

Materiali estetici restaurativi: analisi *in vitro* sull'adesione batterica e danni iatrogeni indotti dalle tecniche d'igiene professionale

Loris Prosper*, Ixxxx Setaro**, Exxxx Polizzi***, Nicolas Zunica****, Clara Cassinelli*****, Cxxxx Axxxx Cortella*****

Scopo: l'obiettivo posto alla base di questo studio *in vitro*, consiste nel valutare se i materiali estetici restaurativi presi in considerazione mostrano differenze strutturali di superficie che possono indurre e favorire l'adesione batterica. Inoltre su campioni di ossido di zirconia si è cercato di identificare una tecnica d'igiene strumentale professionale che possa essere definita d'elezione nella rimozione della placca batterica. **Materiali e metodi:** sono stati prodotti 30 dischetti-campione dal laboratorio odontotecnico DentalWork di Monza: suddivisi in tre gruppi: (1) 10 dischetti-campione di zirconia identificati in Gruppo A; (2) 10 dischetti-campione di ceramica feldspatica identificati in Gruppo B; (3) 10 dischetti-campione di resine composite identificati in Gruppo C. Tutti i 30 campioni sono stati contaminati con *Streptococcus Mutans*. **Conclusioni:** da questo studio gli Autori concordano nell'ipotizzare che il materiale estetico restaurativo risultato essere meno ritentivo all'adesione e replica batterica è quello del Gruppo B (ceramiche). Dall'acquisizione delle immagini morfo strutturali eseguite al SEM (Scanning Electron Microscope) si evince che il trattamento professionale per la disgregazione e rimozione batterica risultato essere d'elezione per l'ossido di zirconio è Air Polish Perio Soft. Da qui l'importanza del ruolo degli Igienisti Dentali nell'identificazione di una tecnica d'igiene professionale atta a mantenere a medio e lungo termine i manufatti protesici monitorando con un piano di supporto, i parametri di salute del cavo orale.

Parole chiave: Placca batterica, *Streptococcus Mutans*, Zirconia, Glicina.

INTRODUZIONE

I nuovi orizzonti in odontoiatria hanno permesso una scelta di materiali estetici restaurativi sempre più innovativi e ricercati¹⁻³. Il mantenimento del manufatto protesico fisso, oltre a permettere una corretta funzionalità masticatoria, richiede una stabilità anche dal punto di vista del risultato estetico a medio e lungo termine poiché le aspettative del paziente sono oramai molto alte. Mantenere nel tempo la salute dei tessuti

mollati a contatto con il restauro protesico non è sempre predicibile poiché errate tecniche d'igiene strumentale potrebbero alterare l'integrità e la precisione della chiusura marginale, creare asperità ritenitrici di placca inducendo così a danni iatrogeni il manufatto protesico⁴⁻⁷.

Gli Igienisti Dentali sono direttamente chiamati a contribuire al successo biologico grazie al controllo del potenziale infettivo e infiammatorio del cavo orale⁸. Loro attraverso la programmazione di sedute di richiami personalizzati conseguono al controllo e alla valutazione delle condizioni d'igiene orale identificando i precoci segni d'infiammazioni in modo tale da ottimizzare le manovre d'elezione di IOD⁹⁻¹¹; studi dimostrano che l'utilizzo di un gel innovativo della HOBAGEL® composto da un mix di sostanze sostantivanti e antibatteriche (tra cui il cetilpiridino cloruro, triclosan e olii essenziali) liberatesi nel contesto del gel stesso da microcapsule di innovativa tecnologia che risulta diminuire di molto gli indici parodontali di placca e sanguinamento e con il suo RDA medio-bassa (± 30) risulta essere il meno abrasivo sui materiali estetici restaurativi¹². L'intervento dell'Igienista Dentale dovrà essere orientato a ridurre la quantità di placca in corrispondenza dei manufatti protesici indirizzando il pool microbiologico verso specie non patogene così da intercettare fin da subito even-

- * Titolare dell'insegnamento di Materiali Dentali presso il CLID Università Vita e Salute Istituto Scientifico San Raffaele Milano.
- ** Igienista Dentale, esercita libera professione in Alessandria presso lo studio Dott. G. Setaro.
- *** Responsabile del reparto Igiene Dentale e coordinatrice tecnica dell'U.O San Raffaele e coordinatrice del CLID Università Vita e Salute Istituto Scientifico San Raffaele Milano.
- **** Igienista dentale, esercita libera professione in Cologno Monzese presso lo studio Dott.ssa Zunica e presso lo studio Rossini a Monguzzo.
- ***** Biologa presso Nobil Bio Ricerche.
- ***** Titolare dell'insegnamento di parodontologia presso il CLID Università Vita e Salute Istituto Scientifico San Raffaele Milano.

Indirizzo per la corrispondenza:
Via San Gottardo, 84 - 20052 Monza - MB
Tel. 039.388744 - E-mail: lorisprosper@tin.it

tuali anomalie e intervenendo tempestivamente. Al paziente verranno spiegate le manovre d'igiene domiciliare e programmati gli interventi d'igiene professionale per poter monitorare lo stato di salute e l'integrità dei margini delle corone estetiche (Figg. 1a,b; 2a-c; 3).

Lo studio è stato eseguito *in vitro* su 30 dischetti campione e si prefigge di comparare l'adesività batterica delle superfici dei materiali estetici restaurativi differenti fra loro morfo strutturalmente, identificando il meno ritentivo. L'altro obiettivo è di ipotizzare una tecnica strumentale d'igiene professionale d'elezione nella rimozione della matrice organica batterica sui manufatti protesici. I risultati dello studio e le valutazioni dei danni iatrogeni indotti dalle tre tecniche d'igiene professionale (Punta in Peek, Air polishing Perio soft, Coppetta addizionata a pasta NUPRO) sono stati esaminati al SEM.

Tutti gli step delle metodologie sperimentali sono documentate iconograficamente.

MATERIALI E METODI

Sono stati prodotti 30 dischetti campione di dimensione 0,5 cm di diametro per 3 mm di spessore forniti dal laboratorio odontotecnico Dentalwork di Monza. I campioni suddivisi in tre gruppi erano così composti:

- Gruppo A: n. 10 dischetti di zirconia.
- Gruppo B: n. 10 dischetti di ceramica feldspatica.
- Gruppo C: n. 10 dischetti di resina composita.

Tutti i campioni sono stati inviati al laboratorio di Immunologia dei Tumori dell'università Vita-Salute San Raffaele per la contaminazione batterica con *Strep-*

tococcus Mutans. La scelta di *Streptococcus Mutans* è dettata dal fatto che è il maggior candidato patogeno dello smalto dentinale e nella formazione della carie secondaria.

Il laboratorio ha così impostato la procedura di contaminazione:

- Pre inoculo dei batteri per farli crescere 24 ore prima dell'esperimento.
- Diluizione della sospensione batterica 1:10 in PBS (Phosphate Buffered Saline).
- Lavaggio dei dischetti in acqua ultrapura.
- Incubazione dei dischetti con la sospensione di batteri per 4 ore.
- Lavaggio dei dischetti in PBS per 10 min (per simulare l'auto detersione della saliva).

Solo il gruppo A è stato in seguito suddiviso in tre sottogruppi + un caso controllo e sottoposti ai seguenti trattamenti d'igiene professionale effettuati in condizioni standard operatore dipendente (Figg. 4-6).

I dischetti dopo aver subito il trattamento professionale, in condizioni standard operatore dipendente sono stati rinviati al laboratorio di immunologia dei tumori dell'università Vita-Salute San Raffaele e sottoposti al seguente protocollo:

- Fissaggio dei batteri con formalina.
- Colorazione dei batteri con soluzione di Acrydine Orange per permettere la conta batterica.
- Lavaggio per 2 volte per 5 minuti per eliminare l'eccesso di colorante.
- Visualizzazione sotto microscopio a fluorescenza (obiettivo 10X) e acquisizione immagini (due campi per dischetto).
- Lavaggio dei dischetti in acqua ultra pura per 3 ore.



Figg. 1a,b Faccetta sull'11, abitualmente a causa della difficoltà nel riconoscere il manufatto che risulta impercettibile, le manovre d'igiene incongrue o l'utilizzo di materiali impropri rischiano di danneggiare in maniera irreparabile le faccette, soprattutto nelle zone cervicali, a dimostrazione è utilizzo degli ultrasuoni, i quali oltre che scheggiare le chiusure, possono irruvidire le zone di transizione tra la ceramica e il dente naturale.

- Immersione dei dischetti in soluzione 25% etanolo assoluto 75% acqua.

Conta batterica

La visualizzazione della conta batterica è stata effettuata sotto microscopio a fluorescenza a ingrandimento 10X utilizzando il software IMAGE J (NIH) tramite contatore di cellule. Sono stati quindi stimati i valori delle conte per due campi di ogni campione stimando così il risultato della conta cellulare.

Successivamente solo i dischetti del Gruppo A sono stati inviati per le analisi morfologiche e strutturali al laboratorio Nobil Bio Ricerche S.r.l. di Portacomaro (AT).

Il protocollo eseguito dal SEM è enunciato qui di seguito:

- i campioni sono stati disidratati con acqua ed etanolo in concentrazioni successive:
 - acqua 75 - etanolo 25%,
 - acqua 50 - etanolo 50%,
 - acqua 25 - etanolo 75%,
 - 100% etanolo.

In una seconda fase sono stati metallizzati tramite l'Agar Sputter Coater (Agar Scientific) con un foglio d'oro (99,9% di purezza) e montati su porta campioni con nastro biadesivo conduttivo a base di carbonio e osservati con SEM EVO-MA10 (Zeiss- Germany).



Figg. 2a-c Faccette in ceramica di 11-21-12-22 dove si mette in evidenza la dissimulazione dei manufatti che possono ingannare l'igienista o l'operatore che mette in atto le manovre per la rimozione della placca batterica, andando così a creare danni iatrogeni e irreparabili al manufatto protesico.



Fig. 3 Moncone in zirconio e corona in ceramica integrale; ispezionando il solco si nota come questi materiali mantengano l'integrità parodontale. Scollando il solco con una courette HU FREDY in teflon, si nota la precisione della chiusura del manufatto protesico con il suo abutment, principio fondamentale e di base per la conservazione e il rispetto della gengiva marginale libera.



Fig. 4 I campioni del Gruppo A1 sono stati trattati con punta in Peek (EMS) con protocollo di tempo 5" con movimenti orizzontali.



Fig. 5 I campioni del Gruppo A2 sono stati trattati con tecnica Air Polishing addizionata Perio Soft con protocollo di 5" a distanza di 5-3 mm dal dischetto con un'inclinazione di 30°/60°.



Fig. 6 I campioni del Gruppo A3 sono stati trattati con coppette di gomma e pasta polish NUPRO grana fine con protocollo di tempo 5".

- Le immagini sono state eseguite a diversi ingrandimenti:
 - 300X,
 - 1000X,
 - 3000X,
 - 5000X,
 - 10000X,
 in zone diverse in ciascuna delle due repliche di campionamento.
- I parametri salienti dell'analisi sono riportati nella striscia in basso di ciascuna foto:
 - Potenziale di accelerazione degli elettroni = EHT.
 - Distanza focale = WD.
 - Ingrandimento = MAG.
 - Tipo di detector usato = SIGNAL A.
 - Data.
 - Numero progressivo.
 - Parametro dimensionale.

RISULTATI

Microbiologici

I batteri sono stati esaminati al microscopio a fluorescenza a 10X dopo essere stati colorati con soluzione di Acrydine Orange per stimare la conta batterica. Il Gruppo A, il Gruppo B e il Gruppo C sono stati comparati: la media delle conte batteriche di ciascun materiale al microscopio a fluorescenza a 10X ha permesso di identificare il numero delle repliche delle colonie sulle superfici: ne è risultato che le superfici a trattenere meno placca risultano essere le ceramiche (Gruppo B), seguite dalle zirconie (Gruppo A) e dalle resine composite (Gruppo C) (Fig. 7).

Il Gruppo A, il Gruppo B e il Gruppo C sono stati comparati: la media delle conte batteriche di ciascun materiale al microscopio a fluorescenza a 10X ha permesso di identificare il numero delle repliche delle colonie sulle superfici: ne è risultato che le superfici a trattenere meno placca risultano essere le ceramiche (Gruppo B),



Fig. 7 Acquisizione di un'immagine a microscopio a fluorescenza a 10X.

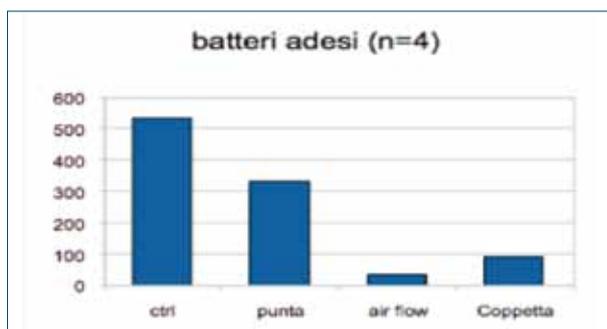


Tabella 1 Comparazione dell'adesione sui tre gruppi.

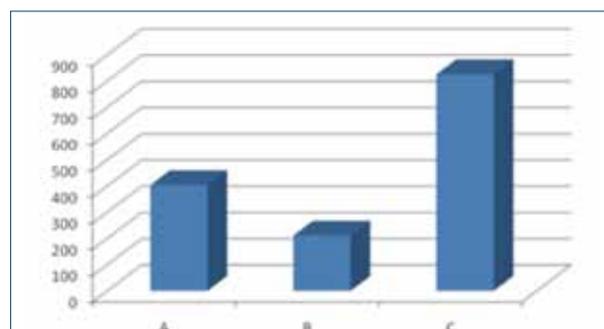


Tabella 2 Istogramma trattamenti effettuati + ctr.

seguite dalle zirconie (Gruppo A) e dalle resine composite (Gruppo C) (Tab. 1).

Dai risultati del Gruppo A si evince che:

- *Gruppo A1*: il trattamento più efficace nella rimozione delle colonie batteriche è risultato essere la tecnica Air Polish con polvere Perio Soft (Tab. 2).
- *Gruppo A2*: la tecnica polishing con strumentazione meccanica con l'ausilio di pasta profilassi e coppetta è risultata essere efficace solo nelle zone di contatto/trattamento. Dunque una rimozione parziale.
- *Gruppo A3*: la punta in Peek ha disgregato e disassemblato le colonie batteriche, ma non è risultata efficace nella rimozione completa.

Il grafico a istogramma è costituito dai trattamenti eseguiti più il caso-controllo sull'asse delle ascisse e dal numero di conte batteriche sull'asse delle ordinate. È evidente come il trattamento eseguito con Air polish perio sia risultato d'elezione.

Morfologici

Dalle acquisizioni delle immagini analizzate al SEM sul Gruppo A, è risultato che:

- il gruppo caso controllo delle zirconie presenta delle irregolarità di superficie già a 300X; questo dovuto alla caratteristica strutturale dell'ossido di zirconio e

al trattamento di lucidatura effettuato dal laboratorio (Figg. 8-11).

- La zirconia inoculata non trattata presenta delle colonie batteriche che si vedono concentrate "in cuscini" dispersi su tutta la superficie già a 1000X (Figg. 12-14).
- Il *Gruppo A1* (punta Peek): non rimuove le colonie, ma le disgrega provocando dei "graffi" o "solchi" netti già evidenziabili a 300X (Fig. 15)
- Il *Gruppo A2* (Air Polish Perio): si riscontra la totale eliminazione delle colonie batteriche presentando dei residui di glicina sulla superficie trattata (Figg. 16-18).
- Il *Gruppo A3* (coppetta): la superficie trattata con coppetta presenta dei residui di pasta da profilassi e la rimozione delle colonie di *Streptococcus Mutans* risulta essere solo nelle zone di contatto con il dispositivo (Figg. 19-22).

CONCLUSIONI

La riabilitazione protesica sia su denti naturali che su impianti risulta essere uno step fondamentale per il ripristino della funzionalità masticatoria. La qualità di vita e le aspettative estetiche del paziente sono alte ed è questa la motivazione per cui il clinico/protesista

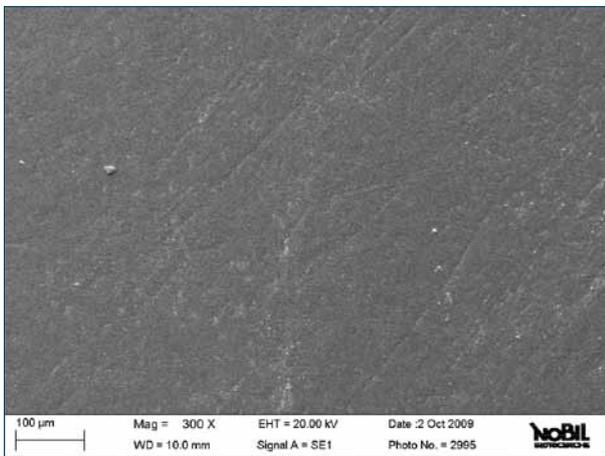


Fig. 8 Superficie della zirconia a 5000X.

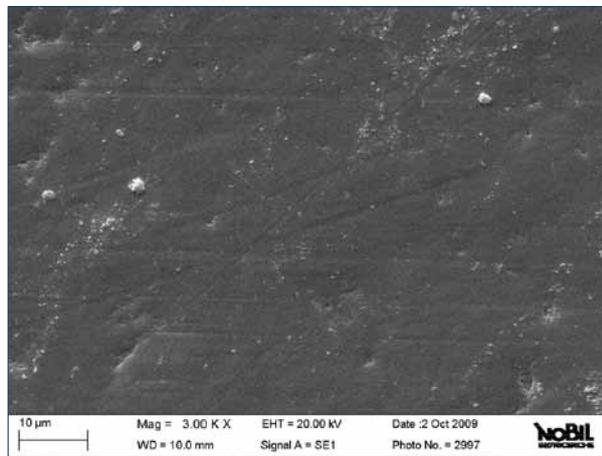


Fig. 9 Presenza di asperità sulla superficie dovute alla morfo struttura della zirconia e dei trattamenti eseguiti dal laboratorio per la preparazione del campione.

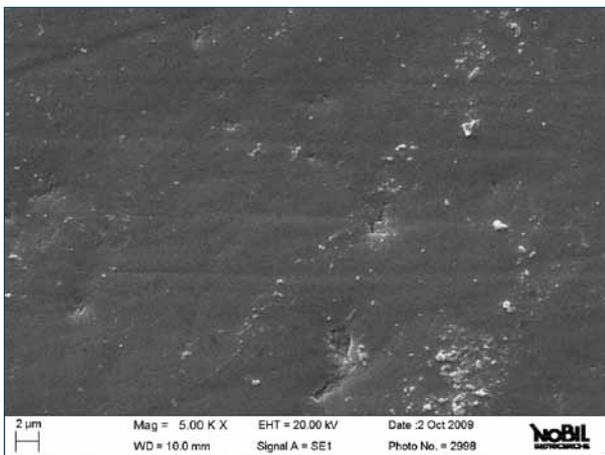


Fig. 10 Colonie disperse sulla superficie.

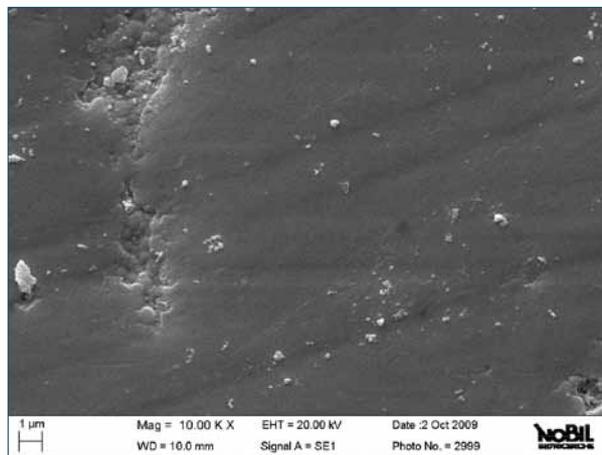


Fig. 11 Ammasso in una colonia di Streptococco Mutans a 5000X.

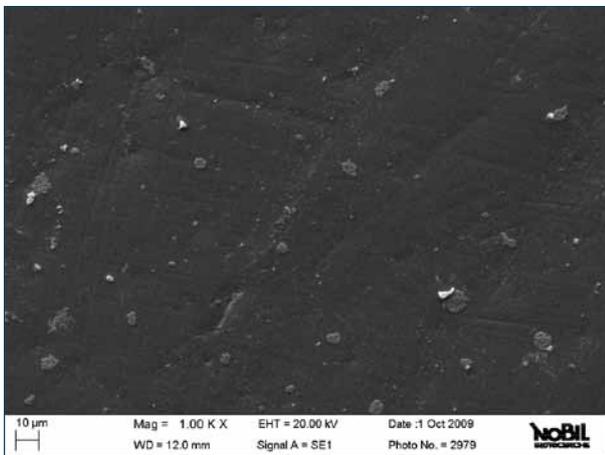


Fig. 12 Particolare di una colonia di Streptococco Mutans a 12000X.

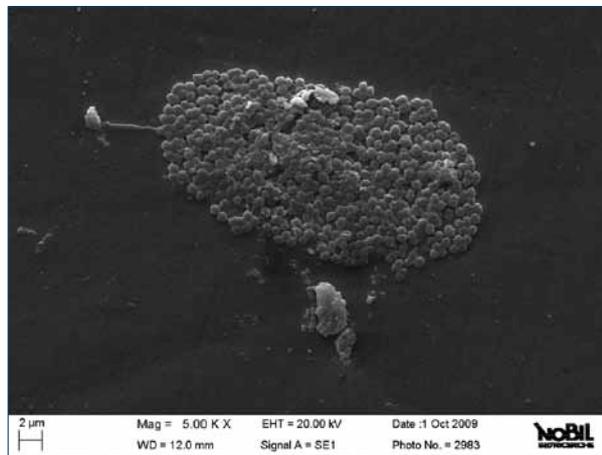


Fig. 13 Presenza di graffiature sulla superficie.

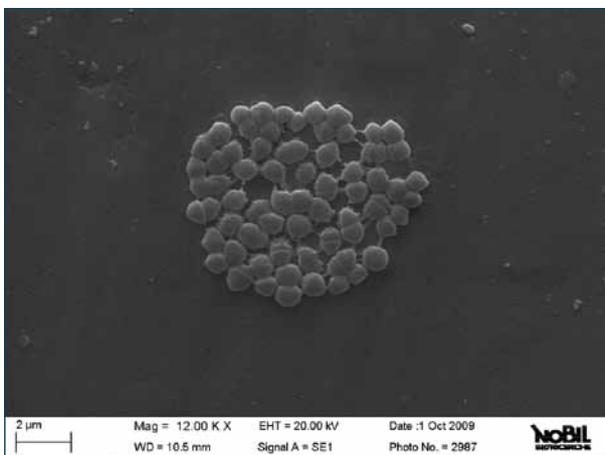


Fig. 14 Totale rimozione delle colonie batteriche visibile già a 300X.

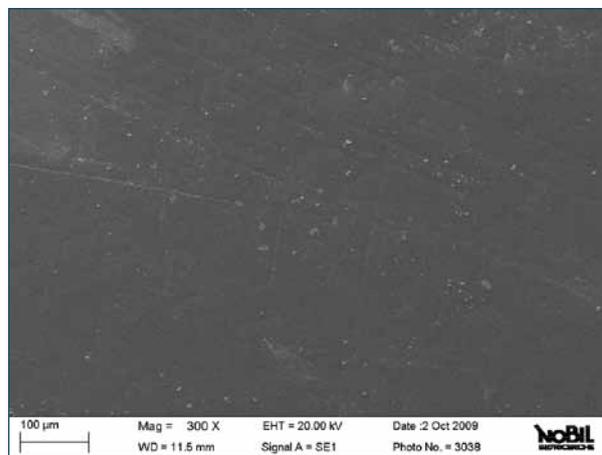


Fig. 15 Immagine acquisita a 5000X.

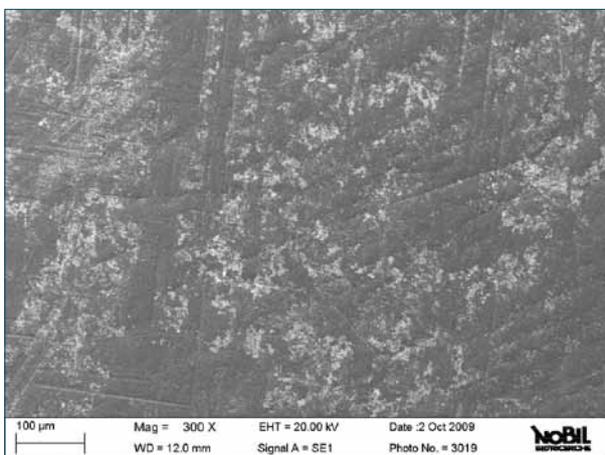


Fig. 16 Assenza di colonie batteriche sulla superficie; si riscontrano residui di polvere di glicina.

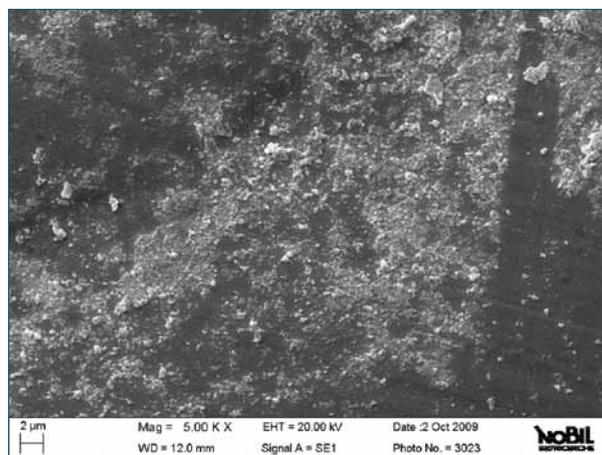


Fig. 17 Presenza di colonie batteriche visibili a 300X.

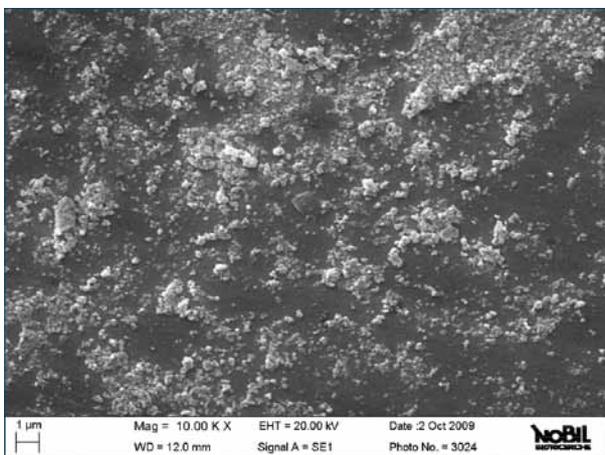


Fig. 18 Acquisizione immagine a 1000X.

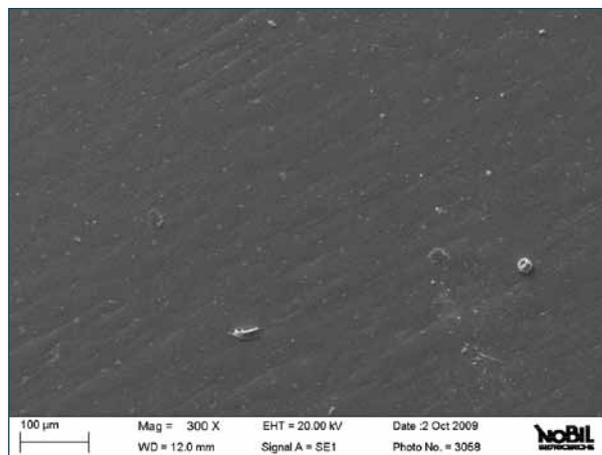


Fig. 19 La rimozione delle colonie è avvenuta solo nel punto di contatto/trattamento con il dispositivo.

BIBLIOGRAFIA

1. Kelly JR, Nishimura I, Campbell SD. Ceramics in dentistry: historical roots and current perspectives. *J Prosthet Dent.* 1996 Jan;75(1):18-32.
2. Cales B, Stefani Y. Yttria-Stabilized Zirconia for improved orthopedic Prostheses. In Wide DL, Trantolo DJ, Altobelli DE, (eds). et al *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering.* Vol 1B. New York, Marcel Dekker 1995;1B:415-452.
3. Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials.* 1999 Jan;20(1):1-25.
4. Arcoria CJ, Gonzales JP, Vitasek BA, Wagner MJ. Effects of ultrasonic instrumentation on microleakage in composite restorations with glass ionomer liners. *J Oral Rehabil* 1992;19:21-29.
5. Budtz-Jorgensen E. Clinical aspects of Candida infection in denture wearers. *J Am Dent Assoc* 1978;96:474.
6. Lang NP, Kiel RA, Anderhalden K. Clinical and microbiological effects of subgingival restorations with overhanging or clinically perfect margins. *J Clin Periodontol* 1983;10:563.
7. Newcomb GM. The relationship between the location of subgingival crow margin and gingival inflammation. *J Periodontol* 1974;45:151.
8. Palmer RM, Floyd PD. Periodontology: a clinical approach. Non-surgical treatment and maintenance. *Br Den J* 1995; 8:263-268.
9. Christensen GJ. Educating patients: a new necessity. *J Am Dent Assoc* 1993;124:86-87.
10. Linkow LI, Chercheve R. Theories and techniques of oral implantology. St Louis: CV Mosby 1970.
11. Massei G, Trisi P, Szmukler-Moncler S, Malchiodi L. Immediate loading of FBR-coated pitt-easy bio-oss implants. A histologic evaluation in 3 patients after 8-12 weeks of function. *Clinical Oral Implants Research.* 2001;12:409.
- 12- Pasini G, Zorzo C, Gola G, Polizzi E. Valutazione clinica di un gruppo di pazienti, affetti da gengivite, dopo utilizzo di un gel a base di cetilpiridinio cloruro, triclosan e olii essenziali. *Quint. Intern.* 2012;1:23-30