

PERMEABILITÀ ALLA COLONIZZAZIONE BATTERICA DI DUE DIVERSI TIPI DI IMPIANTI

Enrico Gherlone, Alberto Mascardi, Silvia Ferraris, Luigi Paracchini*, Fiorenzo Pastoni*, Giancarla Strola*

Istituto Scientifico Universitario San Raffaele - Milano, Servizio di Odontoiatria, Direttore dottor E. Gherlone

* European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection (IHCP), Ispra (Varese)

RIASSUNTO: il presente lavoro è indirizzato a valutare come l'eventuale discrepanza geometrica presente tra impianto e moncone possa enfatizzare la permeabilità alla colonizzazione batterica.

PAROLE CHIAVE: colonizzazione batterica, gap geometrico, impianto, moncone, permeabilità

SUMMARY: the present study is addressed to the evaluation on how the geometric discrepancy between implant and abutment could emphasise the permeability to the bacterial colonisation.

KEY WORDS: abutment, bacterial colonisation, dental implant, geometric precision, permeability

Negli ultimi decenni l'avvento degli impianti dentali ha permesso di ampliare le soluzioni terapeutiche di riabilitazione orale anche là dove ciò prima non era possibile, estendendo le indicazioni sia di protesi fissa sia di protesi mobile.

Grazie all'ottima integrazione che si realizza tra osso e titanio, la percentuale di successo implantare ha globalmente raggiunto l'85% a un anno e l'80% a 5 anni (Albrektsson 1996). Si è quindi verificata un'enorme espansione del numero di prodotti sul mercato, degli operatori che ne fanno uso e dei casi clinici eseguiti.

L'attenzione dei clinici e delle case produttrici si è pertanto rivolta a identificare le cause responsabili della quota degli insuccessi residui, al fine di evitarle.

Negli ultimi anni si sono così moltiplicati gli studi in vivo e in vitro a tale riguardo.

Dall'analisi della letteratura si evince che l'insuccesso implantare debba prevalentemente ricondursi a un carico scorretto, o a infezione batterica, oppure a entrambi questi fattori^[1]. Lo stato di malattia e di salute dei tessuti perimplantari è indotto dalle stesse variazioni di flora batterica che avvengono nel parodonto attorno agli elementi naturali.

Infatti, sebbene non esista un'associazione causale tra tipo di flora e fallimento impiantare, è universalmente riconosciuto che un'elevata carica batterica (macroscopicamente visibile come accumulo di placca) sia la causa dell'infiammazione parodontale e del riassorbimento osseo perimplantare^[2].

In implantoprotesi i nemici più temibili, dal punto di vista microbiologico, sono la perimplantite e il riassorbimento angolare.

Uno dei maggiori rischi di infezione attorno a sistemi implantari a due fasi è relativo alla presenza di un gap tra l'impianto endosseo e il moncone; tale spazio può servire da serbatoio stagnante ai fini di una potenziale reinfezione del solco perimplantare.

L'interfaccia osso-impianto rappresenta uno dei punti focali degli studi sulle cause del fallimento implantare. Nel 1996, Richard dichiarò che ogni divario tra impianto e moncone e tra moncone e protesi costituisce un serbatoio microbico capace di reinfettare il solco perimplantare.

In assenza di flogosi l'organismo si sforza di realizzare una barriera meccanica alla penetrazione batterica perimplantare e la mucosa che circonda l'impianto si ricopre così di tessuto ortocheratinizzato denso di fibre collagene. Tali fibre decorrono parallele alla superficie implantare, mimando il sigillo biologico costituito dal legamento parodontale.

Attualmente, il mercato offre un'ampia scelta di impianti che differiscono tra loro per disegno, struttura, tipo e sede di connessione tra impianto e moncone e tra moncone e sovrastruttura protesica.

Data ormai per acquisita la validità del processo osteointegrativo del titanio nel contesto dei tessuti duri orali, le diverse Case produttrici di componenti implantari si sono dedicate alla

ricerca di varianti strutturali tese a migliorare le caratteristiche funzionali e la durata nel tempo degli impianti stessi.

Il complesso impianto-moncone-protesi presenta soluzione di continuità a due livelli, cioè dove le tre componenti si connettono tra loro.

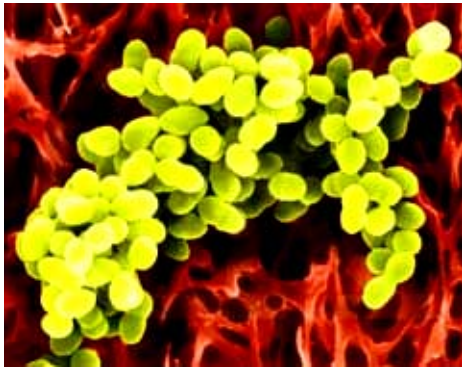
La giunzione impianto-moncone, a seconda delle diverse Case, può situarsi sotto, sopra, o a livello della cresta ossea.

La giunzione moncone-protesi può essere anch'essa localizzata a livelli differenti, ma solitamente risiede a livello iuxtagingivale.

Il presente studio si è orientato nel ricercare le conseguenze che il gap impianto-moncone può produrre sui tessuti circostanti in virtù delle sue dimensioni e della sua sede.

MATERIALI e METODI

Alla luce dei risultati riscontrabili in letteratura il nostro Istituto ha cercato di approfondire le cause di fallimento implantare legate a infiltrazione microbica.



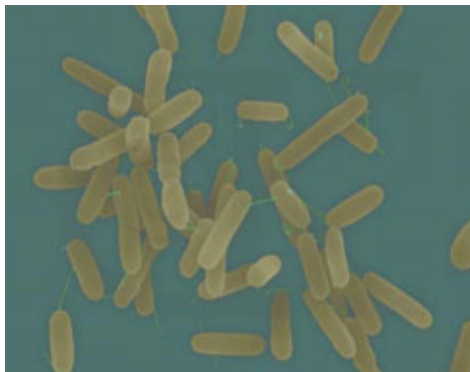
a)



b)



c)



d)

Fig. 1-4: coltura microbica mista costituita da: *Staphylococcus aureus* (a), *Escherichia coli* (b), *Listeria monocytogenes* (c) e *Pseudomonas aeruginosa* (d).

È stato quindi incaricato l'Institute for Health and Consumer Protection del Joint Research Centre della Commissione Europea di Ispra (Varese) di mettere a punto una metodica sperimentale che fosse in grado di valutare la capacità di infiltrazione in due diversi tipi di complessi impianto-moncone (*complexi fixture-abutment*, CFA) per una valutazione comparativa dei risultati. Sono stati presi in esame due tipi di CFA, uno a connessione avvitata e uno a connessione conometrica.

Nel pozzetto implantare dei CFA è stata introdotta una coltura microbica mista, costituita da:

- *Staphylococcus aureus* (dimensioni $0,5 \times 1 \mu\text{m}$);
- *Escherichia coli* (dimensioni $1 \times 1,6 \mu\text{m}$);
- *Listeria monocytogenes* (dimensioni $0,4 \times 2 \mu\text{m}$);
- *Pseudomonas aeruginosa* (dimensioni $0,5 \times 3 \mu\text{m}$) (figure 1-4).

Tali ceppi, dei quali alcuni Gram+, altri Gram-, sono stati selezionati in base alle loro differenti dimensioni.

Dopo aver effettuato l'inoculo nella camera interna, i CFA sono stati assemblati ed esposti ai raggi UV per la sterilizzazione della superficie esterna al fine di neutralizzare qualunque eventuale residuo di coltura rimasta.

Per acquisire dati dettagliati di tipo quantitativo e informazioni precise sulla cinetica di sviluppo degli stipiti microbici utilizzati, si è proceduto secondo la metodica sperimentale di seguito specificata.



Fig. 5-6: controlli positivi, a sinistra, contenenti la coltura microbica mista e controlli negativi, a destra, costituiti dal medesimo terreno colturale sterile.

I CFA (due campioni a connessioni avvitate: PA1 e PA2, e due a connessione conometrica: PB1 e PB2) sono stati posti in provette contenenti terreno liquido non selettivo e posti a incubare a 37 °C per: 1, 3, 5 e 22 ore.

Ai tempi selezionati veniva determinata la carica batterica totale e in parallelo venivano inoculate in microcuvette contenenti brodo nutritivo, successivamente poste in *Bioscreen analyzer* per 48 ore.

In parallelo venivano allestiti controlli positivi contenenti la coltura microbica mista e controlli negativi costituiti dal medesimo terreno colturale sterile (figure 5 e 6).

A intervalli di tempo prescelti venivano effettuati controlli per confermare che l'eventuale sviluppo microbico fosse da ricondurre ai microrganismi inoculati e non a possibili contaminanti.

RISULTATI

In tabella 1 viene riportata la carica microbica (espressa in u.f.c./ml) nei diversi terreni di coltura e ai tempi selezionati.

Dall'analisi dei dati raccolti risulta evidente che:

- le cariche microbiche ottenute in terreno nutritivo non selettivo (PCA) sono più elevate rispetto a quelle evidenziate nei terreni colturali selettivi (MAC e MSA);
- le cariche microbiche più elevate sono state ottenute al tempo più prolungato di permanenza dei CFA in terreno nutritivo;
- i CFA avvitati danno luogo a una moltiplicazione batterica notevolmente più consistente rispetto ai CFA a connessione conometrica, anche se la PA2 ha dato una crescita di entità inferiore rispetto alla PA1. In entrambi i casi le cariche microbiche hanno interessato sia le specie Gram- sia quelle Gram+.

Dei due CFA a connessione conometrica, in un caso la crescita batterica è stata completamente assente a 1, 3, 5 e 22 ore, mentre nell'altro campione la crescita compare solo dopo 22 ore di contatto in terreno nutritivo. In tutte le prove effettuate non si sono mai verificati casi di contaminazione batterica accidentale. Quanto riportato in tabella 1 è confermato dalla cinetica di crescita microbica riportata nelle figure 7-10 a 1, 3, 5 e 22 ore di permanenza dei CFA in terreno di coltura.

CRESCITA MICROBICA DOPO 1 ORA

I CFA avvitati danno luogo a una moltiplicazione consistente già dopo 10 ore dall'inoculo. L'andamento della curva di crescita decorre parallelo alla curva di controllo positivo alla quale

si avvicina nella fase finale (figura 7). È da notare la riproducibilità dei risultati; infatti, le curve di controllo e quelle relative ai CFA avvitati sono pressoché sovrapponibili tra loro. I CFA a connessione conometrica determinano una moltiplicazione batterica solo dopo 19-20 ore e la loro carica risulta sempre decisamente inferiore a quella del controllo positivo e dei CFA a connessione avvilita. È importante sottolineare che di ciascuna coltura l'inoculo è stato ripetuto più volte, per verificarne l'attendibilità del risultato e provarne l'effettiva riproducibilità.

RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE

Protesi	Terreno di coltura	CONTROLLI AD INTERVALLI DI TEMPO (ore)			
		1	3	5	22
PA1	PCA	7.6×10^2	2.2×10^2	4.6×10^2	**
	MCA	2.6×10^2	1.2×10^2	2.8×10^2	**
	MSA	-	-	0.8×10^2	3×10^2
PA2	PCA	0.8×10^2	0.8×10^2	-	**
	MAC	-	-	-	**
	MSA	-	-	-	2×10^2
PB1	PCA	-	-	-	**
	MAC	-	-	-	8.4×10^2
	MSA	-	-	-	0.4×10^2
PB2	PCA	-	-	-	-
	MCA	-	-	-	-
	MSA	-	-	-	-

PCA: Plate Count Agar (terreno di coltura non selettivo, che consente lo sviluppo della stragrande maggioranza delle specie batteriche);

MCA: Mac Conkey Agar (terreno di coltura selettivo per le specie batteriche Gram-, e differenziale, consentendo esso una buona discriminazione su base morfologica delle stesse);

MSA: Mannitol Salt Agar (terreno di coltura selettivo e differenziale, particolarmente favorevole per lo sviluppo e la differenziazione degli stafilococchi);

** Sviluppo microbico confluyente su tutta la piastrina di semina, di cui non risultava pertanto possibile valutare una carica, sia pure approssimativa.

Tabella 1

CRESCITA MICROBICA DOPO 3 ORE

L'andamento grafico dei CFA avviliti è analogo al precedente (figura 8): la coltura di arricchimento dei CFA avviliti si sviluppa dopo 10-12 ore, mentre per quanto riguarda i conometrici risulta evidente la completa assenza di carica microbica in tutte le repliche effettuate. Anche qui è da sottolineare la riproducibilità dei risultati nell'inoculo ripetuto più volte (curve di controllo e curve dei CFA avviliti pressoché sovrapponibili tra loro; per i CFA conometrici assenza di carica microbica in tutte le prove).

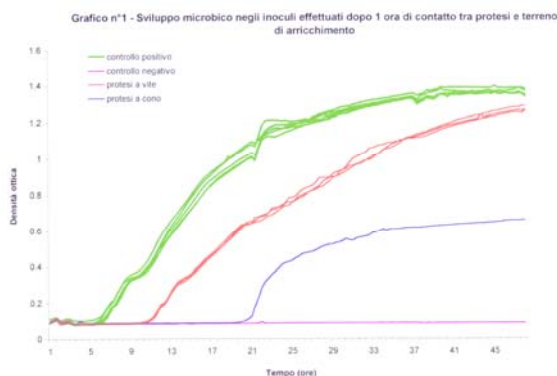


Fig. 7: curve di crescita microbica ottenute inoculando le microcuvette di Bioscreen dopo 1 ora di contatto delle protesi in terreno nutritivo.

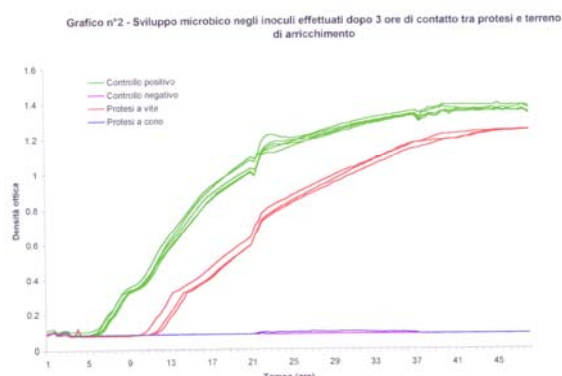


Fig. 8: curve di crescita microbica ottenute inoculando le microcuvette di Bioscreen dopo 3 ore di contatto delle protesi in terreno nutritivo.

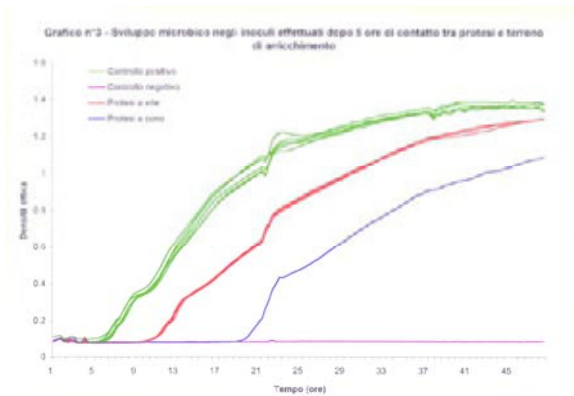


Fig. 9: curve di crescita microbica ottenute inoculando le microcuvette di Bioscreen dopo 5 ore di contatto delle protesi in terreno nutritivo.

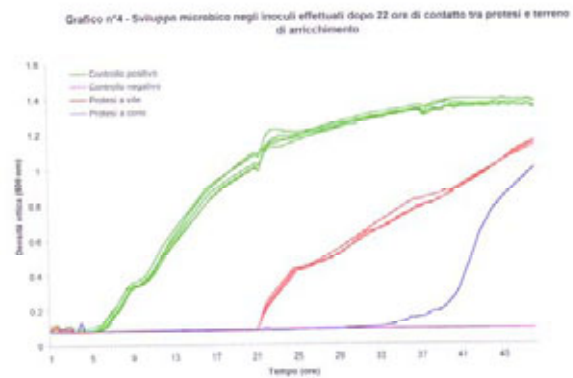


Fig. 10: curve di crescita microbica ottenute inoculando le microcuvette di Bioscreen dopo 22 ore di contatto delle protesi in terreno nutritivo.

CRESCITA MICROBICA DOPO 5 ORE

I CFA avvitati determinano uno sviluppo della coltura di arricchimento dopo 10 ore con crescita piuttosto consistente e alla fine di entità quasi corrispondente a quella della coltura di controllo (figura 9). I CFA conometrici determinano uno sviluppo della coltura dopo 18 ore con crescita comunque inferiore rispetto a quella dei CFA avvitati. Anche qui si riscontra una riproducibilità dei risultati e una garanzia di attendibilità della serie standard di prove effettuate.

CRESCITA MICROBICA DOPO 22 ORE

Mentre i CFA avvitati determinano uno sviluppo della coltura di arricchimento dopo 21 ore con crescita piuttosto rapida, quelli conometrici fanno registrare uno sviluppo dopo 32 ore con una crescita che, sebbene piuttosto rapida, rimane comunque inferiore a quella determinata dai CFA avvitati (figura 10). La garanzia di attendibilità dei risultati viene evidenziata dalla riproducibilità delle prove della serie effettuata.

CONCLUSIONE

La tecnica utilizzata ha dato prova della sua validità, in quanto i risultati sono stati ripetibili tenendo conto della deviazione standard, che i controlli positivi e negativi hanno dato risposte adeguate, e che non si sono mai verificate contaminazioni microbiche. Va tenuto conto che le condizioni operative presenti risultavano estremamente più favorevoli alla crescita microbica rispetto alle condizioni reali "in vivo", in quanto è stato utilizzato un terreno colturale di arricchimento.

Inoltre, la crescita dei germi non è stata ostacolata, come fisiologicamente avviene, dalla presenza di enzimi, da detersione meccanica o da fenomeni di competizione tra microrganismi anche di categorie diverse.

La carica batterica fuoriuscita dalle connessioni avvitate e la cinetica di riproduzione sono risultate decisamente elevate in entrambi gli impianti avvitate esanimanti e di poco inferiori a quella del controllo positivo. Questo dato trova conferma che l'elevato gap (100-150 μm) tra impianto e moncone riscontrato nelle sezioni metallografiche.

In letteratura non sono stati ancora definiti i parametri standard di accettabilità delle discrepanze tra sovrastruttura e impianto; si oscilla infatti dai 150 μm proposti da Yanase et al.^[3] ai soli 30 μm definiti da York et al.^[4]. Tale fissurazione consente un agevole passaggio di microrganismi (di dimensioni comprese tra 1.1 e 6 μm) tra interno ed esterno degli impianti, come già dimostrato in letteratura.

Quirynens^[5], sempre valutando gli impianti Brånemark, dimostrò in vitro un consistente passaggio di germi dalla superficie interna a quella esterna dei CFA.

Persson^[6], rimuovendo 28 impianti Brånemark falliti in 10 pazienti, trovò sulla loro superficie interna un'alta carica microbica causata da contaminazione accidentale durante l'inserimento oppure da infiltrazione di microrganismi dal cavo orale, senza correlazione con stabilità e tipo di moncone.

La carica batterica fuoriuscita dalle connessioni conometriche è risultata esigua o nulla rispetto alle connessioni avvitate, e la cinetica di replicazione rallentata rispetto al controllo, nonostante

il terreno di arricchimento nel quale erano immerse. Questo dato trova conferma nel minimo gap (0,5-1 μm), riscontrato nelle sezioni metallografiche di tali impianti, che rende estremamente disagiata il passaggio microbico nei due sensi.

Hubertus, studiando impianti a connessione conometrica, evidenziò quanto fosse importante la presenza di un gap contenuto per il delicato attacco epiteliale. Buckley rilevò che il buono stato di salute dei tessuti molli attorno agli impianti conometrici era correlato alla buona compatibilità tra di essi e il parodonto.

Richard (1996) dichiarò che ogni divario tra impianto e moncone e tra moncone e protesi costituisce un serbatoio microbico capace di reinfettare il solco perimplantare. Appare evidente dalle ricerche consultate che l'obiettivo futuro, da questo punto di vista, non possa che essere la riduzione quanto più efficace possibile di tale gap, seppure impossibile da eliminare^[7].

Infatti, sebbene non esista un'associazione causale tra tipo di flora e fallimento implantare, è universalmente riconosciuto che un'elevata carica batterica sia la causa di infiammazione parodontale e del riassorbimento osseo perimplantare riscontrabile a un anno.

Lo stato di malattia e salute dei tessuti perimplantari, come già richiamato nel presente articolo, è indotto dalle stesse variazioni di flora batterica che avvengono nei medesimi tessuti attorno ai denti naturali^[6].

Il cavo orale è un ambiente settico per definizione, ma in presenza di una carica batterica non elevata (paragonabile a quella fisiologica), l'organismo riesce ad attuare meccanismi di difesa umorali e meccanici che mantengono in salute i tessuti perimplantari^[2,8].

In assenza di flogosi, la mucosa perimplantare si copre di tessuto ortocheratinizzato denso di fibre collagene che decorrono parallele alla superficie implantare, fungendo da barriera meccanica nei confronti della penetrazione batterica tra il parodonto e le pareti esterne dell'impianto^[9].

In caso contrario, vengono indotte variazioni tissutali che compromettono la presenza e la funzione della barriera mucosa perimplantare cui seguono parodontite e riassorbimento osseo angolare che possono essere causa della perdita dell'impianto stesso^[1,2,8,9].

I risultati emersi dalle valutazioni sugli impianti a connessione conometrica appaiono, quindi, particolarmente significativi alla luce di quanto riportato in letteratura per l'ulteriore riduzione della percentuale degli insuccessi in campo implantoprotesico.

Data l'importanza della problematica, una serie di studi a medio e lungo termine sono stati posti *in itinere*, al fine di quantificare nel tempo l'effettiva influenza qualitativa e quantitativa che una ridottissima infiltrazione batterica può avere sulla sopravvivenza implantare nel tempo.

Corrispondenza: Enrico Gherlone, Servizio di Odontoiatria, Ospedale San Raffaele, Via Olgettina 48, 20132 Milano

BIBLIOGRAFIA

1. Abell R, Eriksson B, Brånemark PI, Jemt T. Studio con un lungo follow-up su impianti osteointegrati per la ricostruzione di mascelle completamente edentule. *Quint Int* 1992; 3:235-47;
2. Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Impl Res* 1998;9:73-9;
3. Yanase PT, Binon PP, Jemt T, Gulbransen HJ, Pareli S. How do you test a cast framework fit for a full arch fixed implant supported prosthesis? *Int J Oral Maxillofac Impl* 1994;9:469-74;
4. York J, Klineberg IJ, Murray M. Design of superstructures for osseointegrated implants. *Swed Dent J* 1985;28:63-93;
5. Quirynen M, Van Der Mei HC, Bollen CML. An in vivo study of the influence of the surface roughness of implants on the microbiology of supra and subgingival plaque. *J Dent Res* 1993;72:1304-9;
6. Persson LG, Ericsson I, Berglundh T. Different types of inflammation reactions in periimplant soft tissues. *J Clin Periodontol* 1995;22:255-61;
7. Wolker K, Jansen GC, Richter EJ. Analisi della congruenza della connessione pilastro-impianto. *Quint Int* 1996;3:167-83;
8. Ericsson I, Berglundh T, Marinello C. Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clin Oral Impl Res* 1992;3:99-103;
9. Lindhe J, Berglundh T. The interface between the mucosa and the implant. *Periodontology* 2000 1998;17:47-54.