

I patterns di colonizzazione microbica predicono i risultati del trattamento chirurgico dei difetti intraossei

Lisa Heitz-Mayfield ¹,

Maurizio S. Tonetti ²,

Pierpaolo Cortellini ²,

Niklaus P. Lang ¹ a nome del gruppo europeo per la ricerca sulla Parodontologia (ERGOPERIO) ^a

¹ Dipartimento di Parodontologia e Protesi Fissa, Università di

Berna, Berna, Svizzera; ² Dipartimento di Parodontologia, Università del Connecticut Health Center, CT, Stati Uniti d'America

Heitz-Mayfield L, Tonetti MS, Cortellini P, Lang NP, a nome del gruppo europeo per la ricerca sulla Parodontologia (ERGOPERIO) ^a I patterns di colonizzazione microbica predicono i risultati del trattamento chirurgico dei difetti intraossei. J Clin Periodontol 2006; 33: 62-68. DOI: 10.1111 / j.1600-051X.2005.00872.x.

Abstract

Scopo: Per esplorare l'impatto della carica batterica e i modelli di colonizzazione microbica sui risultati clinici della chirurgia parodontale dei difetti intraossei profondi.

Materiali e metodi: Centoventi-due pazienti affetti da parodontite cronica avanzata e almeno un difetto intraosseo >3 millimetri sono stati reclutati in 10 centri. Prima del reclutamento, la fase di controllo delle infezioni della terapia parodontale è stata completata. Dopo accesso chirurgico e debridement, il materiale rigenerativo è stato applicato in soggetti di prova, e omesso nei controlli. Al baseline e a 1 anno dopo gli interventi, livelli d'attacco clinico (CAL), profondità di sondaggio (PPD), recessione (REC), indice di placca e indice di sanguinamento sono stati valutati. La colonizzazione microbica della tasca associata al difetto è stata valutata utilizzando un'analisi DNA-DNA.

risultati: La carica batterica totale e la conta dei batteri del complesso rosso sono stati negativamente associati con guadagni di CAL 1 anno dopo il trattamento. La probabilità di raggiungere guadagni di CAL sopra la media (>3 mm) è stata significativamente diminuita dalla più alta conta batterica totale, più alto complesso rosso e conta di *T. forsythensis* immediatamente prima dell'intervento chirurgico.

conclusioni: Presenza di elevata carica batterica e specifici complessi patogeni parodontali in tasche profonde parodontali associate ai difetti intraossei hanno avuto un impatto negativo significativo sull'esito a 1 anno dal trattamento chirurgico / rigenerativo.

Parole chiave: sperimentazione clinica; umano; microbiota; rigenerazione parodontale; parodontite.

Nonostante la disponibilità di efficaci molteplici tecniche e principi biologici, la rigenerazione parodontale di difetti intraossei rimane una sfida clinica (Cortellini & Tonetti 2000, Trombelli et al., 2002, Needleman et al. 2002, Murphy & Gunsolley 2003). Recenti studi multipli hanno tentato di migliorare i risultati attraverso lo studio di nuove combinazioni di materiali attuali (Francetti et al 2004, Hou et al., 2004, Vouros et al., 2004, Minenna et al. 2005), o per testare i benefici aggiuntivi

del laser (al. Sculean et 2004). Fin dal lavoro seminale di Rosling et al. (1976) e Nyman et al. (1977), l'impatto della placca batterica sulla guarigione dopo l'intervento chirurgico di difetti intraossei è stato ben riconosciuto. I primi lavori sulla rigenerazione con membrane barriera ha stabilito un'associazione negativa tra il controllo della placca e guadagno del livello di attacco clinico (Tonetti et al. 1993, 1995). Poco dopo, Machtei et al. (1994) hanno riportato l'effetto negativo della persistenza di specifici patogeni parodontali nelle tasche da rigenerare. Diversi studi hanno indicato che il sanguinamento al sondaggio (presso il sito ed espresso in percentuale di sanguinamento dei siti nella bocca del paziente), una stima clinica della persistenza di

patogeni parodontali, ha un impatto negativo sul livello di guadagno d'attacco clinico (CAL) (Tonetti et al. 1993, 1996). In anni più recenti, l'evidenza è aumentata ed indica che la presenza di una flora patogena al sito rigenerato o nella cavità orale del paziente prima, durante o dopo la rigenerazione parodontale è associata con esiti sub-ottimali (Nowzari et al., 1995, de Sanctis et al., 1996, Zucchelli et al., 1997, Smith MacDonald et al., 1998, Rudiger et al. 2003). L'importanza di tale flora patogena è stata ulteriormente enfatizzata da studi che indicano che la soppressione della flora batterica locale con trattamento antibiotico locale nel sito della ferita al momento della rigenerazione parodontale dà risultati migliori (Sander et al.

^aPatrick Adriaens, Dominik Dubravec, Alberto Fonzar, Ioannis Fourmousis, Giulio Rasperini, Roberto Rossi, Maurizio Silvestri, Heinz Topoll, Beat Walkkamm e Michael Zybutz, pratica parodontale privata.

1994 Zucchelli et al. 1999 Yoshinari et al. 2001 Stavropoulos et al. 2003).

In una serie di studi clinici multicentrici sulla rigenerazione parodontale, un effetto centro significativo è stato costantemente rilevato (Tonetti et al., 1998, Cortellini et al., 2001, Tonetti et al., 2002, Tonetti et al. 2004). Infatti, in questi studi la variabilità centro è il fattore più importante che rappresenta da tre a cinque volte la grandezza del beneficio derivante dall'applicazione di una specifica tecnica rigenerativa. Ipotesi attuali per spiegare la variabilità centro includono l' inconsistenza della popolazione di pazienti, ambiente clinico, esperienza del clinico ed abilità diverse per sopprimere i patogeni parodontali nella fase iniziale, in relazione alla fase della terapia parodontale.

Questo articolo riporta un'analisi secondaria di uno studio clinico controllato randomizzato disegnato per confrontare, in uno studio multicentrico, i risultati clinici ottenuti dopo il trattamento di difetti intraossei con lembo con preservazione della papilla chirurgica con o senza applicazione di una membrana biorassorbibile in combinazione con un innesto osseo sostitutivo. Questa analisi esplora l'impatto dei patterns di colonizzazione microbica nella placca subgingivale sugli esiti clinici 1 anno dopo il trattamento. I dati hanno indicato che la conta ma non la proporzione di agenti patogeni parodontali era significativamente associati con gli esiti clinici.

Materiali e metodi

Disegno Sperimentale

Questo studio clinico controllato con gruppo parallelo, randomizzato, multicentrico è stato progettato per confrontare l'efficacia di due modalità di trattamento di difetti parodontali infraossei. Il trattamento di prova consisteva in accesso al difetto con lembo con preservazione della papilla (Cortellini et al., 1995, Cortellini et al. 1999), debridment chirurgico e applicazione di un innesto di osso bovino per riempire difetto (Bio-Oss s. Geistlich AG, Wohlhusen, Svizzera) ed una membrana di collagene, precedentemente adattata all'anatomia locale, posta sulla parte superiore del materiale d' innesto (Bio-Gide s. Geistlich AG). La stessa procedura è stata eseguita nel gruppo di controllo, tranne per l'omissione dell'applicazione dei materiali rigenerativi. Un singolo difetto è stato trattato in ciascun paziente. I risultati clinici sono stati valutati a 1 anno. Questa indagine è stata effettuata in 10 centri parodontali che costituiscono una

rete di ricerca basata sulla pratica. I Centri erano situati in Belgio, Germania, Grecia, Italia, Svizzera, Regno Unito e Stati Uniti d'America. Dettagli del progetto sperimentale, la calibrazione, la randomizzazione, interventi chirurgici e follow-up post chirurgia sono stati riportati in un diario di bordo (al. Tonetti et 2004).

Popolazione soggetto

I criteri di inclusione e di esclusione sono stati precedentemente riportati (Tonetti et al., 1998, Cortellini et al., 2001, Tonetti et al. 2002). In breve, sono stati esclusi i pazienti di età inferiore ai 21 anni, con diabete non controllato o scarsamente controllato, instabili o in condizioni di pericolo di vita, che richiedono la profilassi antibiotica o forti fumatori (più di 20 sigarette / die) (al. Tonetti et 1995). Solo i pazienti con una diagnosi di parodontite grave precedentemente trattati con istruzioni di igiene orale e scaling e root planing stati invitati a partecipare. Questi soggetti si sono dovuti presentare con FMPS e / o FMBS < 25% al baseline (dopo il completamento della terapia parodontale iniziale (Tonetti et al., 1993, Tonetti et al. 1996). I pazienti sono stati informati in dettaglio circa i possibili rischi e benefici e sono stati invitati a dare il loro consenso al processo. Il comitato etico comune della Eastman Dental Institute, University College di Londra, aveva precedentemente approvato il protocollo di studio.

Pretrattamento

Tutti i soggetti hanno ricevuto terapia parodontale iniziale finalizzata al controllo dell'infezione parodontale della dentatura prima della fase sperimentale. Il trattamento iniziale consisteva in motivazione del paziente, istruzioni di igiene orale e scaling e levigatura radicolare con anestesia locale. Quando indicato, i clinici hanno integrato scaling meccanico con antisettici e / o antimicrobici. I soggetti sono stati tenuti a presentarsi con FMPS e / o FMBS o 25% al baseline. Al baseline, sono stati ottenute misure cliniche e campioni microbici sottogengivali.

Misure cliniche

Prima dell' anestesia, i seguenti parametri clinici sono stati valutati il giorno della procedura chirurgica e 1 anno

dopo. I FMPS sono stati registrati come percentuale di superficie totale (quattro aspetti per dente) che ha rivelato la presenza di placca (O'Leary et al. 1972). Il sanguinamento al sondaggio dal fondo della tasca è stato valutato dicotomicamente ad una forza di 0,3N con una sonda sensibile alla pressione manuale (Brodontic s sonda dotata di una punta PCP-UNC 15, Hufriedy, Rotterdam, Paesi Bassi).

I FMBS sono stati poi calcolati.

Profondità di sondaggio (PPD) e recessione del margine gengivale (REC) sono stati registrati al millimetro con una sonda sensibile alla pressione manuale da operatori addestrati nella posizione più profonda del sito del difetto intraosseo selezionato. Tutte le misurazioni sono state effettuate con una sonda parodontale manuale sensibile alla pressione a 0,3 N (Brodontic sonda dotata di PCP-UNC 15 punta, Hufriedy). I livelli di attacco clinico (CAL), calcolato come la somma di PPD e REC, erano la variabilità primaria del risultato

Campioni microbici

Al baseline, i campioni microbici subgingivali sono stati ottenuti dal sito più profondo in ogni quadrante, e inoltre dal singolo sito con difetto endosseo da trattare chirurgicamente, per un totale di cinque campioni di placca per paziente. Se il sito del difetto intraosseo è stato anche il sito più profondo nel quadrante, allora il sito più profondo successivo è stato nominato come il " sito più profondo " nel quadrante. Dopo la rimozione della placca sopragengivale (dopo aver valutato FMPS ma prima di eseguire altre misurazioni cliniche), campioni di placca sottogengivale sono stati ottenuti utilizzando curette Gracey sterili. I campioni sono stati posti in provette Eppendorf separate contenenti 0.15mL TE (10 mM TrisHCl, 1mM EDTA, pH 7,6), e 0.15M NaOH è stato aggiunto. I campioni sono stati inviati al laboratorio presso l'Università di Berna, in Svizzera dove sono stati analizzati utilizzando la tecnica di ibridazione DNA-DNA a scacchiera per individuare la presenza e i livelli di 40 specie subgingivali (Socransky et al. 1994).

Conta degli organismi utilizzando l'ibridazione a scacchiera DNA-DNA

I campioni sono stati lisati e neutralizzati con 0,8 ml di acetato di ammonio 5M. Il DNA liberato è stato posto negli slot estesi di un Minislot (Immunitics, Cambridge, MA, USA), concentrato su una membrana di nylon (Boehringer

Mannheim, Indianapolis, IN, USA) per depressione e fissata alla membrana mediante esposizione a luce ultravioletta (Stratalinker 1800, Stratagene, La Jolla, CA, USA). Digossigenina marcata, intere sonde di DNA genomico sono state preparate con una tecnica random primer (Feinberg e Vogelstein 1983). quaranta ceppi batterici di riferimento sono stati utilizzati per la preparazione di sonde di DNA (Socransky et al. 1994). Le membrane sono state pre-ibridizzate a 42 ° per 1 h in 50% formammide, 5 SSC, 1% di caseina (Sigma, Basilea, Svizzera), 5 reagente di Denhardt, 25mM sodio fosfato (pH 6,5) e 0,5 mg / mL di lievito RNA (Boehringer Mannheim). Ciascuna membrana è stata posta in un Miniblotter

45 (Immunetics) con la membrana rivolta a 90 ° rispetto l'orientamento originale. I buffer di sondaggio e ibridazione sono stati collocati in singoli slot del Miniblotter e l'intero apparato è stato messo in un sacchetto di plastica.

Le membrane sono state ibridate per 16-18h a 42° in una soluzione di ibridazione contenente il 45% formammide, 5 SSC, 1 reagente di Denhardt, 20 mM Na fosfato (pH 6,5), 0,2 mg / mL lievito RNA, 20 ng / ml di sonda marcata, 10% destrano solfato e 1% di caseina. Le membrane sono state lavate a bassa stringenza per rimuovere la sonda debolmente legato e quindi ad alta stringenza (68 l C, 0,1 SSC, 0,1% SDS, 20min, due volte).

Per rilevare ibridi, le membrane sono state bloccate ed incubate con una diluizione 1: 20.000 anti-digossigenina anticorpo coniugato con fosfatasi alcalina usando la modifica descritta da Engler-Blum et al. (1993). Dopo il lavaggio, le membrane sono state incubate in AttoPhos substrato (Amersham Life Science, Arlington Heights, IL, USA) per 16-18 ore a temperatura ambiente e i segnali sono stati rilevati utilizzando Storm Fluorimager

(Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA). Due corsie di ciascuna

membrana contenevano concentrazioni standard di 10⁵ e 10⁶ cellule di ogni specie. La sensibilità del saggio è stata regolata a rilevamento permesso di 10⁴ cellule di una determinata specie regolando la concentrazione di ciascuna sonda di DNA. I segnali sono stati valutati utilizzando Storm Fluorimager e convertiti in conte assolute rispetto agli standards sulla stessa membrana. Il mancato rilevamento di un segnale è stato registrato come zero.

Istruzioni post-chirurgiche e controllo delle infezioni

il dolore e l'edema post-operatorio sono stati controllati con compresse di 600mg di

ibuprofene o paracetamolo 500mg. Un ciclo di doxiciclina 200 mg / die è stato prescritto per la prima settimana post-operatorio. I pazienti sono stati istruiti a sciacquare due volte al giorno con 0,12% clorexidina e di utilizzare le procedure di igiene orale modificate nella zona trattata per le prime quattro settimane post-operatorie. Essi sono stati incaricati di avviare una delicata pulizia dell'area dento-gingivale operata con uno spazzolino da denti post-chirurgico (Vitis chirurgica, Dentaïd SA, Barcellona, Spagna) imbevuto di una soluzione di clorexidina 0,12% a partire dal terzo giorno post-operatorio. Nessuna pulizia interdentale è stata consentita nella zona trattata durante le prime quattro settimane post-operatorie. I fumatori sono stati invitati a limitare e possibilmente

evitare di fumare. Le suture sono state rimosse dopo 1 settimana. controlli post-chirurgia e la pulizia professionale dei denti, comprensivi di profilassi sopragingivale con una coppetta di gomma e 0,2% gel di clorexidina (Plak-out gel, Hawe-Neos, Svizzera) sono state eseguite alle settimane 1, 2, 3, 4, 6 e 8. Tutti i pazienti sono stati mantenuti nei programmi di cura di supporto e hanno ricevuto la profilassi professionale di tutta la bocca e rimozione del tartaro a 3, 6 e 9 mesi come precedentemente descritto (al. Tonetti et 1998).

La gestione dei dati e l'analisi statistica

I dati sono stati inseriti in un foglio di calcolo e controllati gli errori. La banca dati risultante è stata bloccata e caricata in formato SAS (Application Software statistico, SAS Institute, Cary, NC, USA). Tutti i calcoli e le analisi sono state effettuate utilizzando SAS versione 8.2. I dati sono espressi come mezzo +/- SD. Tutte le analisi sono state effettuate utilizzando il paziente come unità per l'analisi. Squilibri nei gruppi di prova e di

controllo derivanti dal processo di randomizzazione sono stati valutate usando t- Test spaiato per variabili continue e il X² test per

variabili categoriali. Ogni paziente ha contribuito con un campione di placca dalla tasca del sito con difetto intraosseo. Il significato delle differenze nei livelli e la prevalenza delle 40 specie esaminate nei siti endossei e il sito più profondo in ogni quadrante sono stati determinati utilizzando il Bonferroni t- test e il test di Mann-Whitney. La rilevanza delle differenze dei difetti intraossei tra fumatori e non fumatori è stato anche determinato usando il Bonferroni t- test e il test di Mann-Whitney. La rilevanza è stata fissata a p=0,05 dopo aggiustamento per confronti multipli (Socransky et al. 1991).

La rilevanza dei parametri microbiologici sul risultato variabile del guadagno di CAL è stata stimata con la costruzione di modelli lineari generalizzati utilizzando la procedura GLM SAS (al. Tonetti et 2004). i modelli finali sono stati selezionati dall'eliminazione di fattori non significativi. Il modello diagnostico comprendeva la distribuzione degli errori e l'analisi dei residui. Le probabilità di ottenere un risultato clinico altamente significativo (guadagno di CAL >3 mm) in siti colonizzati da alte concentrazioni batteriche totali, concentrazione di specie del complesso rosso e conteggi delle singole specie del complesso rosso sono state valutate costruendo modelli logistici che

includevano un effetto del trattamento le variabili correlate al paziente e al difetto (Tonetti et al. 1993, Tonetti et al., 1996, Falk et al., 1997, Tonetti et al., 2002, Tonetti et al. 2004). Il modello finale è stato selezionato con una procedura di eliminazione retrograda che ha permesso ai fattori di rimanere nel modello quando la loro significatività era p= 0.1. Per tutti le altre analisi l'errore ALPHA è stato fissato a 0,05.

Risultati

ritenzione del paziente e dei dati mancanti

Un totale di 122 soggetti sono stati inseriti, randomizzati e trattati. Durante il periodo di 1 anno, due soggetti sono stati persi al follow-up: un test e un paziente di controllo. osservazioni complete erano disponibili per 120 soggetti: 61 test e 59 controlli. Questo ha rappresentato il 98,4% dei pazienti inseriti. Dati microbiologici erano disponibili per 58 di test e 58 soggetti di controllo. Tutte le analisi nella presente relazione sono state eseguite su 116 pazienti con dati microbiologici disponibili.

Soggetto e difetti caratteristiche al basale

Le caratteristiche di soggetto e difetto al baseline sono illustrate nella tabella 1. Non sono state osservate differenze significative tra i pazienti di prova e di controllo per qualsiasi caratteristica del soggetto o caratteristiche dei difetti.

Baseline microbiologia

Conteggi e percentuale di complessi batterici, come descritto da Socransky et al. (1998), associati con il difetto sperimentale sono indicati in Tabella 2. Non sono state osservate significative differenze tra microflora dei difetti infraossei e microflora della bocca valutata mediante l'analisi dei quattro siti più profondi ciascun quadrante (Fig. 1).

Tabella 1. Le caratteristiche dei pazienti e di errori per i gruppi di test e di controllo al basale (N 5 116)

Variabile	Test	Controllo	Rilevanza p-value
numero di soggetti	58	58	-
Età (anni)	49.5 11.3	51 10.5	0,7424
Genere (% femmine)	58%	62%	0,7042
I fumatori (% o 20 sigarette / giorno)	36,2%	32,8%	0,6960
Antibiotici durante la terapia iniziale	44,8%	36,2%	0,3443
FMPS (%)	11.9 7	11.6 8.4	0,8289
FMBS (%)	9.4 6.9	10.6 7.3	0,3537
PPD (mm)	7.9 1.6	7.9 1.5	0,8140
CAL (mm)	9.8 1.8	10.2 2	0,6820
CEJ-BD (mm)	10.2 2.5	10.4 2.7	0,6975
componente endosseo (mm)	5.7 1.9	5.9 2.3	0,5957
Prevalentemente una parete (%)	22,4%	24,6%	
Prevalentemente due pareti (%)	53,5%	54,4%	0,9129
Prevalentemente tre pareti (%)	24,1%	21%	n

a Difetto morfologia parete (Mantel-Haenszel w 2).

FMPS, pieni punteggi bocca della placca; FMBS, bocca piena sanguinamento colonne sonore; PPD, profondità di sondaggio; CAL, livelli di attacco clinico.

Tavolo 2. Conteggi e percentuale di complessi batterici associati con difetto intraosseo al basale

	controllo (N 5 58)	prova (N 5 58)	Rilevanza
conta batterica (10 s)			
conteggi totali	160 207	97 114	0,0433
complesso blu Actinomyces spp.	21 32	14 19	0,1368
complesso Viola	10 18	6 11	0,1910
complesso giallo	14 19	8 11	0,0647
complesso verde	25 31	15 19	0,0753
complesso Arancione	44 73	28 37	0,1827
complesso Red	28 80	12 27	0,1661
Altri	28 31	19 29	0,1031
Actinobacillus actinomycetemcomitans	7 14	4 5	0,0993
Proporzioni (%)			
complesso blu Actinomyces spp.	14 17	15 16	0,7784
complesso Viola	5 5	5 5	0,9636
complesso giallo	9 9	9 8	0,8597
complesso verde	15 10	14 7	0,6642
complesso Arancione	24 12	30 18	0,0246
complesso Red	15 21	10 12	0,0923
Altri	19 14	17 11	0,5750
A. actinomycetemcomitans	6 8	6 6	0,7750

La prevalenza di sospetti patogeni parodontali in siti con difetti infraossei era elevata; 68% Porphyromonas gingivalis, 45% Treponema denticola, 49% T. socranskii, 71% Prevotella intermedia, 88% Fusobacterium nucleatum e il 93% Actinobacillus actinomycetemcomitans. Mentre forti fumatori (>20 sigarette / die) sono stati esclusi da questo studio, i soggetti che fumavano avevano maggiore proporzione di specie del " complesso arancione " identificate in siti con difetti infraossei rispetto ai non fumatori (32.4 +/- 16,7% contro 23.9 +/- 13,3%, p<0.05).

Risultati clinici

Nel gruppo di controllo, il cambio di CAL tra il baseline e 1 anno,

2.5 1,5 mm. Questo è stato significativamente inferiore al guadagno CAL osservato nel gruppo di prova, 3.3 1,7 millimetri (p 5 0,0114, t- test).

La tabella 3 mostra due modelli multivariati, con e senza dati microbiologici, costruiti per valutare l'impatto del centro, il trattamento e covariate note sui 1 anno guadagni CAL. Totale conta batterica hanno avuto un significativo impatto negativo significativo sui guadagni CAL. Introduzione del totale conta batterica nel modello diminuito il signifi cato di clinica

infiammatoria parametri come FMBS. È interessante notare che l'inserimento di conteggi totali nel modello non ha modificato la percentuale di variabilità spiegata dal modello, suggerendo che alcuni dei parametri clinici

potrebbe essere associato alla conta batterica.

L'impatto della conta batterica del complesso rosso al baseline viene visualizzato nella tabella 4. La conta del complesso rosso, ma non le proporzioni ha avuto un significativo impatto negativo sui guadagni di CAL nel primo anno dopo la correzione delle covariabili note.

La probabilità di ottenere CAL maggiore rispetto alla risposta media osservata (3 mm) è stato modellata mediante analisi di regressione logistica. I parametri batterici sono stati inseriti nei modelli insieme all' effetto del trattamento, fattori del paziente come il sesso, abitudine al fumo, FMPS e FMBS e fattori dei difetti come il disegno del lembo, morfologia del difetto, profondità della componente endossea del difetto e la PPD al baseline. Un processo di eliminazione

retrograda è stato applicato impostando la rilevanza a 0.1 per mantenere le variabili nel modello. La tabella indica che i conteggi totali, i conteggi del complesso rosso e di T. forsythensis avevano un significativo ma piccolo effetto negativo sulla

probabilità di guadagnare più di 3 mm di CAL. Conte di P. gingivalis, T. denticola e altri complessi, così come percentuale di complessi o specifici patogeni non hanno avuto un effetto significativo.

Discussione

I risultati di questo studio supportano l'idea che la presenza di elevate quantità di batteri e la persistenza di specifici batteri patogeni nella tasca prima del trattamento chirurgico sono negativamente associati con l'esito del trattamento. L'alta prevalenza di Aa osservata nei siti con difetti infraossei all'interno di questi pazienti era di particolare nota. Una serie di controlli per il

controllo qualità sono stati eseguiti per confermare che i segnali ottenuti dal sondaggio del DNA di Aa utilizzati erano validi. Ciò ha incluso

controlli cross-reactivity, la convalida della fonte di DNA all'interno del sondaggio e l'esecuzione del sondaggio paragonato con campioni di placca di individui sani. Mentre la prevalenza di Aa era considerata alta, livelli simili sono stati riportati in letteratura (Choi et al., 2000, Doungudomdacha et al., 2001, Papapanou et al.2002).

I dati sono notevoli visti gli elevati livelli di controllo della placca e controllo della infiammazione clinica raggiunti durante una fase causale della terapia parodontale accuratamente eseguita completati dalla soddisfazione del trattamento parodontale.

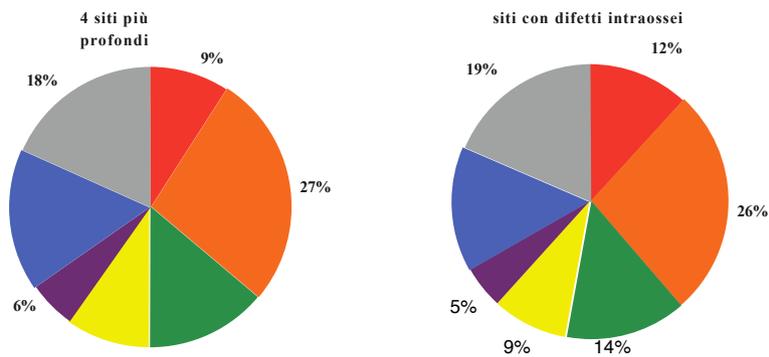


Fig. 1. Pie diagrammi della percentuale del numero totale sonda di DNA dei complessi microbici descritti da Socransky et al. (1998). Il diagramma a torta a sinistra rappresenta campioni di placca subgingivale dal sito più profondo in ogni quadrante. Quattro siti per paziente sono stati raggruppati per fornire un valore medio per ogni paziente. Il diagramma a torta destra rappresenta i campioni di placca subgingivale dai siti endosseo (difetto N 5 116).

Tabella 3. Effetto della conta batterica totale basale al difetto intraosseo Su 1 anno guadagno CAL

Parametro	Stima	Rilevanza, p
Modello senza parametri microbiologici (p 5 0,0006, R 2 5 0.43)		
Centro (migliore contro peggio)	1.65 0.85	0,0553
Trattamento (test contro controllo)	0,72 0,28	0,0116
Baseline FMPS	0,05 0,03	0,0574
Baseline PPD	0,54 0,13	0,0001
Modello con carica batterica totale (p 5 0,0002, R 2 5 0.46)		
Centro	2.15 0.82	0,0101
Trattamento (test contro controllo)	0.62 0,28	0,0274
Baseline FMPS	0,05 0,03	0,0612
Baseline FMBS	0,09 0,04	0,0408
Baseline PPD	0,57 0,12	0,0001
conta batterica totale (10 5)	0,002 0,001	0,0201

FMPS, FMBS, PPD, CAL, livelli di attacco clinico.

Tabella 4.

Parametro	Stima	Rilevanza, p
Red conteggi complessi (p 5 0,0001, R 2 5 0.47)		
Centro (migliore contro peggio)	1.8 0.9	0,0497
Trattamento (test contro controllo)	0.71 0,28	0,0135
Baseline FMPS	0,03 0,02	0,2233
Baseline FMBS	0,08 0,04	0,0594
Baseline PPD	0.6 0,13	0,0001
conteggi complessi rossi (10 5)	0,007 0,003	0,0114
Red proporzioni complesse (p 5 0,0014, R 2 5 0.44)		
Centro	1.8 0.9	0,0602
Trattamento (test contro controllo)	0.8 0.3	0,0112
Baseline FMPS	0,05 0,03	0,0830
Baseline FMBS	0,12 0,05	0,0111
Baseline PPD	0.55 0,14	0,0001
proporzioni complesso rosso	0,002 0,01	0,8661

dontale e che soddisfano i correnti criteri di pratica clinica (Cortellini & Tonetti 2005). Essi implicano anche che non ci possa

essere un livello " clinicamente accettabile " di infezione parodontale residua nel contesto della terapia rigenerativa.

Le tasche più profonde associate ai difetti intraossei trattati in questo studio chiaramente rappresentano sfide formidabili per la soppressione della microflora parodontale e quindi gli alti conteggi totali e l'elevata prevalenza di patogeni residui osservati dopo il completamento della terapia causale non sono inaspettati. In queste tasche più profonde il debridement parodontale da solo non può essere sufficiente per sopprimere adeguatamente il microbiota. In alternativa, l'attuale pratica standard, che richiede un minimo di 4-6 settimane

prima della rivalutazione dei risultati della prima fase causale della terapia, può consentire la ricolonizzazione della tasca associata al difetto da parte di una flora patogena (Tonetti et al. 1995). Tale ricolonizzazione può verificarsi anche durante la fase di guarigione dopo l'intervento nonostante la meticolosa fase

postoperatoria

utilizzando una combinazione di antibiotici,

antisettici e igiene dentale professionale (Cortellini et al. 1993). Mentre forti fumatori (>20 sigarette / die) sono stati esclusi da questo studio e il fumare quindi non ha mostrato un effetto significativo sul risultato

clinico, l'osservazione che i soggetti che fumavano avevano significativamente maggiore proporzione di agenti patogeni del "complesso arancione" rispetto ai non fumatori possono essere importanti. Un effetto dannoso del fumo sui risultati delle procedure di rigenerazione è stato precedentemente documentato (Tonetti et al. 1995 Mayfield et al. 1998 Stavropoulos et al. 2004)

e può essere in parte legato ad una microflora più patogena in siti con difetti intraossei profondi nei pazienti che fumano.

Dati gli elevati livelli di contaminazione delle tasche parodontali immediatamente prima dell'intervento chirurgico, il fatto che nessuna infezione franca porti alla esfoliazione dell'innesto osseo è notevole. Tuttavia, il guadagno di attacco clinico utile di 1mm o meno è stato osservato nell' 11% dei soggetti trattati con l'innesto osseo e membrana GTR (Tonetti et al.

2004). È concepibile che in alcuni di questi soggetti la contaminazione della manipolazione del seguente biomateriale e il posizionamento in una ferita altamente contaminata può essere responsabile per la mancanza di un risultato di guarigione positivo.

Presi insieme con prove precedenti, questi dati supportano la necessità di condurre studi di

intervento con lo scopo specifico di valutare i benefici della massima soppressione della microflora della tasca.

Tabella 5. analisi di regressione logistica di fattori microbici che influenzano la probabilità di ottenere guadagni CAL sopra la mediana (4 3 mm)

Parametro	odds ratio ^a	95% CI.
conteggi totali	0,975	0,958-0,992
Conta di altri complessi	Non signi fi cativo	-
conteggi complesso rosso	0,985	0,974-0,996
T. forsythensis conta	0,975	0,958-0,992
Porphyromonas gingivalis conta	Non signi fi cativo	-
T. denticola conta	Non signi fi cativo	-

Ringraziamenti

Questo studio è stato in parte sostenuto dall'Accademia Toscana di Ricerca Odontostomatologica (ATRO), Firenze, Italia, dal gruppo di ricerca europeo in Parodontologia (ERGOPERIO), Berna, Svizzera, e da un assegno di ricerca senza restrizioni da Geistlich AG, Svizzera. Gli autori hanno avuto il pieno controllo dei dati, delle analisi e ha non ricevuto alcun ingresso commerciale nella preparazione del manoscritto. Gli autori desiderano esprimere la loro gratitudine alla sig.ra Regula Jordi e la sig.ra Marianne Weibel per l'assistenza tecnica competente, con le analisi microbiologiche e alla sig.ra Jean Suvan per l'esperto di coordinamento del processo multicentrico da cui è stata effettuata questa analisi secondaria.

