neurobiologica verso lo sviluppo di tic e comportamenti associati. Comunque, i meccanismi che portano a tale vulnerabilità sono tuttora poco definiti. La conoscenza di questi meccanismi potrà infine condurre alla prevenzione o al trattamento di questi disturbi intervenendo su tali fattori.

I pochi studi condotti su questo argomento mostrano che i bambini affetti da disturbo da tic hanno una percentuale di colonizzazione da GAS

simile o leggermente superiore rispetto alla popolazione generale (Cardona & Orefici, 2001; Creti et al., 2004).

Tuttavia, molti studi hanno documentato un Titolo Anti-Streptolisinico (TAS) elevato in bambini con disturbi da tic. Cardona e Orefici nel lavoro precedentemente citato riportano un TAS significativamente maggiore in 150 bambini con tic rispetto a 150 bambini sani, documentando una relazione diretta tra TAS e gravità dei tic. Nel loro studio, tuttavia, l'esame colturale dell'essudato faringeo di una sottopopolazione di pazienti non ha evidenziato un sierotipo predominante di GAS associato a tic. Anche in una coorte americana di 81 pazienti con TS sono state ritrovate livelli di TAS più elevati rispetto a volontari sani appaiati per età e a un gruppo di pazienti con diverse malattie autoimmunitarie (Morshed, Mercadante, & Lombroso, 2001). Sono stati inoltre osservati alti titoli di TAS, anti-deossiribonucleasi B (anti-DNAse B), anti-M12 e anti-M19 dello Streptococco in un piccolo campione tedesco di pazienti con TS (Müller et al., 2001). In una coorte britannica di 100 pazienti con TS (di cui il 50% bambini), il TAS era aumentato nel 64% dei bambini e nei 68% degli adulti con TS, essendo significativamente più alto rispetto ai pazienti con malattie neurologiche e ai soggetti sani di controllo (Church, Dale, Lees, Giovannoni, & Robertson, 2003). Mentre due report da coorti britanniche e italiane hanno confermato questi risultati (Rizzo, Gulisano, Pavone, Fogliani, & Robertson, 2006), ed elevazione del TAS persistente nel tempo è stata nuovamente messa in evidenza in più della metà dei pazienti con TS (Martino et al., 2011), in uno studio americano non si è trovata un'associazione significativa tra TAS e anti-DNAse B utilizzando lo stesso approccio trasversale (Loiselle, Wendlandt, Rohde, & Singer, 2003).

Nel complesso, queste osservazioni lasciano pensare che la colonizzazione da GAS possa funzionare da trigger ad una risposta immune

anti-streptococcica prolungata, che può contribuire alla persistenza dei sintomi ticcosi. In tale caso il trattamento antibiotico della colonizzazione da GAS in pazienti affetti da un disturbo cronico da tic potrebbe modificare la sintomatologia in termini di gravità e numero di esacerbazioni. Al momento attuale non sono però disponibili dati scientificamente robusti a sostegno di tale ipotesi: due studi, che si proponevano di studiare l'efficacia di trattamenti preventivi diversi sul numero di esacerbazioni dei tic, hanno ottenuto risultati non univoci, principalmente a causa di una scarsa compliance (Garvey et al., 1999; Snider, Lougee, Slattery, Grant, & Swedo, 2005).

Dati contraddittori sono emersi anche da studi preclinici: l'infusione di siero contenente autoanticorpi TS nello striato di roditori in alcuni casi ha portato ad alterazioni comportamentali e neurochimiche riconducibili al pattern sintomatologico dei PANDAS (Hallett, Harling-Berg, Knopf, Stopa, & Kiessling, 2000; Yeh et al., 2012), mentre lo stesso risultato non è stato riprodotto in analoghi studi (Ben-Pazi, Sadan, & Offen, 2012; Loiselle, Lee, Moran, & Singer, 2004).

3.2 STUDIO

Lo studio si propone di analizzare la relazione fra infezioni da streptococco e sintomatologia ticcosa nei soggetti con Disturbo da Tic, attraverso l'analisi dell'eventuale correlazione fra andamento della sintomatologia ticcosa e infezioni/colonizzazioni da parte di GAS, l'impatto del trattamento farmacologico sulla sintomatologia ticcosa e l'esistenza di eventuali sottogruppi clinicamente differenziabili all'interno della popolazione generale dei soggetti arruolati, con diversa predisposizione a sviluppare infezioni/colonizzazioni da GAS.

La presenza di disturbi in comorbidità verrà contestualmente presa in considerazione, analizzando l'andamento delle patologie associate in relazione a quello della sintomatologia ticcosa e in relazione all'eventuale intercorrenza di infezioni da streptococco.

A tal fine è stato progettato uno studio controllato con amoxicillina/acido clavulanico (AUGMENTIN) contro placebo in pazienti con tic che mostrino una colonizzazione da GAS, nell'ambito dell'osservazione e valutazione di soggetti in età evolutiva con TS o Disturbo cronico da tic. Amoxicillina/acido clavulanico è il farmaco di prima scelta per le faringotonsilliti streptococciche. La superiorità dell'amoxicillina rispetto alla penicillina nel trattamento delle infezioni da GAS è stato dimostrato (Curtin-Wirt et al., 2003). Inoltre il trattamento per 10 giorni con amoxicillina/acido clavulanico si è dimostrato più efficace per l'eradicazione dello streptococco di gruppo A nei pazienti con infezione delle alte vie respiratorie in cui il trattamento con penicillina V non aveva funzionato (Kaplan & Johnson, 1988).

Il trattamento con amoxicillina/acido clavulanico per 10 giorni dovrebbe inoltre limitare eventuali problemi di compliance da parte dei pazienti, data la brevità del ciclo stesso.

3.3 DISEGNO DELLO STUDIO

I pazienti affetti da un disturbo cronico da tic seguiti nell'ambito dello Studio Longitudinale Course-EMTICS hanno ricevuto un iniziale assessment anamnestico, clinico, sierologico e microbiologico. Valutazioni cliniche, laboratoristiche e microbiologiche quadrimestrali sono state programmate in alternanza a valutazioni ed interviste telefoniche a due mesi da ogni controllo clinico. Tutti i soggetti che abbiano inoltre mostrato una coltura positiva per GAS ad un esame colturale nel corso del follow-up

sono stati considerati eleggibili per il trial sul trattamento ed invitati ad entrare nel trial clinico “AntibioTIC”.

I pazienti arruolati successivamente nel trial sono stati assegnati in modo randomizzato all’antibiotico o al placebo in rapporto 1:1. È stato prescritto un trattamento antibiotico per 10 giorni (amoxicillina/acido clavulanico alla dose di 25/3,6 mg/kg/die, in due somministrazioni al giorno) o un placebo, entrambi in forma di sospensione orale. Il farmaco è stato fornito dalla farmacia del centro clinico in bottiglie etichettate. I pazienti hanno ricevuto istruzioni sul trattamento dal clinico di riferimento e sono state consegnate loro delle istruzioni cartacee relative alla modalità di assunzione del farmaco.

Tutti i partecipanti hanno effettuato una valutazione microbiologica, sierologica e clinica un mese dopo la data d’arruolamento nello studio clinico (circa 20 giorni dopo la fine del trattamento). Successivamente, i pazienti sono stati seguiti con valutazioni cliniche, laboratoristiche e microbiologiche quadrimestrali per un anno.

L’apertura del cieco è stata programmata alla fine del follow-up dello studio clinico (1 anno dopo il reclutamento).

Nel caso di evidente infezione da GAS o necessità di assumere antibiotico per altra condizione clinica in corso di follow-up è programmato il ritiro dallo studio con uscita immediata dal cieco.

3.3.1 Endpoints/Misure di Outcome Primari e Secondari

- Misure principali di Outcome

Yale Global Tic Severity Scale (YGTSS)

- Misure secondarie di Outcome

1) Premonitory Urge for Tics Scale (PUTS)

- 2) Children's Yale Brown Obsessive-Compulsive Scale (CYBOCS)
- 3) Sintomi di disturbi dello spettro autistico, ADHD, di disturbi psicopatologici internalizzanti ed esternalizzanti
 - a. Social Communication Questionnaire (SCQ).
 - b. Swanson, Nolan, and Pelham, version IV (SNAP-IV) rating scale.
 - c. Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ).
- 4) Complicanze prenatali e perinatali, valutate attraverso self-report dei genitori.
- 5) Stress psicosociale, valutato utilizzando la Perceived Stress Scale (PSS) e la PSS-short version.
- 6) Tipizzazione microbiologica della popolazione batterica GAS.
- 7) Risposta immune anti-streptococcica

3.3.2 Popolazione in studio

Il campione della ricerca è costituito da 60 soggetti di età compresa fra i 3 e i 12 anni, con diagnosi di TS o Disturbo cronico da tic, 44 maschi e 16 femmine, con esclusione di ritardo mentale. Al momento dell'arruolamento i soggetti presentavano valori riscontrati alla YGTSS compresi fra 4 e 35 (Yale total tic severity score) e fra 4 e 59 (Yale global tic severity score). 3 soggetti assumevano terapia farmacologica per il controllo della sintomatologia ticcosa (rispettivamente aloperidolo, clonidina, aripiprazolo). Inoltre 2 bambini presentavano OCD, 2 sintomi OC, 1 ADHD tipo combinato, 3 ADHD tipo inattentivo, 3 diagnosi subclinica di ADHD, 1 OCD e ADHD subclinico, 1 sintomi OC e ADHD subclinico, 1 disturbo d'ansia. Dall'anamnesi familiare è emersa una storia di TS o Disturbo cronico da tic in almeno uno dei genitori di 19 soggetti su 60.

Familiarità per TS o Disturbo cronico da tic si è rilevata invece per 33 soggetti.

- **Criteri di inclusione**

- Partecipanti e/o genitori in grado di fornire il consenso informato per la partecipazione allo studio.
- Maschi o femmine, di età compresa tra i 3 e i 16 anni.
- Diagnosi di Sindrome di Tourette o altro Disturbo Cronico da Tic, secondo i criteri del DSM IV-TR
- Evidenza di colonizzazione da GAS nel corso di una visita dello Studio Longitudinale EMTICS Course (per il trial clinico).
- Nessun trattamento in atto con psicofarmaci o trattamento stabile antiticcoso per almeno 2 mesi prima dell'arruolamento nello studio.
- Essere in grado (secondo quanto valutato dagli sperimentatori) ed essere disposto ad aderire a tutti i requisiti dello studio.

- **Criteri di esclusione per il trial clinico**

I partecipanti non possono entrare nello studio se UNA QUALSIASI delle seguenti condizioni si verifica:

- Il bambino e/o i genitori non sono in grado di comprendere e aderire al protocollo.
- Trattamento antibiotico per qualsiasi motivo durante il mese precedente l'arruolamento nello studio (per trial clinico).
- Manifestazioni cliniche di faringiti o altre infezioni da streptococco al momento dell'arruolamento nello studio.
- Ipersensibilità nota o sospetta a penicillina o altri antibiotici beta-lattamici, storia di ittero colestatico o insufficienza epatica associati ad assunzione di amoxicillina/clavulanato.

- Danno renale o epatico noto e/o sospetto (a causa della potenziale tossicità legata al farmaco in pazienti con tali condizioni).
- Interventi chirurgici elettivi o altre procedure che richiedano l'anestesia generale durante lo studio.
- Qualsiasi altra malattia significativa o disturbo che, secondo lo sperimentatore, possa sia mettere i pazienti a rischio a causa della partecipazione allo studio sia influenzare il risultato dello studio o la capacità del paziente di partecipare allo studio.
- Partecipanti che abbiano preso parte ad altri studi di ricerca con un farmaco in studio nelle ultime 12 settimane.

3.3.3 Procedure dello studio

Prospetto delle Visite:

- a) Visita baseline
- b) Visita di Screening e valutazione dell'eleggibilità per trial clinico
- c) Visita post-trattamento
- d) Visite trimestrali di follow-up
- e) Compilazione dei diari a casa
- f) Intervista telefonica trimestrale

a) Visita Baseline

Al tempo zero, ai bambini e ai genitori che acconsentano a partecipare è stato chiesto di completare un questionario sui dati demografici, sulle comorbidità e sui potenziali fattori di rischio per lo sviluppo di tic/OCD, come i fattori perinatali. Il contenuto è stato analizzato con il clinico dello studio e i pazienti sono stati esaminati utilizzando la YGTSS e la CY-BOCS per valutare la gravità dei tic e/o dei sintomi ossessivo-compulsivi, e la Perceived Stress Scale PSS-P e PSS-C (versione 10 items). È stato anche chiesto loro di donare un campione di sangue (7 ml) per l'analisi di

parametri immunologici compreso il TAS, insieme alla risposta immune anti-streptococcica, e di donare un campione di essudato faringeo per stabilire la condizione di portatore di GAS, e un campione di capelli per il cortisolo.

b) Visita di Screening e Valutazione dell'eleggibilità

I pazienti seguiti che mostrino una colonizzazione da GAS in una delle visite programmate sono stati invitati a partecipare allo Studio Clinico "AntibioTIC". I pazienti sono stati invitati a sottoporsi ad una visita di screening da effettuare a partire da una settimana dalla conferma della positività GAS. È scopo di tale visita la valutazione dei criteri di inclusione e di esclusione, ottenere il consenso informato per iscritto e di fornire il farmaco in studio.

La visita include inoltre un'intervista su trattamenti antibiotici o psicotropi in atto o pregressi e su ipersensibilità nota ad amoxicillina, acido clavulanico, beta lattamici (penicillina, cefalosporine) o ad uno degli eccipienti.

I pazienti saranno stati contestualmente sottoposti ad un esame obiettivo per escludere la presenza di segni di infezione streptococcica. Sono stati rilevati anche l'altezza, il peso e la temperatura orale.

Se considerati eleggibili, i pazienti sono stati assegnati in maniera randomizzata all'antibiotico o al placebo in rapporto di 1:1.

Il farmaco è stato prescritto dallo sperimentatore ed è stato fornito dalla farmacia del centro clinico in bottiglie prive di etichetta. I pazienti hanno ricevuto istruzioni sulla procedura del trattamento.

c) Visita post-trattamento

Un mese dopo l'arruolamento nello studio clinico, circa 20 giorni dopo la fine del trattamento farmacologico, ogni partecipante ha effettuato

una visita in cui è stata condotta una valutazione clinica completa ed un assessment (che include la somministrazione della YGTSS, della CY-BOCS e PSS-P e PSS-C). Ai pazienti è stato chiesto di donare un campione di sangue (7 ml) per l'analisi di parametri immunologici tra cui il TAS, e della risposta immune anti-streptococcica. Ai pazienti è stato inoltre chiesto di donare un campione di essudato faringeo e un campione di capelli per il dosaggio del cortisolo.

d) Visita quadrimestrale di follow-up

I soggetti hanno effettuato una valutazione clinica quadrimestrale e un assessment (compresa la somministrazione della YGTSS e la PUTS, la CY-BOCS e la Perceived Stress Scale PSS-P e PSS-C versione 10 items), e sono stati interrogati sulla manifestazione di sintomi di infezione o il verificarsi di eventi significativi nella loro vita nel corso del follow-up. Sono stati esaminati i diari settimanali. Ai partecipanti è stato chiesto di donare un campione di essudato faringeo per valutare la possibile presenza di GAS. Inoltre, è stato richiesto di donare un campione di capelli per l'analisi del cortisolo come marker di stress psicosociale cronico.

e) Compilazione dei diari a casa

Ai genitori/tutori è stato chiesto di compilare un diario settimanale (da completare in meno di 10 minuti) di ogni tic o sintomo ossessivo-compulsivo o sintomi di infezione, e di comunicare il contenuto del diario al centro ogni mese. I possibili sintomi sono stati spiegati durante la visita di baseline. Le famiglie sono state istruite a comunicare ai clinici di riferimento il più rapidamente possibile l'eventuale esacerbazione della sintomatologia ticcosa, al fine di programmare una visita di controllo nel più breve tempo possibile, al massimo entro un mese. Le comunicazioni sono state effettuate per email, messaggi di testo, telefono o posta, secondo

la preferenza dei partecipanti. Sono stati inviati promemoria per email o messaggi di testo, come ritenuto più opportuno, per ricordare di completare il diario o di rispondere con una risposta sì/no.

f) Intervista telefonica quadrimestrale

A metà tra due visite programmate, i genitori sono stati contattati per telefono ad un orario concordato per effettuare un'intervista standardizzata finalizzata a valutare l'andamento dei tic e dei sintomi ossessivo-compulsivi in eventuale compresenza. È stato analizzato il verificarsi di infezioni recenti e sono state poste alcune domande sullo stress psicosociale. Nel caso in cui dal diario sia emersa o sia sospetta la comparsa di possibili infezioni o di esacerbazione della sintomatologia ticcosa, è stata programmata una visita per raccogliere un campione di essudato faringeo e di siero per valutare l'evenienza di una recente esposizione a GAS.

Come anticipato, il campione della ricerca è costituito da 60 soggetti di età compresa fra i 3 e i 12 anni, con diagnosi di TS o Disturbo cronico da tic. Nel corso della ricerca 28 soggetti hanno presentato positività al tampone faringeo. Di questi 28, 12 hanno presentato positività ripetute in visite differenti (tab. 1).

Tabella 1. Positività rilevate al tampone faringeo.

Co-ROM-003-vis1
Co-ROM-004-vis1
Co-ROM-007-vis2
Co-ROM-009-vis1
Co-ROM-009-T1
Co-ROM-010-vis1
Co-ROM-010-T1
Co-ROM-014-visFi
Co-ROM-016-vis3
Co-ROM-020-vis3

Co-ROM-024-vis1
Co-ROM-024-visT1
Co-ROM-024-vis2
Co-ROM-024-visE2
Co-Rom-025-visFi
Co-ROM-027-vis1
Co-ROM-029-vis3
Co-ROM-031-vis2
Co-ROM-031-vis3
Co-ROM-031-vis4
Co-ROM-034-vis2
Co-ROM-035-vis1
Co-ROM-037-vis1
Co-ROM-037-vis3
Co-ROM-037-visF+E4
Co-ROM-039-vis2
Co-ROM-039-visE1
Co-ROM-039-visE3
Co-ROM-039-vis Fi+E4
Co-ROM-041-vis1
Co-ROM-041-visE2
Co-ROM-042-vis1
Co-ROM-043-vis2
Co-ROM-043-vis3
Co-ROM-045-vis2
Co-ROM-050-vis1
Co-ROM-050-vis2
Co-ROM-050-visFi
Co-ROM-053-vis1
Co-ROM-053-vis2
Co-ROM-053-vis3
Co-ROM-053-visE1
Co-ROM-054-vis1
Co-ROM-056-visE2
Co-ROM-057-vis1
Co-ROM-057-vis2
Co-ROM-058-vis1
Co-ROM-058-visFi
Co-ROM-060-vis1

Come da protocollo, a tutti i soggetti con positività al tampone faringeo è stato proposto di partecipare allo studio clinico “AntibioTIC”. Solo 8 soggetti hanno accettato di entrare nel trial, mentre gli altri hanno

richiesto di poter continuare a partecipare alla ricerca principale Emtics-Course, scegliendo se trattare o meno la colonizzazione rilevata.

Gli 8 soggetti aderenti al trial sono stati assegnati in maniera randomizzata all'antibiotico o al placebo. Tutti i soggetti hanno portato a termine i 10 giorni di trattamento previsti, e in nessun caso si sono registrati effetti indesiderati. All'apertura del cieco si è riscontrato che 5 degli 8 soggetti erano stati associati al placebo, e i rimanenti 3 al trattamento con antibiotico. I dati disponibili si sono rilevati assolutamente insufficienti per poter effettuare una analisi statistica come programmato all'inizio del reclutamento.

Da sottolineare che, nonostante l'esiguità della popolazione aderente al trial nel centro clinico di Roma, la percentuale dei soggetti partecipanti ad "AntibioTIC" in questo centro è stata la maggiore rilevata in tutti i centri clinici europei partecipanti allo studio Emtics-Course: a fronte di 222 tamponi positivi rilevati in 148 dei 703 soggetti totali partecipanti, solo 13 soggetti sono stati arruolati nel trial "AntibioTIC", compresi gli 8 soggetti del nostro centro.

Non essendo possibile utilizzare i soli dati raccolti nel trial, si è deciso di attingere alle informazioni e ai dati relativi alle visite, ai diari e alle interviste telefoniche dello studio Course, effettuate durante tutto il periodo di follow-up dei soggetti. È stato possibile registrare in tale modo, in modo retrospettivo, ogni eventuale assunzione di antibiotico verificatasi in tale periodo. Sono state quindi registrate le assunzioni di antibiotico localizzate temporalmente nel periodo intercorso fra il riscontro della positività al tampone faringeo e la visita di controllo successiva, a fronte di eventuale nessuna assunzione di antibiotico nello stesso intervallo temporale. Da segnalare inoltre, al fine dell'assegnazione al gruppo "antibiotico" vs "no antibiotico", che 1 dei soggetti partecipanti al TRIAL e

assegnati in modo randomizzato al placebo, ha assunto nello stesso intervallo temporale terapia antibiotica per altra patologia, ed è stato pertanto incluso nel gruppo “antibiotico”.

3.4 METODI

Per ogni soggetto sono state rilevate le seguenti variabili, sia al tempo 0 (t0, data della visita in cui il tampone faringeo del soggetto risultava positivo allo Streptococco) sia al tempo 1 (t1, data della visita successiva a circa 4 mesi di distanza dalla precedente):

- Yale Total Tic Severity Score
- Yale Impairment Score
- CGI-Clinical Global Impression – Tics Severity Scale
- CY-BOCS – total score
- SNAP – iperattività/impulsività
- SNAP – inattenzione
- SNAP – DOP
- PUTS totale e punt. medio
- SDQ total score

Le osservazioni a t0 e t1, e la loro variazione tra t0 e t1 (misurata come differenza t1-t0), vengono sintetizzate e presentate come medie e deviazioni standard (SD). Le differenze (t1-t0) sono state analizzate con l’analisi della varianza (ANOVA) con modello fattoriale, che includeva due fattori ad effetti fissi (trattamento con antibiotico tra t0 e t1 sì vs no, e risultato del tampone faringeo a t1 positivo vs negativo). Sono stati inclusi inoltre nell’analisi dei dati sia il trattamento con antibiotico tra t0 e t1, sia il risultato del tampone a t1: è stato pertanto valutato altresì l’effetto

principale del tampone (cioè dell'eventuale negativizzazione del tampone tra t0 e t1, anche in assenza di terapia antibiotica).

I soggetti che risultavano positivi a più di un tampone faringeo contribuivano all'analisi con più osservazioni, che erano fra loro non indipendenti. Per tenere conto di ciò nella valutazione degli effetti principali della terapia e del tampone faringeo a t1 e della loro interazione, sono state utilizzate stime robuste degli errori standard dei parametri. Si consideravano statisticamente significativi gli effetti con $p \leq 0.05$. Per le analisi statistiche è stato utilizzato il software STATA versione 8.1.

3.5 RISULTATI

Relativamente alla variazione dei punteggi tra t0 e t1, non si sono osservate differenze statisticamente significative tra soggetti trattati con antibiotico e soggetti di controllo per tutte le variabili esaminate ad eccezione di PUTS_SUM e PUTS_MEAN; per queste variabili i soggetti trattati con antibiotico mostravano una lieve riduzione dello score mentre i controlli mostravano un lieve aumento. Le differenze osservate (t1-t0) erano però simili tra i soggetti in cui il tampone faringeo si era negativizzato (in conseguenza al trattamento antibiotico o spontaneamente) e i soggetti in cui il tampone continuava ad essere positivo, anche dopo l'eventuale trattamento antibiotico somministrato, suggerendo quindi che l'eventuale effetto dell'antibiotico non fosse legato all'infezione da streptococco.

Anche per tutte le altre variabili esaminate né il trattamento antibiotico, né l'effetto principale del tampone, e quindi l'eventuale negativizzazione del tampone tra t0 e t1, presentano risultati significativi.

3.6 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Fra i patogeni microbici lo *Streptococcus pyogenes* di gruppo A beta-emolitico (GAS) è stato largamente studiato nella sua associazione con disturbi neuropsichiatrici, potendo essere responsabile di severe complicazioni sistemiche causate dalla cross-reazione di anticorpi contro antigeni del GAS con antigeni dell'ospite. Partendo dall'osservazione rilevata in pochi studi condotti su questo argomento che i bambini affetti da disturbo da tic hanno una percentuale di colonizzazione da GAS simile o leggermente superiore rispetto alla popolazione generale e che un titolo di TAS più elevato è stato riscontrato in pazienti affetti da Disturbo da Tic, si è ipotizzato che la colonizzazione da GAS possa funzionare da trigger ad una risposta immune anti-streptococcica prolungata, che può contribuire alla persistenza dei sintomi ticcosi. Si è anche recentemente ipotizzato che le infezioni da *Streptococcus* possano intervenire sulla sintomatologia ticcosa attraverso una alterazione del microbiota intestinale, il quale sembrerebbe influenzare il comportamento in altri disturbi neuropsichiatrici (Quagliariello et al., 2018). In questo caso l'infezione produrrebbe la selezione di specifici ceppi batterici associati all'infiammazione intestinale ed all'attivazione della risposta immunitaria secondariamente all'induzione di uno stato pro-infiammatorio. Anche in tal caso sarebbe plausibile ipotizzare che il trattamento antibiotico delle infezioni/colonizzazioni da GAS possa intervenire pertanto sulla sintomatologia ticcosa.

Il nostro studio non sembra in realtà sostenere le ipotesi di partenza. Pur non avendo ottenuto una quantità di dati sufficienti dallo studio controllato con amoxicillina/acido clavulanico contro placebo in pazienti con tic che abbiano mostrato una colonizzazione da GAS, la raccolta retrospettiva delle informazioni relative all'assunzione di terapia antibiotica da parte dei soggetti arruolati non ha evidenziato nessuna associazione con

l'andamento della sintomatologia ticcosa. Parimenti non è stata osservata alcuna relazione fra terapia antibiotica e andamento dei sintomi neuropsichiatrici associati presi in esame.

Indipendentemente dalla terapia antibiotica, la stessa permanenza di positività al tampone streptococcico, così come la sua spontanea negativizzazione sono risultati non associati a ingravescenza o miglioramento dei sintomi ticcosi. Le suggestioni derivanti dai dati raccolti sembrano coerenti con i dati emersi anche dall'ultima revisione sistematica sul trattamento di PANS, PANDAS, PITAND e CANS, in relazione per quanto concerne questo studio, all'effetto della terapia antibiotica nel trattamento di tali condizioni (Sigra, Hesselmark, & Bejerot, 2018).

Al momento attuale non vi è evidenza di associazione fra infezioni da GAS ed esacerbazioni sintomatologiche, così come di conseguenza, di un effetto dell'antibiotico sulla sintomatologia. A breve i dati raccolti negli altri centri clinici europei verranno utilizzati per integrare definitivamente lo studio effettuato. Tuttavia i limiti derivanti dall'analisi di dati raccolti in modo retrospettivo sono evidenti. Sarà inoltre necessaria un'analisi delle motivazioni che hanno portato ad una così bassa compliance e partecipazione da parte dei partner europei al trial strutturato.

Al momento attuale e per quanto emerso ad oggi l'uso della terapia antibiotica in soggetti con disturbo cronico da tic e colonizzazione da GAS non pare comunque raccomandabile.

4. SEZIONE II

Dal punto di vista clinico, come precedentemente illustrato, i Disturbi da tic si presentano come realtà assolutamente eterogenee per gravità clinica, impatto sulla qualità della vita dei soggetti colpiti, e spesso dei familiari, difficoltà/problematiche associate e disturbi in comorbidità quali ADHD, deficit del controllo degli impulsi e sintomi ossessivo-compulsivi.

Pochi studi hanno preso in esame in modo approfondito la relazione fra TS e profilo cognitivo e/o disturbi dell'apprendimento (Brookshire, Butler, Ewing-Cobbs, & Fletcher, 1994; L Burd, Kauffman, & Kerbeshian, 1992; Como, 2001; Dykens et al., 1990a). In particolare è stata riportata elevata frequenza di disturbi/difficoltà dell'apprendimento nei bambini con TS e maggiormente in quelli che manifestavano anche sintomi ADHD e ossessivo-compulsivi (Morand-Beaulieu et al., 2017; Termine et al., 2016). I tic e le problematiche neuro-comportamentali hanno un impatto negativo su qualità della vita, carriera accademica e nel raggiungimento di altri obiettivi di vita (Altman et al., 2009; Eddy et al., 2011; Silvestri et al., 2016; Storch, Merlo, et al., 2007). Frequentemente la TS diviene un problema anche per la famiglia del paziente, tanto da portare alla richiesta di supporto e sostegno.

Questa osservazione nasce dalla rilevazione delle problematiche e delle difficoltà rilevate, in aggiunta alla sintomatologia ticcosa, nel nostro campione di bambini e adolescenti con diagnosi di TS o Disturbo cronico da tic arruolati per partecipare allo studio EMTICS (European Multicenter Tics in Children Studies).

I soggetti arruolati sono stati sottoposti a monitoraggio clinico e laboratoristico per circa 16 mesi; durante questo periodo hanno effettuato visite di follow-up con cadenza quadrimestrale e sono stati monitorati tramite interviste telefoniche fra una visita e l'altra. Come più ampiamente

riferito lo studio prevedeva l'osservazione sistematica dei tic e dei sintomi ossessivo-compulsivi, delle colonizzazioni da GAS e la rilevazione di eventi stressanti.

MATERIALI E METODI

Il campione preso in esame è costituito da 60 soggetti arruolati nello studio EMTICS, di età compresa fra i 3 e i 12 anni, con diagnosi di TS o Disturbo cronico da tic, 44 maschi e 16 femmine, con esclusione di ritardo mentale. Al momento dell'arruolamento 7 bambini frequentavano la scuola dell'infanzia, 48 la scuola primaria e 5 la scuola secondaria di grado inferiore.

59 dei 60 bambini si erano rivolti all'ambulatorio neurologico del nostro Dipartimento a causa della sintomatologia ticcosa. 1 bambino è giunto su invio dello specialista curante dopo la diagnosi di esordio acuto di disturbo d'ansia, per la presenza di un Disturbo da tic in comorbidità.

Durante il periodo in cui i soggetti sono stati seguiti secondo il protocollo della ricerca cui avevano preso parte, un numero considerevole di loro ha fatto ricorso all'ambulatorio per la presenza di problematiche associate. Le famiglie di 18 bambini hanno segnalato la presenza di significative difficoltà scolastiche, a volte dopo essere state invitate a farlo dagli stessi operatori scolastici.

Tali bambini presentavano una sintomatologia ticcosa fra lieve e moderata: alla YGTSS la media dei punteggi Yale Global Tic Severity Score era 12,5 (range 0-29). Nessuno di loro stava assumendo una terapia farmacologica per il controllo della sintomatologia ticcosa.

Le difficoltà riportate erano riferibili in 13 casi a un ritardo nell'acquisizione delle competenze scolastiche, in 5 casi alla presenza di brevi tempi attentivi e/o comportamento ipercinetico. In 2 casi il corpo

docenti aveva richiesto supporto e indicazioni per la gestione e l'intervento diretto a studenti con Disturbo da tic e con le problematiche ad esso connesse.

Nella maggior parte dei casi, i genitori sottolineavano l'incapacità degli insegnanti di riconoscere la natura delle problematiche dei loro figli, e la conseguente mancanza di adeguati provvedimenti.

Al fine di individuare nello specifico le difficoltà dei singoli bambini e di rispondere alle richieste di scuola e famiglia, sono state valutate le competenze accademiche e neuropsicologiche, con punti di forza e fragilità. A causa della variabilità delle problematiche riferite, è stata somministrata ad ognuno dei 18 soggetti una batteria di test specifica e differenziata. È stata inoltre effettuata una valutazione clinica delle problematiche emotive e comportamentali, con il supporto di questionari self-report e parent-report (Child Behavior Checklist - CBCL, Achenbach and Rescorla, 2001; Multidimensional Anxiety Scale for Children; MASC, March, Parker, Sullivan, Stallings and Conners, 1997; Children's Depression Inventory, CDI, Kovacs, 1985).

Nel corso delle valutazioni sono stati utilizzati i seguenti test standardizzati:

- *Prove di lettura MT*, Cornoldi e Colpo, 2011
- *Test AC-MT - Test di valutazione delle abilità di calcolo e soluzione dei problemi*, Cornoldi et al., 2012
- *BIA – Batteria italiana per l'ADHD*, Marzocchi et al., 2010
- *Conners' Rating Scales-Revised*, Conners, 1998
- *BHK - Scala sintetica per la valutazione della scrittura in età evolutiva*, Di Brina e Rossini, 2011
- *DDE-2 - Batteria per la Valutazione della Dislessia e della Disortografia Evolutiva*, Sartori et al., 2007

- *VMI – Developmental Test of Visual-Motor Integration*, Beery and Buktenica, 1997

RISULTATI

15 dei 18 bambini valutati hanno ricevuto diagnosi di 1 o più disturbi in associazione. La presenza di un Disturbo dell'apprendimento è stata riscontrata in 9 soggetti: in 1 caso era presente una terza comorbidità. 4 bambini presentavano Disgrafia, 2 un Disturbo della coordinazione motoria. Un Disturbo dell'attenzione senza iperattività è stato rilevato in 4 bambini; 2 di loro manifestavano anche sintomi ansiosi, e 1 disgrafia. In 1 caso le difficoltà attentive e di concentrazione sono state ricondotte alla Depressione.

Le caratteristiche di questo sottogruppo sono illustrate in Tabella 1.

Table 1. Characteristics of patients.

Età	Genere	Comorbidità all'arruolamento	Diagnosi	Invio/intervento successivo alla valutazione
9	M	Nessuna	Depressione	Psicoterapia
10	M	Nessuna	ADD + disgrafia	Intervento psico-educativo
12	M	Nessuna	Discalculia	Intervento psico-educativo
9	F	Sintomi compulsivi	Nessuna	Psicoterapia
9	M	Nessuna	Disortografia + disgrafia	Intervento riabilitativo+ Intervento psico-educativo
9	M	Nessuna	Dislessia+ Disortografia	Intervento riabilitativo + Intervento psico-educativo
8	F	Nessuna	Discalculia	Intervento riabilitativo + Intervento psico-educativo
7	M	Nessuna	Disgrafia	Intervento psico-educativo
8	F	Nessuna	ADD+ sintomi ansiosi	Intervento psico-educativo
11	F	Nessuna	Nessuna	Intervento psico-educativo
12	M	Nessuna	Disturbo delle abilità matematiche + Dislessia	Intervento psico-educativo
6	M	Nessuna	ADD	Intervento riabilitativo
13	M	Nessuna	Disturbo delle abilità matematiche + Dislessia	Intervento psico-educativo
12	M	Nessuna	ADD + sintomi ansiosi	Counseling alla scuola + Intervento psico-educativo
7	M	Nessuna	Disturbo della coordinazione motoria	Intervento psico-educativo
9	M	Ansia	Disgrafia	Intervento riabilitativo
11	F	Nessuna	Nessuna	Nessuno
6	M	Nessuna	ADHD + Disturbo della coordinazione motoria	Intervento riabilitativo + Intervento psico-educativo

Ogni bambino ha ricevuto una relazione relativa alla valutazione effettuata con spiegazione del profilo emerso. Per 1 bambino è stato necessario organizzare un incontro con gli operatori scolastici di riferimento, 2 bambini sono stati inviati in psicoterapia.

In 3 casi non è emersa la presenza di una comorbidità conclamata; ciò nonostante è stato necessario un contatto fra lo specialista e gli insegnanti di riferimento al fine di fornire un quadro delle fragilità riscontrate e le relative indicazioni di supporto.

DISCUSSIONE

Specifici deficit neuropsicologici e disturbi dell'apprendimento, come anche difficoltà di integrazione visuo-motoria e deficit nelle competenze fini-motorie sono presenti in una percentuale significativa di soggetti con TS e possono essere causa di impairment maggiore dei tic stessi (Como, 2001). Soggetti con TS possono di conseguenza essere a maggior rischio per fallimento scolastico o per precoce interruzione della carriera scolastica. Dati raccolti dal Tourette Syndrome International Consortium, finalizzati a valutare le differenze fra pazienti TS con o senza disturbi dell'apprendimento, portano alla conclusione che la presenza di un disturbo dell'apprendimento dovrebbe essere sempre preso in considerazione nella gestione del paziente stesso (Burd, Freeman, Klug, & Kerbeshian, 2005). L'analisi retrospettiva effettuata su 83 questionari inviati per posta a soggetti adulti che avevano ricevuto una diagnosi di TS prima dei 18 anni, ha rilevato che molti di loro hanno ricevuto successivamente anche una diagnosi di disturbo dell'apprendimento e che non erano riusciti a conseguire un diploma/laurea, evidenziando una elevata correlazione con la percentuale di condizioni di dipendenza economica riportata (Byler et al.,

2015). Nella percezione di tali soggetti gli scarsi risultati scolastici erano associati con un passato di sofferenza emotiva maggiormente dei tic stessi. Inoltre, la gran parte dei soggetti riferivano di aver incontrato difficoltà nel trovare uno specialista in grado di fornire informazioni adeguate e un supporto efficace in merito a interventi terapeutici diversi da quelli farmacologici.

Nella nostra esperienza, una elevata percentuale (18/60) di pazienti con TS o disturbo cronico da tic, che hanno da poco iniziato a frequentare la scuola, hanno necessitato di uno specifico intervento/supporto per fragilità scolastiche e problematiche comportamentali in ambiente scolastico. 2 di questi bambini manifestavano avevano iniziato a manifestare resistenza alla frequenza scolastica. Le difficoltà prese in esame non sembrano essere associate alla severità della sintomatologia ticcosa: 9 bambini su 18 presentavano tic lievi, con punteggio massimo alla YGTSS pari a 11. In aggiunta, molti di loro non presentavano anche ADHD o OCD, che rappresentano fra le comorbidità quelle con maggior associazione con i disturbi dell'apprendimento.

Quindi, molti dei bambini che si erano rivolti al nostro ambulatorio a causa della sintomatologia ticcosa, sono stati inviati ad un vero e proprio intervento terapeutico o riabilitativo per problematiche diverse dai tic; per altri è stato necessario comunque pianificare un appropriato intervento psico-educativo. In ogni caso, sono state pianificate delle visite successive di follow-up per monitorare l'andamento della sintomatologia ticcosa così come delle ulteriori problematiche associate.

Le osservazioni riportate riflettono appieno le considerazioni relative alla pratica clinica dei medici e degli specialisti che si occupano di questa patologia in età evolutiva, e per cui è spesso concomitante la necessità di accompagnare ed assistere i pazienti con tic in modo globale nelle molteplici situazioni e aspetti di vita quotidiana coinvolti dalla malattia.

La richiesta implicita delle famiglie interessate coinvolge spesso lo specialista in una serie di interventi a volte clinici, a volte psico-educativi, a volte ancora supportivi: capita frequentemente che i familiari non comprendano appieno la natura del disturbo, o che, data la gravità della sintomatologia, non riescano a tollerare-contestualizzare gli atti e i comportamenti ripetitivi che si trovano in qualche modo a dover vivere/subire. Spesso la frustrazione per la natura “temporaneamente” cronica e altalenante del disturbo, porta a cercare scorciatoie terapeutiche o a intraprendere molteplici e differenziati percorsi curativi. A scuola da una parte i bambini e ragazzi affetti si ritrovano a dover fronteggiare un fisiologico confronto con i pari, in una situazione di grave fragilità. La sintomatologia che presentano li pone loro malgrado al centro dell’attenzione: questo li rende spesso oggetto di sguardi e commenti derisori, altre volte li rende “vittime” dei propri vissuti di malattia e inferiorità/inadeguatezza nei confronti del gruppo dei pari, il quale, in età evolutiva, ricopre un ruolo fondamentale nella creazione di una adeguata immagine di sé. Intervento non meno necessario è quello che spesso viene richiesto da docenti ed insegnanti, i quali, molte volte, non hanno sufficiente formazione per comprendere la natura del disturbo che si trovano a dover gestire, tanto da portare alcuni a mettere in dubbio l’involontarietà stessa dei suoni e dei movimenti prodotti. Nella quasi totalità dei casi è comunque richiesto un profilo funzionale dell’alunno con tic, che renda conto delle difficoltà di apprendimento che spesso si associano al disturbo, così come delle difficoltà attentive o comportamentali. L’esperienza scolastica diviene per molti luogo di frustrazione e catalizzatore delle proprie ansie e paure; anche per questo motivo in alcuni casi è necessario prevenire il rischio di disinvestimento nelle relazioni sociali, e lavorare sulla tendenza all’isolamento e sull’ansia del soggetto.

CONCLUSIONI

La nostra osservazione conferma che il funzionamento neuropsicologico è parte essenziale nella comprensione del profilo neuro comportamentale della TS.

Bambini con Disturbi dell'apprendimento e/o fragilità scolastiche e comportamentali possono beneficiare di interventi differenziati; questo può essere efficace anche nella gestione di bambini con Disturbo da tic. Di conseguenza, come suggerito precedentemente da altri studi (Burd, Kauffman, & Kerbeshian, 1992; Dykens et al., 1990), un assessment del funzionamento neuropsicologico e delle competenze scolastiche dovrebbe sempre essere presa in considerazione nell'ambito della valutazione di questi soggetti, indipendentemente dalla severità dei tic e dalla presenza di comorbidità conclamate, al fine di prevenire fallimenti e ritiri scolastici, con le conseguenze a lungo termine che questi possono comportare.

5. BIBLIOGRAFIA

- Altman, G., Staley, J. D., & Wener, P. (2009). Children with Tourette disorder: a follow-up study in adulthood. *The Journal of Nervous and Mental Disease, 197*(5), 305–10. <https://doi.org/10.1097/NMD.0b013e3181a206b1>
- Ben-Pazi, H., Sadan, O., & Offen, D. (2012). Striatal microinjection of Sydenham chorea antibodies: using a rat model to examine the dopamine hypothesis. *Journal of Molecular Neuroscience : MN, 46*(1), 162–6. <https://doi.org/10.1007/s12031-011-9559-6>
- Brookshire, B. L., Butler, I. J., Ewing-Cobbs, L., & Fletcher, J. M. (1994). Neuropsychological characteristics of children with Tourette syndrome: evidence for a nonverbal learning disability? *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology, 16*(2), 289–302. <https://doi.org/10.1080/01688639408402639>
- Burd, L., Freeman, R. D., Klug, M. G., & Kerbeshian, J. (2005). Tourette syndrome and learning disabilities. *BMC Pediatrics, 5*(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-5-34>
- Burd, L., Kauffman, D. W., & Kerbeshian, J. (1992). Tourette syndrome and learning disabilities. *Journal of Learning Disabilities, 25*(9), 598–604. <https://doi.org/10.1177/002221949202500909>
- Buse, J., Kirschbaum, C., Leckman, J. F., Münchau, A., & Roessner, V. (2014). The Modulating Role of Stress in the Onset and Course of Tourette's Syndrome. *Behavior Modification, 38*(2), 184–216. <https://doi.org/10.1177/0145445514522056>
- Byler, D. L., Chan, L., Lehman, E., Brown, A. D., Ahmad, S., & Berlin, C. (2015). Tourette Syndrome: a general pediatrician's 35-year experience at a single center with follow-up in adulthood. *Clinical Pediatrics, 54*(2), 138–44. <https://doi.org/10.1177/0009922814550396>
- Cardona, F., & Orefici, G. (2001). Group A streptococcal infections and tic disorders in an Italian pediatric population. *The Journal of Pediatrics, 138*(1), 71–5. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.110325>
- Church, A. J., Dale, R. C., Lees, A. J., Giovannoni, G., & Robertson, M. M. (2003). Tourette's syndrome: a cross sectional study to examine the PANDAS hypothesis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 74*(5), 602–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12700302>
- Cohen, D. J., & Leckman, J. F. (1994). Developmental Psychopathology and Neurobiology of Tourette's Syndrome. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry, 33*(1), 2–15. <https://doi.org/10.1097/00004583-199401000-00002>
- Como, P. G. (2001). Neuropsychological function in Tourette syndrome. *Advances in Neurology, 85*, 103–11. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11530420>
- Creti, R., Cardona, F., Pataracchia, M., Hunolstein, C. Von, Cundari, G., Romano, A., & Orefici, G. (2004). Characterisation of group A streptococcal (GAS) isolates from children with tic disorders. *The Indian Journal of Medical Research, 119 Suppl*, 174–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15232189>
- Cubo, E., Gonzalez, C., Ausin, V., Delgado, V., Saez, S., Calvo, S., ... de la Fuente Anuncibay, R. (2017). The Association of Poor Academic Performance with Tic Disorders: A Longitudinal, Mainstream School-Based Population Study. *Neuroepidemiology, 48*(3–4), 155–163. <https://doi.org/10.1159/000479517>

- Curtin-Wirt, C., Casey, J. R., Murray, P. C., Cleary, C. T., Hoeger, W. J., Marsocci, S. M., ... Pichichero, M. E. (2003). Efficacy of penicillin vs. amoxicillin in children with group A beta hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis. *Clinical Pediatrics*, 42(3), 219–25. <https://doi.org/10.1177/000992280304200305>
- de Haan, M. J., Delucchi, K. L., Mathews, C. M., & Cath, D. C. (2015). Tic symptom dimensions and their heritabilities in Tourette's syndrome. *Psychiatric Genetics*, 25(3), 112–118. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000084>
- Dykens, E., Leckman, J., Riddle, M., Hardin, M., Schwartz, S., & Cohen, D. (1990a). Intellectual, academic, and adaptive functioning of Tourette syndrome children with and without attention deficit disorder. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 18(6), 607–15. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2074343>
- Dykens, E., Leckman, J., Riddle, M., Hardin, M., Schwartz, S., & Cohen, D. (1990b). Intellectual, academic, and adaptive functioning of Tourette syndrome children with and without attention deficit disorder. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 18(6), 607–15. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2074343>
- Eddy, C. M., Rizzo, R., Gulisano, M., Agodi, A., Barchitta, M., Calì, P., ... Cavanna, A. E. (2011). Quality of life in young people with Tourette syndrome: a controlled study. *Journal of Neurology*, 258(2), 291–301. <https://doi.org/10.1007/s00415-010-5754-6>
- Elstner, K., Selai, C. E., Trimble, M. R., & Robertson, M. M. (2001). Quality of Life (QOL) of patients with Gilles de la Tourette's syndrome. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 103(1), 52–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11202129>
- Garvey, M. A., Perlmutter, S. J., Allen, A. J., Hamburger, S., Lougee, L., Leonard, H. L., ... Swedo, S. E. (1999). A pilot study of penicillin prophylaxis for neuropsychiatric exacerbations triggered by streptococcal infections. *Biological Psychiatry*, 45(12), 1564–71. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10376116>
- Hallett, J. J., Harling-Berg, C. J., Knopf, P. M., Stopa, E. G., & Kiessling, L. S. (2000). Anti-striatal antibodies in Tourette syndrome cause neuronal dysfunction. *Journal of Neuroimmunology*, 111(1–2), 195–202. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11063838>
- Kaplan, E. L., & Johnson, D. R. (1988). Eradication of group A streptococci from the upper respiratory tract by amoxicillin with clavulanate after oral penicillin V treatment failure. *The Journal of Pediatrics*, 113(2), 400–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3135377>
- Kurlan, R. (1992). The pathogenesis of Tourette's syndrome. A possible role for hormonal and excitatory neurotransmitter influences in brain development. *Archives of Neurology*, 49(8), 874–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1355964>
- Lin, H., Williams, K. A., Katsovich, L., Findley, D. B., Grantz, H., Lombroso, P. J., ... Leckman, J. F. (2010). Streptococcal upper respiratory tract infections and psychosocial stress predict future tic and obsessive-compulsive symptom severity in children and adolescents with Tourette syndrome and obsessive-compulsive disorder. *Biological Psychiatry*, 67(7), 684–91. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.08.020>
- Loiselle, C. R., Lee, O., Moran, T. H., & Singer, H. S. (2004). Striatal microinfusion of Tourette syndrome and PANDAS sera: failure to induce behavioral changes. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 19(4), 390–6. <https://doi.org/10.1002/mds.10522>
- Loiselle, C. R., Wendlandt, J. T., Rohde, C. A., & Singer, H. S. (2003). Antistreptococcal,

neuronal, and nuclear antibodies in Tourette syndrome. *Pediatric Neurology*, 28(2), 119–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12699862>

- Macerollo, A., & Martino, D. (2013). Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infections (PANDAS): An Evolving Concept. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements (New York, N.Y.)*, 3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24106651>
- Martino, D., Chiarotti, F., Buttiglione, M., Cardona, F., Creti, R., Nardocci, N., ... Rizzo, R. (2011). The relationship between group A streptococcal infections and Tourette syndrome: A study on a large service-based cohort. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 53(10), 951–957. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2011.04018.x>
- Martino, D., Dale, R. C., Gilbert, D. L., Giovannoni, G., & Leckman, J. F. (2009). Immunopathogenic mechanisms in tourette syndrome: A critical review. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 24(9), 1267–79. <https://doi.org/10.1002/mds.22504>
- Mataix-Cols, D., Isomura, K., Pérez-Vigil, A., Chang, Z., Rück, C., Larsson, K. J., ... Lichtenstein, P. (2015). Familial Risks of Tourette Syndrome and Chronic Tic Disorders. *JAMA Psychiatry*, 72(8), 787. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.0627>
- McNaught, K. S. P., & Mink, J. W. (2011). Advances in understanding and treatment of Tourette syndrome. *Nature Reviews. Neurology*, 7(12), 667–76. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2011.167>
- Morand-Beaulieu, S., Leclerc, J., Valois, P., Lavoie, M., O'Connor, K., & Gauthier, B. (2017). A Review of the Neuropsychological Dimensions of Tourette Syndrome. *Brain Sciences*, 7(8), 106. <https://doi.org/10.3390/brainsci7080106>
- Morshed, S., Mercadante, M. T., & Lombroso, P. J. (2001). Genetics of Childhood Disorders: XXVIII. Autoimmunity, Part I. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 40(7), 855–858. <https://doi.org/10.1097/00004583-200107000-00021>
- Müller, N., Kroll, B., Schwarz, M. J., Riedel, M., Straube, A., Lütticken, R., ... Kühnemund, O. (2001). Increased titers of antibodies against streptococcal M12 and M19 proteins in patients with Tourette's syndrome. *Psychiatry Research*, 101(2), 187–93. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11286821>
- Murphy, T. K., Kurlan, R., & Leckman, J. (2010). The Immunobiology of Tourette's Disorder, Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with *Streptococcus*, and Related Disorders: A Way Forward. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 20(4), 317–331. <https://doi.org/10.1089/cap.2010.0043>
- Pringsheim, T., Sandor, P., Lang, A., Shah, P., & O'Connor, P. (2009). Prenatal and Perinatal Morbidity in Children with Tourette Syndrome and Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 30(2), 115–121. <https://doi.org/10.1097/DBP.0b013e31819e6a33>
- Quagliariello, A., Del Chierico, F., Russo, A., Reddel, S., Conte, G., Lopetuso, L. R., ... Putignani, L. (2018). Gut Microbiota Profiling and Gut–Brain Crosstalk in Children Affected by Pediatric Acute-Onset Neuropsychiatric Syndrome and Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated With Streptococcal Infections. *Frontiers in Microbiology*, 9, 675. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00675>
- Rizzo, R., Gulisano, M., Pavone, P., Fogliani, F., & Robertson, M. M. (2006). Increased Antistreptococcal Antibody Titers and Anti—Basal Ganglia Antibodies in Patients With Tourette Syndrome: Controlled Cross-Sectional Study. *Journal of Child Neurology*, 21(9),

747–753. <https://doi.org/10.1177/08830738060210091001>

- Robertson, M. M. (2008). The prevalence and epidemiology of Gilles de la Tourette syndrome. Part 1: the epidemiological and prevalence studies. *Journal of Psychosomatic Research*, 65(5), 461–72. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2008.03.006>
- Sigra, S., Hesselmark, E., & Bejerot, S. (2018). Treatment of PANDAS and PANS: a systematic review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 86, 51–65. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.01.001>
- Silvestri, P. R., Chiarotti, F., Baglioni, V., Neri, V., Cardona, F., & Cavanna, A. E. (2016). Health-related quality of life in patients with Gilles de la Tourette syndrome at the transition between adolescence and adulthood. *Neurological Sciences*, 37(11), 1857–1860. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2682-y>
- Snider, L. A., Lougee, L., Slattery, M., Grant, P., & Swedo, S. E. (2005). Antibiotic prophylaxis with azithromycin or penicillin for childhood-onset neuropsychiatric disorders. *Biological Psychiatry*, 57(7), 788–792. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.12.035>
- Storch, E. A., Lack, C. W., Simons, L. E., Goodman, W. K., Murphy, T. K., & Geffken, G. R. (2007). A measure of functional impairment in youth with Tourette's syndrome. *Journal of Pediatric Psychology*, 32(8), 950–9. <https://doi.org/10.1093/jpepsy/jsm034>
- Storch, E. A., Merlo, L. J., Lack, C., Milsom, V. A., Geffken, G. R., Goodman, W. K., & Murphy, T. K. (2007). Quality of life in youth with Tourette's syndrome and chronic tic disorder. *Journal of Clinical Child and Adolescent Psychology: The Official Journal for the Society of Clinical Child and Adolescent Psychology, American Psychological Association, Division 53*, 36(2), 217–27. <https://doi.org/10.1080/15374410701279545>
- Swain, J. E., Scahill, L., Lombroso, P. J., King, R. A., & Leckman, J. F. (2007). Tourette syndrome and tic disorders: a decade of progress. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 46(8), 947–68. <https://doi.org/10.1097/chi.0b013e318068fbcc>
- Swedo, S. E., Leonard, H. L., Garvey, M., Mittleman, B., Allen, A. J., Perlmutter, S., ... Dubbert, B. K. (1998). Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *The American Journal of Psychiatry*, 155(2), 264–71. <https://doi.org/10.1176/ajp.155.2.264>
- Termine, C., Luoni, C., Fontolan, S., Selvini, C., Perego, L., Pavone, F., ... Cavanna, A. E. (2016). Impact of co-morbid attention-deficit and hyperactivity disorder on cognitive function in male children with Tourette syndrome: A controlled study. *Psychiatry Research*, 243, 263–267. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2016.06.048>
- Yeh, C.-B., Shui, H.-A., Chu, T.-H., Chen, Y.-A., Tsung, H.-C., & Shyu, J.-F. (2012). Hyperpolarisation-activated cyclic nucleotide channel 4 (HCN4) involvement in Tourette's syndrome autoimmunity. *Journal of Neuroimmunology*, 250(1–2), 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2012.05.009>
- Zilhão, N. R., Olthof, M. C., Smit, D. J. A., Cath, D. C., Ligthart, L., Mathews, C. A., ... Dolan, C. V. (2017). Heritability of tic disorders: a twin-family study. *Psychological Medicine*, 47(6), 1085–1096. <https://doi.org/10.1017/S0033291716002981>

6. ALLEGATI

Tab. 1 EFFETTO DELL'INTERAZIONE FRA TERAPIA ANTIBIOTICA E TAMPONE FARINGEO SULLE VARIABILI SINTOMATOLOGICHE

		Tampone +		Tampone -	
	Tempo	Antibiotico + (n=3)	Antibiotico -(n=10)	Antibiotico +(n=15)	Antibiotico -(n=13)
YALE	T0	14,67 ± 7,64	13,20 ± 8,90	11,47 ± 6,33	12,31 ± 6,98
	T1	13,00 ± 9,17	9,90 ± 4,28	11,40 ± 8,03	10,92 ± 6,89
	T1-T0	-1,67 ± 1,53	-3,30 ± 8,47	-0,07 ± 8,34	-1,38 ± 8,25
YALE IMP	T0	10,00 ± 10,00	8,00 ± 6,32	9,33 ± 7,04	9,23 ± 4,94
	T1	10,00 ± 0,00	5,40 ± 6,87	6,67 ± 7,24	10,77 ± 7,60
	T1-T0*	0,00 ± 10,00	-2,60 ± 10,37	-2,67 ± 8,84	1,54 ± 8,01
CGI TICS GRAVIT	T0	3,67 ± 0,58	3,40 ± 0,84	3,20 ± 0,77	3,31 ± 0,85
	T1	3,33 ± 0,58	3,30 ± 0,67	3,20 ± 0,77	3,15 ± 0,69
	T1-T0	-0,33 ± 0,58	-0,10 ± 1,10	0,00 ± 1,07	-0,15 ± 1,14
CYBOCS	T0	0,00 ± 0,00	2,20 ± 4,66	1,53 ± 3,31	1,46 ± 3,84
	T1	0,00 ± 0,00	1,00 ± 3,16	2,27 ± 5,54	1,77 ± 6,38
	T1-T0	0,00 ± 0,00	-1,20 ± 3,16	0,73 ± 3,20	0,31 ± 3,35
SDQ TOT	T0	10,67 ± 3,21	7,30 ± 5,38	9,13 ± 6,21	8,77 ± 4,73
	T1	7,67 ± 3,79	8,20 ± 4,73	8,53 ± 6,35	9,15 ± 5,08
	T1-T0	-3,00 ± 2,65	0,90 ± 2,13	-0,60 ± 5,58	0,38 ± 3,04
		Antibiotico + (n=3)	Antibiotico -(n=10)	Antibiotico +(n=13)	Antibiotico -(n=11)
PUTS TOTALE	T0	14,67 ± 8,14	15,30 ± 6,85	17,38 ± 6,10	13,91 ± 5,15
	T1	11,67 ± 4,62	16,20 ± 7,22	15,54 ± 6,74	14,66 ± 4,37
	T1-T0*	-3,00 ± 3,61	0,90 ± 4,28	-1,85 ± 5,32	0,75 ± 6,16
PUTS MEDIA	T0	1,63 ± 0,91	1,70 ± 0,76	1,93 ± 0,68	1,55 ± 0,57
	T1	1,30 ± 0,51	1,80 ± 0,80	1,73 ± 0,75	1,63 ± 0,49
	T1-T0*	-0,33 ± 0,40	0,10 ± 0,48	-0,20 ± 0,59	0,08 ± 0,68
		Antibiotico + (n=3)	Antibiotico -(n=10)	Antibiotico +(n=13)	Antibiotico -(n=13)
SNAPI TOTALE	T0	9,33 ± 3,21	8,85 ± 3,85	9,15 ± 6,91	9,93 ± 4,80
	T1	9,33 ± 2,08	8,50 ± 3,17	8,54 ± 7,11	11,24 ± 4,92
	T1-T0	0,00 ± 3,00	-0,35 ± 1,87	-0,62 ± 2,43	1,31 ± 3,23
SNAPC TOTALE	T0	19,67 ± 3,21	18,02 ± 8,51	18,15 ± 13,18	18,33 ± 8,09
	T1	18,67 ± 2,08	18,70 ± 6,62	17,38 ± 13,56	19,84 ± 8,09
	T1-T0	-1,00 ± 2,65	0,68 ± 2,42	-0,77 ± 4,75	1,51 ± 4,19
		Antibiotico + (n=3)	Antibiotico -(n=10)	Antibiotico +(n=14)	Antibiotico -(n=13)
SNAPHI TOTALE	T0	10,33 ± 4,04	9,18 ± 6,14	9,00 ± 6,85	8,35 ± 4,61
	T1	9,33 ± 2,89	10,20 ± 5,39	8,71 ± 6,87	8,62 ± 4,59
	T1-T0	-1,00 ± 3,61	1,03 ± 2,50	-0,29 ± 3,38	0,27 ± 2,09
SNAPODD TOTALE	T0	9,67 ± 1,53	8,30 ± 5,38	8,33 ± 4,27	8,08 ± 3,40
	T1	8,67 ± 2,89	8,30 ± 4,27	6,71 ± 3,99	8,77 ± 3,86
	T1-T0	-1,00 ± 3,00	0,00 ± 2,49	-1,61 ± 3,03	0,69 ± 4,04

* p≤0.05

