



Università di Pisa

Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica

Corso di Laurea Specialistica in Odontoiatria e Protesi Dentaria

Presidente: Prof. Corrado Blandizzi

**VALUTAZIONE MICROBIOLOGICA DELLA  
COLONIZZAZIONE BATTERICA  
IMPLANTOPROTESICA: STUDIO CLINICO.**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Ugo COVANI

Candidato:

Gianni CIAMPALINI

Anno Accademico

2012/2013

---

# Indice

<b>1. Introduzione</b> .....	<b>1</b>
1.1 Microbiologia del cavo orale.....	1
1.1.1 Considerazioni generali .....	1
1.1.2 Formazione della placca batterica .....	2
1.1.3 Struttura della placca dentale sopragengivale e sottogengivale .....	5
1.1.4 Placca perimplantare .....	9
1.1.5 Complessi microbici.....	9
1.2 Perimplantite .....	10
1.2.1 Caratteristiche cliniche .....	10
1.2.2 Prevalenza .....	11
1.3 Forma degli impianti .....	11
1.3.1 Caratteristiche generali.....	11
1.3.2 Corpo implantare .....	14
1.3.3 Titanio .....	15
1.3.4 Superfici implantari .....	16
1.3.4.1 Superfici tornite .....	16
1.3.4.2 Superfici sabbiato .....	16
1.3.4.3 Superfici plasma spray.....	17
1.3.4.4 Superfici con mordenzatura acida .....	17
1.3.4.5 Superfici anodizzate .....	17
1.3.4.6 Superfici con rivestimenti in idrossiapatite .....	17
1.3.5 Zirconia .....	18
1.4 Tipi di connessione impianto-abutment .....	19
1.4.1 Connessioni esterne .....	19
1.4.2 Connessioni interne .....	19
1.5 Attacchi protesici.....	20

1.6 Riassorbimento osseo perimplantare.....	21
1.6.1 Considerazioni generali .....	21
1.6.2 Teoria “dell’ampiezza biologica” .....	21
1.6.3 Teoria del trauma meccanico.....	24
1.6.4 Teoria della colonizzazione batterica .....	27
1.7 Colonizzazione batterica delle superfici implantari .....	29
1.7.1 Formazione iniziale della placca batterica sulle superfici implantari.....	29
1.7.2 Maturazione del biofilm implantare .....	31
1.7.3 Colonizzatori dei siti implantari nei soggetti edentuli.....	33
1.7.4 Colonizzatori dei siti implantari nei soggetti parzialmente edentuli .....	35
1.7.5 Colonizzatori dei siti implantari nei soggetti con storia di parodontite.....	36
1.7.6 Colonizzatori dei siti implantari nei siti affetti da perimplantite .....	37
1.7.7 Conclusioni.....	38
<b>2. Materiali e Metodi .....</b>	<b>40</b>
2.1 Obiettivo dello studio .....	40
2.2 Criteri di inclusione .....	40
2.3 Tecnica di prelievo .....	41
2.4 Analisi microbiologica .....	41
2.5 Analisi dei dati .....	42
<b>3. Risultati.....</b>	<b>43</b>
3.1 Gruppo Test.....	43
3.2 Gruppo Controllo .....	47
<b>4. Discussione .....</b>	<b>52</b>
4.1 Conclusioni.....	54
<b>Bibliografia.....</b>	<b>57</b>

---

## Capitolo 1: **Introduzione**

### **1.1 Microbiologia del cavo orale**

#### **1.1.1 Considerazioni generali**

Nell'arco di tutta la vita ogni superficie di interfaccia del corpo è esposta alla colonizzazione da parte di una vasta gamma di microrganismi. In generale, questi batteri vivono in armonia con chi li ospita. Il costante rinnovamento delle superfici tramite l'esfoliazione evita l'accumulo di grandi masse di microrganismi; tuttavia, nel cavo orale i denti offrono superfici dure che non vanno incontro ad esfoliazione, evento che favorisce lo sviluppo di estesi depositi batterici. Si ritiene che il loro accumulo e il loro metabolismo sulle superfici orali solide siano la causa principale della carie dentale, della gengivite, della parodontite, delle infezioni perimplantari e delle stomatiti.

I depositi massivi sono associati generalmente a malattie localizzate dei tessuti molli o duri sottostanti. Nel contesto della cavità orale, i depositi di batteri sono stati denominati *placca dentale* o *placca batterica*. In 1 mm<sup>3</sup> di placca dentale, che ha un peso approssimativo di 1 mg, sono presenti più di 10<sup>8</sup> batteri. Sebbene in questi depositi siano state isolate e caratterizzate più di 300 specie batteriche, non è possibile identificare tutte le specie presenti.

Studi sperimentali ormai divenuti classici hanno dimostrato che l'accumulo di batteri sui denti porta, con modalità riproducibili, a una risposta infiammatoria da parte dei tessuti gengivali associati: con la rimozione della placca, i segni clinici di questa infiammazione scompaiono (Løe *et al.* 1965, Theilade *et al.* 1966). Relazioni causa-effetto simili sono state dimostrate tra placca e mucosite perimplantare (Pontoriero *et al.* 1994).

Inizialmente si riteneva che esistesse una relazione diretta tra il numero totale di batteri accumulati e l'entità dell'effetto patogeno, mentre le differenze di composizione della placca non si consideravano di solito biologicamente rilevanti. Si dimostrò che questa placca batterica produceva una varietà di fattori irritanti, come acidi, endotossine e antigeni che, nel tempo dissolvevano invariabilmente i denti e distruggevano i tessuti di sostegno. Di conseguenza, la necessità di distinguere i depositi di batteri da paziente a paziente o da sito sano a sito affetto dalla malattia non era ancora stata considerata in dettaglio. Si sospettava che gli individui con malattie parodontali estese non avessero una forte resistenza alla placca

batterica in generale o praticassero un'igiene orale inadeguata. Questo punto di vista sulla placca considerata come biomassa è stato definito *ipotesi della placca non-specifica* (Theilade 1986).

È stato scoperto in seguito che la tendenza delle zone infiammate a subire una distruzione permanente di tessuto è di natura più specifica, perché non tutte le lesioni causate da gengivite sembravano progredire invariabilmente fino alla parodontite. In un gran numero di soggetti la maggior parte dei siti parodontali non sempre mostra segni clinici di distruzione attiva del tessuto. Sono stati indicati come possibili patogeni i microrganismi regolarmente trovati nelle lesioni parodontali di una certa entità, confrontandoli con quelli osservati in condizioni clinicamente sane. Alcuni studi longitudinali hanno indicato un più alto rischio di distruzione parodontale in siti colonizzati da alcuni potenziali microrganismi patogeni. I risultati del trattamento erano migliori se alle visite di controllo risultava che questi microrganismi non erano più presenti. Se la malattia parodontale fosse effettivamente dovuta a un numero limitato di specie di batteri, la continua e massima soppressione della placca in toto potrebbe non essere l'unica possibilità di prevenzione o cura della parodontite; dunque, l'eliminazione o la riduzione specifica dei presunti batteri patogeni dalla placca potrebbe diventare una valida alternativa. Tale punto di vista sulla parodontite, che sarebbe quindi causata da patogeni specifici, è stato definito *ipotesi della placca specifica* (Loesche 1979).

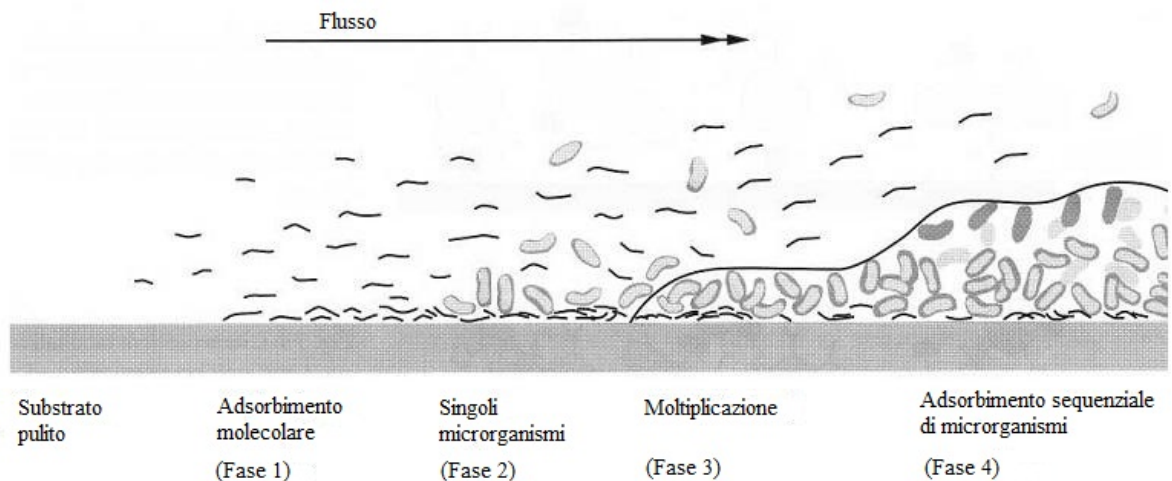
Il termine *infezione* si riferisce alla presenza e alla moltiplicazione di un microrganismo nei tessuti umani. La peculiarità delle malattie dentali associate a placca batterica, intese come infezioni, è legata al fatto che in esse manca una invasione batterica massiccia nei tessuti.

### **1.1.2 Formazione della placca batterica**

La capacità di aderire alle superfici è una proprietà generale di quasi tutti i batteri. Dipende da una serie di interazioni intricate, a volte squisitamente specifiche, fra la superficie da colonizzare, il microbo e l'ambiente fluido (Mergenhagen e Rosan 1985).

Subito dopo aver immerso un substrato solido negli ambienti fluidi della cavità orale, o dopo aver pulito una superficie solida della bocca, le sostanze idrofobe e le macromolecole iniziando ad essere adsorbite sulla superficie formando una pellicola condizionante, denominata *pellicola acquisita* (Fig. 1.1, fase 1). Questa pellicola è composta da una varietà di glicoproteine salivari (mucine) e anticorpi. La pellicola acquisita altera la carica elettrica e l'energia libera della superficie che, a sua volta, aumenta l'efficienza dell'aderenza batteri-

ca. I batteri aderiscono a queste superfici rivestite in vario modo. Alcuni possiedono strutture di attacco specifiche, come sostanze polimeriche extracellulari e fimbrie, che permettono loro di aderire rapidamente al solo contatto (Fig. 1.1, fase 2). Altri batteri necessitano di un'esposizione prolungata per potersi attaccare saldamente. Il comportamento dei batteri cambia dopo che questi hanno aderito alla superficie. Ciò implica una crescita cellulare attiva dei batteri precedentemente in stato di quiescenza e la sintesi di nuovi componenti della membrana esterna (Fig. 1.1, fase 3). La massa batterica aumenta di volume in seguito alla continua crescita dei microrganismi già adesi alla superficie, all'adesione di nuovi batteri e alla sintesi di polimeri extracellulari (Fig. 1.1, fase 4). Con l'aumento di questo spessore, la diffusione attraverso il biofilm diventa sempre più difficile. Si sviluppa così un gradiente di ossigeno, come risultato della sua rapida utilizzazione da parte degli strati batterici superficiali e della sua scarsa diffusione attraverso la matrice del biofilm. Alla fine si instaurano condizioni di completa anaerobiosi negli strati più profondi dei depositi. Si formano anche gradienti decrescenti di fattori nutritivi forniti dalla fase acquosa, cioè dalla saliva. Gradienti inversi dei prodotti di fermentazione si sviluppano in seguito al metabolismo batterico.



**Fig. 1.1** Formazione di un biofilm su un substrato duro, pulito e non esfoliabile immerso in un ambiente fluido. *Fase 1:* formazione di una pellicola condizionante. *Fase 2:* adesione di singoli batteri. *Fase 3:* moltiplicazione batterica e aumento della produzione della matrice extracellulare. *Fase 4:* adsorbimento di ulteriori microrganismi e formazione di un biofilm complesso. (da Lindhe, J., Lang, N. P., Thorkild, K., eds. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Fifth edition.* Blackwell Publishing Ltd. 2008; con modifiche).

I prodotti alimentari dissolti nella saliva sono un'importante fonte di fattori nutritivi per i batteri che si trovano nella placca sopragengivale. Tuttavia, una volta formatasi una tasca parodontale più profonda, cambiano le condizioni nutritive per i batteri, dato che la pene-

trazione nella tasca delle sostanze dissolte nella saliva è molto limitata. All'interno della tasca profonda, la principale fonte nutritiva per il metabolismo dei batteri proviene dai tessuti parodontali e dal sangue. Molti batteri delle tasche parodontali producono enzimi idrolitici con cui possono scindere le macromolecole complesse dell'ospite in semplici peptidi e amminoacidi. Tali enzimi possono rappresentare importanti fattori nel processo distruttivo dei tessuti parodontali.

La colonizzazione primaria è dominata dai cocchi anaerobi facoltativi Gram-positivi. Poco tempo dopo la pulizia meccanica essi aderiscono alle superfici ricoperte di pellicola. La placca formata dopo 24 ore è costituita prevalentemente da streptococchi; *S. sanguis* è il più importante. Nella fase seguente i bastoncini Gram-positivi, che inizialmente sono pochissimi, aumentano gradualmente e alla fine sono più numerosi degli streptococchi. I batteri filamentosi Gram-positivi, specialmente *Actinomyces*, rappresentano le specie dominanti in questo stadio di sviluppo della placca. I recettori di superficie, presenti sui cocchi e sui bastoncini Gram-positivi depositati, consentono una successiva aderenza dei microrganismi Gram-negativi, che difficilmente riescono ad attaccarsi direttamente alla pellicola. Anche *Veillonella*, fusobatteri e altri batteri anaerobi Gram-negativi possono attaccarsi in questo modo. Quindi l'eterogeneità della placca aumenta gradualmente e, con il tempo, include numerosi microrganismi Gram-negativi. Come risultato di questo sviluppo, si ha una complessa gamma di specie batteriche in relazione fra loro. Lo scambio di fattori nutritivi fra le diverse specie, ma anche le interazioni negative, svolgono un ruolo importante nella creazione di una comunità batterica stabile.

L'accumulo di placca lungo il margine gengivale porta a una reazione infiammatoria dei tessuti molli. La presenza di questa infiammazione ha una profonda influenza sull'ambiente locale. La disponibilità di componenti del sangue e del fluido gengivale favorisce la crescita delle specie batteriche Gram-negative, aumentando anche la probabilità di parodontite. I campioni prelevati dalle lesioni gengivali stabilizzate presentano un numero maggiore di questi batteri. Grazie alla capacità dei propri enzimi di digerire le proteine, molti di questi microrganismi non dipendono dalla disponibilità diretta di carboidrati alimentari. Tali batteri non producono polimeri extracellulari e formano solo una placca con scarsa aderenza nella tasca parodontale che si sta sviluppando. La coltura di campioni provenienti da lesioni parodontali avanzate rivela una predominanza di bastoncini anaerobi Gram-negativi (in particolare, si rileva un numero particolarmente alto di spirochete anaerobie non coltivabili).

Riassumendo, immediatamente dopo che superfici dure e non esfoliabili vengono immerse nell'ambiente fluido della cavità orale, l'adsorbimento delle macromolecole porta alla formazione di una biopellicola più comunemente detta *biofilm*. L'aderenza batterica a questo strato glicoproteico coinvolgerà prima di tutto i costituenti primitivi della placca primaria, come i bastoncelli e i cocci Gram-positivi anaerobi facoltativi. La successiva colonizzazione sui recettori di questi microrganismi avverrà a opera dei batteri Gram-negativi strettamente anaerobi, mentre anche i costituenti primitivi della placca si moltiplicheranno formando colonie. L'eterogeneità di questo complesso biofilm aumenta con il tempo, parallelamente al mutamento graduale delle condizioni ambientali.

### **1.1.3 Struttura della placca dentale sopragengivale e sottogengivale**

Le superfici del dente, sia lo smalto sia il cemento esposto, sono normalmente coperte da una sottile pellicola acquisita di glicoproteine. Se questa viene rimossa, per esempio con la strumentazione meccanica, si riforma nel giro di pochi minuti. Si ritiene che questa pellicola svolga un ruolo attivo nell'aderenza selettiva di certi batteri alla superficie del dente.

Il primo materiale cellulare che aderisce alla pellicola sulla superficie del dente o su altre superfici solide consiste in batteri coccoidei e in un certo numero di cellule epiteliali e di leucociti polimorfonucleati. I batteri si possono rinvenire sia sopra sia all'interno della pellicola come singoli microrganismi o come aggregati di microrganismi. Un numero maggiore di microrganismi può essere trasportato sulla superficie del dente dalle cellule epiteliali.

L'aderenza dei microrganismi alle superfici solide avviene in due tappe: una fase reversibile in cui i batteri aderiscono lassamente e, più tardi, una fase irreversibile durante la quale la loro aderenza viene consolidata (Gibbons e van Houte 1980).

Un altro fattore che può modificare il numero di batteri nei depositi di placca iniziali è la presenza di gengivite, che aumenta la velocità di formazione della placca (Saxton 1973; Hillam e Hull 1977; Brex *et al.* 1980). La crescita della placca può anche iniziare da microrganismi alloggiati in minuscole irregolarità in cui sono al riparo dalla naturale pulizia della superficie dentale.

Nelle prime ore successive, i batteri che resistono al distacco della pellicola possono iniziare a proliferare e a formare piccole colonie di microrganismi morfologicamente simili (Brex *et al.* 1980). Però, poiché altri tipi di microrganismi possono proliferare nelle zone adiacenti, la pellicola viene facilmente popolata da un miscuglio di diversi organismi



(Brex *et al.* 1981). Inoltre, alcuni batteri sembrano capaci di crescere in mezzo ad altre colonie già formate (Brex *et al.* 1981). Infine, è verosimile che gruppi di microrganismi di specie diverse comincino ad attaccarsi alla superficie del dente o ad altri microrganismi che già di aderiscono, contribuendo alla complessità della composizione della placca che si trova dopo pochi giorni. A questo punto, diversi tipi di organismi possono trarre beneficio gli uni dagli altri (Listgarten *et al.* 1973).

Il materiale presente fra i batteri è chiamato *matrice intermicrobica* e ammonta a circa il 25% dell'intero volume della placca. Tre fonti possono contribuire alla formazione della matrice intermicrobica: i batteri della placca, la saliva e l'essudato gengivale.

I batteri possono liberare vari prodotti metabolici. Alcuni batteri possono produrre polimeri di carboidrati extracellulari che serviranno come riserva energetica o come materiale di ancoraggio per assicurare la loro ritenzione nella placca (Theilade e Theilade 1970). Anche i batteri morti o degenerati possono contribuire alla formazione della matrice intermicrobica. La matrice intermicrobica della placca varia considerevolmente da regione a regione. Molto spesso, nella matrice tra i cocci Gram-negativi, si può vedere una componente fibrillare (Brex *et al.* 1981) e ciò è in accordo con il fatto che molti streptococchi orali sintetizzano levani e glucani dagli zuccheri della dieta. In altre regioni la matrice appare granulare od omogenea (Theilade e Theilade 1970). Nelle zone della placca che contengono batteri Gram-negativi, la matrice è caratterizzata dalla costante presenza di piccole vescicole circondate da una membrana trilaminare che, strutturalmente, è simile a quella dello strato esterno della parete cellulare dei microrganismi Gram-negativi (Theilade e Theilade 1970). Tali vescicole probabilmente contengono endotossine ed enzimi proteolitici e possono essere anche coinvolte nell'aderenza fra i batteri (Hofstad *et al.* 1972; Grenier e Mayrand 1987).

Proteine e carboidrati costituiscono la maggior parte del materiale organico della matrice, mentre i lipidi sembrano essere presenti in quantità molto più scarsa (Silverman e Kleinberg 1967; Krebel *et al.* 1969; Kleinberg 1970; Hotz *et al.* 1972; Rölla *et al.* 1975; Bowen 1976). I carboidrati appartengono alla classe dei fructani (levani) e dei glucani. I fructani sono sintetizzati nella placca dal saccarosio presente nella dieta e servono come deposito di energia. Anche i glucani vengono sintetizzati dal saccarosio. Un tipo di glucano è il destrano che può essere utilizzato anche come deposito di energia. Un altro tipo di glucano è il mutano, che non è facilmente degradabile, ma si comporta come uno scheletro per la matrice. È stato ipotizzato che tali polimeri dei carboidrati possano essere responsabili del

passaggio dall'aderenza reversibile a quella irreversibile dei batteri della placca. La piccola quantità di lipidi presenti nella matrice è attualmente poco caratterizzata. Una parte del contenuto lipidico è rinvenuta nelle piccole vescicole extracellulari che possono contenere le endotossine lipopolisaccaridiche dei batteri Gram-negativi.

Sotto molti aspetti la placca sottogengivale assomiglia a quella sopragengivale, anche se i tipi di batteri predominanti variano considerevolmente rispetto a quelli che si riscontrano coronalmente al margine gengivale (Schroeder 1970; Listgarten *et al.* 1975; Listgarten 1976; Westergaard *et al.* 1978).

Fra placca sottogengivale e dente è interposto un materiale organico elettrone-denso, chiamato *cuticola*. La cuticola probabilmente contiene i residui della lamina epiteliale di attacco che originariamente connette l'epitelio giunzionale al dente, con l'aggiunta di materiale depositato dall'essudato gengivale (Frank e Cimasoni 1970; Lie e Selvig 1975; Eide *et al.* 1983).

La struttura della placca sottogengivale ha alcune somiglianze con quella della placca sopragengivale, soprattutto quando si tratta di placca associata a gengivite senza la formazione di tasche profonde. Un accumulo densamente ammassato di microrganismi si può osservare nelle adiacenze del materiale cuticolare che copre la superficie del dente (Listgarten 1976). I batteri comprendono cocchi Gram-positivi e Gram-negativi, bastoncelli e organismi filamentosi. Si possono incontrare anche spirochete e vari batteri flagellati, specialmente nelle zone più apicali della placca. Lo strato più superficiale è spesso meno densamente addensato e i leucociti si trovano regolarmente interposti fra la placca e il rivestimento epiteliale del solco gengivale.

Quando si forma una tasca parodontale, l'aspetto dei depositi batterici sottogengivali diventa molto più complesso. In questo caso la superficie del dente può essere rappresentata sia dallo smalto sia dal cemento, da cui si sono staccate le fibre parodontali. In questo strato di placca predominano i microrganismi filamentosi (Listgarten 1976), ma si trovano anche cocchi e bastoncelli. D'altra parte, nelle parti più profonde della tasca parodontale, i microrganismi filamentosi diventano sempre più scarsi e nella porzione più apicale sembrano essere di fatto assenti. Invece il denso deposito batterico che si affaccia alla superficie del dente è dominato da microrganismi più piccoli, senza particolare orientamento (Listgarten 1976).

Nella tasca parodontale, gli strati superficiali dei microrganismi che fronteggiano i tessuti molli sono molto diversi dallo strato aderente lungo la superficie del dente e non esiste nessuna distinta matrice intermicrobica (Listgarten 1976). I microrganismi comprendono una grande quantità di spirochete e di batteri flagellati. Sono anche presenti cocci Gram-negativi e bastoncelli. Questa moltitudine di spirochete e di microrganismi flagellati è dotata di mobilità e non c'è presenza di matrice intermicrobica. Questa porzione più esterna della placca batterica è scarsamente aderente alla parete molle della tasca (Listgarten 1976).

Lo strato di microrganismi aderenti differisce considerevolmente nel suo spessore e mostra una considerevole varietà di disposizione. Può avere un'organizzazione a palizzata dei batteri (Westergaard *et al.* 1978). In questo strato i microrganismi sono soprattutto cocci, bastoncelli o batteri filamentosi, generalmente Gram-negativi (Westergaard *et al.* 1978). Si può osservare anche uno strato superficiale con alcuni cocci Gram-positivi, spesso associati a microrganismi filamentosi nella tipica formazione a “pannocchia di granoturco”.

I batteri sottogengivali sembrano avere la capacità di invadere i tubuli dentinali, dopo l'esposizione di questi ultimi come conseguenza del riassorbimento infiammatorio del cemento (Adriaens *et al.* 1988). Un tale habitat può servire da fonte per la ricolonizzazione batterica dello spazio sottogengivale dopo il trattamento della malattia parodontale. I meccanismi implicati in questa invasione inversa dello spazio sottogengivale sono sconosciuti.

La placca sottogengivale può apparire come una continuazione apicale della placca supragengivale oppure come aggregati isolati, posti a una certa distanza dai depositi supragengivali.

Un aspetto caratteristico della placca sottogengivale è la presenza di leucociti interposti fra la superficie dei depositi batterici e l'epitelio gengivale sulcolare (Theilade e Attström 1985). Si possono rinvenire alcuni batteri anche fra le cellule epiteliali e si nota spesso un quadro di fagocitosi (da parte dei leucociti polimorfonucleati) (Theilade e Attström 1985).

Riassumendo, vi sono quattro distinte nicchie ambientali sottogengivali che sono probabilmente diverse nella loro composizione:

- La superficie del dente (o dell'impianto);
- L'ambiente fluido dell'essudato gengivale;
- La superficie delle cellule epiteliali;

- La porzione superficiale dell'epitelio della tasca.

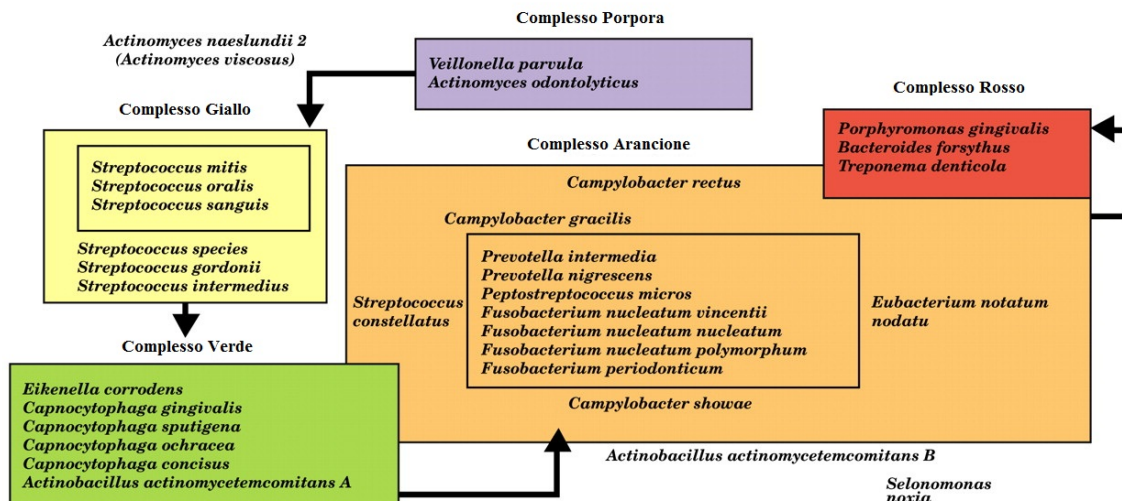
#### 1.1.4 Placca perimplantare

La placca batterica non si forma solamente sulla superficie dei denti naturali, ma anche sulle superfici artificiali esposte all'ambiente orale, fra cui le superfici implantari. Le somiglianze tra i depositi microbici perimplantari e quelli sottogengivali sono state chiaramente dimostrate da studi trasversali (Mombelli *et al.* 1987, 1995) e longitudinali (Mombelli *et al.* 1988; Pontoriero *et al.* 1994), ed è possibile affermare che la struttura dei depositi di placca perimplantare può assomigliare a quella incontrata nell'ambiente sottogengivale.

#### 1.1.5 Complessi microbici

L'associazione di batteri presenti nel biofilm non è casuale, ma è in realtà determinata da relazioni specifiche tra le varie specie batteriche. Socransky *et al.* (1998) hanno esaminato più di 13.000 campioni di placca sottogengivale provenienti da 185 individui adulti e hanno impiegato l'analisi cluster e tecniche di classificazione delle comunità batteriche al fine di dimostrare la presenza di gruppi microbici specifici all'interno della placca dentale. Sono stati identificati sei gruppi strettamente associati di specie batteriche (Fig. 1.2); questi includevano:

- Specie specifiche di *Actinomyces*;
- Un complesso giallo costituito da membri del genere *Streptococcus*;
- Un complesso verde formato da specie di *Capnocytophaga*, il sierotipo *a* di *A. actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* e *Campylobacter concisus*;
- Un complesso color porpora formato da *Veillonella parvula* e *Actinomyces odontolyticus*;
- Un complesso arancione formato da *Campylobacter gracilis*, *C. rectus*, *C. showae*, *Eubacterium nodatum*, le sottospecie di *F. nucleatum*, *F. periodonticum*, *Pe. micros*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens* e *S. constellatus*;
- Un complesso rosso costituito da *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *Tr. denticola*.



**Fig. 1.2** Complessi microbici rilevabili all'interno della placca dentale. (da Thomas, J. G., Nakaishi, L. A. (2006). Managing the complexity of a dynamic biofilm. *Journal of American Dental Association*. **137**, suppl: 10s-15s; con modifiche).

I primi quattro gruppi di specie rappresentano i primi colonizzatori della superficie dei denti, la cui crescita di solito precede la moltiplicazione dei complessi arancione e rosso, costituiti prevalentemente da batteri Gram-negativi. Gli ultimi due gruppi di specie sono ritenuti i principali agenti eziologici delle malattie parodontali.

## 1.2 Perimplantite

### 1.2.1 Caratteristiche cliniche

La perimplantite è una condizione clinica che prevede la presenza di una lesione di natura infiammatoria nella mucosa perimplantare e di una perdita d'osso perimplantare. Inizialmente la perimplantite interessa la porzione marginale dei tessuti perimplantari non inficiando la stabilità dell'impianto, il quale può mantenersi funzionante per periodi variabili: la mobilità implantare, dunque, non costituisce un sintomo essenziale di perimplantite, ma può verificarsi durante la fase finale della progressione della malattia, ed è il segno della totale perdita di integrazione.

I segni e i sintomi della perimplantite si riferiscono alla natura infettiva/infiammatoria della lesione. Si riscontrano edema e arrossamento della mucosa perimplantare, così come sanguinamento anche al sondaggio delicato; sono inoltre frequenti i fenomeni suppurativi. Gli esami radiografici di siti affetti da perimplantite mostrano spesso difetti ossei perimplantari a forma di cratere. La perdita ossea pare essere simmetrica, ovvero si riscontra una perdita ossea in quantità simili sui lati vestibolari, linguali, mesiali e distali degli impianti.

## **1.2.2 Prevalenza**

Le valutazioni precedenti della prevalenza della perimplantite erano basate su rapporti che descrivevano le frequenze variabili di fallimenti implantari, associate a elevati valori di placca o gravi segni di infiammazione (van Steenberghe *et al.* 1993; Weyant e Burt 1993; Weyant 1994; Esposito *et al.* 1998). Mombelli e Lang (1998) e Brägger *et al.* (2001) adottavano altri criteri e suggerivano che la prevalenza della perimplantite potesse oscillare tra il 5 e il 10% degli impianti.

La difficoltà nel recuperare informazioni sulla prevalenza della perimplantite è stata confermata da una revisione sistematica di Berglundh *et al.* (2002). In questa *review* i ricercatori valutavano l'incidenza delle complicanze biologiche e tecniche nella terapia implantare, segnalate da studi prospettici longitudinali della durata di almeno 5 anni. Dei 1310 titoli e *abstract* ricavati dalla ricerca nei database, sono stati selezionati 159 studi per l'analisi sul testo integrale, di cui 51 utilizzati per la metanalisi. La perdita implantare era la complicanza più spesso segnalata, mentre soltanto il 40-50% degli studi fornivano informazioni sulla perimplantite e la perdita ossea accentuata. Le limitate informazioni sull'incidenza della perimplantite si spiegavano perché il termine perimplantite, definita come un processo infiammatorio nei tessuti che circondano un impianto (Albrektsson e Isidor 1994), veniva adottato soltanto da alcuni studi. L'impossibilità di usare le informazioni sull'incidenza della perimplantite e sulla perdita ossea implantare accentuata era dovuta anche alla mancanza di dati che descrivessero le distribuzioni di frequenza di varie profondità di sondaggio e la quantità di perdita ossea valutata tramite esami radiografici.

In conclusione, la maggior parte degli studi clinici riportati in letteratura non ha fornito dati sufficienti sulla prevalenza della perimplantite. Tuttavia, i risultati delle pubblicazioni recenti indicano che la perimplantite sia un disturbo abbastanza comune. Negli studi più recenti, la prevalenza dei soggetti con perimplantite varia tra il 25 e il 45%.

## **1.3 Forma degli impianti**

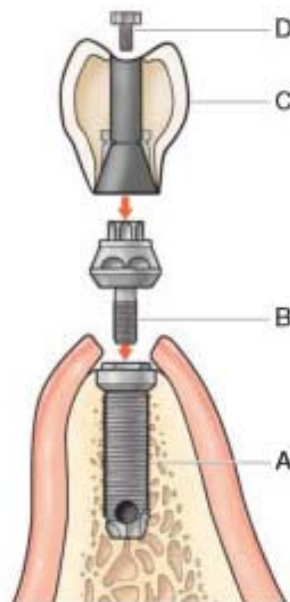
### **1.3.1 Caratteristiche generali**

Un impianto endosseo è un materiale alloplastico inserito chirurgicamente in una cresta ossea residua, principalmente come supporto protesico (Cranin 1990). Al giorno d'oggi, nella terapia riabilitativa dei pazienti parzialmente o completamente edentuli, l'impianto endosseo a forma di radice del dente è il tipo di impianto più frequentemente utilizzato.

Sebbene siano state utilizzate molte definizioni a riguardo, la dichiarazione di accordo del 1988 dell'NIH sugli impianti dentali e dell'American Academy of Implant Dentistry (AAID) ha ufficializzato il termine *forma radicolare* (Cranin 1990).

Attualmente sono in commercio più di 90 forme di corpo implantare, che offrono innumerevoli combinazioni di caratteristiche progettuali: viti, cesti, placche, sfere, cilindri, diametri, lunghezze, connessioni protesiche e condizioni superficiali.

Il progetto più comune della forma radicolare combina un *corpo implantare* separato e un *pilastro protesico*, per permettere il posizionamento del solo corpo implantare durante la guarigione ossea; il pilastro protesico verrà fissato in un secondo momento (Fig. 1.3).



**Fig. 1.3** I componenti di un sistema implantare sono il corpo implantare o *fixture* (A) e il pilastro protesico o *abutment* (B). Il manufatto protesico (C) viene connesso all'abutment (in questo caso, la connessione (D) è di tipo avvitato).

L'idea e l'intenzione chirurgiche alla base sono di raggiungere, prima dell'attuazione della fase protesica, una fissazione clinica rigida che corrisponda a una connessione microscopica diretta osso-impianto, senza che intervenga l'interposizione di tessuto fibroso, su una porzione significativa del corpo implantare: in altre parole, si deve ottenere l'*osteointegrazione* dell'impianto (Brånemark *et al.* 1977). Negli anni passati sono stati utilizzati tre differenti approcci chirurgici per il sistema implantare bicomponente: a due stadi, a stadio unico e a carico immediato:

- L'approccio a due stadi prevede, nella prima fase, il posizionamento del corpo implantare al di sotto del tessuto molle; una volta avvenuta la guarigione ossea (osteointegrazione) si passa alla seconda fase, in cui tramite una chirurgia secondaria dei tessuti molli viene scoperto l'impianto e fissato l'elemento transmucoso o il pilastro;
- L'approccio chirurgico a stadio unico prevede il posizionamento contemporaneo del corpo implantare e del pilastro transmucoso, senza la necessità di effettuare in seguito una chirurgia secondaria dei tessuti molli. La protesizzazione viene effettuata successivamente alla guarigione ossea;
- L'approccio protesico immediato prevede il posizionamento del corpo implantare e del pilastro protesico durante la chirurgia iniziale; il restauro viene quindi fissato al pilastro (fuori dai contatti occlusali, nei pazienti parzialmente edentuli) durante lo stesso intervento.

Esistono principalmente tre tipi di corpi implantari endossei di forma radicolare basati sulla forma: cilindrico, a vite o combinato (Misch e Misch 1992).

Gli impianti cilindrici dipendono, per la realizzazione della ritenzione microscopica all'osso, da un rivestimento o da un condizionamento superficiale. Frequentemente la superficie è rivestita con un materiale ruvido (ad esempio, titanio plasma spray o idrossiapatite) o presenta un elemento macroritentivo (ad esempio, sfere sinterizzate). Gli impianti cilindrici vengono in genere spinti o maschiati in un sito osseo preparato. Possono avere una forma cilindrica con pareti parallele oppure rastremata all'estremità.

Gli impianti a vite vengono posizionati nell'osso con una preparazione leggermente più piccola, e hanno elementi ritentivi macroscopici per la fissazione ossea iniziale. Le geometrie di base degli impianti a vite sono tre: filettata a V, a sperone (o sperone invertito) e filettatura forte (quadrata). Gli impianti filettati sono disponibili principalmente come cilindri a pareti parallele o con estremità rastremata. Le caratteristiche della micro- o macrofilettatura, le varie distanze, la profondità e gli angoli delle spire, come pure le caratteristiche autofilettanti, possono essere combinate per creare una serie innumerevole di progetti implantari.

Le forme implantari combinate hanno caratteristiche macroscopiche sia delle forme cilindriche sia di quelle a vite. Possono inoltre beneficiare di una ritenzione microscopica



all'osso attraverso vari trattamenti di superficie (prefabbricati, intessuti e rivestimenti agiuntivi).

### **1.3.2 Corpo implantare**

Il corpo implantare può essere suddiviso in un modulo crestale, un corpo e un apice. Ogni sezione dell'impianto è dotata di caratteristiche favorevoli per l'applicazione chirurgica o protesica.

Un corpo implantare è concepito innanzitutto per rendere più agevole la chirurgia o il carico protesico della connessione ossea implantare. Un impianto di forma cilindrica offre il vantaggio di una facilità di posizionamento anche nelle localizzazioni di difficile accesso. Per la maggior parte, gli impianti cilindrici sono a pareti lisce, mentre gli impianti a forma di proiettile, che richiedono una superficie bioattiva o aumentata, vengono rivestiti per migliorare la ritenzione nell'osso (il rivestimento degli impianti con questi materiali determina un incremento della superficie di contatto con l'osso maggiore del 30%; maggiore è l'area della superficie funzionale di contatto osso-impianto, migliore sarà il supporto per la protesi).

Il progetto del corpo implantare a vite piena è quello più comunemente presente nella letteratura. Un corpo a vite piena viene descritto come un impianto con una sezione circolare, non penetrato da fori o alcuna apertura. La filettatura può avere un disegno a V, a sperone, a sperone inverso o quadrata (filettatura forte); le viti con filettatura a V sono state usate per prime nella pratica clinica (Brånemark *et al.* 1977; Adell *et al.* 1981). Un corpo implantare a vite piena permette l'osteotomia e il posizionamento dell'impianto sia in un osso corticale denso che in un osso con una fine trabecolatura. Il corpo dell'impianto a vite piena può essere lavorato o irruvidito per aumentare l'area della superficie funzionale marginale o per trarre vantaggio dalle proprietà biochimiche correlate al rivestimento di superficie (ad esempio, fattori di crescita ossea).

Un corpo implantare filettato è concepito fondamentalmente per aumentare l'area di interfaccia osso-impianto e per diminuire gli stress alla superficie di contatto durante il carico occlusale. L'area di superficie funzionale di un impianto a vite è maggiore di quella di un impianto cilindrico, da un minimo del 30% fino ad oltre il 500%, a seconda della geometria della filettatura.

Il modulo crestale di un corpo implantare, in un sistema implantare monocomponente o in due parti, è quella porzione che deve fissare la parte protesica; rappresenta inoltre la zona di transizione dal corpo implantare alla regione transossea dell'impianto sulla cresta. L'area di connessione del pilastro presenta normalmente una piattaforma su cui viene posizionato il pilastro: questa offre resistenza fisica ai carichi assiali occlusali. Sulla piattaforma è inserita anche un sistema antirotazionale (esagono esterno), oppure questo è esteso entro il corpo dell'impianto (esagono interno, cono di Morse o vite conica, solchi interni o condotto con rilievi, e fessure per perni). Il corpo implantare ha una morfologia che permette di trasferire gli stress meccanici all'osso durante i carichi occlusali, mentre il modulo crestale spesso è disegnato per ridurre l'invasione batterica (ad esempio, più liscio per ridurre la ritenzione della placca).

Per la stabilità della connessione tra l'impianto e il pilastro è fondamentale un adattamento di alta precisione al componente antirotazionale, sia esso esterno o interno. La connessione protesica al modulo crestale avviene con un adattamento a slitta o a frizione con una giunzione testa a testa o a bisello. Tutti i connettori protesici hanno lo scopo di consentire un accoppiamento preciso dei due componenti con una tolleranza minima.

Un'altra caratteristica antirotazionale di un corpo implantare può essere data dalle pareti piatte o dai solchi lungo il corpo o la regione apicale del corpo implantare stesso. Quando l'osso cresce contro le aree piatte o solcate, i carichi rotazionali ne determinano una disposizione nella zona di compressione.

La parte terminale apicale di ogni impianto dovrebbe essere piatta, invece che appuntita. Questo permette di incorporare le caratteristiche della forma, che massimizzano i profili desiderati di resistenza, per l'intera lunghezza dell'impianto.

### **1.3.3 Titanio**

Il titanio è un metallo che presenta un basso peso, un elevato rapporto resistenza/peso, un basso modulo di elasticità, un'eccellente resistenza alla corrosione, un'ottima biocompatibilità e facili lavorabilità e lucidabilità (Lautenschlager e Monaghan, 1993). Per queste proprietà, è il materiale più largamente usato nella costruzione di impianti dentali, sotto forma di titanio commercialmente puro o come lega; la lega attualmente più utilizzata (titanio-6-alluminio-4-vanadio) è composta per il 90% da titanio, per il 6% da alluminio (diminuisce il peso specifico e migliora il modulo elastico) e per il 4% da vanadio (diminuisce la conduttività termica e aumenta la durezza) (Scarano e Piattelli 2005).

### 1.3.4 Superfici implantari

#### 1.3.4.1 Superfici tornite

Le superfici tornite sono state quelle più comunemente usate in passato; dopo la tornitura, esse venivano sottoposte solo a un processo di decontaminazione. Queste superfici vengono anche chiamate *lavorate* o *lisce*, ma l'osservazione al microscopio rivela la presenza di una lieve ruvidità, a causa dei solchi e delle creste prodotti durante il processo di tornitura: per questo motivo, l'uso del termine *liscio* dovrebbe essere evitato (Scarano e Piattelli 2005). Una delle principali caratteristiche delle superfici tornite è che su di esse è possibile osservare un'osteogenesi a distanza.

Sono state proposte modifiche per cambiare le caratteristiche della superficie da tornita a irruvidita, per migliorare la stabilizzazione dell'impianto e aumentare l'area della superficie (Kasemo 1983; Thomas *et al.* 1987; Johansson *et al.* 1998). Per preparare le superfici modificate sono stati utilizzati sia metodi additivi (ad esempio, plasma spray e rivestimento con idrossiapatite) sia metodi sottrattivi (ad esempio, sabbiatura e mordenzatura acida); il tipo ottimale di superficie è ancora da definire.

#### 1.3.4.2 Superfici sabbiate

Queste superfici modificate vengono create mediante sabbiatura del nucleo metallico con grani abrasivi. Tale processo è influenzato dal numero e dalla velocità delle rotazioni che vengono impresse all'impianto, come pure dalla pressione e dalla dimensione delle particelle usate (Wennerberg *et al.* 1996; Scarano e Piattelli 2005). La procedura di sabbiatura viene eseguita allo scopo di incrementare le irregolarità della superficie dell'impianto, usando agenti come l'ossido di alluminio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ , detto anche *allumina*) e  $\text{TiO}_2$ . Le analisi delle diverse superfici implantari hanno rivelato che i provini sabbiati mostrano la massima variabilità dell'aspetto superficiale.

In alcune ricerche è stato dimostrato che la sabbiatura consente l'adesione, la proliferazione e la differenziazione degli osteoblasti (Bowers *et al.* 1992; Schwartz *et al.* 1996). D'altro canto, è stato rilevato che i fibroblasti aderiscono con maggiore difficoltà a questa superficie; ciò potrebbe limitare la proliferazione dei tessuti molli e costituire un potenziale beneficio per la formazione ossea (Blumenthal e Cosma 1989; Abron *et al.* 2001).

#### 1.3.4.3 Superfici plasma spray

L'uso di impianti con superfici trattate con plasma spray è stato riportato nella letteratura ortopedica sin dagli anni Settanta del secolo scorso (Hahn e Palich 1970). Successivamente è stato osservato che, attorno agli impianti dentali, si formava osso senza l'interposizione di uno strato di tessuto connettivo (Schroeder *et al.* 1981). Gli impianti plasma spray vengono preparati spruzzando metallo fuso sulla base di titanio, con conseguente formazione di una superficie con depressioni, pori e fenditure di dimensioni e forma irregolari (Sammons *et al.* 2005), incrementando l'area della superficie microscopica da 6 a 10 volte. Questa topografia può migliorare la fissazione degli impianti tramite la crescita d'osso nel rivestimento, formando una connessione meccanica (Xue *et al.* 2005).

#### 1.3.4.4 Superfici con mordenzatura acida

La mordenzatura acida della base in titanio è stata prospettata per modificare la superficie implantare senza lasciare i residui che rimangono dopo la sabbiatura, per evitare un trattamento non uniforme della superficie e per controllare la perdita di sostanza metallica dal corpo dell'impianto (Scarano e Piattelli 2005). Ciò si ottiene utilizzando bagni di acido cloridrico (HCl), acido solforico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), acido fluoridrico (HF) e acido nitrico (HNO<sub>3</sub>) in varie combinazioni. La ruvidità prima della mordenzatura, la miscela di acidi, la temperatura del bagno e il tempo di mordenzatura influiscono tutti sul processo di mordenzatura.

#### 1.3.4.5 Superfici anodizzate

Il processo di ossidazione è stato usato negli impianti dentali per modificare le caratteristiche dello strato di ossido e, di conseguenza, per migliorare la biocompatibilità della superficie (Sul *et al.* 2002). Il vantaggio è di modificare la superficie senza depositare particelle di materiale da sabbiatura. Le superfici anodizzate vengono preparate applicando una tensione elettrica al campione di titanio immerso in un elettrolita. La superficie risultante presenta micropori di diametro variabile ed è senza citotossicità; inoltre, l'attacco e la proliferazione cellulare sono migliori rispetto alle superfici tornite (Zhu *et al.* 2004).

#### 1.3.4.6 Superfici con rivestimenti in idrossiapatite

I rivestimenti in idrossiapatite hanno una ruvidità e un incremento dell'area della superficie funzionale simili a quelli dei TPS (*titanium plasma spray*). Il legame diretto con l'osso che si forma con i rivestimenti di idrossiapatite e la resistenza dell'interfaccia idrossiapatite-osso è maggiore di quella titanio-osso e anche superiore a quella del TPS all'osso. Inoltre,

nei cani sono state osservate formazione e maturazione dell'osso all'interfaccia più veloci (Geesink *et al.* 1988). Una connessione iniziale con contatto osso-impianto è essenziale per la formazione predicibile di un'interfaccia (de Groot *et al.* 1987). Lo spazio tra l'impianto e l'osso può influenzare la percentuale di contatto osseo dopo la guarigione. La guarigione dello spazio può essere facilitata dai rivestimenti in idrossiapatite (Oonishi *et al.* 1989; Meffert 1999). Anche la percentuale di corrosione del metallo viene ridotta, in modo più significativo per le leghe di cromo e cobalto (Uehara *et al.* 2004).

I vantaggi clinici dei rivestimenti di TPS o idrossiapatite possono essere così riassunti:

- Aumento dell'area di superficie;
- Aumento della scabrosità per la stabilità primaria;
- Interfaccia osso-impianto più resistente.

Ulteriori vantaggi dell'idrossiapatite rispetto al TPS sono:

- Una più veloce guarigione dell'interfaccia ossea;
- Migliore guarigione dello spazio tra osso e idrossiapatite;
- Interfaccia più resistente del TPS;
- Minore corrosione del metallo.

Sebbene i rivestimenti dei corpi implantari presentino dei vantaggi, esistono anche numerosi svantaggi:

- Sfaldamento, incrinatura o esfoliazione durante l'inserzione;
- Aumentata ritenzione di placca, se posizionati al di sopra del livello osseo;
- Aumento dei batteri e ricettacolo d'infezione;
- Difficoltà nel trattamento degli impianti falliti;
- Aumento dei costi.

### **1.3.5 Zirconia**

La zirconia ( $ZrO_2$ ) è un materiale ceramico usato in implantologia per la sua biocompatibilità, per l'estetica (il colore è simile a quello dei denti naturali) e per le sue proprietà meccaniche, che sono migliori rispetto all'allumina (Piconi e Maccauro 1999). Gli impianti prodotti con  $ZrO_2$  sono biocompatibili, bioinerti e radiopachi e presentano un'alta resistenza alla corrosione, alla flessione e alla frattura.

È stato riportato che questo materiale presenta un contatto con l'osso e i tessuti molli simile a quello osservato negli impianti in titanio (Dubruille *et al.* 1999; Kohal *et al.* 2004) e può essere usato per fabbricare impianti *in toto* o come rivestimento. L'interfaccia è composta da uno strato di proteoglicani, che è più spesso del titanio (variabile da 300 a 500 Å e tra 200 e 400 Å, rispettivamente). Tuttavia, la quantità di osso formata a 1 e 6 mesi dopo il posizionamento di impianti (nei conigli) non è differente negli impianti in titanio e in zirconia (Thomsen *et al.* 1997).

I risultati ottenuti con gli impianti in ZrO<sub>2</sub> sembrano promettenti e sono necessari ulteriori studi per chiarire la risposta biologica di questi impianti, specialmente dopo lunghi periodi di tempo.

## **1.4 Tipi di connessione impianto-abutment**

### **1.4.1 Connessioni esterne**

L'esagono esterno è stato il primo sistema di connessione abutment-impianto utilizzato in implantologia; nacque con Brånemark all'inizio solo come un meccanismo di accoppiamento con funzione di guida per facilitare l'inserimento del moncone, ma in seguito assunse il ruolo di vero e proprio meccanismo antirotazionale.

Quando vengono utilizzati impianti per la riabilitazione protesica di monoedentulie o edentulie parziali dei settori posteriori, la vite di connessione abutment-impianto è soggetta a forze laterali flettenti, di inclinazione e di allungamento che possono portare alla mobilitazione o addirittura alla frattura della vite stessa. I sistemi antirotazionali, come l'esagono esterno, cercano di ridurre lo stress meccanico a cui la vite è sottoposta durante i carichi occlusali. Le case produttrici, inoltre, hanno introdotto l'uso di chiavi dinamometriche in grado di conferire alla vite di connessione un determinato torque al momento dell'avvitamento: questo accorgimento non ha risolto completamente il problema della mobilitazione della vite, ma ne ha comunque determinato una riduzione dell'incidenza.

### **1.4.2 Connessioni interne**

Tra le connessioni interne attualmente più utilizzate sono presenti le connessioni a esagono interno, a ottagono interno, coniche a vite e a cono di Morse.

Le connessioni interne hanno mostrato fin da subito una maggiore stabilità meccanica rispetto a quelle esterne, con una maggiore resistenza all'applicazione prolungata nel tempo di forze laterali.

Tra le connessioni interne merita un discorso a parte la connessione conometrica pura, la quale non prevede l'utilizzo di viti e dove l'interfaccia prevede un incastro diretto tra le superfici dell'abutment e dell'impianto. La stabilità del sistema dipende quindi dall'attrito tra le due superfici, e l'efficacia del sistema stesso è, di conseguenza, strettamente legata al materiale utilizzato, alla natura delle superfici e alla forma geometrica.

In sostanza, la connessione conometrica prevede una serie di vantaggi rispetto alle altre tipologie di connessione interna, tra i quali si evidenziano:

- Una migliore distribuzione dei carichi a tutto il sistema implantare, senza concentrarli nella vite (la quale è assente);
- Una minore penetrazione batterica nel gap abutment-impianto: considerando che le dimensioni di un batterio possono andare da 1 a 6 micron e che il gap interfacciale di questo sistema va da 1 a 3 micron, la penetrazione dei batteri attraverso l'accoppiamento dei componenti implantari diventa infatti molto difficile.

## **1.5 Attacchi protesici**

Il pilastro è la porzione dell'impianto che supporta o fissa la protesi o la sovrastruttura implantare. Una sovrastruttura è definita come un'intelaiatura metallica che si attacca al pilastro o ai pilastri implantari e fornisce ritenzione a una protesi rimovibile (Cranin 1990) o a una struttura per la protesi fissa. Sono descritte tre principali categorie di pilastri implantari, a seconda del metodo con cui la protesi o la sovrastruttura viene fissata al pilastro:

- Un pilastro per la ritenzione a vite utilizza una vite per bloccare la protesi/sovrastruttura;
- Un pilastro per la ritenzione cementata utilizza cemento dentale per ritenere la protesi/sovrastruttura;
- Un pilastro per un attacco utilizza un dispositivo di attacco per assicurare una protesi rimovibile.

Ognuno dei tre tipi di pilastro può essere ulteriormente classificato, descrivendo la relazione assiale tra il corpo implantare e il pilastro, in quanto dritto o angolato. Nella categoria

dei pilastri per cementazione, è possibile trovare pilastri a una o due parti, tipo UCLA (resina calcinabile, prefabbricato/resina calcinabile, manicotto d'oro calcinabile), a due parti estetici, a due parti anatomici, a due parti con spalla, preangolati o individualizzati con tecnica CAD. Anche i pilastri della categoria avvitata sono stati sviluppati con pilastri per overdenture a una o due parti, con differenti forme e altezze.

## **1.6 Riassorbimento osseo perimplantare**

### **1.6.1 Considerazioni generali**

Una perdita di osso crestale attorno alle porzioni transmucose degli impianti dentali è stata osservata per decenni. Essa è stata descritta nella regione crestale di impianti osteointegrati con successo, indipendentemente dagli approcci chirurgici. È compresa tra la perdita di osso marginale e un completo fallimento dell'impianto (Linkow 1974; Adell *et al.* 1981, 1986; Tonetti e Schmid 1994), e diminuisce in modo drastico dopo il primo anno.

Adell *et al.* (1981) furono i primi a rilevare e quantificare una perdita di osso marginale intorno agli impianti. Lo studio riportava anche il maggiore ingrandimento e l'incidenza di riduzione ossea durante il primo anno di carico protesico, con una media di 1,2 mm durante questo lasso temporale, con una variabilità compresa tra 0 e 3 mm. Questo studio misurava l'abbassamento dell'osso dalla prima spira alla linea base di 0 mm, e non dal livello originale di osso crestale al momento dell'inserzione, che era 1,8 mm al di sopra del riferimento preso come linea basale: quindi, la perdita reale di osso crestale osservata dopo il primo anno era mediamente di 3,3 mm. Negli anni successivi al primo si registrava una media di riduzione per anno compresa tra 0,05 e 0,13 mm.

Il riassorbimento osseo iniziale attorno a un impianto è a forma di V o di U, ed è stato definito come *escavazione* o *craterizzazione* intorno all'impianto. Esistono diverse teorie in merito alle cause che possono determinare un riassorbimento osseo perimplantare: lo stabilirsi di un'ampiezza biologica, il trauma meccanico prolungato e la colonizzazione batterica sono al momento le ipotesi più accreditate (Adell *et al.* 1981, 1986; Tonetti e Schmid 1994).

### **1.6.2 Teoria “dell'ampiezza biologica”**

Un termine usato spesso per descrivere le dimensioni del tessuto molle che circonda i denti è *ampiezza biologica* o *dimensione biologica*. Lo sviluppo del concetto di dimensione biologica trae fondamento da studi ed analisi, come quelli di Gottlieb (1921), Orban e Köhler

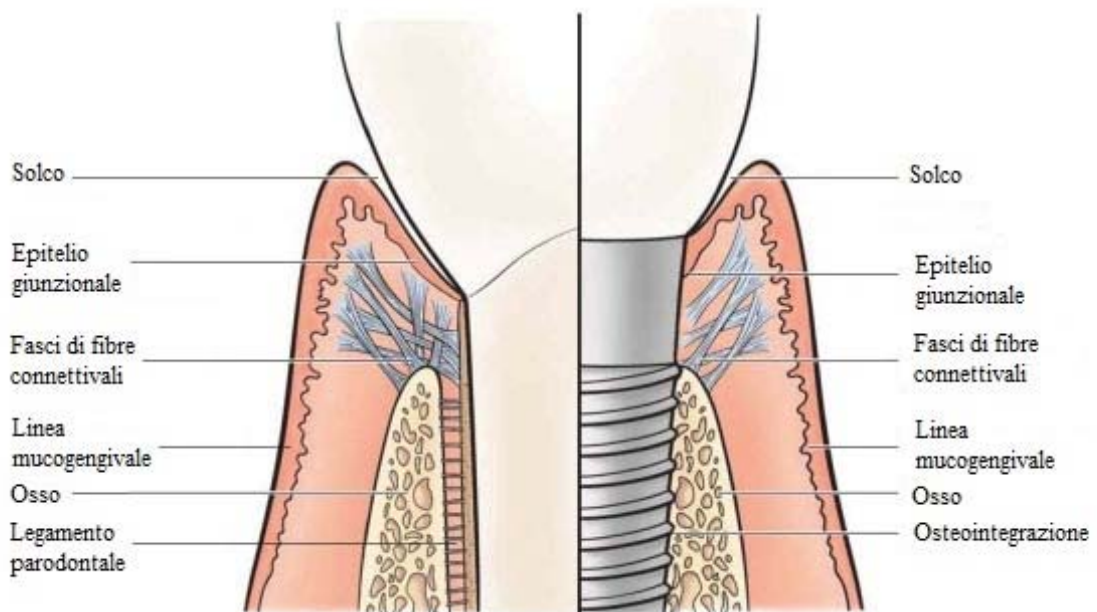


(1924) e Sicher (1959), che hanno documentato come il tessuto molle che stabilisce un contatto con i denti sia formato da due parti, una rappresentata da tessuto fibroso e l'altra dall'attacco epiteliale. In un lavoro di Gargiulo *et al.* (1961), dal titolo "Dimensioni e relazioni della giunzione dentogengivale nell'uomo", è stato osservato che la lunghezza di attacco del tessuto connettivo variava entro limiti stretti (1,06-1,08 mm), mentre quella del tessuto epiteliale era pari a circa 1,4 mm nelle sedi di parodonto normale, 0,8 in quelle con distruzione del tessuto parodontale e 0,7 mm nelle sedi con distruzione avanzata. In altre parole, la dimensione biologica dell'attacco variava da 2,5 mm, nei casi normali, a 1,8 mm, nei casi di malattia avanzata e la parte più variabile dell'attacco era rappresentata dalla lunghezza dell'attacco epiteliale (epitelio giunzionale).

L'ampiezza biologica permette alle fibre gengivali e agli emidesmosomi di stabilire un contatto diretto con il dente naturale e di agire nel solco come barriera contro i batteri per i sottostanti tessuti parodontali. Quando un margine coronale invade l'ampiezza biologica, l'osso crestale arretra per ristabilire un ambiente favorevole alle fibre gengivali (Maynard e Wilson 1979; Tarnow *et al.* 1986).

La connessione impianto-abutment può essere paragonata a un margine coronale. Berglundh *et al.* (1991) hanno osservato nei cani una perdita d'osso di 0,5 mm al di sotto della connessione impianto-pilastro entro due settimane dal momento della connessione. Lindhe *et al.* (1992) hanno riferito di un tessuto connettivo infiammatorio che si estendeva 0,5 mm al di sopra e al di sotto della connessione impianto-abutment. Wallace e Tarnow (1995) hanno stabilito che l'ampiezza biologica si verifica anche con gli impianti, e ciò può contribuire alla perdita di osso marginale.

La gengiva che circonda i denti naturali, però, non è identica alla mucosa perimplantare. Nei siti dentali, l'attacco connettivale è dato da fibre connettivali riunite in fasci; alcuni di questi fasci prendono inserzione nel cemento radicolare sopralveolare. A livello dei siti implantari, invece, le fibre connettivali non si inseriscono all'interno del corpo implantare, bensì corrono parallelamente alla superficie implantare, circondando l'impianto a guisa di anello (Hansson *et al.* 1983; Gould *et al.* 1984). Quindi, l'attacco del tessuto connettivo attorno alla connessione abutment-impianto non può essere paragonato all'attacco del tessuto connettivo di un dente (Fig. 1.4).



**Fig. 1.4** Differenze tra dente e impianto nell'attacco dei tessuti molli circostanti. Mentre nel sito dentale le fibre dell'attacco sopraalveolare si inseriscono nel cemento radicolare, a livello del sito implantare vi sono fibre equivalenti che decorrono parallelamente all'impianto, non riuscendo a fissarsi al corpo metallico.

James e Kelln (1974) furono i primi a iniziare uno studio scientifico sistematico per meglio osservare il fenomeno del suggello biologico dei tessuti molli attorno agli impianti dentali. Gli emidesmosomi aiutano a formare sull'impianto una struttura simile a una lamina basale, che può agire come sigillo biologico. Tuttavia, i componenti collagene del corpo lineare non possono aderire fisiologicamente o penetrare nel corpo implantare, come fanno a livello del cemento radicolare in un dente naturale (McKinney *et al.* 1985). Il sigillo emidesmosomico ha solo una banda circonferenziale di tessuto gengivale per fornire una protezione meccanica contro lo stiramento (Barboza *et al.* 2002). Quindi, il sigillo biologico intorno agli impianti dentali può sì prevenire la migrazione di batteri e di endotossine nell'osso sottostante, ma non è in grado di costituire un attacco epiteliale giunzionale, componente della dimensione biologica, simile a quello dei denti naturali. Sembra quindi improbabile che il riassorbimento osseo crestale sia solo il risultato del rimodellamento dei tessuti duri e molli per stabilire un'ampiezza biologica al di sotto della connessione del pilastro. All'interno di un impianto non esiste alcuna congiunzione tra zone di attacco di tessuto connettivo e componenti del corpo lineare. L'importanza, la quantità e il meccanismo di queste strutture anatomiche richiedono ulteriori studi.

L'ipotesi dell'ampiezza biologica non può spiegare del tutto i millimetri di riassorbimento osseo marginale, che sono stati facilmente osservati anche con gli impianti posizionati in un unico stadio, i quali si estendono attraverso il tessuto molle fin dalla chirurgia iniziale

del loro posizionamento e non hanno connessioni pilastro-impianto. Per esempio, gli impianti di forma piatta (a lama), gli impianti transossei, i perni, gli impianti a vite mono-componente e anche gli impianti sottoperiosteali dimostrano il fenomeno del riassorbimento osseo marginale.

Rimane da chiarire, quindi, la quantità di riassorbimento osseo dovuta all'ampiezza biologica dell'impianto, che rimane fuori dal controllo del clinico. Alcuni studi in letteratura hanno osservato che la macro- e la microgeometria dell'impianto possono influenzare le dimensioni dell'ampiezza biologica o l'entità del riassorbimento osseo crestale (Quirynen *et al.* 1992; van Steenberghe *et al.* 1994; Abrahamsson *et al.* 1996; Jung *et al.* 1996; Hoar *et al.* 1998; Wiskott *et al.* 1999; Hermann *et al.* 2000). L'osservazione della perdita ossea alla prima spira della filettatura implica che il quantitativo di riassorbimento osseo sia simile per i diversi progetti implantari. Tuttavia, la prima spira ha una distanza diversa dal margine del pilastro per i differenti progetti implantari. Un collare liscio lucidato di 4 mm al di sotto del livello osseo è stato associato ad un riassorbimento osseo maggiore rispetto a un collare liscio di 2 mm, sempre al di sotto del livello osseo. Il concetto di ampiezza biologica implantare non spiega del tutto la misura totale di perdita di osso verticale osservata. Inoltre, il riassorbimento osseo per l'ampiezza biologica avviene entro un mese, sia che l'impianto sia caricato o no, ed è correlata al progetto del modulo di cresta dell'impianto e alla posizione della connessione impianto-abutment rispetto all'osso, ma non è correlata alla densità ossea. Questa concezione non spiega perché, dopo il carico, vengano frequentemente osservate riassorbimenti ossei maggiori nell'osso tenero rispetto all'osso più denso, né si spiega la più alta percentuale di insuccesso implantare dopo il carico nell'osso di minore qualità.

### **1.6.3 Teoria del trauma meccanico**

Il riassorbimento osseo perimplantare può essere dovuto a un trauma meccanico prolungato, quale può essere quello oclusale (Misch *et al.* 2005). Il *trauma oclusale* può essere definito come un insulto all'apparato di attacco in seguito a un'eccessiva forza oclusale (Rams *et al.* 1984). Il ruolo dell'occlusione nella diminuzione di osso perimplantare è controverso: alcuni autori affermano che il riassorbimento osseo perimplantare senza il fallimento dell'impianto è associata principalmente a formazioni biologiche o a complicazioni (Lang *et al.* 2000; Heitz-Mayfield *et al.* 2004), mentre altri autori suggeriscono una correlazione tra la riduzione di osso crestale e il sovraccarico oclusale (Oh *et al.* 2002; Misch *et al.* 2005).

L'effetto di un eccessivo carico occlusale, conseguente al posizionamento di impianti in titanio e in presenza di tessuti mucosi perimplantari in salute, è stato oggetto di uno studio sperimentale sul cane (Heitz-Mayfield *et al.* 2004). Su sei cani di razza Labrador venivano inseriti, a ogni lato della mandibola, due impianti TPS (*titanium plasma sprayed*) e due impianti SLA (*sandblasted, large grit, acid etched*). In totale, venivano esaminati 45 impianti. Dopo sei mesi di guarigione, sugli impianti del lato di prova della mandibola venivano collocate corone in oro; queste corone erano a contatto sovraocclusale con i denti antagonisti, in modo da creare un carico occlusale eccessivo. Gli impianti del lato di controllo, invece, non venivano caricati. Durante tutta la sperimentazione, inoltre, veniva attuato un regime di controllo della placca. Misurazioni cliniche e radiografie standardizzate erano previste al tempo basale, nonché a 1, 3 e 8 mesi dal momento del carico. Dopo 8 mesi, tutti gli impianti erano osteointegrati, i cani venivano sacrificati e venivano effettuati gli esami istologici. La profondità di sondaggio media era di  $2,5 \pm 0,3$  mm per gli impianti non caricati e  $2,6 \pm 0,3$  mm per gli impianti caricati. Da un punto di vista radiografico, la distanza media dalla spalla dell'impianto al livello dell'osso marginale era di  $3,6 \pm 0,4$  mm nel gruppo di controllo e  $3,7 \pm 0,2$  mm nel gruppo di prova. Negli impianti caricati e non caricati non si registravano cambiamenti statisticamente significativi di alcun parametro, dal tempo basale fino a 8 mesi. La valutazione istologica mostrava un contatto medio osso mineralizzato-impianto del 73% negli impianti controllo e del 74% negli impianti di prova, senza differenze statisticamente significative tra impianti di prova e impianti controllo. In tutti i siti e tutte le superfici, sia di impianti controllo che di prova, i valori percentuali del livello di osteointegrazione (contatto osso-impianto) rispetto alla lunghezza totale dell'impianto erano, dopo 8 mesi di carico eccessivo (nei siti di prova) o di non carico (nei siti di controllo), generalmente poco al di sotto dei valori relativi all'altezza dell'osso alveolare. Inoltre, dopo 8 mesi non si riscontravano differenze statisticamente significative fra impianti eccessivamente caricati e impianti non caricati, in termini di densità ossea perimplantare, sia sull'interfaccia osso-impianto sia a distanza di 1 mm dalla superficie implantare. Poiché nessun parametro clinico, radiografico o istologico produceva differenze statisticamente significative fra impianti non caricati e impianti eccessivamente caricati, lo studio dimostrava chiaramente che, in presenza di mucose perimplantari sane, un periodo di 8 mesi di eccessivo carico occlusale su impianti in titanio non provocava una perdita di osteointegrazione o una perdita di osso marginale se confrontato con i risultati prodotti da impianti non caricati.

Negli anni precedenti allo studio appena discusso è stato invece segnalato (Isidor 1996, 1997) come, in determinate circostanze, un eccessivo carico oclusale possa portare alla perdita di osteointegrazione sull'intera lunghezza dell'impianto, con conseguente mobilità implantare. In questo studio, dopo l'estrazione dei primi molari (n=7), dei premolari (n=8) e degli incisivi (n=3), quattro scimmie ricevevano 18 impianti mandibolari autoflettanti. Usando uno splint mascellare antagonista nei contatti fortemente sovraocclusali, a otto impianti veniva applicato un carico oclusale eccessivo, principalmente in senso non assiale (laterale). Inoltre, intorno agli altri dieci impianti venivano disposte legature in cotone per aumentare la ritenzione della placca, con conseguente sviluppo di una mucosite perimplantare e, successivamente, di una perimplantite (Lindhe *et al.* 1992; Lang *et al.* 1993). Dopo 18 mesi di carico oclusale eccessivo, due degli otto impianti andavano perduti; due impianti su dieci rivelavano una parziale perdita di osteointegrazione come conseguenza della perimplantite indotta da placca; per quanto riguarda i restanti sei impianti sottoposti a carico eccessivo, due erano andati incontro a una totale perdita di osteointegrazione attraverso una capsula di tessuto connettivo formatasi lungo l'intera superficie implantare. Dal punto di vista radiografico, dopo 18 mesi di carico oclusale eccessivo i due impianti che mostravano una totale perdita di osteointegrazione e mobilità clinica presentavano radiolucenza perimplantare; tuttavia, non si riscontrava alcuna perdita di altezza dell'osso marginale. Inoltre, altri due impianti sottoposti a carico eccessivo (inseriti in una sola scimmia) non mostravano perdite di osteointegrazione di alcun genere. Al contrario, su questi impianti si osservava un aumento della densità ossea e la percentuale più elevata di area di contatto osso-impianto rispetto agli impianti restanti. La stessa scimmia non sviluppava neppure una perimplantite indotta da legature (su tre impianti). Due impianti sottoposti a carico oclusale eccessivo mostravano un ridotto contatto osso-impianto. Lo studio ha dunque dimostrato che l'eccessivo carico oclusale provoca realmente una perdita di osteointegrazione, caratterizzata da una capsula perimplantare di tessuto connettivo fibroso, in contrasto con la perdita di osso marginale verificata sugli impianti colpiti da perimplantite indotta da legature. Occorre però considerare che la struttura trabecolare dell'osso perimplantare in perdita di osteointegrazione come conseguenza dell'eccessivo carico oclusale era molto meno densa di quella, ad esempio, degli impianti soggetti a perimplantite sperimentale. In questo senso, lo studio descritto non sostiene l'ipotesi che il sovraccarico oclusale possa indurre perdite implantari: piuttosto, sostiene che la perdita di osso marginale sugli impianti sia associata alla malattia perimplantare.

Le forze applicate negli studi citati si distinguevano per essere molto intense e di breve durata. Ciò nonostante non è stato possibile misurarle. Non uno degli studi sperimentali condotti finora ha permesso di analizzare una relazione diretta fra le variazioni di sforzo e le sollecitazioni esercitate sugli impianti dentali che si manifestano durante il carico funzionale, nonché le reazioni dell'osso alveolare circostante. Tali informazioni sembrerebbero ricoprire un'importanza fondamentale nella valutazione dell'eziologia e della patogenesi della perdita implantare conseguenti al sovraccarico.

#### **1.6.4 Teoria della colonizzazione batterica**

Per studiare la capacità di risposta della mucosa perimplantare a un'esposizione prolungata alla placca, nonché controllare le lesioni infiammatorie a essa correlate, è stato sviluppato un modello sperimentale di parodontite/perimplantite sul cane (Lindhe *et al.* 1992) e sulla scimmia (Lang *et al.* 1993; Schou *et al.* 1993). Anche se il disegno sperimentale era sotto certi aspetti diverso, i risultati degli studi erano quasi identici; di conseguenza, verranno ora trattati solo gli esiti del modello sul cane.

Nel modello sul cane, venivano estratti i premolari di un lato della mandibola, inseriti gli impianti (Brånemark System<sup>®</sup>) e, dopo tre mesi, collegati i pilastri. Durante la fase di guarigione veniva attuato un rigoroso regime di controllo della placca, in modo da mantenere condizioni di salute in tutti i siti, dentali e implantari, da controllare. Ad un certo momento, sono state indotte lesioni da perimplantite e parodontite, tramite la sospensione del regime di controllo della placca e la disposizione di legature in filo di cotone intorno al colletto dei denti e al collo degli impianti; le legature erano forzate in posizione apicale rispetto ai margini del tessuto molle. Veniva quindi creata una tasca, sia tra dente e gengiva che tra impianto e mucosa perimplantare, con conseguente rapida formazione di un microbiota submarginale. Si sviluppavano inoltre lesioni di natura infiammatoria nei tessuti vicini. Gli esami radiografici, effettuati dopo sei settimane di sperimentazione, rivelavano una notevole perdita d'osso sia a livello dei denti che degli impianti. Dopo altre quattro settimane, gli animali venivano ricontrollati, venivano effettuati nuovi esami radiografici, campionati i batteri e raccolti campioni biotici dai siti dentali e implantari.

Veniva osservato come la placca che aveva formato tasche profonde fosse simile nei siti dentali e in quelli implantari, e fosse dominata da specie Gram-negative anaerobiche. Ciò è coerente con i risultati che indicano come, nell'uomo, i microbiota dentali e implantari ab-

biano molte caratteristiche in comune, ma anche che il microbiota di siti sani e malati sia molto diverso.

L'esito dell'esame istopatologico dei campioni biotici provenienti dallo studio sul cane (Lindhe *et al.* 1992) riportava l'esistenza di notevoli differenze di dimensione e di posizione nelle lesioni infiammatorie dei due siti. Mentre le lesioni nei siti parodontali erano sempre separate dall'osso alveolare da un'area di circa 1 mm di tessuto connettivo non infiammato, nella maggior parte dei casi la lesione nel tessuto perimplantare coinvolgeva gli spazi midollari dell'osso alveolare. Le lesioni da parodontite associata a placca, quindi, si limitavano al tessuto connettivo, mentre nei tessuti perimplantari le lesioni coinvolgevano anche l'osso alveolare.

Studi successivi (Marinello *et al.* 1995; Ericsson *et al.* 1996; Persson *et al.* 1996a; Gotfredsen *et al.* 2002) hanno mostrato come la mucosa perimplantare sembri avere una scarsa capacità di incapsulare le lesioni da perimplantite, le quali così hanno modo di estendersi al tessuto osseo marginale.

È stato inoltre segnalato che le lesioni da perimplantite indotte sperimentalmente tramite legature, dopo la rimozione di quest'ultime potevano progredire spontaneamente. Zitzmann *et al.* (2004) predisponavano 21 siti con perimplantite sperimentale, indotta da legature, su cinque cani di razza Labrador. Dopo il consolidamento delle lesioni, le legature venivano rimosse e i siti controllati per un successivo periodo di 12 mesi. In 16 siti si osservava la persistenza di uno stato di perimplantite aggressiva che causava una continua perdita d'osso. Nei cinque siti restanti, però, le lesioni venivano incapsulate e non avveniva una ulteriore distruzione di osso perimplantare.

Anche la tipologia di superficie implantare sembra avere una certa rilevanza nella progressione della perimplantite: in particolare, la progressione della malattia sembra più accentuata sugli impianti con superfici ruvide rispetto a quelli con superfici levigate (Berglundh *et al.* 2007).

Gli studi sull'uomo e le sperimentazioni animali hanno documentato come la formazione *de novo* di un biofilm sulla superficie implantare inneschi una risposta ospite che prevede l'instaurarsi di una lesione infiammatoria nella mucosa perimplantare (mucosite perimplantare). In prima battuta, tale lesione è posizionata nel tessuto connettivo immediatamente a lato dell'epitelio barriera ed è, per molti aspetti, analoga a quella che si forma nella gengiva quando la placca si forma sulle superfici dentali adiacenti. In costante presenza di

un biofilm submarginale, la lesione nella mucosa marginale perimplantare può espandersi occasionalmente in senso apicale, fino a coinvolgere i tessuti duri, compromettere l'osteointegrazione, causare gradi diversi di perdita d'osso marginale (perimplantite) e, infine, la perdita implantare.

## **1.7 Colonizzazione batterica delle superfici implantari**

### **1.7.1 Formazione iniziale della placca batterica sulle superfici implantari**

All'atto del suo inserimento nel cavo orale, l'impianto offre una nuova e fisicamente diversa superficie alla colonizzazione di microrganismi che potrebbero già risiedere nel cavo orale stesso, o entrarvi durante la formazione di biofilm. La colonizzazione di impianti osteointegrati è stata studiata adottando una tecnica *immunoblot* per la rilevazione di antigeni di sei specie diverse: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces naeslundii* genospecie 2 (già *Actinomyces viscosus*), *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema socranskii* e *Treponema denticola* (Koka *et al.* 1993) Campioni di placca sopra e sottogengivale venivano raccolti sui denti attigui agli impianti prima dell'esposizione implantare, nonché 14 e 28 giorni dopo l'esposizione. 14 e 28 giorni dopo la seconda fase dell'intervento venivano prelevati campioni dagli impianti. Le sei specie oggetto di prova erano presenti al tempo basale nei campioni sopragengivali di biofilm prelevato dai denti, ma in quel momento il *F. nucleatum* e il *Tr. denticola* risultavano assenti dai campioni sottogengivali. La frequenza di rilevazione sui denti di gran parte delle specie soggette a test rimaneva costante nei 28 giorni di osservazione. Il *Tr. denticola* non veniva mai rilevato nei campioni sottogengivali di placca prelevati sia sui denti, sia sugli impianti. Tutte e sei le specie erano recuperate da campioni di placca sopragengivale prelevati a livello implantare dopo 14 giorni di esposizione, mentre in quello stesso momento soltanto l'*A. naeslundii* genospecie 2 era rilevato nei campioni sottogengivali relativi agli impianti. Dopo 28 giorni di esposizione implantare, tutte le specie eccetto una (*Tr. denticola*) erano presenti nei campioni sottogengivali di placca implantare. I dati suggerivano che gli impianti nei soggetti parzialmente edentuli fossero stati colonizzati già 14 giorni dopo la loro esposizione all'ambiente orale, e che l'instaurarsi di un microbiota sottogengivale complesso si fosse verificata fin dal 28° giorno dall'esposizione.

La formazione di biofilm sulla superficie implantare è stata esaminata in soggetti parzialmente edentuli che richiedevano l'inserimento di impianti (Quirynen *et al.* 2006). I campioni venivano prelevati usando appositi coni di carta da siti dentali e implantari, a inter-



valli di 2, 4, 13 e 26 settimane dall'esposizione implantare, e poi valutati rispetto al loro contenuto di 40 specie batteriche tramite ibridazione *checkerboard* DNA-DNA. A tutti gli intervalli dello studio, specialmente quello a due settimane, sulle superfici dentali erano individuate conte elevate delle specie appartenenti ai complessi rosso e arancione. Agli intervalli successivi, le differenze tra i vari siti campionati erano meno marcate anche se, nei campioni dentali, le specie appartenenti al complesso rosso e alcune appartenenti al complesso arancione erano ancora a livelli elevati. Nel tempo si osservavano solo cambiamenti limitati dei profili microbici medi dei siti dentali. Tuttavia, nei siti implantari si constatava un aumento nelle conte di determinate specie che includevano il *F. nucleatum ss vincentii*, il *Peptostreptococcus micros*, la *Prevotella nigrescens* e il *Porphyromonas gingivalis*. È stato osservato come alcune specie che si pensava fossero “colonizzatori precoci” di denti, protesi e tessuti molli (Socransky e Haffajee 2005; Kolenbrander *et al.* 2006), per esempio lo *S. mitis* e lo *S. oralis*, comparivano sugli impianti nell'arco di due settimane e si mantenevano ai loro livelli iniziali per periodi variabili fra 2 e 26 settimane. Altre specie, quali i membri del genere *Fusobacterium*, *Pe. micros* e *P. gingivalis*, potrebbero essere rilevate agli intervalli iniziali, ma i loro livelli aumentano più lentamente nel tempo. Alcune specie che si ritenevano fungere da agenti patogeni parodontali, quali l'*Eubacterium nodatum* e il *Treponema denticola* (Haffajee *et al.* 2006), erano inizialmente presenti sugli impianti in minime quantità, con scarsa evidenza di aumenti a 6 mesi sui siti implantari clinicamente sani.

Gli studi appena discussi indicavano come la formazione precoce di biofilm sulle superfici implantari fosse simile a quella osservata sui denti naturali e su altri materiali da restauro presenti all'interno del cavo orale. Probabilmente, durante la prima fase, le proteine della saliva producono sulla superficie implantare una pellicola che fornisce i recettori per le adesine delle specie batteriche orali.

Bisogna precisare che la colonizzazione di una superficie implantare intatta può essere diversa da quella di un dente precedentemente sottoposto a pulizia. Le superfici implantari intatte sono prive di microbiota indigeno e possono quindi richiedere una iniziale colonizzazione da parte di colonizzatori precoci, allo scopo di creare i presupposti per la formazione di un biofilm complesso (Kolenbrander *et al.* 2006). È probabile che sul dente appena pulito residui un microbiota in grado di moltiplicarsi immediatamente e di fornire le superfici di adesione alle specie di colonizzazione tardiva (Li *et al.* 2004; Socransky *et al.* 2005). Lo stesso può valere anche per il periodo più lungo necessario al biofilm in via di

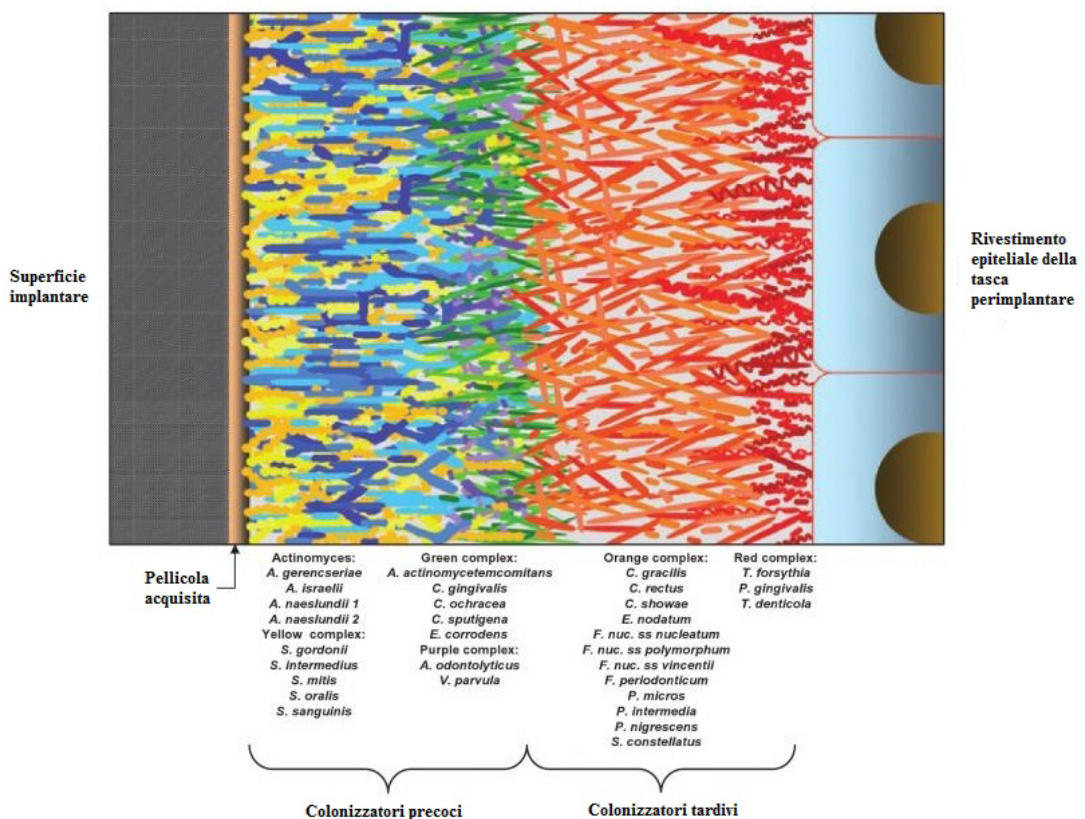
sviluppo sulle superfici implantari a raggiungere la complessità di una comunità *climax* (il climax, in ecologia, rappresenta lo stadio finale dell'evoluzione di un ecosistema in una successione ecologica).

### 1.7.2 Maturazione del biofilm implantare

Studi sulla formazione precoce della placca hanno chiaramente evidenziato la formazione di biofilm multi specie sopra- e sottogengivali su dispositivi implantari nell'arco di alcune settimane dall'esposizione alla cavità orale. Tuttavia, dati microbiologici rilevati su persone totalmente o parzialmente edentule suggerivano come la maturazione completa del biofilm implantare potesse avvenire nell'arco di mesi, o addirittura di anni. De Boever e De Boever (2006) hanno esaminato i cambiamenti microbiologici avvenuti nel tempo su 68 impianti, inseriti in 22 soggetti con storia di parodontite aggressiva in stadio avanzato. I campioni microbici sono stati raccolti a vari intervalli successivamente all'inserimento di impianti transmucosi, e trattati con sonde DNA. La frequenza di rilevazione di *P. gingivalis* e *Tannerella forsythia* a livelli maggiori di  $10^5$  aumentava dallo 0% degli impianti a un mese dall'inserimento, ai 10% e 4%, rispettivamente, al termine del follow-up durato 6 mesi.

La prova indiretta di un aumento nel tempo della complessità del biofilm è stata fornita da studi che confrontavano il microbiota su impianti esposti all'ambiente orale per periodi diversi. Gli impianti presenti nel cavo orale per tre - quattro anni erano più frequentemente colonizzati in modo significativo da *A. actinomycetemcomitans* e/o *P.gingivalis/Pr. intermedia* (44,4% dei siti) rispetto agli impianti presenti da soli uno - due anni (2,6%) (George *et al.* 1994). Il microbiota implantare nei soggetti parzialmente edentuli ospitava proporzioni maggiori di spirochete e batteri cilindrici mobili sui siti implantari con tempi maggiori di esposizione orale (Papaioannou *et al.* 1995). La sequenza di colonizzazione dei complessi microbici su impianti con tempi di carico diversi, determinata tramite ibridazione *checkerboard* DNA-DNA, era simile a quella descritta per le superfici dentali (Lee *et al.* 1999a). I livelli delle specie dei complessi giallo e verde (colonizzatori precoci) erano sostanzialmente stabili ad ogni intervallo di carico esaminato. Le specie del complesso arancione risultavano a livelli inferiori degli streptococchi e sembravano raggiungere il massimo a 12-24 mesi dal carico. Le specie del complesso rosso su impianti esposti da soli tre mesi erano o assenti, o rilevate a bassi livelli; i livelli aumentavano solamente dopo un periodo di tempo più lungo. Il *P. gingivalis* e il *T. forsythia* erano riscontrati ai loro massimi livelli tra 7 e 12 mesi dopo il carico.

Studi sulla colonizzazione precoce delle superfici implantari intatte, e sull'effetto della permanenza degli impianti sulla composizione del microbiota, ipotizzano l'esistenza, su tali superfici, di un modello e una sequenza di successione microbica molto simili a quelli descritti per le superfici dentali (Socransky e Haffajee 2005; Kolenbrander *et al.* 2006). Sulle superfici degli impianti si forma una pellicola acquisita salivare che fornisce i siti leganti per le adesine presenti sulla superficie della parete batterica dei colonizzatori precoci, quali per esempio i membri del complesso giallo (*Streptococcus* spp.) e *Actinomyces* spp. La moltiplicazione e la coaggregazione di tali colonizzatori precoci provocano un accumulo denso di batteri, fissati alla superficie implantare e/o l'un l'altro. Una seconda ondata di colonizzatori precoci aderisce ai coaggregati fissati alla superficie implantare: essi includono i membri dei complessi verdi e porpora che, a loro volta, formano i propri coaggregati. I membri del complesso arancione formano una massa non molto stabile di microrganismi sparsi tra il biofilm associato all'impianto e il biofilm associato all'epitelio, composti in gran parte da specie del complesso rosso. Le specie che partecipano ai coaggregati multipli, come i fusobatteri, fungono da ponti di coaggregazione e tra colonizzatori precoci e tardivi (Fig 1.5).



**Fig. 1.5** Rappresentazione della colonizzazione microbica che può avvenire a livello sottogengivale su una superficie implantare "intatta" esposta all'ambiente orale. (da Lindhe, J., Lang, N. P., Thorkild, K., eds. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Fifth edition.* Blackwell Publishing Ltd. 2008; con modifiche).

### 1.7.3 Colonizzatori dei siti implantari nei soggetti edentuli

I primi articoli che trattavano della colonizzazione batterica di impianti funzionanti in soggetti totalmente edentuli identificavano, utilizzando il microscopio a campo oscuro, il morfotipo principale nei batteri coccoidi, con una bassa proporzione di spirochete, fusiformi e batteri cilindrici mobili e curvi. I risultati ottenuti usando le tecniche di coltura confermano tali risultati e riportavano livelli elevati di cocchi Gram-positivi facoltativi, livelli elevati di *Actinomyces* e *Veillonella* spp., conte anaerobiche totali basse, bassi livelli di batteri cilindrici anaerobi Gram-negativi, bassa frequenza di *Fusobacterium* spp. e “*Bacteroides* a pigmentazione nera”, e nessun riscontro per il *P. gingivalis* (Mombelli *et al.* 1987, 1988; Mombelli e Mericske-Stern 1990).

È stata avanzata l'ipotesi che l'estrazione di tutti gli elementi dentali determinasse l'eliminazione del *P. gingivalis* e dell'*A. actinomycetemcomitans* dal microbiota del cavo orale (Danser *et al.* 1994, 1995, 1997). Non si riscontravano tracce di *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* nei campioni di mucosa orale e saliva prelevati 1-3 mesi dopo l'estrazione totale, neppure nei soggetti in cui gli stessi microrganismi erano stati ritrovati prima dell'estrazione dentale (Danser *et al.* 1994). È stata inoltre studiata la prevalenza di tali agenti patogeni nei soggetti portatori di dentiera con storia di parodontite e una media di 9,3 anni di edentulismo: l'*A. actinomycetemcomitans* era assente e il *P. gingivalis* era presente soltanto in campioni ottenuti dalla saliva, dalle membrane mucose orali e dal biofilm accumulato sulle dentiere di due soggetti (su 26 soggetti totali) (Danser *et al.* 1995). Queste osservazioni comportavano che l'ambiente sottogengivale fosse l'habitat primario degli agenti patogeni parodontali, e che le superfici intraorali dei soggetti edentuli non fungessero da serbatoio per tali specie. In effetti, lo stesso gruppo di ricerca non rilevava gli stessi agenti patogeni parodontali in campioni prelevati dalla mucosa orale o dalle tasche perimplantari di soggetti edentuli con storia pregressa di parodontite che avevano ricevuto impianti come parte della terapia riabilitativa della loro dentatura (Danser *et al.* 1997). I dati suggerivano come, anche dopo il ristabilimento di un ambiente “sottogengivale” tramite l'inserimento implantare, non esistesse un serbatoio intraorale delle due specie sottoposte a test destinato alla ricolonizzazione del solco perimplantare.

Pubblicazioni successive, in cui venivano usate le tecniche molecolari per identificare gli agenti patogeni parodontali nel microbiota perimplantare, indicavano una prevalenza più elevata di quanto inizialmente descritto di agenti patogeni attorno agli impianti nei soggetti totalmente edentuli (Lee *et al.* 1999b; Hultin *et al.* 2002; Quirynen *et al.* 2005; Devides e

Franco 2006). Il microbiota implantare in soggetti totalmente e parzialmente edentuli veniva esaminato tramite ibridazione *checkerboard* DNA-DNA (Lee *et al.* 1999b). Nei campioni prelevati da impianti di soggetti edentuli si rilevava la presenza dei patogeni parodontali *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans*, anche se meno frequentemente di quanto avveniva nei campioni provenienti da impianti di soggetti parzialmente edentuli. Inoltre, *P. gingivalis*, *Pr. intermedia*, *Pr. Nigrescens*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *Tr. denticola*, *Pe. micros* e *Streptococcus intermedius* erano rilevati tramite ibridazione *checkerboard* DNA-DNA in campioni sottogengivali ottenuti da impianti stabili in soggetti edentuli, anche se le conte cellulari erano inferiori a  $10^6$  (Hultin *et al.* 2002).

La prevalenza di *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *Pr. intermedia* sui siti implantari mandibolari dei soggetti totalmente edentuli è stata inoltre studiata usando la reazione a catena della polimerasi (*polymerase chain reaction*, PCR) con il fine di identificare le specie (Devides e Franco 2006). La presenza di questi agenti patogeni era valutata prima dell'inserimento degli impianti, nonché 4 e 6 mesi dopo la riabilitazione implantare con protesi fisse a carico immediato. Prima del posizionamento implantare, *A. actinomycetemcomitans* e *Pr. intermedia* venivano rilevati rispettivamente nel 13,3% e nel 46,7% dei soggetti, mentre *P. gingivalis* non risultava essere presente. I valori per queste specie a 4 e 6 mesi dall'inserimento della protesi erano rispettivamente 60,0% e 73,3%, 46,7% e 53,3%, 46,7% e 53,3% per *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *Pr. intermedia*. I dati indicavano una frequenza più elevata nella rilevazione di agenti patogeni parodontali attorno agli impianti in soggetti totalmente edentuli di quanto non fosse stato descritto in base alle tecniche di coltura e al test di agglutinazione al lattice, suggerendo inoltre una crescita nel tempo della colonizzazione dei dispositivi.

Il microbiota pre- e postimplantare sugli impianti e sul dorso linguale di soggetti totalmente edentuli è stato esaminato con il metodo dell'ibridazione *checkerboard* DNA-DNA (Lee *et al.* 1999b). I risultati dimostravano che specie quali lo *Streptococcus sanguinis*, il *A. naeslundii*, la *Capnocytophaga ochracea* e il *Campylobacter rectus* erano raramente ritrovate nei campioni perimplantari se erano assenti dal dorso linguale. Gli Autori concludevano che la lingua potesse costituire la fonte dei batteri per la colonizzazione precoce dei dispositivi implantari, suggerendo che anche altre superfici di tessuti molli potrebbero fungere da serbatoio. Il microbiota nel cavo orale di soggetti edentuli privi di impianti veniva esaminato usando l'ibridazione *checkerboard* DNA-DNA (Socransky e Haffajee 2005). Gli

agenti patogeni parodontali erano rilevati in campioni di saliva e in campioni prelevati da superfici intraorali diverse, come: superfici dorsali, laterali e ventrali della lingua; pavimento buccale; palato duro; gengiva fissa; mucosa orale; vestibolo e superfici dentali. Questi dati suggerivano che i tessuti molli dei soggetti edentuli ospitassero agenti patogeni parodontali e che fossero la probabile fonte di colonizzazione degli impianti, dopo il loro inserimento in soggetti totalmente edentuli.

#### **1.7.4 Colonizzatori dei siti implantari nei soggetti parzialmente edentuli**

La letteratura che confrontava il microbiota attorno agli impianti nei soggetti edentuli al microbiota nei soggetti parzialmente edentuli, sembrava rinforzare il ruolo della dentatura residua come fonte principale di colonizzazione degli impianti da parte dei patogeni parodontali. Le differenze microbiologiche segnalate fra i campioni prelevati da impianti in soggetti parzialmente e totalmente edentuli includevano una percentuale e una frequenza più elevate di rilevazione di “*Bacteroides pigmentati di nero*” (Nakou *et al.* 1987; Apse *et al.* 1989; Hultin *et al.* 1998), meno cellule coccoidee e quantità significativamente superiori di batteri cilindrici mobili e spirochete (Quirynen e Listgarten 1990; Papaioannou *et al.* 1995), nonché una frequenza di rilevazione più alta di *P. gingivalis* e *Pr. intermedia* sulle superfici implantari di soggetti parzialmente edentuli (George *et al.* 1994; Kalykakis *et al.* 1998).

Le indagini di confronto tra il microbiota perimplantare e il microbiota rilevato sui denti attigui descrivevano numerose somiglianze nella relativa composizione. Per esempio, le conte di morfotipi diversi non differivano significativamente nei campioni sottogengivali prelevati da impianti e da denti naturali in soggetti parzialmente edentuli (Quirynen e Listgarten 1990). La trasmissione intraorale di batteri da dente a impianto è stata studiata in pazienti parzialmente edentuli, usando la microscopia a contrasto di fase (Quirynen *et al.* 1996): i risultati indicavano che gli impianti ospitavano più spirochete e batteri cilindrici mobili se i denti erano nella stessa arcata e se le tasche attorno ai denti presentavano un microbiota patogeno.

Venivano suggeriti studi che indagassero le somiglianze nella composizione del microbiota su denti e impianti, ma non riuscirono a dimostrare che i denti fossero la fonte primaria dei microrganismi di colonizzazione dei dispositivi implantari: il ruolo potenziale delle superfici dei tessuti molli e della saliva quali serbatoi di infezione implantare non può quindi essere scartato.

### 1.7.5 Colonizzatori dei siti implantari nei soggetti con storia di parodontite

Dato che la dentatura residua è stata considerata fonte di microrganismi colonizzatori di impianti, si potrebbe supporre che, nei soggetti con storia di infezione parodontale, livelli più elevati di patogeni parodontali potrebbero colonizzare gli impianti stessi.

La colonizzazione precoce degli impianti dentali in soggetti già trattati per parodontite aggressiva è stata esaminata in 22 soggetti che seguivano un programma di mantenimento, per periodi variabili da 12 a 240 mesi (De Boever e De Boever 2006). Sessantotto impianti transmucosi sono stati campionati dal punto di vista microbiologico a 10 giorni e a 1, 3 e 6 mesi dall'inserimento implantare. Sonde DNA sono state usate per determinare i livelli di specie sottogengivali quali *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Pr. intermedia*, *T. forsythia* e *Tr. denticola*. Gli impianti erano colonizzati da tutti e cinque gli agenti patogeni fin da 10 giorni dopo l'inserimento implantare; nel tempo si osservava un aumento nella frequenza di rilevazione di gran parte degli agenti patogeni. Il numero di impianti con almeno un patogeno parodontale cresceva da 36 a 66 dopo 6 mesi di esposizione all'ambiente orale. Tuttavia, alcuni soggetti presentavano solo bassi livelli di tali agenti patogeni ( $10^3$ - $10^4$  cellule).

È stato progettato uno studio prospettico per seguire gli esiti clinici e microbiologici di impianti inseriti in soggetti con storia di parodontite aggressiva e cronica generalizzate (Mengel *et al.* 1996, 2001; Mengel e Flores-de-Jacoby 2005). Quindici individui affetti da parodontite aggressiva generalizzata (*generalized aggressive periodontitis*, GAP), 12 affetti da parodontite cronica generalizzata e 12 parodontalmente sani venivano controllati per tre anni. I campioni microbiologici erano raccolti annualmente sia a livello degli impianti sia a livello dei denti ed erano analizzati al microscopio in campo oscuro e con sonde DNA per la rilevazione di *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *Pr. intermedia*. I soggetti malati erano stati trattati in maniera intensiva da svariati anni, e ciò aveva ridotto i numeri e la complessità del microbiota di colonizzazione sulla dentatura naturale. Quindi, dopo il posizionamento implantare, il microbiota di colonizzazione degli impianti nei campioni, appartenenti alle due categorie patologiche e allo stato di salute parodontale, erano simili per composizione e dominati da cellule coccoidei per un periodo di tre anni. I risultati clinici indicavano una continua perdita di attacco sia sui denti sia sugli impianti nei soggetti con storia di GAP; tali soggetti, inoltre, esibivano la maggiore quantità di perdita di osso su denti e impianti. Un piccolo sottoinsieme di cinque soggetti affetti da GAP veniva seguito per cinque anni. Il microbiota perimplantare di questi soggetti evidenziava un chiaro au-

mento di spirochete, batteri cilindrici mobili, filamenti e fusiformi tra l'anno 4 e l'anno 5. Inoltre, i livelli di *P. gingivalis* e *Pr. intermedia* crescevano negli ultimi tre anni di osservazione. Questi cambiamenti microbiologici erano preceduti da un chiaro peggioramento nei parametri clinici implantari, fra gli anni 3 e 4. Il tasso di successo implantare per questo sottogruppo era solo dell'88,8%, confrontato con un tasso di successo a tre anni del 97,9% per l'intero campione di 15 individui.

I dati ricavati dalla letteratura, quindi, indicano che, nei soggetti affetti da parodontite, il microbiota di colonizzazione degli impianti è simile a quello osservato nei campioni prelevati dalle tasche parodontali degli stessi individui e ospita più specie patogene di quanto osservato nei soggetti totalmente o parzialmente edentuli, con malattia parodontale lieve o assente.

#### **1.7.6 Colonizzatori dei siti implantari nei siti affetti da perimplantite**

Sono state riscontrate profonde differenze nella distribuzione di morfotipi diversi nei biofilm su impianti funzionanti (n=10) in soggetti con soltanto tessuti perimplantari sani, confrontati con impianti funzionanti (siti controllo, n=6) e siti perimplantari (siti di prova, n=8) in soggetti affetti da perimplantite (Mombelli *et al.* 1987). Gli impianti stabili negli individui sani erano colonizzati soprattutto da cellule coccoidi, mentre i fusiformi e i batteri cilindrici mobili erano presenti a livelli molto bassi; le spirochete, invece, erano assenti. Spirochete e fusiformi venivano identificati in proporzioni basse nei campioni provenienti da siti implantari sani in soggetti con perimplantite. Non si riscontrava alcuna differenza significativa nei microbiota dei campioni prelevati da siti implantari sani in soggetti con o senza perimplantite. Il microbiota dei siti perimplantari presentava livelli molto più elevati di batteri cilindrici mobili, spirochete e fusiformi, mentre le cellule coccoidi rappresentavano solo il 50% del microbiota.

La distribuzione degli agenti patogeni parodontali ricavati da siti con perimplantite, nonché denti con parodontite cronica o ricorrente, è stata esaminata usando campioni microbici inviati da dentisti diversi al Laboratorio di test microbiologici dell'Università della Pennsylvania (Listgarten e Lai 1999). Quarantuno campioni prelevati consecutivamente da soggetti con impianti deteriorati, parodontite cronica o parodontite ricorrente venivano esaminati al microscopio in campo oscuro e con metodi di coltura per la rilevazione di *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus*, *Pr. intermedia/nigrescens*, *E. corrodens*, *P. micros*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium* spp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. e lie-



viti; *P. gingivalis* e *T. forsythia* erano rilevati tramite immunofluorescenza indiretta. *T. forsythia* era la specie più frequentemente identificata, trovata nell'83% dei campioni con parodontite cronica, nell'85% dei campioni con parodontite ricorrente e nel 59% dei campioni di siti perimplantari, anche se a bassi livelli (1-3% del microbiota coltivabile totale). La frequenza di rilevazione di gran parte delle specie batteriche era più elevata e presente in proporzioni maggiori nei campioni dentali, rispetto ai campioni prelevati da impianti. D'altra parte, i batteri cilindrici enterici erano più prevalenti (10% dei soggetti) e presenti in proporzioni più elevate sui campioni da impianti e da parodontite ricorrente, rispetto ai campioni da parodontite cronica. I lieviti erano maggiormente prevalenti nei campioni da parodontite cronica rispetto a quelli da perimplantite; *S. aureus* e *Staphylococcus* erano rilevati raramente.

Nella maggior parte dei casi, la letteratura sul microbiota degli impianti in siti affetti da perimplantite descrive la presenza di livelli elevati delle specie precedentemente associate alle infezioni parodontali. Inoltre, anche altri microrganismi, non comunemente implicati come agenti eziologici nelle patologie parodontali, sono stati ricavati da lesioni perimplantari, compresi gli stafilococchi, i batteri cilindrici enterici e i lieviti, benché sia prematuro stabilire una relazione causale fra tali microrganismi e le infezioni perimplantari.

### **1.7.7 Conclusioni**

Anche se la microbiologia degli impianti dentali in condizioni cliniche di salute e patologiche è stata studiata in maniera minore rispetto alla microbiologia della dentatura naturale, è possibile trarre alcune conclusioni dai dati disponibili in letteratura:

- La nuova superficie dura e non esfoliabile presentata dall'impianto all'ambiente del cavo orale fornisce una superficie di adesione a proteine salivari, peptidi e altre sostanze. Si forma quindi una pellicola che è probabilmente abbastanza simile a quella che si forma sui denti naturali;
- Questa pellicola fornisce i recettori per le adesine a specie specifiche di batteri orali, che costituiscono i colonizzatori implantari precoci. Queste specie sembrano essere molto simili a quelle della colonizzazione precoce della superficie dentale, e comprendono membri del genere *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Veillonella*;
- Per un certo numero di anni la composizione microbica del biofilm sulla superficie implantare in siti sani può essere simile a quella osservata sulle superfici dei denti parodontalmente sani nell'adolescente;

- In un arco di tempo che va da alcuni mesi ad anni, il microbiota implantare diventa più complesso: attorno all'impianto possono formarsi tasche, che danno ospitalità a numeri e proporzioni accresciuti di specie appartenenti ai complessi arancione e rosso, analogamente all'aumento di tali specie nelle tasche parodontali profonde adiacenti ai denti naturali;
- Lo sviluppo della perimplantite sembra essere in gran parte accompagnato da un aumento delle stesse specie batteriche che aumentano con la parodontite: esse comprendono patogeni parodontali quali *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans*, così come unità tassonomiche supplementari, compresi gli stafilococchi e i batteri cilindrici enterici;
- Il microbiota implantare nei soggetti parzialmente edentuli e affetti da parodontite sembra ospitare più patogeni parodontali rispetto al microbiota implantare nei soggetti parzialmente edentuli senza parodontite, e su impianti in soggetti totalmente edentuli. La presenza di queste specie sembra aumentare il rischio di perimplantite a lungo termine nei soggetti con storia di parodontite.

---

## Capitolo 2: **Materiali e Metodi**

### **2.1 Obiettivo dello studio**

Lo scopo del presente studio è quello di evidenziare un'eventuale colonizzazione batterica delle superfici interne di impianti protesizzati tramite protesi avvitata oppure tramite protesi cementata, e di analizzare in seguito le eventuali differenze.

### **2.2 Criteri di inclusione**

Lo studio è stato condotto all'Ospedale Versilia presso l'Istituto Stomatologico Toscano, diretto dal Prof. Ugo Covani.

Trenta soggetti afferenti al reparto sono stati individuati come possibili partecipanti allo studio; di questi, 16 sono risultati eleggibili. Otto soggetti sono andati a costituire il gruppo test "protesi avvitata", e i rimanenti 8 sono rientrati nel gruppo controllo "protesi cementata".

I soggetti del gruppo test rispettavano i seguenti criteri di inclusione:

- Presenza di almeno un elemento protesizzato su impianto tramite protesi avvitata;
- Impianti protesizzati da almeno 2 e non oltre i 5 anni;
- Impianti con connessione esagonale interna.

I soggetti del gruppo controllo rispettavano i seguenti criteri di inclusione:

- Presenza di almeno un elemento protesizzato su impianto tramite protesi cementata;
- Impianti protesizzati da almeno 2 e non oltre i 5 anni;
- Impianti con connessione esagonale interna.

Nella selezione dei partecipanti allo studio sono stati inoltre applicati i seguenti criteri di esclusione:

- Presenza di malattie sistemiche in grado di alterare la risposta immunitaria o di condizionare la colonizzazione batterica (diabete, sindromi di immunodeficienza, malattie infettive sistemiche);
- Presenza di parodontopatie e di perimplantiti attive;

- Presenza di grave xerostomia in grado di alterare la risposta immunitaria locale;
- Soggetti fumatori;
- Stato di gravidanza e/o allattamento.

### **2.3 Tecnica di prelievo**

Le procedure qui descritte sono state effettuate in maniera del tutto simile per ogni soggetto di entrambi i gruppi.

Un operatore (L.C.) ha proceduto alla rimozione della protesi. È stato quindi utilizzato un apposito kit (Sunstar Guidor®, Sunstar Iberia S.L.U., Sant Just Desvern, Spagna) dotato di 5 coni di carta sterili e di una provetta eppendorf anch'essa sterile. I coni di carta del primo kit sono stati inseriti all'interno del solco perimplantare dell'impianto selezionato, in cinque siti diversi (mesiale, mesio-vestibolare, mesio-distale, distale e orale); dopo 30 secondi i coni di carta sono stati rimossi e immediatamente inseriti nella provetta eppendorf.

Un secondo kit è stato aperto in modo da procedere al prelievo dall'impianto nella sua porzione interna. Dopo aver rimosso l'abutment (evitando di contaminare il sito con il sanguinamento), si è proceduto all'inserimento nel cestello dell'impianto di poche gocce di acqua pura; successivamente sono stati inseriti contemporaneamente tutti i coni di carta, i quali sono stati poi rimossi dopo 30 secondi e inseriti nella provetta eppendorf.

Un ulteriore kit è stato aperto per provvedere al prelievo dal solco gengivale dei denti prossimali all'impianto (i siti, in questo caso, venivano scelti in maniera casuale). La procedura di prelievo è stata del tutto simile a quella effettuata per il prelievo dal solco perimplantare.

In caso di presenza di più impianti, si è proceduto all'apertura di ulteriori kit per il prelievo dalle superfici implantari interne.

Le provette eppendorf contenenti i coni di carta sono state infine inviate ad un laboratorio microbiologico per l'analisi.

### **2.4 Analisi microbiologica**

Sotto una cappa a flusso laminare, in condizioni di assoluta sterilità, i campioni sono stati trasferiti in provette di polistirene da 13 ml, contenenti 3 ml di brodo tripticasi soia (TSB) (BBL, Becton Dickinson and Co., Cockeysville, MD, USA) o in alternativa 3 ml di brodo Luria-Bertani (LB). La crescita batterica è stata monitorata in una incubazione overnight sia a 30°C che a 37°C in condizioni di aerobiosi.

La crescita batterica è stata quantificata tramite due metodi. In primo luogo, è stata effettuata una lettura spettrofotometrica a 600 nm delle colture batteriche (SmartSpec™, Bio-rad). In alternativa, in una seconda serie di esperimenti i campioni sono stati trasferiti in microprovette da 2 ml, contenenti 1 ml di brodo tripticasi soia (TSB). Sono state effettuate diluizioni decimali seriali fino ad arrivare alla diluizione  $10^{-8}$ ; quindi, 100 µl delle diluizioni  $10^{-7}$  e  $10^{-8}$  sono state piastrate su agar tripticasi soia (TSA) e incubate overnight in condizioni di aerobiosi. Le colonie cresciute sulle piastre agar sono state contate e i risultati sono stati espressi come unità formanti colonia (CFU/ml).

La contaminazione batterica è stata valutata anche tramite analisi di immunofluorescenza. In breve, colture batterica in fase stazionaria di crescita ( $OD_{600} = 1,5-2$ ) sono state raccolte, lavate in tampone fosfato salino (PBS) e colorate per 3 minuti con una soluzione di 40,6-diamidino-2-fenilindolo (DAPI) 2 mg/ml. 100 µl della sospensione batterica sono stati posizionati su un vetrino portaoggetti ed esaminati tramite un microscopio Leica DMRE. Le immagini sono state raccolte tramite una camera Leica DC 250 ed elaborate tramite il software Qwin (Leica Microsystems, Milano, Italia).

Infine, per caratterizzare la quantità relativa di batteri Gram-positivi e Gram-negativi all'interno della popolazione, sono stati applicati i protocolli di colorazione Gram secondo le istruzioni del produttore (Gram Stain Kit, Sigma Diagnostic, Milano, Italia).

## **2.5 Analisi dei dati**

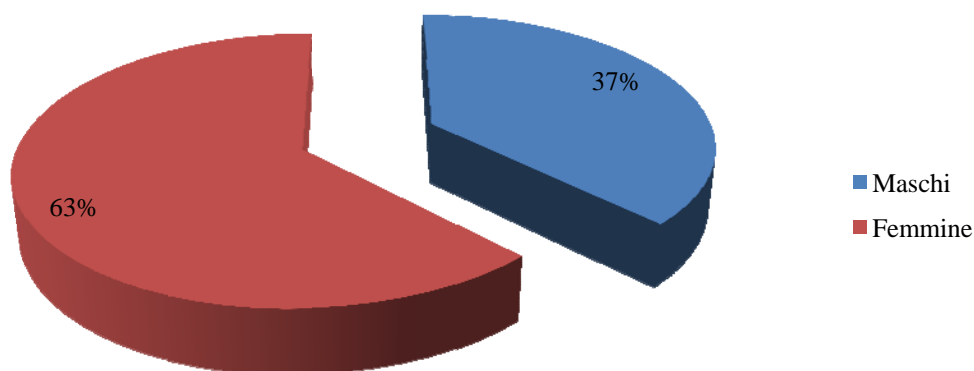
I dati raccolti sono stati trascritti su un foglio Excel, creando una cartella per il gruppo test (protesi avvitata) e una per il gruppo controllo (protesi cementata). È stata eseguita una valutazione statistica utilizzando un T-Test per dati appaiati per valutarne la significatività.

---

## Capitolo 3: Risultati

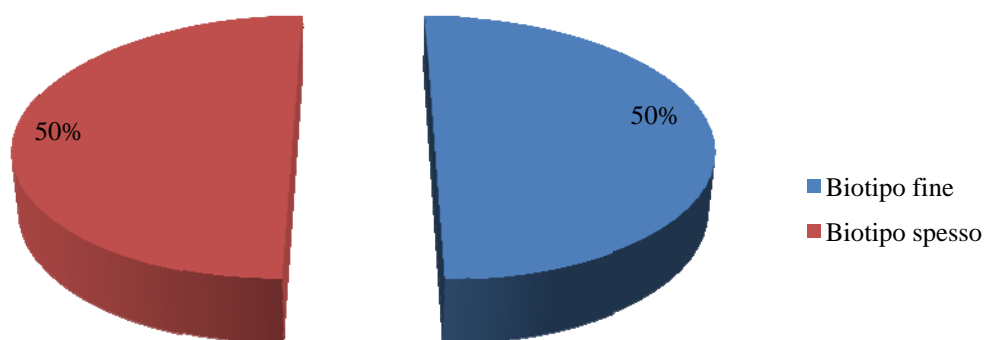
### 3.1 Gruppo Test

Nel gruppo test risultano esservi cinque femmine e tre maschi (Fig. 3.1), con un'età media di 64 anni (range: 39 – 81). Un totale di 20 impianti è stato analizzato.



*Fig. 3.1* Diagramma a torta della percentuale di maschi e di femmine nel gruppo test.

Il biotipo gengivale è risultato essere fine nel 50% dei soggetti e spesso nell'altro 50% (Fig. 3.2). L'altezza media di gengiva cheratinizzata è di 2 mm.



*Fig.3.2* Diagramma a torta della distribuzione del biotipo gengivale tra i soggetti del gruppo test.

Dall'analisi microbiologica effettuata per il gruppo test è emerso quanto segue (i valori sono da intendersi come valori medi): per l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* è stato rilevato un valore di 0 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, del solco pe-

rimplantare e del solco parodontale; per il *Porphyromonas gingivalis* è stato rilevato un valore di 409.605 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 3.397.500 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 3.741.964 CFU/ml a livello del solco parodontale; per la *Tannerella forsythia* è stato rilevato un valore di 596.434 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 459.441 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 84.471 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Treponema denticola* è stato rilevato un valore di 347.406 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 1.928.156 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 1.108.714 CFU/ml a livello del solco parodontale; per la *Prevotella intermedia* è stato rilevato un valore di 1.193.625 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 8.367.638 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 56.254.714 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Parvimonas micra* è stato rilevato un valore di 1.963.680 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 1.048.406 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 1.659.708 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Fusobacterium nucleatum* è stato rilevato un valore di 1.621.803 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 14.878.637 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 6.498.921 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Campylobacter rectus* è stato rilevato un valore di 237.539 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 7.140.300 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 960.390 CFU/ml a livello del solco parodontale; per l'*Eikenella corrodens* è stato rilevato un valore di 36.127 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 7.987.564 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 9.404.871 CFU/ml a livello del solco parodontale; per la *Candida albicans* è stato rilevato un valore di 45.000 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 65.625 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 0 CFU/ml a livello del solco parodontale.

I valori medi del gruppo test, insieme alle rispettive deviazioni standard, sono riuniti nella tabella 3.1. Le figure 3.3, 3.4 e 3.5 illustrano rispettivamente le conte microbiche medie del gruppo test rilevate a livello della superficie interna implantare, del solco perimplantare e del solco parodontale.

		<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Tannerella forsythia</i>	<i>Treponema denticola</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Superficie interna impianti</i>	<i>Media (CFU/ml)</i>	0	409.605	596.434	367.406	1.193.625
	<i>SD</i>	0,00	1.673.767,83	975.479,85	1.470.148,43	4.572.201,87
<i>Solco perimplantare</i>	<i>Media (CFU/ml)</i>	0	3.397.500	459.441	1.928.156	8.367.638
	<i>SD</i>	0,00	65.45.237,09	624.129,61	3.619.413,98	18.790.138,75
<i>Solco parodontale</i>	<i>Media (CFU/ml)</i>	0	3.741.964	84.471	1.108.714	56.254.714
	<i>SD</i>	0,00	9.192.783,82	148.389,68	2.469.206,95	105.152.662,64

		<i>Parvimonas micra</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Superficie interna impianti</i>	<i>Media (CFU/ml)</i>	1.963.680	1.621.803	237.539	36.127	45.000
	<i>SD</i>	3.688.706,76	4.886.901,15	979.757,05	131.507,99	201.246,12
<i>Solco perimplantare</i>	<i>Media (CFU/ml)</i>	1.048.406	14.878.637	7.140.300	7.987.564	65.625
	<i>SD</i>	1.622.221,53	22.725.793,35	16.775.528,28	18.707.533,32	185.615,53
<i>Solco parodontale</i>	<i>Media (CFU/ml)</i>	1.659.708	6.498.921	960.390	9.404.871	0
	<i>SD</i>	3.303.837,73	9.632.557,74	1.870.910,06	18.194.593,17	0,00

**Tab. 3.1** Conte microbiche medie e relative deviazioni standard del gruppo test.



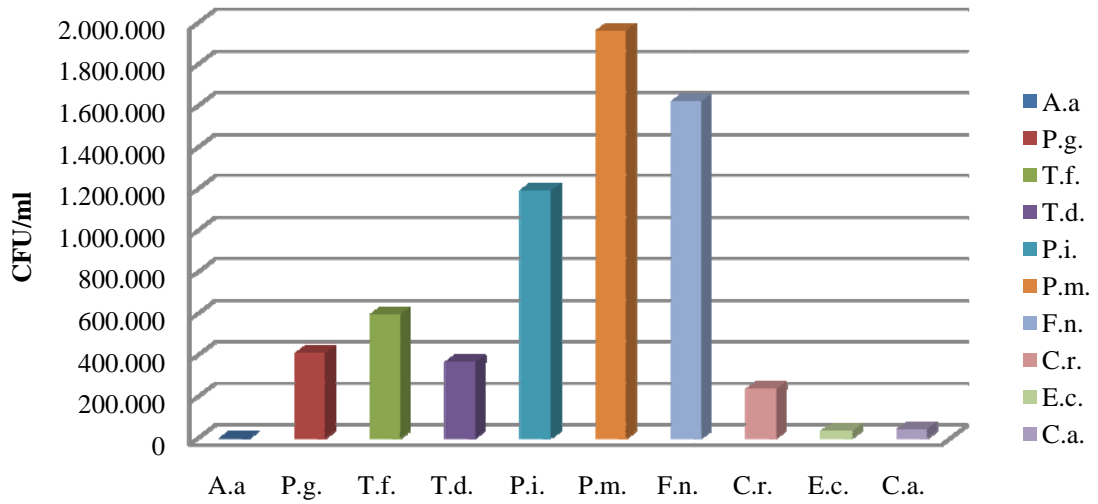


Fig. 3.3 Istogramma della conta microbica media rilevata a livello della superficie interna implantare (gruppo test).

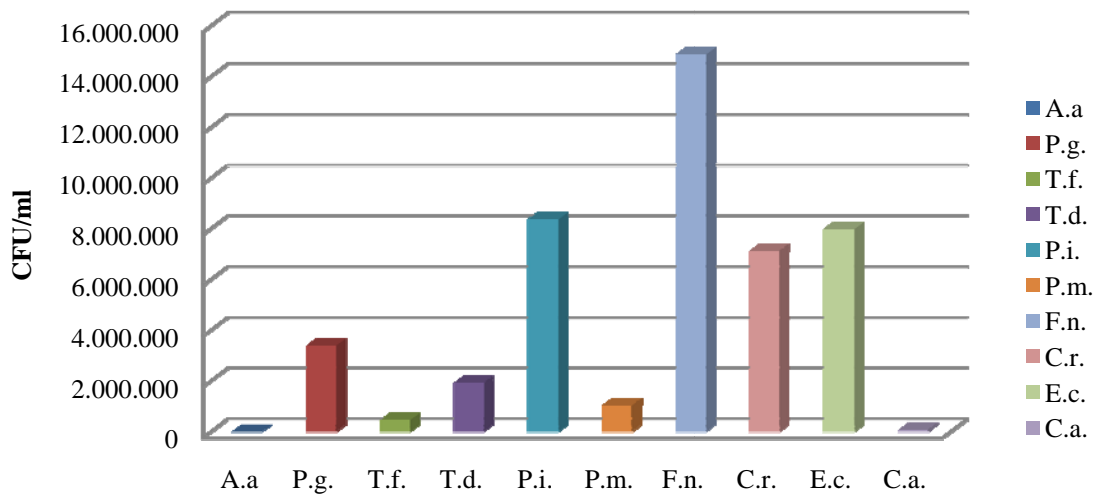


Fig. 3.4 Istogramma della conta microbica media rilevata a livello del solco perimplantare (gruppo test).

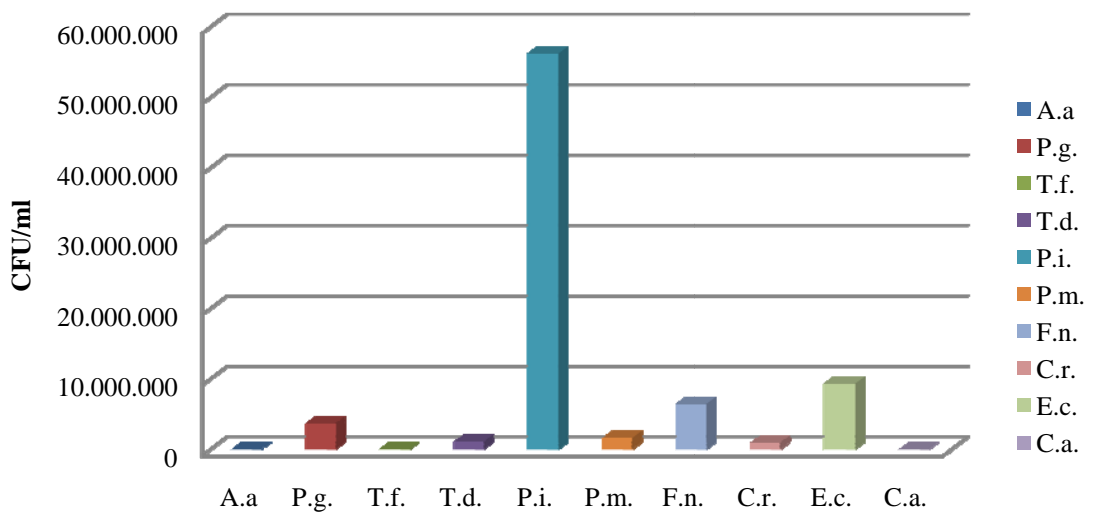


Fig. 3.5 Istogramma della conta microbica media rilevata a livello del solco parodontale (gruppo test).

### 3.2 Gruppo Controllo

Nel gruppo controllo risultano esservi tre femmine e cinque maschi (Fig. 3.6), con un'età media di 65 anni (range: 57 – 74). Un totale di 20 impianti è stato analizzato.

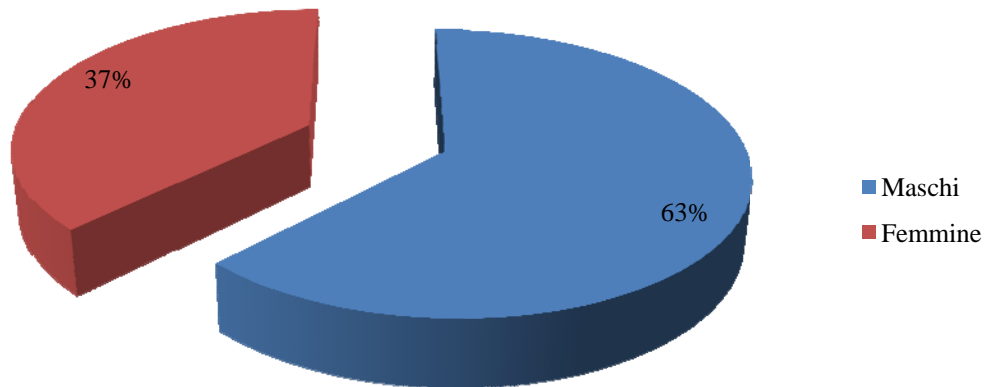


Fig. 3.6 Diagramma a torta della percentuale di maschi e di femmine nel gruppo controllo.

Il biotipo gengivale è risultato essere fine nel 50% dei soggetti e spesso nel restante 50% (Fig. 3.7). L'altezza media di gengiva cheratinizzata è di 2 mm.

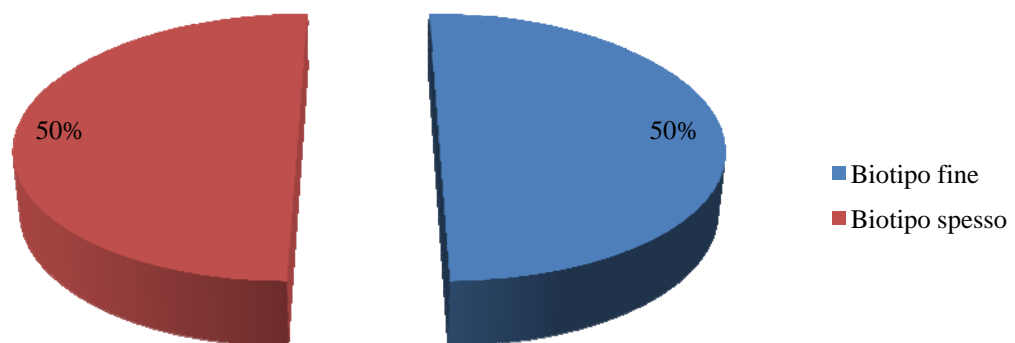


Fig. 3.7 Diagramma a torta della distribuzione del biotipo gengivale tra i soggetti del gruppo controllo.

Dall'analisi microbiologica effettuata per il gruppo controllo è emerso quanto segue (i valori sono da intendersi come valori medi): per l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* è stato rilevato un valore di 0 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, del solco perimplantare e del solco parodontale; per il *Porphyromonas gingivalis* è stato rilevato un valore di 778.204 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 10.269.250

CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 956.625 CFU/ml a livello del solco parodontale; per la *Tannerella forsythia* è stato rilevato un valore di 1.238.966 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 3.305.808 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 647.625 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Treponema denticola* è stato rilevato un valore di 22.868 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 1.658.600 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 6.581 CFU/ml a livello del solco parodontale; per la *Prevotella intermedia* è stato rilevato un valore di 94.575 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 1.718.417 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 3.677.813 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Parvimonas micra* è stato rilevato un valore di 4.301.682 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 1.519.243 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 402.587 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Fusobacterium nucleatum* è stato rilevato un valore di 856.881 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 8.068.758 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 3.651.563 CFU/ml a livello del solco parodontale; per il *Campylobacter rectus* è stato rilevato un valore di 100.395 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 2.574.917 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 263.400 CFU/ml a livello del solco parodontale; per l'*Eikenella corrodens* è stato rilevato un valore di 277.866 CFU/ml a livello della superficie interna implantare, di 2.111.700 CFU/ml a livello del solco perimplantare e di 2.015.438 CFU/ml a livello del solco parodontale; per la *Candida albicans* è stato rilevato un valore di 4.950 CFU/ml a livello della superficie interna implantare e di 0 CFU/ml a livello del solco perimplantare e del solco parodontale.

I valori medi del gruppo controllo, insieme alle rispettive deviazioni standard, sono riuniti nella tabella 3.2. Le figure 3.8, 3.9 e 3.10 illustrano rispettivamente le conte microbiche medie del gruppo controllo rilevate a livello della superficie interna implantare, del solco perimplantare e del solco parodontale.

	Aggregatibacter actinomycetemcomitans		Porphyromonas gingivalis		Tannerella forsythia		Treponema denticola		Prevotella intermedia	
Superficie interna impianti	Media (CFU/ml)	0	778.204	1.238.966	22.868	94.575				
	SD	0,00	2.098.631,21	3.839.145,63	48.115,26	266.338,54				
Solco perimplantare	Media (CFU/ml)	0	10.269.250	3.305.808	1.658.600	1.718.417				
	SD	0,00	21.263.142,54	5.751.571,78	4.669.754,87	2.270.994,23				
Solco parodontale	Media (CFU/ml)	0	956.625	647.625	6.581	3.677.813				
	SD	0,00	2.644.464,78	1.719.171,35	12.271,27	9.214.814,88				

	Parvimonas micra		Fusobacterium nucleatum		Campylobacter rectus		Eikenella corrodens		Candida albicans	
Superficie interna impianti	Media (CFU/ml)	4.301.682	856.881	100.395	277.866	4.950				
	SD	12.760.422,71	1.876.752,22	207.594,35	913.737,24	22.137,07				
Solco perimplantare	Media (CFU/ml)	1.519.243	8.068.758	2.574.917	2.111.700	0				
	SD	2.464.019,81	11.203.491,05	6.571.369,48	4.059.681,77	0,00				
Solco parodontale	Media (CFU/ml)	402.587	3.651.563	263.400	2.015.438	0				
	SD	798.361,88	9.530.559,13	489.472,96	3.303.137,91	0,00				

Tab. 3.2 Conte microbiche medie e relative deviazioni standard del gruppo controllo.

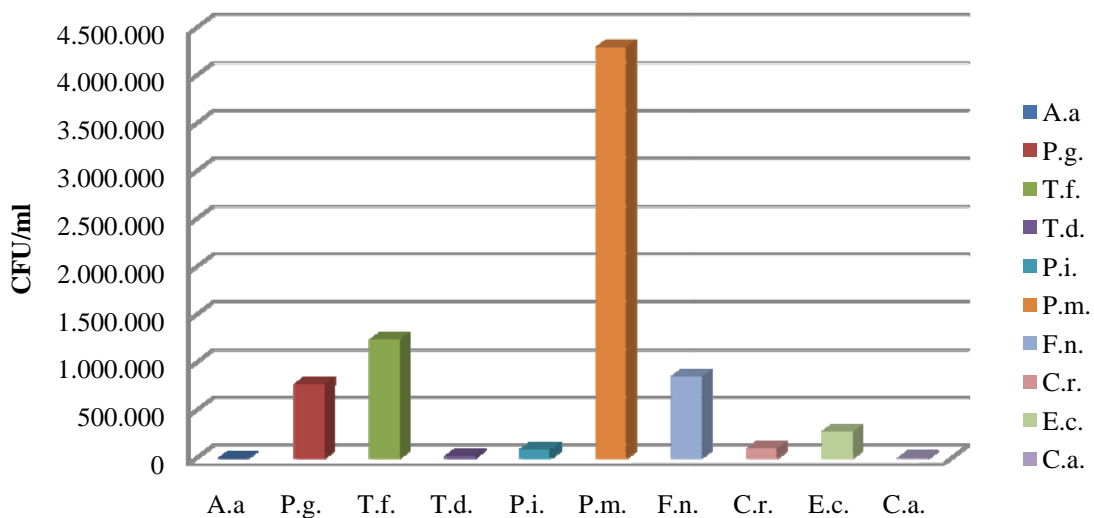


Fig. 3.8 Istogramma della conta microbica media rilevata a livello della superficie interna implantare (gruppo controllo).

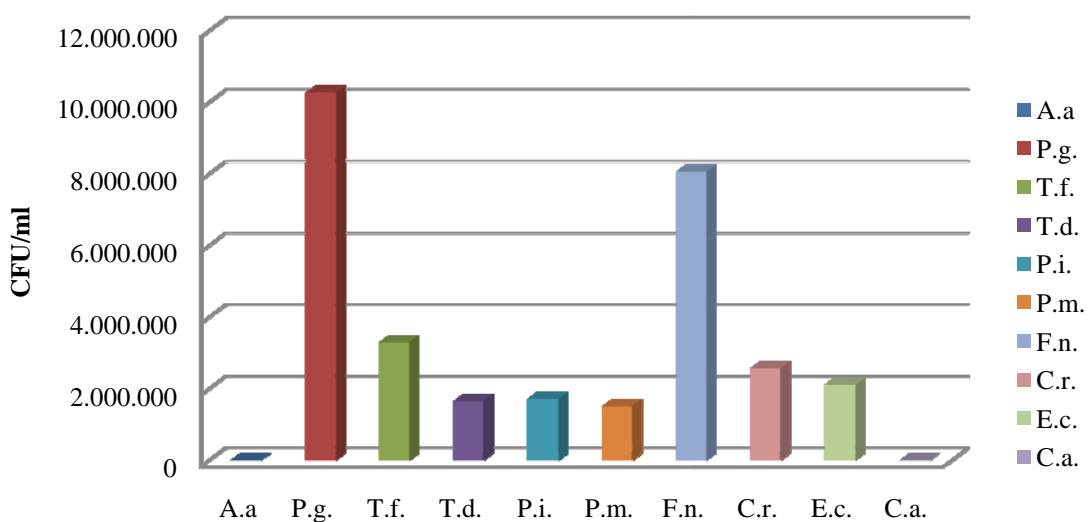


Fig. 3.9 Istogramma della conta microbica media rilevata a livello del solco perimplantare (gruppo controllo).

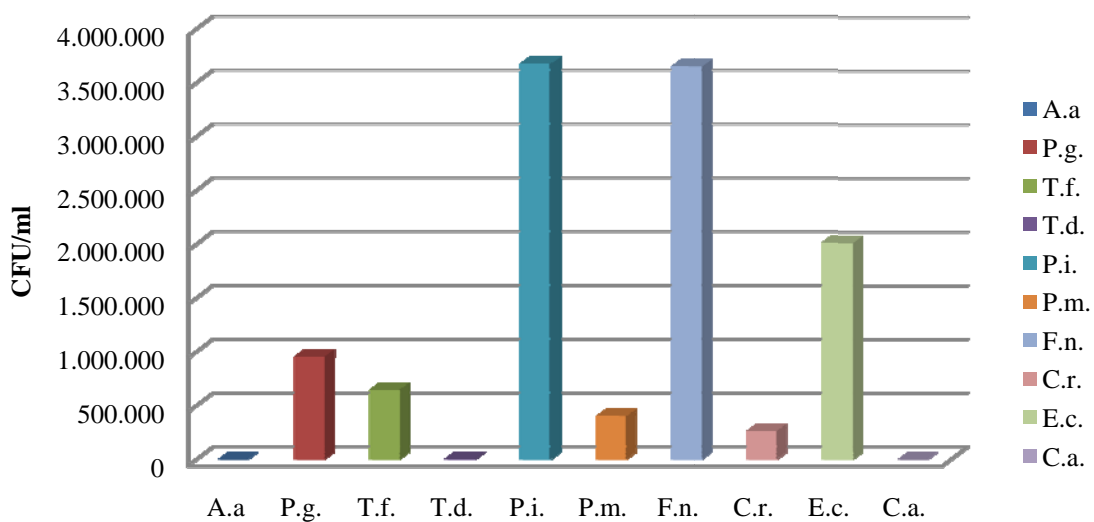


Fig. 3.10 Istogramma della conta microbica media rilevata a livello del solco parodontale (gruppo controllo).

La valutazione statistica è stata effettuata utilizzando solamente i valori riferiti alle superfici implantari interne: le analisi microbiologiche effettuate sul solco perimplantare e sul solco parodontale sono servite come ulteriore controllo per uno dei criteri di esclusione (“presenza di parodontopatie e di perimplantiti attive”).

---

## Capitolo 4: **Discussione**

La connessione tra impianti e abutment nei sistemi implantari bicomponenti sembra essere un punto cruciale per il successo implantare. Essenzialmente, al di là di possibili considerazioni da un punto di vista meccanico, la presenza di uno spazio seppur microscopico tra queste due parti potrebbe consentire una proliferazione batterica con conseguente infiammazione e, in ultima analisi, perimplantite e perdita di osso perimplantare (Adell *et al.* 1986; Quirynen e van Steenberghe 1993; Broggin *et al.* 2003, 2006; Steinebrunner *et al.* 2005; Covani *et al.* 2006).

Il problema della presenza di un micro-gap tra impianto e abutment è sia di tipo biologico sia di tipo meccanico. Il problema biologico, come detto precedentemente, è dovuto alla presenza di batteri che, *in vivo*, potrebbero andare a costituire una riserva batterica che potrebbe interferire negativamente con la salute a lungo periodo dei tessuti perimplantari e con la sopravvivenza dell'impianto stesso nel tempo (Scarano *et al.* 2005). Il problema meccanico, invece, è dovuto ai micromovimenti e al possibile svitamento o frattura della vite di connessione, nel caso di impianti con connessione avvitata (Scarano *et al.* 2005).

La potenziale colonizzazione batterica del micro-gap è probabilmente correlata a condizioni multifattoriali, come ad esempio la precisione di combaciamento tra le componenti implantari, il torque utilizzato per connettere le varie componenti e il carico applicato agli impianti una volta funzionalizzati (Tesmer *et al.* 2009). Ad esempio, forze occlusali trasversali agenti sul restauro protesico durante i movimenti di masticazione possono determinare fenomeni di flessione o micromovimenti all'interno del sistema implantare, aumentando così le dimensioni del micro-gap e inducendo un effetto pompa agente tra l'ambiente interno all'impianto e i tessuti perimplantari circostanti (Steinebrunner *et al.* 2005).

I microrganismi, quindi, possono crescere all'interno di questo micro-gap presente a livello dell'interfaccia abutment-impianto (Quirynen *et al.* 1994) e andare a costituire una riserva batterica. Callan *et al.* (2005) hanno studiato *in vivo* la colonizzazione batterica a livello del micro-gap utilizzando sonde a DNA; gli autori hanno rilevato livelli da moderati ad elevati di otto diversi patogeni parodontali putativi, compresi l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e il *Porphyromonas gingivalis*. Questi risultati concordano con i risultati di altri studi (van Winkelhoff *et al.* 2000; Quirynen *et al.* 2006), indicanti un trasferimento di

microrganismi dagli elementi dentari rimanenti agli impianti. Diversi studi *in vitro* hanno inoltre mostrato la presenza di una via di comunicazione bidirezionale tra le superfici interne implantari e l'ambiente esterno, percorsa sia da fluidi che da microrganismi (Persson *et al.* 1996b; Jansen *et al.* 1997; Dibart *et al.* 2005; Steinebrunner *et al.* 2005; Coelho *et al.* 2008; Aloise *et al.* 2010; Koutouzis *et al.* 2011).

La colonizzazione batterica può determinare un processo infiammatorio nei tessuti perimplantari a livello della cresta alveolare, e questa infezione batterica può interferire con il processo di osteointegrazione durante la fase di guarigione successiva all'intervento di posizionamento implantare. Broggin *et al.* (2006) hanno dimostrato la presenza di un aumentato numero di cellule infiammatorie nei tessuti molli perimplantari a livello della giunzione impianto-abutement o leggermente più coronale. Nei tessuti molli perimplantari circondanti gli impianti bicomponenti, un considerevole infiltrato cellulare infiammatorio era concentrato a un livello immediatamente coronale rispetto al micro-gap, con il picco di densità cellulare rilevato a 0,5 mm di distanza dalla giunzione abutment-impianto, in direzione coronale. Di contro, cellule infiammatorie sparse erano presenti nei tessuti molli adiacenti gli impianti monocomponente, con nessun picco di densità di cellule infiammatorie rilevante.

In uno studio istologico retrospettivo su scimmie è stata osservata l'assenza di infiltrato infiammatorio nei casi in cui gli impianti erano stati inseriti con il micro-gap coronale rispetto al livello della cresta ossea. Al contrario, molte cellule infiammatorie erano presenti nell'area della connessione impianto-abutment e all'interno del micro-gap, insieme a molti osteoclasti, in impianti che erano stati posizionati a livello della cresta alveolare o in posizione più apicale (Piattelli *et al.* 2003).

L'utilizzo di sistemi implantari monocomponente, in cui è assente il micro-gap, è stato associato con un riassorbimento osseo precoce di entità minime (Hermann *et al.* 1997). Questo risultato è coerente con gli esiti favorevoli a 8 anni in pazienti con sistemi implantari monocomponente riportati da Buser *et al.* (1997), e suggerisce il potenziale impatto del micro-gap tra abutment e impianto sul successo della terapia implantare.

Sono disponibili limitate informazioni riguardanti eventuali differenze nella penetrazione batterica del micro-gap di impianti con differenti sistemi di connessione abutment-impianto (Tesmer *et al.* 2009). La letteratura, inoltre, offre a riguardo pochissimi studi condotti *in vivo* (Quirynen e van Steenberghe 1993; Cosyn *et al.* 2011); la grande maggio-



ranza dei dati in nostro possesso deriva da studi *in vitro*. In uno di questi studi, Piattelli *et al.* (2001) hanno rilevato la mancanza di penetrazione di fluidi e batteri all'interno di impianti in cui l'abutment era stato cementato: tramite analisi al microscopio elettronico a scansione, è stata osservata l'assenza del micro-gap in questi impianti. Assenza *et al.* (2012) hanno invece analizzato la differente penetrazione batterica in tre diverse tipologie di connessione abutment-impianto: connessione cementata, conometrica e avvitata. Gli autori hanno rilevato una completa ermeticità negli impianti con connessione cementata, una permeabilità molto bassa negli impianti con connessione conometrica e un'alta prevalenza di batteri all'interno degli impianti con connessione avvitata.

Coelho *et al.* (2008), in uno studio *in vitro* sulla diffusione di fluidi attraverso il micro-gap implantare, hanno rilevato, dopo 144 ore di incubazione, un rilascio di fluido da tutti gli impianti con connessione avvitata analizzati.

Tesmer *et al.* (2009), comparando impianti con connessione conica interna abutment-impianto e impianti con connessione avvitata, hanno osservato che solo il 30% degli impianti con connessione conica mostrava una infiltrazione batterica, mentre gli impianti con connessione avvitata mostravano infiltrazione batterica tra il 90% e il 100% dei casi dopo solo cinque giorni.

## **4.1 Conclusioni**

I dati ottenuti dall'analisi microbiologica rivelano la presenza di batteri all'interno degli impianti di entrambi i gruppi.

Le differenze tra il gruppo test e il gruppo controllo sono state statisticamente analizzate utilizzando un T-Test per dati appaiati. Le differenze venivano ritenute statisticamente significative con  $p < 0,05$ .

La media totale del gruppo test (protesi avvitata;  $N = 200$ ) è risultata essere 647.121,99 CFU/ml, con una deviazione standard pari a 2.585.246,88. La media totale del gruppo controllo (protesi cementata;  $N = 200$ ) è risultata essere 767.638,69 CFU/ml, con una deviazione standard pari a 4.400.854,08.

Il valore di  $p$  è risultato essere maggiore di 0,05 ( $p = 0,7418$ ), per cui la differenza tra i due gruppi non è da considerarsi statisticamente significativa. Ciò entra in contrasto con i dati provenienti da alcuni studi, i quali mostrano come una connessione di tipo cementato (sebbene tra abutment e impianto) determini la completa chiusura di eventuali micro-gap (Piat-

telli *et al.* 2001) e in definitiva una completa ermeticità del sistema rispetto all'ambiente esterno (Assenza *et al.* 2012), impedendo quindi la colonizzazione batterica delle superfici implantari interne.

La letteratura riguardante la colonizzazione batterica delle superfici interne implantari non offre molti studi di riferimento, e i pochi presenti prendono in considerazione esclusivamente il tipo di connessione tra abutment e impianto (Piattelli *et al.* 2001; Coelho *et al.* 2008; Tesmer *et al.* 2009; Cosyn *et al.* 2011; Assenza *et al.* 2012) mentre non viene considerata la tipologia di connessione tra il manufatto protesico e il sistema implantare.

Bisogna inoltre considerare che, come detto in precedenza, la maggior parte di questi studi sono stati condotti *in vitro*. È possibile che nelle condizioni ambientali e di stress meccanico a cui sono sottoposti per anni il sistema implantare e la protesi *in vivo*, il sigillo ermetico fornito dal cemento utilizzato per fissare la protesi possa venir meno: si verrebbe quindi a creare un micro-gap tra protesi e abutment, e a questo punto il tipo di connessione tra impianto e abutment diventerebbe il fattore cruciale per la colonizzazione della superficie interna implantare. La valutazione del grado di ermeticità fornito nel tempo dal cemento utilizzato per fissare la protesi potrebbe essere oggetto di uno studio futuro.

Quanto appena detto per la protesi cementata potrebbe valere, a maggior ragione, anche per la protesi di tipo avvitato: diversi studi dimostrano che la connessione impianto-abutment di tipo avvitato presenta un micro-gap (Coelho *et al.* 2008; Assenza *et al.* 2012) e che questo, a seguito di stress meccanici, può anche aumentare di dimensione (Koutouzis *et al.* 2011). Gli stessi stress meccanici appena citati possono causare uno svitamento della vite di ritenzione della protesi, e anche in questo caso la connessione impianto-abutment diventerebbe la concausa per la colonizzazione della superficie interna implantare.

È necessario però sottolineare un limite di questo studio, ovvero la numerosità del campione della popolazione preso in esame. Per ottenere dei risultati con una valenza statisticamente accettabile sarebbe stato necessario arruolare un numero molto maggiore di soggetti.

Alcuni interessanti studi (Rimondini *et al.* 2001, Groenendijk *et al.* 2004; Paolantonio *et al.* 2008; D'Ercole *et al.* 2009) si sono focalizzati sulla decontaminazione delle superfici interne implantari di impianti a due componenti. Paolantonio *et al.* (2008) hanno rilevato che l'applicazione di un gel all'1% di clorexidina nei compartimenti interni della fixture, precedente all'avvitamento dell'abutment, potrebbe essere un metodo efficace per ridurre la colonizzazione batterica in un periodo di sei mesi. Gli autori hanno riportato risultati re-

lativi ad impianti con connessione esagonale esterna, che in precedenza aveva mostrato contaminazione batterica a livello del micro-gap (Quirynen e van Steenberghe, 1993; Quirynen *et al.* 1994). Inoltre, Groenendijk *et al.* (2004) hanno osservato che la decontaminazione delle superfici interne implantari con una soluzione di clorexidina allo 0,2% porta ad una riduzione dell'indice gengivale e del flusso di fluido crevicolare rispetto al gruppo controllo trattato con soluzione salina.

In conclusione, la letteratura fin qui prodotta ha sì analizzato il ruolo della tipologia di connessione abutment-impianto nella colonizzazione batterica delle superfici interne implantari, ma solamente nel breve periodo, e nella maggior parte dei casi si tratta di studi condotti *in vitro*: mancano dati relativi ad un lungo periodo di osservazione, e soprattutto sono praticamente assenti i dati derivanti da studi *in vivo*. Inoltre, sono necessari ulteriori studi per meglio comprendere il ruolo della tipologia di connessione tra protesi e sistema implantare nella colonizzazione batterica delle superfici interne implantari. I dati derivanti dagli studi sulla decontaminazione interna degli impianti sembrerebbero promettenti, ma anche in questo caso sono necessari ulteriori studi.

---

## Bibliografia

Abrahamsson, I., Berglundh, T., Wennström, J., & Lindhe, J. (1996). The peri-implant hard and soft tissue characteristics at different implant systems. A comparative study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*. **7**, 212-219.

Abron, A., Hopfensperger, M., Thompson, J., & Cooper, L. F. (2001). Evaluation of a predictive model for implant surface topography effects on early osseointegration in the rat tibia model. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **1**, 40-46.

Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B., & Brånemark, P. I. (1981). A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *International Journal of Oral Surgery*. **6**, 387-416.

Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B., Brånemark, P. I., Lindhe, J., Eriksson, B., *et al.* (1986). Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (I). A 3-year longitudinal prospective study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. **15**, 39-52.

Adriaens, P. A., De Boever, J. A., & Loesche, W. J. (1988). Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *Journal of Periodontology*. **59**, 222-230.

Albrektsson, T., & Isidor, F. (1994). Consensus report: Implant therapy. In N. P. Lang, & T. Karring, *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology* (p. 365-369). Berlin: Quintessence.

Aloise, J. P., Curcio, R., Laporta, M. Z., Rossi, L., da Silva, A. M., & Rapoport, A. (2010). Microbial leakage through the implant-abutment interface of Morse taper implants in vitro. *Clinical Oral Implants Research*. **21**, 328-335.

Apse, P., Ellen, R. P., Overall, C. M., & Zarb, G. A. (1989). Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *Journal of Periodontal Research*. **24**, 96-105.

Assenza, B., Tripodi, D., Scarano, A., Perrotti, V., Piattelli, A., Iezzi, G., *et al.* (2012). Bacterial leakage in implants with different implant-abutment connections: an in vitro study. *Journal of Periodontology*. **83**, 491-497.

- Barboza, E. P., Caúla, A. L., & Carvalho, W. R. (2002). Crestal bone loss around submerged and exposed unloaded dental implants: a radiographic and microbiological descriptive study. *Implant Dentistry*. **11**, 162-169.
- Berglundh, T., Gotfredsen, K., Zitzmann, N., Lang, N. P., & Lindhe, J. (2007). Spontaneous progression of ligature induced periimplantitis at implants with different surface roughness. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*. **18**, 655-661.
- Berglundh, T., Lindhe, J., Ericsson, I., Marinello, C. P., Liljenberg, B., & Thomsen, P. (1991). The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical Oral Implants Research*. **2**, 81-90.
- Berglundh, T., Persson, L., & Klinge, B. (2002). A systematic review on the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *Proceedings from the 4th European Workshop on Periodontology. Journal of Clinical Periodontology*. **29**, 197-212.
- Blumenthal, N. C., & Cosma, V. (1989). Inhibition of apatite formation by titanium and vanadium ions. *Journal of Biomedical Materials Research*. (A1 Suppl), 13-22.
- Bowen, W. H. (1976). Nature of plaque. *Oral Sciences Reviews*. **9**, 3-21.
- Bowers, K. T., Keller, J. C., Randolph, B. A., Wick, D. G., & Michaels, C. M. (1992). Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **3**, 302-310.
- Brägger, U., Aeschlimann, S., Bürgin, W., Hämmerle, C., & Lang, N. P. (2001). Biological and technical complications and failures with fixed partial dentures (FPD) on implants and teeth after four to five years of function. *Clinical Oral Implants Research*. **12**, 26-34.
- Brånemark, P. I., Hansson, B. O., Adell, R., Breine, U., Lindström, J., Hallén, O., *et al.* (1977). Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery. Supplementum*. **16**, 1-132.
- Brecx, M., Theilade, J., & Attström, R. (1980). Influence of optimal and excluded oral hygiene on early formation of dental plaque on plastic films. A quantitative and descriptive light and electron microscopic study. *Journal of Clinical Periodontology*. **7**, 361-373.
- Brecx, M., Theilade, J., & Attström, R. (1981). Ultrastructural estimation of the effect of sucrose and glucose rinses on dental plaque formed on plastic films. *Scandinavian Journal of Dental Research*. **89**, 157-164.

- Broggini, N., McManus, L. M., Hermann, J. S., Medina, R. U., Oates, T. W., Schenk, R. K., *et al.* (2003). Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *Journal of Dental Research*. **82**, 232-237.
- Broggini, N., McManus, L. M., Hermann, J. S., Medina, R., Schenk, R. K., & Buser, D. (2006). Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *Journal of Dental Research*. **85**, 473-478.
- Buser, D., Mericske-Stern, R., Bernard, J. P., Behneke, A., Behneke, N., Hirt, H. P., *et al.* (1997). Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clinical Oral Implants Research*. **8**, 161-172.
- Callan, D. P., Cobb, C. M., & Williams, K. B. (2005). DNA probe identification of bacteria colonizing internal surfaces of the implant-abutment interface: a preliminary study. *Journal of Periodontology*. **76**, 115-120.
- Coelho, P. G., Sudack, P., Suzuki, M., Kurtz, K. S., Romanos, G. E., & Silva, N. R. (2008). In vitro evaluation of the implant-abutment connection sealing capability of different implant systems. *Journal of Oral Rehabilitation*. **35**, 917-924.
- Cosyn, J., Van Aelst, L., Collaert, B., Persson, G. R., & De Bruyn, H. (2011). The peri-implant sulcus compared with internal implant and suprastructure components: a microbiological analysis. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. **13**, 286-295.
- Covani, U., Marconcini, S., Crespi, R., & Barone, A. (2006). Bacterial plaque colonization around dental implant surfaces. *Implant Dentistry*. **15**, 298-304.
- Cranin, A. N. (1990). Glossary of implant terms. *Journal of Oral Implantology*. **16**, 57-63.
- Danser, M. M., van Winkelhoff, A. J., & van der Velden, U. (1997). Periodontal bacteria colonizing oral mucous membranes in edentulous patients wearing dental implants. *Journal of Periodontology*. **68**, 209-216.
- Danser, M. M., van Winkelhoff, A. J., de Graaff, J., & van der Velden, U. (1995). Putative periodontal pathogens colonizing oral mucous membranes in denture-wearing subjects with a past history of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. **22**, 854-859.
- Danser, M. M., van Winkelhoff, A. J., de Graaff, J., Loos, B. G., & van der Velden, U. (1994). Short-term effect of full-mouth extraction on periodontal pathogens colonizing the oral mucous membranes. *Journal of Clinical Periodontology*. **21**, 484-489.

- De Boever, A. L., & De Boever, J. A. (2006). Early colonization of non-submerged dental implants in patients with a history of advanced aggressive periodontitis. *Clinical Oral Implants Research*. **17**, 8-17.
- de Groot, K., Geesink, R., Klein, C. P., & Serekian, P. (1987). Plasma sprayed coatings of hydroxyapatite. *Journal of Biomedical Materials Research*. **12**, 1375-1381.
- D'Ercole, S., Tetè, S., Catamo, G., Sammartino, G., Femminella, B., Tripodi, D., *et al.* (2009). Microbiological and biochemical effectiveness of an antiseptic gel on the bacterial contamination of the inner space of dental implants: a 3-month human longitudinal study. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. **22**, 1019-1026.
- Devides, S. L., & Franco, A. T. (2006). Evaluation of peri-implant microbiota using the polymerase chain reaction in completely edentulous patients before and after placement of implant-supported prostheses submitted to immediate load. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **21**, 262-269.
- Dibart, S., Warbington, M., Su, M. F., & Skobe, Z. (2005). In vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **20**, 732-737.
- Dubruille, J. H., Viguier, E., Le Naour, G., Dubruille, M. T., Auriol, M., & Le Charpentier, Y. (1999). Evaluation of combinations of titanium, zirconia and alumina implants with 2 bone fillers in the dog. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **14**, 271-277.
- Eide, B., Lie, T., & Selvig, K. A. (1983). Surface coatings on dental cementum incident to periodontal disease. I. A scanning electron microscopic study. *Journal of Clinical Periodontology*. **10**, 157-171.
- Ericsson, I., Persson, L. G., Berglundh, T., Edlund, T., & Lindhe, J. (1996). The effect of antimicrobial therapy on peri-implantitis lesions. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. **7**, 320-328.
- Esposito, M., Hirsch, J. M., Lekholm, U., & Thomsen, P. (1998). Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I) Success criteria and epidemiology. *European Journal of Oral Sciences*. **106**, 527-551.
- Frank, R. M., & Cimasoni, G. (1970). Ultrastructure de l'epithelium cliniquement normal du sillon et de jonction gingivodentaires. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*. **109**, 356-379.

- Gargiulo, A. W., Wentz, F. M., & Orban, B. (1961). Dimensions and relations of the dentogingival junction in humans. *Journal of Periodontology*. **32**, 261-267.
- Geesink, R. G., de Groot, K., & Klein, C. P. (1988). Bonding of bone to apatite-coated implants. *Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*. **1**, 17-22.
- George, K., Zafiropoulos, G. G., Murat, Y., Hubertus, S., & Nisengard, R. J. (1994). Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. *Journal of Periodontology*. **65**, 766-770.
- Gibbons, R. J., & van Houte, J. (1980). Bacterial adherence and the formation of dental plaques. In E. H. Beachey, *Bacterial adherence* (Vol. series B, Vol. VI, p. 60-104). London: Chapman.
- Gotfredsen, K., Berglundh, T., & Lindhe, J. (2002). Bone reactions at implants subjected to experimental peri-implantitis and static load. An experimental study in the dog. IV. *Journal of Clinical Periodontology*. **29**, 144-151.
- Gottlieb, B. (1921). Der Epithelansatz am Zahne. *Deutsche monatschrift für Zahnheilkunde*. **39**, 142-147.
- Gould, T. R., Westbury, L., & Brunette, D. M. (1984). Ultrastructural study of the attachment of human gingival to titanium in vivo. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **50**, 108-113.
- Grenier, D., & Mayrand, D. (1987). Functional characterization of vesicular vesicles produced by *Bacteroides gingivalis*. *Infection and Immunity*. **55**, 111-117.
- Groenendijk, E., Dominicus, J. J., Moorer, W. R., Aartman, I. H., & van Waas, M. A. (2004). Microbiological and clinical effects of chlorhexidine enclosed in fixtures of 3I-Titamed implants. *Clinical Oral Implants Research*. **15**, 174-179.
- Haffajee, A. D., Teles, R. P., & Socransky, S. S. (2006). Association of *Eubacterium nodatum* and *Treponema denticola* with human periodontitis lesions. *Oral Microbiology and Immunology*. **21**, 269-282.
- Hahn, H., & Palich, W. (1970). Preliminary evaluation of porous metal surfaced titanium for orthopedic implants. *Journal of Biomedical Materials Research*. **4**, 571-577.
- Hansson, H. A., Albrektsson, T., & Brånemark, P. I. (1983). Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **50**, 108-113.
- Heitz-Mayfield, L. J., Schmid, B., Weigel, C., Gerber, S., Bosshardt, D. D., Jönsson, J., *et al.* (2004). Does excessive occlusal load affect osseointegration? An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. **15**, 259-268.



- Hermann, J. S., Buser, D., Schenk, R. K., & Cochran, D. L. (2000). Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged and submerged implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology*. **71**, 1412-1424.
- Hermann, J. S., Cochran, D. L., Nummikoski, P. V., & Buser, D. (1997). Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology*. **68**, 1117-1130.
- Hillam, D. G., & Hull, P. S. (1977). The influence of experimental gingivitis on plaque formation. *Journal of Clinical Periodontology*. **4**, 56-61.
- Hoar, J. E., Beck, G. H., & Crawford, E. A. (1998). Prospective evaluation of crestal bone remodeling of a bone density based dental system. *Compendium*. **19**, 17-24.
- Hofstad, T., Kristoffersen., T., & Selvig, K. A. (1972). Electron microscopy of endotoxic lipopolysaccharide from *Bacteroides*, *Fusobacterium* and *Sphaerophorus*. *Acta Pathologica and Microbiologica Scandinavia, Sec B*. **80**, 413-419.
- Hotz, P., Guggenheim, B., & Schmid, R. (1972). Carbohydrates in pooled dental plaque. *Caries Research*. **6**, 103-121.
- Hultin, M., Bostrom, L., & Gustafsson, A. (1998). Neutrophil response and microbiological findings around teeth and dental implants. *Journal of Periodontology*. **69**, 1413-1418.
- Hultin, M., Gustafsson, A., Hallstrom, H., Johansson, L. A., Ekfeldt, A., & Klinge, B. (2002). Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. **13**, 349-358.
- Isidor, F. (1997). Clinical probing and radiographic assessment in relation to the histologic bone level at oral implants in monkeys. *Clinical Oral Implants Research*. **8**, 255-264.
- Isidor, F. (1996). Loss of osseointegration caused by occlusal load of oral implants. A clinical and radiographic study in monkeys. *Clinical Oral Implants Research*. **7**, 143-152.
- James, R. A., & Kelln, E. E. (1974). A histopathological report on the nature of the epithelium and underlying connective tissue which surrounds oral implant. *Journal of Biomedical Materials Research*. **8**, 373-383.
- Jansen, V. K., Conrads, G., & Richter, E. J. (1997). Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **12**, 527-540.

- Johansson, C. B., Han, C. H., Wennerberg, A., & Albrektsson, T. (1998). A quantitative comparison of machined commercially pure titanium and titanium-aluminium-vanadium implants in rabbit bone. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **3**, 315-321.
- Jung, Y. C., Han, C. H., & Lee, K. W. (1996). A 1-year radiographic evaluation of marginal bone around dental implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **11**, 811-818.
- Kalykakis, G. K., Mojon, P., Nisengard, R., Spiekermann, H., & Zafiropoulos, G. G. (1998). Clinical and microbial findings on osseointegrated implants; comparisons between partially dentate and edentulous subjects. *European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry*. **6**, 155-159.
- Kasemo, B. (1983). Biocompatibility of titanium implants. Surface science aspects. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **49**, 832-837.
- Kleinberg, I. (1970). Biochemistry of the dental plaque. *Archives of Oral Biology*. **4**, 43-90.
- Kohal, R. J., Weng, D., Bächle, M., & Strub, J. R. (2004). Loaded custom-made zirconia and titanium implants show similar osseointegration: an animal experiment. *Journal of Periodontology*. **75**, 1262-1268.
- Koka, S., Razzoog, M. E., Bloem, T. J., & Syed, S. (1993). Microbial colonization of dental implants in partially edentulous subjects. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **70**, 141-144.
- Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Rickard, A. H., Jakubovics, N. S., Chalmers, N. I., & Diaz, P. I. (2006). Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000*. **42**, 47-79.
- Koutouzis, T., Wallet, S., Calderon, N., & Lundgren, T. (2011). Bacterial colonization of the implant-abutment interface using an in vitro dynamic loading model. *Journal of Periodontology*. **82**, 613-618.
- Krebel, J., Frank, R. M., & Deluzarche, A. (1969). Fractionation of human dental plaque. *Archives of Oral Biology*. **14**, 563-565.
- Lang, N. P., Brägger, U., Walther, D., Beamer, B., & Kornman, K. (1993). Ligature-induced peri-implant infection in cynomolgus monkeys. *Clinical Oral Implants Research*. **4**, 2-11.
- Lang, N. P., Wilson, T. G., & Corbet, E. F. (2000). Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. *Clinical Oral Implants Research*. **11**, 146-155.
- Lautenschlager, E. P., & Monaghan, P. (1993). Titanium and titanium alloys as dental materials. *International Dental Journal*. **43**, 245-253.

- Lee, K. H., Maiden, M. F., Tanner, A. C., & Weber, H. P. (1999a). Microbiota of successful osseointegrated dental implants. *Journal of Periodontology*. **70**, 131-138.
- Lee, K. H., Tanner, A. C., Maiden, M. F., & Weber, H. P. (1999b). Pre- and post-implantation microbiota of the tongue, teeth, and newly placed implants. *Journal of Clinical Periodontology*. **26**, 822-832.
- Li, J., Helmerhorst, E. J., Leone, C. W., Troxler, R. F., Yaskell, T., Haffajee, A. D., et al. (2004). Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *Journal of Applied Microbiology*. **97**, 1311-1318.
- Lie, T., & Selvig, K. A. (1975). Formation of an experimental dental cuticle. *Scandinavian Journal of Dental Research*. **83**, 145-152.
- Lindhe, J., Berglundh, T., Ericsson, I., Liljenberg, B., & Marinello, C. (1992). Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clinical Oral Implants Research*. **3**, 9-16.
- Linkow, L. I. (1974). Statistical analyses of 173 patients. *Journal of Oral Implants*. **4**, 540-562.
- Listgarten, M. A. (1976). Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *Journal of Periodontology*. **47**, 1-18.
- Listgarten, M. A., & Lai, C. H. (1999). Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. *Journal of Periodontology*. **70**, 431-437.
- Listgarten, M. A., Mayo, H., & Amsterdam, M. (1973). Ultrastructure of the attachment device between coccal and filamentous microorganisms in "corn cob" formations in dental plaque. *Archives of Oral Biology*. **8**, 651-656.
- Listgarten, M. A., Mayo, H., & Tremblay, R. (1975). Development of dental plaque in epoxy resin crowns in man. A light and electron microscopic study. *Journal of Periodontology*. **46**, 10-26.
- Löe, H., Theilade, E., & Jensen, S. B. (1965). Experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology*. **36**, 177-187.
- Loesche, W. J. (1979). Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *Journal of Dental Research*. **58**, 2404-2414.
- Marinello, C. P., Berglundh, T., Ericsson, I., Klinge, B., Glantz, P. O., & Lindhe, J. (1995). Resolution of ligature-induced peri-implantitis lesions in the dog. *Journal of Clinical Periodontology*. **22**, 475-480.

- Maynard, J. S., & Wilson, R. D. (1979). Physiologic dimensions of the periodontium significant to the restorative dentist. *Journal of Periodontology*. **50**, 170-174.
- McKinney, R. V., Steflik, D. E., & Koth, D. L. (1985). Evidence for a junctional epithelial attachment to ceramic dental implants: a transmission electronmicroscopic study. *Journal of Periodontology*. **56**, 579-591.
- Meffert, R. M. (1999). Ceramic-coated implant system. *Advances in Dental Research*. **13**, 170-172.
- Mengel, R., & Flores-de-Jacoby, L. (2005). Implants in patients treated for generalized aggressive and chronic periodontitis: a 3-year prospective longitudinal study. *Journal of Periodontology*. **76**, 534-543.
- Mengel, R., Schroder, T., & Flores-de-Jacoby, L. (2001). Osseointegrated implants in patients treated for generalized chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis: 3- and 5-year results of a prospective long-term study. *Journal of Periodontology*. **72**, 977-989.
- Mengel, R., Stelzel, M., Hasse, C., & Flores-de-Jacoby, L. (1996). Osseointegrated implants in patients treated for generalized severe adult periodontitis. An interim report. *Journal of Periodontology*. **67**, 782-787.
- Mergenhagen, S. E., & Rosan, B. (1985). Molecular basis of oral microbial adhesion. *American Society of Microbiology*. Washington.
- Misch, C. E., & Misch, C. M. (1992). Generic terminology for endosseous implant prosthodontics. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **68**, 809-812.
- Misch, C. E., Suzuki, J. B., Misch-Dietsh, F. D., & Bidez, M. W. (2005). A positive correlation between occlusal trauma and peri-implant bone loss: literature support. *Implant Dentistry*. **14**, 108-114.
- Mombelli, A., & Lang, N. P. (1998). The diagnosis and treatment of periimplantitis. *Periodontology 2000*. **17**, 63-76.
- Mombelli, A., & Mericske-Stern, R. (1990). Microbiological features of stable osseointegrated implants used as abutments for overdentures. *Clinical Oral Implants Research*. **1**, 1-7.
- Mombelli, A., Buser, D., & Lang, N. P. (1988). Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients: early results. *Oral Microbiology and Immunology*. **3**, 113-120.
- Mombelli, A., Marxer, M., Gaberthüel, T., Grunder, U., & Lang, N. P. (1995). The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. **22**, 124-130.

- Mombelli, A., van Oosten, M. A., Schürch, E., & Lang, N. P. (1987). The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiology and Immunology*. **2**, 145-151.
- Nakou, M., Mikx, F. H., Oosterwaal, P. J., & Kruijssen, J. C. (1987). Early microbial colonization of permucosal implants in edentulous patients. *Journal of Dental Research*. **66**, 1654-1657.
- Oh, T. J., Yoon, J., Misch, C. E., & Wang, H. L. (2002). The causes of early implant bone loss: myth or science? *Journal of Periodontology*. **73**, 322-333.
- Oonishi, H., Yamamoto, M., Ishimaru, H., Tsuji, E., Kushitani, S., Aono, M., *et al.* (1989). The effect of hydroxyapatite coating on bone growth into porous titanium alloy implants. *Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*. **71**, 213-216.
- Orban, B., & Köhler, J. (1924). Die physiologische Zahnfleischetasche, Epithelansatz und Epitheltiefenwucherung. *Zeitschrift für Stomatologie*. **22**, 353.
- Paolantonio, M., Perinetti, G., D'Ercole, S., Graziani, F., Catamo, G., Sammartino, G., *et al.* (2008). Internal decontamination of dental implants: an in vivo randomized microbiologic 6-month trial on the effects of a chlorhexidine gel. *Journal of Periodontology*. **79**, 1419-1425.
- Papaioannou, W., Quirynen, M., Nys, M., & van Steenberghe, D. (1995). The effect of periodontal parameters on the subgingival microbiota around implants. *Clinical Oral Implants Research*. **6**, 197-204.
- Persson, L. G., Ericsson, I., Berglundh, T., & Lindhe, J. (1996a). Guided bone generation in the treatment of periimplantitis. *Clinical Oral Implants Research*. **7**, 366-372.
- Persson, L. G., Lekholm, U., Leonhardt, A., Dahlén, G., & Lindhe, J. (1996b). Bacterial colonization on internal surfaces of Brånemark system implant components. *Clinical Oral Implants Research*. **7**, 90-95.
- Piattelli, A., Scarano, A., Paolantonio, M., Assenza, B., Leghissa, G. C., Di Bonaventura, G., *et al.* (2001). Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. *Journal of Periodontology*. **72**, 1146-1150.
- Piattelli, A., Vrespa, G., Petrone, G., Iezzi, G., Annibaldi, S., & Scarano, A. (2003). Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *Journal of Periodontology*. **74**, 346-352.
- Piconi, C., & Maccauro, G. (1999). Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*. **20**, 1-25.

- Pontoriero, R., Tonelli, M. P., Carnevale, G., Mombelli, A., Nyman, S. R., & Lang, N. P. (1994). Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clinical Oral Implant Research*. **5**, 254-259.
- Quirynen, M., & Listgarten, M. A. (1990). Distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Brånemark. *Clinical Oral Implants Research*. **1**, 8-12.
- Quirynen, M., & van Steenberghe, D. (1993). Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants. An in vivo study. *Clinical Oral Implants Research*. **4**, 158-161.
- Quirynen, M., Alsaadi, G., Pauwels, M., Haffajee, A., van Steenberghe, D., & Naert, I. (2005). Microbiological and clinical outcomes and patient satisfaction for two treatment options in the edentulous lower jaw after 10 years of function. *Clinical Oral Implants Research*. **16**, 277-287.
- Quirynen, M., Bollen, C. M., Eyssen, H., & van Steenberghe, D. (1994). Microbial penetration along the implant components of the Brånemark system. An in vitro study. *Clinical Oral Implants Research*. **5**, 239-244.
- Quirynen, M., Naert, I., & van Steenberghe, D. (1992). Fixture design and overload influence on marginal bone loss and fixture success in the Brånemark implant system. *Clinical Oral Implants Research*. **3**, 104-111.
- Quirynen, M., Papaioannou, W., & van Steenberghe, D. (1996). Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *Journal of Periodontology*. **67**, 986-993.
- Quirynen, M., Vogels, R., Peeters, W., van Steenberghe, D., Naert, I., & Haffajee, A. (2006). Dynamics of initial subgingival colonization of "pristine" peri-implant pockets. *Clinical Oral Implants Research*. **17**, 25-37.
- Rams, T. E., Roberts, T. W., Tatum, H. J., & Keyes, P. H. (1984). The subgingival microflora associated with human dental implants. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **5**, 529-539.
- Rimondini, L., Marin, C., Brunella, F., & Fini, M. (2001). Internal contamination of a 2-component implant system after occlusal loading and provisionally luted reconstruction with or without a washer device. *Journal of Periodontology*. **72**, 1652-1657.
- Rölla, G., Melsen, B., & Sönju, T. (1975). Sulphated macromolecules in dental plaque in the monkeys *Macaca irus*. *Archives of Oral Biology*. **20**, 341-343.
- Sammons, R. L., Lumbikanonda, N., Gross, M., & Cantzler, P. (2005). Comparison of osteoblast spreading on microstructured dental implant surfaces and cell behaviour in an explant model of osseointegration. A scanning electron microscopic study. *Clinical Oral Implants Research*. **6**, 657-666.

- Saxton, C. A. (1973). Scanning electron microscope study of the formation of dental plaque. *Caries Research*. **7**, 102-119.
- Scarano, A., & Piattelli, M. (2005). Superfici implantari. In G. Novello, *Implantologia pratica*. Cordenons, Italy.
- Scarano, A., Assenza, B., Piattelli, M., Iezzi, G., Leghissa, G. C., Quaranta, A., *et al.* (2005). A 16-year study of the microgap between 272 human titanium implants and their abutments. *Journal of Oral Implantology*. **31**, 269-275.
- Schou, S., Holmstrup, P., Stoltze, K., Hjørting-Hansen, E., & Kornman, K. S. (1993). Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth. Clinical and radiographic observations in Cynomolgus monkeys. *Clinical Oral Implants Research*. **4**, 12-22.
- Schroeder, A., van der Zypen, E., Stich, H., & Sutter, F. (1981). The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *Journal of Maxillofacial Surgery*. **1**, 15-25.
- Schroeder, H. E. (1970). The structure and relationship of plaque to the hard and soft tissues: electron microscopic interpretation. *International Dental Journal*. **20**, 353-381.
- Schwartz, Z., Martin, J. Y., Dean, D. D., Simpson, J., Cochran, D. L., & Boyan, B. D. (1996). Effect of titanium surface roughness on chondrocyte proliferation, matrix production, and differentiation depends on the state of cell maturation. *Journal of Biomedical Materials Research*. **2**, 145-155.
- Sicher, H. (1959). Changing concepts of the Supporting Dental Structure. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology*. **12**, 31-35.
- Silverman, G., & Kleinberg, T. (1967). Fractionation of human dental plaque and the characterization of its cellular and acellular components. *Archives of Oral Biology*. **12**, 1387-1405.
- Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*. **38**, 135-187.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., & Kent, R. L. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*. **25**, 134-144.
- Steinebrunner, L., Wolfart, S., Bossmann, K., & Kern, M. (2005). In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **20**, 875-881.

- Sul, Y. T., Johansson, C. B., Petronis, S., Krozer, A., Jeong, Y., Wennerberg, A., *et al.* (2002). Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition. *Biomaterials*. **2**, 491-501.
- Tarnow, D., Stahl, S. S., Magner, A., & Zamzok, J. (1986). Human gingival attachment: responses to subgingival crown placement marginal remodeling. *Journal of Clinical Periodontology*. **13**, 563-569.
- Tesmer, M., Wallet, S., Koutouzis, T., & Lundgren, T. (2009). Bacterial colonization of the dental implant fixture-abutment interface: an in vitro study. *Journal of Periodontology*. **80**, 1991-1997.
- Theilade, E. (1986). The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*. **13**, 905-911.
- Theilade, E., & Theilade, J. (1970). Bacteriological and ultrastructural studies of developing dental plaque. In W. D. McHugh, *Dental Plaque* (p. 27-40). Edinburgh: Livingstone.
- Theilade, E., Wright, W., Jensen, S. B., & Löe, H. (1966). Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *Journal of Periodontal Research*. **1**, 1-13.
- Theilade, J., & Attström, R. (1985). Distribution and ultrastructure of subgingival plaque in beagle dogs with gingival inflammation. *Journal of Periodontal Research*. **20**, 131-145.
- Thomas, K. A., Kay, J. F., Cook, S. D., & Jarcho, M. (1987). The effect of surface macrotecture and hydroxyapatite coating on the mechanical strenghts and histologic profiles of titanium implant materials. *Journal of Biomedical Materials Research*. **12**, 1395-1414.
- Thomsen, P., Larsson, C., Ericson, L. E., Sennerby, L., Lausmaa, J., & Kasemo, B. (1997). Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*. **8**, 653-665.
- Tonetti, M. S., & Schmid, J. (1994). Pathogenesis of implant failures. *Periodontology 2000*. **4**, 127-138.
- Uehara, T., Takaoka, K., & Ito, K. (2004). Histological evidence of osseointegration in human retrieved fractured hydroxyapatite-coated screw-type implants. A case report. *Clinical Oral Implants Research*. **15**, 540-545.
- van Steenberghe, D., Klinge, B., Lindén, U., Quirynen, M., Herrmann, I., & Garpland, C. (1993). Periodontal indices around natural titanium abutments: a longitudinal multicenter study. *Journal of Periodontology*. **64**, 538-541.



- van Steenberghe, D., Tricio, J., & Van den Eynde, E. (1994). Soft and hard tissue reactions towards implant design and surface characteristics and the influence of plaque and/or occlusal loads. In Z. Davidovitch, *The biological mechanism of tooth eruption, resorption and replacement by implants*. Boston.
- van Winkelhoff, A. J., Goené, R. J., Benschop, C., & Folmer, T. (2000). Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research*. **11**, 511-520.
- Wallace, S., & Tarnow, D. (1995). The biologic width around implants. *International Congress Oral Implant Meeting*. Munich.
- Wennerberg, A., Albrektsson, T., Johansson, C., & Andersson, B. (1996). Experimental study of turned and grit-blasted screwshaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials*. **1**, 15-22.
- Westergaard, J., Frandsen, A., & Slots, J. (1978). Ultrastructure of the subgingival flora in juvenile periodontitis. *Scandinavian Journal of Dental Research*. **86**, 421-429.
- Weyant, R. J. (1994). Characteristics associated with the loss and peri-implant tissue health of endosseous dental implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. **9**, 95-102.
- Weyant, R. J., & Burt, B. A. (1993). An assessment of survival rates and within-patient clustering of failures for endosseous oral implants. *Journal of Dental Research*. **72**, 2-8.
- Wiskott, H. W., & Belser, U. C. (1999). Lack of integration of smooth titanium surfaces: a working hypothesis based on strains generated in the surrounding bone. *Clinical Oral Implants Research*. **10**, 429-444.
- Xue, W., Liu, X., Zheng, X., & Ding, C. (2005). In vivo evaluation of plasma-sprayed titanium coating after alkali modification. *Biomaterials*. **16**, 3029-3037.
- Zhu, X., Chen, J., Scheideler, L., Reichl, R., & Geis-Gerstorfer, J. (2004). Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. *Biomaterials*. **18**, 4087-4103.
- Zitzmann, N. U., Berglundh, T., Ericsson, I., & Lindhe, J. (2004). Spontaneous progression of experimentally induced peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*. **31**, 845-849.