

MICROBIOLOGIA DEL CAVO ORALE

Giuseppe Teti - Roberto Mattina

ECOLOGIA
DEL CAVO ORALE

Ecosistema orale

Nell'ambito dei rapporti che l'uomo contrae con i microrganismi, il cavo orale rappresenta un importante punto di contatto con l'ambiente esterno, caratterizzato da un numero praticamente illimitato di contatti con i microbi.

Posta al punto di ingresso degli apparati digerente e respiratorio, la bocca è facilmente accessibile ai germi dell'aria, dell'acqua, del cibo ed a quelli delle comunità microbiche di altre superfici corporee, soprattutto delle mani. Il cavo orale non rappresenta, tuttavia, solo una stazione di transito, ma anche un sito di colonizzazione microbica stabile. Esso è costituito da una varietà di strutture che offrono *habitat* e nicchie capaci di assicurare la vita e la riproduzione di germi con caratteristiche genetiche e metaboliche diversissime. Dei microbi esistenti nell'ambiente esterno, solo una ristretta minoranza istituisce rapporti stabili di colonizzazione nel cavo orale.

La bocca fornisce condizioni eccellenti per la vita microbica.

Come in altre aree del tratto alimentare, la microflora raggiunge una notevole densità. Basta citare il fatto che in un millilitro di saliva si ritrovano oltre 500 milioni di cellule batteriche, ed in 1 grammo di placca dentaria sono presenti da 10^{10} a 10^{11} microrganismi.

La grande varietà di specie microbiche presenti nel cavo orale può essere spiegata in base

alla varietà di condizioni ambientali che è possibile riscontrare in differenti aree della bocca. Le principali sedi di colonizzazione sono rappresentate dalle superfici dentarie (aree sotto e sopra gengivali, occlusali, approssimali, buccali e linguali) e dalle superfici epiteliali (dorso della lingua e mucosa). La saliva non va, probabilmente, considerata come un vero e proprio *habitat*, dal momento che essa fluisce continuamente ed allontana i microrganismi prima che essi abbiano il tempo di riprodursi in essa. La popolazione batterica della saliva è costituita da batteri provenienti da vari *habitat*, ed in particolare dalla lingua.

Da un punto di vista ecologico, la cavità orale può essere considerata come un sistema aperto di crescita microbica, in cui le sostanze nutritive ed i microrganismi sono continuamente introdotti e rimossi (e, cioè, come un chemostato).

Proprio per questo, l'equilibrio dinamico dell'ecosistema orale è suscettibile di essere influenzato da numerosi fattori. Alcuni di questi sono di natura fisiologica ed intervengono ad intervalli regolari, come l'assunzione di cibo. Le caratteristiche di quest'ultimo (ad esempio, il grado di abrasività e la composizione in carboidrati) sono suscettibili di influenzare il microbiota orale. Altri fattori sono di natura patologica, come l'instaurarsi di carie o la perdita di denti.

Particolare importanza per l'ecosistema orale rivestono le caratteristiche chimico-fisiche dei vari *habitat*, la velocità del flusso salivare, l'igiene orale, lo stato di salute e perfino la morfologia della bocca.

Nonostante molti importanti fattori chimi-

co-fisici quali l'umidità, la temperatura, la tensione di ossigeno ed il pH del cavo orale favoriscano una vita microbica prosperosa, solo una ristretta minoranza di specie può essere considerata autoctona del cavo orale.

L'introduzione sperimentale di germi alloc-toni, anche in gran numero, è di regola seguita dalla loro rapida eliminazione. Persino l'impianto di microrganismi autoctoni risulta molto difficile se nel cavo orale si è già formato un ecosistema maturo.

Questa selettività risulta dall'interrelazione di due serie di fattori: le caratteristiche di base, proprie dei microbi colonizzatori, e le caratteristiche complessive dell'ambiente. Queste ultime esercitano sui microbi una potente spinta selettiva. I microbi orali autoctoni si sono adattati, infatti, a sopravvivere all'azione di numerosi fattori avversi, quali l'azione dilavante ed antibatterica della saliva, il sistema immune e l'azione inibitrice di altri membri della comunità.

La colonizzazione del cavo orale, oltre che selettiva, è estremamente specifica per ciascuna sede, sicché la bocca va vista come un complesso di microcosmi biologici. In ognuno di essi è possibile identificare una comunità differente, più o meno stabile nel tempo ed in continua interazione con l'esterno.

Il microbiota orale ed il suo ecosistema vanno considerati sotto due diversi aspetti: 1) la costituzione e l'equilibrio fisiologico interno; 2) il ruolo patogenetico svolto in alcune malattie del cavo orale. Considereremo per ora il primo aspetto, mentre il secondo sarà svolto nei paragrafi successivi. Nel descrivere una comunità microbica occorre considerarne non soltanto la composizione qualitativa e quantitativa espressa dal tipo e dalla proporzione delle specie che la costituiscono ma anche la evoluzione ed il metabolismo. Infatti, solo un'analisi del metabolismo *in vivo* è suscettibile di chiarire l'equilibrio interno del microbiota e la genesi di condizioni patologiche.

Solo raramente questi parametri possono essere studiati in maniera diretta. Più spesso è

necessario dedurre le notizie più importanti dal tipo di sostanze nutritive e di cataboliti presenti nella zona considerata, dalle interazioni microbiche *in vitro* e dalle esigenze di crescita su terreni artificiali.

Principali microrganismi del cavo orale

La flora del cavo orale è estremamente complessa.

I batteri che si trovano in questo distretto presentano caratteristiche che li differenziano da tutti gli altri batteri. Si tratta di veri e propri germi autoctoni che si sono specializzati a sopravvivere, a partire dalla comparsa dell'uomo sulla terra, nell'ecosistema orale. Sono state descritte fino ad ora più di trenta specie differenti, ma non vi è dubbio che numerose altre verranno ad aggiungersi nei prossimi anni, sia a causa di una migliore organizzazione tassonomica, che per la scoperta di nuove specie. Esiste, infatti, una considerevole discrepanza tra le conte batteriche eseguite con metodi microscopici diretti e quelle basate sulla conta delle colonie. Non vi è dubbio che questa discrepanza sia in parte dovuta all'insuccesso di coltivare molte specie orali. Inoltre, in base a studi di omologia del DNA, sembra probabile che i batteri attualmente classificati come *Streptococcus mutans* debbano essere suddivisi in specie diverse.

Numerosi problemi tassonomici si frappongono ancora ad una accurata classificazione dei microbi orali. Da un punto di vista pratico, è sufficiente, però, una semplice classificazione basata su tre variabili: 1) comportamento alla colorazione di Gram; 2) forma (allungata, a bastoncino, a spirale, a virgola, affusolata o tondeggiate); 3) tolleranza all'ossigeno («anaerobi» o «facoltativi»).

La tabella 13-I elenca le principali specie batteriche presenti nel cavo orale. Alcuni microrganismi sono indigeni solo del cavo orale. Essi sono rappresentati da *Actinomyces*, *Bacterionema*, *Rothia* e *Leptotrichia*. Per quel che riguarda gli altri generi esistono specie rappresentative in altre parti del corpo (vedi, ad es., *Streptococcus*). Non vi è dubbio che alcuni

TABELLA 13-I
Principali specie del cavo orale

Genere	Specie
<i>Streptococcus</i>	<i>sanguis, salivarius, mutans, mitis, mitior, milleri, intermedius, durans, morbillorum</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>viscosus, naeslundii, israeli, odontolyticus</i>
<i>Rothia</i>	<i>dentocariosa</i>
<i>Arachnia</i>	<i>propionica</i>
<i>Veillonella</i>	<i>parvula, alcalescens</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>casei, acidophilus, salivarius</i> ed altre specie
<i>Haemophilus</i>	<i>segnis</i> ed altre specie
<i>Bacteroides</i>	<i>asaccharolyticus, melaninogenicus</i> ss.* <i>intermedius, melaninogenicus</i> ss.* <i>melaninogenicus, oralis, capillosus</i>
<i>Fusobacterium</i>	<i>nucleatum, russi</i>
<i>Treponema</i>	<i>denticola, macrodentium, orale</i>
<i>Borrelia</i>	varie specie
<i>Propionibacterium</i>	<i>acnes, freudenreichii, jensenii</i>
<i>Neisseria</i>	<i>flavescens, mucosa</i> ed altre specie
<i>Capnocytophaga</i>	<i>ochracea, gingivalis</i>
<i>Campylobacter</i>	<i>sputorum</i>
<i>Selenomonas</i>	<i>sputigena</i>
<i>Eikenella</i>	<i>corrodens</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>anaerobius, micros</i>
<i>Leptotrichia</i>	<i>buccalis</i>
<i>Actinobacillus</i>	<i>actinomycetecomitans</i>

* sottospecie.

batteri abbiano più successo di altri per quel che riguarda il loro numero nell'ecosistema orale e la varietà di *habitat* che sono in grado di occupare. Da un punto di vista grossolanamente quantitativo e senza considerare, per il momento, le differenze esistenti tra *habitat* diversi, è possibile calcolare che i generi *Streptococcus* e *Actinomyces* comprendono, da soli, dalla metà ai due terzi del microbiota orale. Altri membri quantitativamente importanti sono le veillonelle, alcuni bastoncelli Gram-positivi (*Rothia* e *Bacterionema*), i lattobacilli, gli emofili ed un gruppo eterogeneo di bastoncelli Gram-negativi anaerobi obbligati, tra cui spiccano i generi *Bacteroides* e *Fusobacterium*.

Acquisizione del microbiota orale

Nei diversi tempi della vita, la comunità microbica buccale cambia con il formarsi di nuove condizioni ambientali, con l'alimentazione e, più in generale, sotto la spinta selettiva di fattori di successione allogenica ed autogenica.

La successione allogenica è regolata dai fattori chimico-fisici dell'ecosistema, esterni ai microbi. La successione autogenica è invece dovuta agli stessi colonizzatori. Questi modificano l'equilibrio tra i microrganismi esistenti man mano che occupano un determinato *habitat*, alterando la disponibilità di sostanze nutritive e/o producendo fattori antimicrobici.

Viene così a crearsi un microbiota indigeno complesso, costituito da unità interattive ed integrate, in equilibrio dinamico tra loro e l'ambiente esterno.

Ovviamente nell'utero materno il cavo orale è sterile così come sono sterili cute, mucose e le altre cavità comunicanti con l'esterno del feto. Già durante la nascita esso viene contaminato dai germi che colonizzano la vagina ed il retto della madre. Questi microrganismi sono dimostrabili a partire da qualche ora dopo la nascita, e comprendono lattobacilli, corineformi, micrococchi, enterococchi, streptococchi e "difteroidi". Pur persistendo per alcuni giorni, essi non riescono ad impiantarsi stabilmente nel cavo orale, che dimostra così, sin dalle prime ore di vita, un elevato grado di selettività. *Str. salivarius* colonizza il cavo orale da uno a tre giorni dopo la nascita e rappresenta, in questa fase, circa l'1% della flora coltivabile. Questo microrganismo, come buona parte di quelli che colonizzano successivamente la bocca, proviene dalla madre e dalle persone che sono in immediato contatto con il bambino. *Str. salivarius* raggiunge presto una situazione di preminenza numerica. L'impianto di questo microrganismo viene seguito da quello di alcuni germi anaerobi, ed in particolare da specie di *Veillonella*. Questi anaerobi non riescono a colonizzare il cavo orale se non dopo l'impianto di *Str. salivarius* o di altri germi facoltativi, fornendo un eccellente esempio di successione autogenica.

Un radicale mutamento nella flora microbi-

ca buccale avviene con l'eruzione dei denti. Questi offrono nuovi microambienti alla colonizzazione microbica caratterizzati da superfici che, al contrario delle mucose, non vanno incontro ad esfoliazione e che presentano aree relativamente protette (ad es., le fessure e le fossette delle superfici occlusali dentarie).

L'eruzione dentaria si associa alla comparsa nell'ordine di *Str. sanguis*, di *Str. mutans* e di numerose specie anaerobie come *Bacteroides* e *Fusobacterium*. La flora buccale raggiunge progressivamente la complessità che si ritrova nell'adulto. Le spirochete orali colonizzano il cavo orale in coincidenza con la pubertà e si localizzano esclusivamente nel solco gengivale.

Fattori chimico-fisici

Oltre a fattori di tipo nutritivo, alcune variabili chimico-fisiche sono suscettibili di influenzare la crescita dei batteri del cavo orale.

L'importanza di parametri quali il pH, l'umidità, il potenziale di ossido-riduzione (Eh) e la temperatura viene da tempo riconosciuta. Non vi è dubbio che questi fattori contribuiscono a limitare la colonizzazione da parte di molti microrganismi dell'ambiente esterno. Inoltre, essi condizionano la zona preferenziale di colonizzazione di alcuni batteri autoctoni dell'ambiente orale.

Il flusso salivare costituisce un importante meccanismo omeostatico nella regolazione del pH, e, più in generale, della concentrazione di numerose sostanze. La saliva, infatti, diluisce e rimuove i prodotti acidi della fermentazione, come anche varie sostanze inibitorie prodotte dal catabolismo dei microrganismi. La saliva ha un pH di 6,8-7,2, con un sistema tampone a base di bicarbonato.

Per questo motivo, in condizioni normali, il pH di varie zone del cavo orale non si discosta molto dalla neutralità. Tuttavia, in condizioni patologiche, il flusso salivare può non essere sufficiente a compensare l'effetto di elementi che perturbano il sistema. Ad esempio, in lesioni cariose, il pH è spesso uguale o inferiore a 6.

Anche in placche a ridosso di zone sane, in

individui affetti da carie in fase attiva, il pH può essere significativamente inferiore alla neutralità. Come si vedrà in seguito, è chiaro che, in condizioni di persistente acidità, ricevono un vantaggio selettivo i microrganismi più acido-tolleranti. Questi ultimi comprendono soprattutto lattobacilli, *Str. mutans*, enterococchi, lieviti e micrococchi. Nelle lesioni prodotte dalla carie i lattobacilli e *Str. mutans* sono particolarmente abbondanti e rappresentano proporzioni considerevoli della flora batterica totale. Il loro numero viene drasticamente ridotto dopo il trattamento della carie.

La cavità orale può essere considerata come un eccellente termostato regolato ad una temperatura di 35-36°C, fornito di una atmosfera ben umidificata e di un'ampia disponibilità di zone che differiscono per i livelli di tensione di ossigeno (pO₂) e di Eh.

La bocca è, quindi, potenzialmente in grado di ospitare la quasi totalità delle specie associate ai mammiferi. Se ciò non accade, è perché altri fattori, più selettivi di quelli citati (in particolare l'adesività a varie superfici, le interazioni microbiche e le difese dell'ospite) consentono la permanenza solo al ristretto numero di specie che costituiscono il microbiota orale autoctono.

I valori di Eh sono particolarmente bassi (fino a -300 mV) in una regione relativamente protetta, quella del solco gengivale. In essa si ritrovano diverse spirochete, estremamente sensibili all'ossigeno, che è pressoché impossibile isolare da altre zone del cavo orale. Tuttavia, diverse specie di anaerobi stretti si ritrovano anche in porzioni di placca relativamente esposte all'ossigeno atmosferico. Come si dirà a proposito delle interazioni microbiche, ciò avviene perché la presenza di aerobi o anaerobi facoltativi crea microambienti nei quali è possibile la crescita degli anaerobi obbligati.

Fattori nutritivi

Il cavo orale è un ambiente relativamente ricco di sostanze nutritive, soprattutto se lo si paragona agli ambienti naturali più diffusi, cioè al suolo ed alle acque. Perciò, la disponi-

bilità di sostanze nutritive nel cavo orale non sembra di per sé, esercitare una forte pressione selettiva. Ciò è confermato dal fatto che diverse specie, particolarmente esigenti dal punto di vista metabolico (ad es., diversi batteri anaerobi che necessitano di numerosi fattori di crescita), sono autoctone del cavo orale.

Le sostanze nutritive disponibili derivano dall'ospite, da altri microbi e dalla dieta. Le prime sono di gran lunga più importanti da un punto di vista quantitativo: vi contribuiscono la saliva, il liquido del solco gengivale, le cellule che vengono esfoliate dalla mucosa e i leucociti che passano nel cavo orale attraverso il solco gengivale. Come è noto, la saliva è una miscela complessa di secrezioni, tra loro differenti per proprietà fisico-chimiche, provenienti dalle tre ghiandole maggiori e dalle ghiandole minori della mucosa.

Contribuisce alla composizione della saliva anche il fluido che fuoriesce, in condizioni normali, lentamente dal solco gengivale (fluido gengivale). La composizione del fluido gengivale è simile, qualitativamente, a quella del siero.

La parte solida della saliva costituisce lo 0,5%. Di questa, circa la metà è rappresentata da materiale organico e l'altra metà da materiale inorganico, costituito essenzialmente da sali; sono presenti, inoltre, tracce di microelementi indispensabili alla crescita batterica. La concentrazione di NaCl è considerevolmente inferiore a quella del siero. Ciò provoca nella saliva una forza ionica ed una pressione osmotica nettamente inferiore rispetto a quella di altri liquidi biologici. Va ricordato, tuttavia, che la tolleranza osmotica dei batteri è molto pronunciata, sia nel senso di una iposmolarità che di una iper-osmolarità, per la presenza della parete cellulare. La concentrazione di K^+ , HPO_4^{2-} e CNS^- è maggiore nella saliva che nel plasma.

La parte organica della saliva è costituita da peptidi, proteine, glicoproteine, lipidi ed, in piccola parte, da glucosio, aminoacidi liberi ed urea. Ai costituenti organici viene dato un contributo decisivo dal fluido gengivale, che ha

una concentrazione proteica 20-30 volte maggiore rispetto alla saliva parotidea. Poiché la produzione di fluido gengivale aumenta durante i processi infiammatori del parodontio, in queste condizioni sono maggiormente disponibili ai batteri sostanze complesse, poco abbondanti nella saliva in condizioni normali. Alcuni batteri orali producono enzimi in grado di scindere diversi tipi di proteine, di polisaccaridi e di lipidi. In generale, quindi, sono pienamente utilizzabili da parte dei batteri le macromolecole presenti nelle secrezioni. In assenza di materiale nutritivo proveniente dalla dieta, la flora batterica si sviluppa e permane nella bocca con efficienza pressoché immutata. Ciò è stato dimostrato, tra l'altro, in pazienti alimentati attraverso un sondino gastrico. La sopravvivenza dei microbi orali sembra dipendere molto più dalle caratteristiche intrinseche dell'ambiente naturale al quale si sono adattati, piuttosto che dalla presenza transitoria di sostanze nutritive. È indubbio, tuttavia che la composizione della dieta può avere differenze sottili sulla proporzione di differenti specie in determinati *habitat*. Queste influenze possono giocare un ruolo nella patogenesi della carie, come vedremo in seguito, soprattutto per quel che riguarda i carboidrati.

I carboidrati della dieta, utilizzabili da parte dei batteri orali, sono gli zuccheri raffinati: saccarosio e glucosio, ed il maltosio, prodotto dall'idrolisi di cibi ricchi di amidi operata dall'amilasi salivare. Sebbene quest'ultima agisca in breve tempo, non riesce a competere con il rapido passaggio di cibo attraverso la bocca.

L'amilasi ha importanza nel rendere disponibile il maltosio solo quando agisce su particelle di cibo intrappolate fra i denti e nelle fessure occlusali. Sono soprattutto i cibi ricchi in fibre insolubili quelli che vengono più facilmente trattenuti. Poiché anche le fibre insolubili possono essere attaccate da idrolasi batteriche, la presenza di particelle trattenute di cibo è, indubbiamente, suscettibile di influenzare lo sviluppo di comunità microbiche in aree localizzate e relativamente protette del cavo orale.

Al contrario dell'amido, il glucosio ed il saccarosio contenuti negli alimenti sono pronta-

mente disponibili ai batteri in quanto altamente solubili nella saliva e diffusibili nella placca.

La maggior parte dei carboidrati della dieta, sono, comunque, disponibili ai batteri solo per brevi periodi, in maniera intermittente. Molti batteri del cavo orale, ed in particolare quelli della placca dentaria, hanno, tuttavia, la capacità di produrre polisaccaridi a partire dagli zuccheri della dieta. Queste macromolecole, sono immagazzinate sia in posizione intra- che extracellulare, e cioè nella matrice della placca. Al microscopio ottico sono visibili depositi intracellulari che si colorano con lo iodio. Nella placca, la porzione di batteri più vicina alla superficie del dente è ricca di polisaccaridi intracellulari. Tra i microbi orali, gli streptococchi sono stabili produttori di queste sostanze.

La produzione di polisaccaridi intracellulari è stata, inoltre, messa in relazione al potenziale cariogeno nell'animale sperimentale.

Influenza della dieta sul microbiota orale

Contrariamente a quel che si potrebbe credere, la dieta, nel suo complesso, non determina radicali influenze sulle comunità microbiche della bocca. Le specie microbiche identificabili in indigeni di varie tribù primitive che consumano la loro dieta naturale, come anche le proporzioni tra i microrganismi, sono essenzialmente simili a quelle degli occidentali. Esiste un'unica importante eccezione alla mancanza di effetti sulle comunità microbiche da parte della dieta: essa riguarda l'assunzione di alte quantità di carboidrati raffinati, e, soprattutto, di saccarosio. In queste condizioni, aumenta la proporzione dei microrganismi acido-tolleranti. In particolare, *Str. mutans* ed i lactobacilli subiscono forti incrementi in piccole comunità localizzate delle superfici dentarie.

Al contrario, quando diminuisce l'assunzione di carboidrati con la dieta, diminuiscono sia i microrganismi acido-tolleranti che quelli che sintetizzano glicogeno ed altri polisaccaridi intracellulari.

Va ricordato che le variazioni quantitative di *Str. mutans*, in presenza di una dieta ricca di

saccarosio, sono da attribuire più ad un aumento di adesività del batterio che ad un effetto sulla nutrizione (vedi: «Aspetti microbiologici della carie»).

Interazioni microbiche

I rapporti di mutualismo e di competizione tra i microrganismi hanno appassionato in anni recenti i microbiologi, non meno dei rapporti tra ospite e microrganismi. Anche i microrganismi stabiliscono tra loro rapporti di parasitismo, neutralismo e mutualismo.

In generale, i meccanismi di parassitismo (o antagonismo) batterico comprendono: 1) la rimozione di costituenti nutritivi essenziali; 2) alterazioni nel microambiente; 3) la produzione di sostanze antimicrobiche.

Un esempio del secondo meccanismo è costituito dal comportamento dei batteri acidogeni che creano nel microambiente valori bassi di pH, mal tollerati da numerosi altri microrganismi.

Le sostanze antimicrobiche prodotte da numerose specie batteriche vengono denominate **batteriocine**. Molti streptococchi alfa-emolitici del cavo orale producono sostanze simili a batteriocine (viridine) che potrebbero avere un ruolo protettivo nei confronti dell'invasione dell'orofaringe da parte dei bacilli Gram-negativi.

Resta tuttavia da chiarire il reale ruolo di queste viridine *in vivo*, dal momento che è spesso possibile rinvenire nelle stesse ristrette porzioni di placca, ceppi batterici che si comportano in maniera antagonistica *in vitro*. È probabile che le batteriocine dimostrabili *in vitro* vengano rapidamente inattivate *in vivo*.

Per quel che riguarda il mutualismo batterico, esistono numerosi esempi a proposito di batteri del cavo orale. Come si è accennato, l'utilizzazione di ossigeno da parte di microrganismi aerobi o anaerobi facoltativi facilita la crescita degli anaerobi obbligati.

Gli animali *germ-free* non possono essere colonizzati da parte di batteri Gram-negativi

anaerobi obbligati, se precedentemente non è avvenuta la colonizzazione da parte di batteri facoltativi.

Alcune sottospecie di *Bacteroides melaninogenicus* necessitano di cofattori simili alla vitamina K, forniti loro da altri batteri orali. Inoltre, è stato dimostrato che *Streptococcus sanguis* soddisfa la richiesta di un componente essenziale per la crescita di *Str. mutans*.

Le specie di *Veillonella* sono probabilmente dipendenti dal lattato per il loro metabolismo energetico. Esse, infatti, utilizzano il lattato prodotto da numerosi microrganismi con il metabolismo di tipo fermentativo ed hanno considerevole importanza nella catena dei metaboliti per la formazione della placca dentaria. *Treponema microdentium* dipende dalle poliamine e dall'isobutirrato prodotti dai fusobatteri e da alcuni bastoncelli Gram-positivi.

Habitat del cavo orale

Tra i vari habitat del cavo orale, un'attenzione particolare meritano quelli offerti dalle superfici dentarie, poiché sono potenzialmente associati alla carie ed alle parodontopatie.

Le aggregazioni dei batteri sulla superficie del dente vengono descritte, in maniera complessiva, col termine di «placca dentaria».

Anche le parti molli del cavo orale offrono diversi habitat per la colonizzazione batterica, ma le specie associate alle superfici mucose sono state meno studiate di quelle della placca.

Superfici mucose

Su di esse predominano gli streptococchi ed, in particolare, *Streptococcus salivarius*, che dimostra un elevato grado di aderenza alle cellule epiteliali. La lingua ospita una comunità batterica molto densa ed abbondante, quantitativamente inferiore solo a quella della placca. I batteri caratteristici della placca non si ritrovano sulla lingua, nonostante il contatto continuo e diretto tra queste due strutture. Ciò sottolinea la forte caratterizzazione ecologica e l'estrema specificità degli habitat orali. Sulla superficie della lingua si trova una flora carat-

teristica, rappresentata soprattutto da *Str. salivarius* ed, in misura minore, da specie del genere *Veillonella*. *Micrococcus mucillagenosus*, un microrganismo abbastanza tipico del dorso della lingua, produce grosse quantità di un polisaccaride extracellulare. Questo polisaccaride rende più viscoso il materiale che copre il dorso della lingua e contribuisce alla lubrificazione di quest'ultima.

Placca dentaria

Nella placca dentaria i batteri possono essere riguardati come cellule che, per analogia con quelle animali, costituiscono veri e propri tessuti. La placca dentaria è formata per circa il 70% da cellule batteriche di specie diversa, legate tra loro da una sostanza cementante denominata matrice. Questa matrice, che occupa il restante 30%, è composta da proteine e da polimeri di origine salivare e batterica, in parte adsorbiti all'idrossiapatite dello smalto.

La quantità (e la densità) maggiore dei microbi orali si ritrova sulle superfici dentarie. In condizioni di scarsa igiene orale, il numero complessivo di batteri associati ai denti può raggiungere diverse centinaia di miliardi.

È opportuno considerare quattro aspetti della placca dentaria: 1) la formazione; 2) la composizione in termini di specie batteriche; 3) il metabolismo; 4) la patogenicità. Alcuni aspetti del metabolismo e della patogenicità saranno visti a proposito della carie e delle parodontopatie.

Formazione della placca

La formazione della placca dentaria ha luogo in diverse fasi che riguardano, dapprima, un'interazione chimico-fisica tra costituenti della saliva e dello smalto e poi la crescita di una comunità microbica popolatissima. In particolare sono distinguibili tre fasi diverse: 1) adsorbimento di polimeri dalla saliva; 2) adesione dei batteri; 3) moltiplicazione dei batteri.

Adsorbimento di polimeri

Immediatamente dopo una completa pulizia, il dente si riveste di uno strato sottile di polime-

ri provenienti dalla saliva (pellicola secondaria o acquisita). Si tratta di un processo di adsorbimento selettivo, per il quale macromolecole con particolare affinità per l'idrossiapatite lasciano la fase liquida per stabilire con lo smalto una serie di interazioni chimiche deboli (forze elettriche e di Van der Waals). La pellicola secondaria è visibile al microscopio, nella placca matura, come un deposito amorfo situato tra il dente e la massa batterica, spessa circa 1 μm . I polimeri che la compongono sono rappresentati da glicoproteine secrete dalle ghiandole salivari e da materiali con reattività AB0. È possibile che anche piccole quantità di prodotti batterici (soprattutto acidi teicoici e polisaccaridi) si leghino alla superficie dentaria.

La pellicola secondaria ha importanza per la colonizzazione batterica. Infatti, dal momento che essa si forma rapidamente, i batteri hanno maggiori probabilità di interagire con la pellicola, piuttosto che direttamente con l'idrossiapatite.

Adesione batterica

I batteri aderiscono al dente dapprima reversibilmente e poi irreversibilmente. L'adesione reversibile si verifica già dopo pochi minuti dalla pulitura del dente.

La concentrazione dei batteri nella saliva ha un ruolo importante in questa fase. Esiste, infatti, una relazione diretta tra questo parametro ed il numero dei batteri adesi alla superficie dentaria. Al di sotto di una determinata concentrazione (in genere 10^4 - 10^3 /ml), non si ha più adesione. Questo valore limite varia con le specie batteriche ed è più basso per quelle con maggiore affinità per la superficie dentaria.

Questa affinità riguarda le interazioni fra componenti di superficie del batterio e le glicoproteine della pellicola secondaria o, più raramente, lo smalto.

La superficie di diversi batteri orali ha una spiccata affinità per alcune componenti salivari, ivi comprese quelle con attività AB0.

Queste interazioni sono specifiche. Infatti, differenti ceppi di streptococco reagiscono con

differenti glicoproteine ad alto peso molecolare. Una molecola di glicoproteina si lega contemporaneamente a più cellule batteriche e ne determina l'aggregazione (agglutinazione non-immune).

È intuibile come la capacità dei batteri di legarsi a glicoproteine salivari possa favorire l'adesione alla superficie dentaria per mezzo di un «ponte» costituito dalla cuticola secondaria. Come si è detto, infatti, in quest'ultima sono presenti le glicoproteine con attività agglutinante i batteri.

L'aderenza batterica reversibile è, pertanto, rappresentabile come un sistema nel quale le glicoproteine specifiche adsorbite in fase solida competono per i batteri con le glicoproteine disciolte nella saliva. Se l'interazione batterio-glicoproteine si verifica in fase liquida, prima che in fase solida, si ha un'inibizione dell'aderenza; in caso contrario il batterio aderisce alla superficie dentaria.

Questo tipo di meccanismo non esclude l'intervento di altri fattori, come l'adesione diretta del batterio allo smalto mediante molecole di superficie (soprattutto acidi teicoici) con affinità per l'idrossiapatite.

La fase di adesione irreversibile può coinvolgere diversi meccanismi. Solo una frazione di germi inizialmente adesi reversibilmente riesce ad ancorarsi permanentemente alla superficie dentaria.

Diversi dati indicano che l'adesione irreversibile si effettua mediante la sintesi extracellulare di polimeri che fanno da cemento tra batterio e dente. La base molecolare di questo processo è stata studiata dettagliatamente negli streptococchi ed, in particolare, in *Str. mutans*. I polimeri responsabili dell'adesività di queste specie sono di natura polisaccaridica e vengono sintetizzati direttamente a partire dal saccarosio. Nel caso di *Str. mutans*, la sintesi di polisaccaridi extracellulari è effettuata da un sistema enzimatico, la glicosil-transferasi, legata alla superficie esterna della cellula.

Questo sistema può essere messo in evidenza solo se si fa riprodurre il germe in presenza di

saccarosio; in altre parole, l'enzima è indotto dal substrato. La glicosil-transferasi scinde il legame disaccaridico della molecola di saccarosio; il glucosio ed il fruttosio, che derivano da questa idrolisi, vengono incorporati nella catena dei rispettivi omopolimeri (glucano e fruttano), utilizzando l'energia di legame del saccarosio. Il polimero più importante per l'adesività di *Str. mutans* è un determinato tipo di glucano, denominato **mutano**. Questo è particolarmente insolubile ed è solo lentamente catabolizzato dai batteri nella placca. Il mutano si differenzia chimicamente dai glucani solubili, simili al destrano, perché possiede più del 50% di legami alfa 1-3. Sia il mutano che altri glucani sono presenti nella placca e possono essere sintetizzati da microrganismi diversi da *Str. mutans*. Solo *Str. mutans*, però, ha la proprietà di legare glucani preformati alla propria superficie. Questa interazione è legata alla presenza di glicosil-transferasi di superficie e può facilitare, *in vivo*, l'adesione di aggregati cellulari ai destrani della placca.

Il genere *Actinomyces* possiede anch'esso proprietà adesive nei confronti di superfici solide. Queste proprietà sono probabilmente dovute alla sintesi di un etero-polisaccaride contenente N-acetilglucosamina. L'aggiunta dell'etero-polisaccaride a sospensioni di cellule di *Actinomyces* è in grado di determinare l'agglutinazione.

Moltiplicazione batterica

Dopo che le cellule batteriche si sono saldamente ancorate alla superficie dentaria, esse iniziano a riprodursi.

Va sottolineato che il tipo di crescita batterica caratteristico della placca, come di altri ecosistemi naturali, presenta ben pochi aspetti in comune con la regolarità e la progressione che caratterizzano la moltiplicazione batterica *in vitro*, su terreni di coltura.

Quest'ultimo tipo di crescita è talmente regolare e prevedibile da potere esser accuratamente descritta con formule matematiche.

Innanzitutto, nella placca il tempo di genera-

zione medio è di 3-12 ore, ed è, cioè, assai più lento di quello su terreno di coltura. È molto probabile, inoltre, che nella placca, accanto ad una crescita lenta e continua di certe specie; si verifichino rapidi incrementi della riproduzione di altre specie, seguiti da fasi di relativa quiescenza.

Le prime specie che si stabiliscono sulla superficie dentaria modificano questo *habitat* al punto da renderlo suscettibile alla colonizzazione di nuovi microrganismi. Oltre a ciò, alcuni microrganismi che, pure, inizialmente si erano stabiliti accanto alle prime specie, vengono scacciati dall'*habitat* perché questo viene reso per loro inabitabile ad opera di altri microrganismi. La formazione della placca rappresenta, così, un classico esempio di successione autogenica. La comunità cresce in numero e complessità, cambiano le proporzioni tra varie specie ed alcune di queste appaiono e scompaiono.

Dopo un certo periodo di tempo cessa l'accrescimento della placca e si raggiunge uno stato di relativa stabilità nella sua composizione. Il risultato finale di questo processo è la formazione di una comunità microbica integrata, dotata di un considerevole grado di organizzazione metabolica e strutturale.

Per quanto stabile, la placca è aperta all'interazione con numerosi fattori dell'ambiente. Alcuni di questi sono poco appariscenti e suscettibili di determinare, tutt'al più, l'incremento di poche specie in punti assai localizzati della placca. Altri, più ovvi, come le manovre di igiene orale scompagginano drasticamente o distruggono la struttura della placca, ricreando le condizioni per una nuova colonizzazione.

Già ad un giorno dalla pulitura dei denti è spesso possibile osservare ad occhio nudo piccole colonie di superficie. Successivamente la crescita diviene confluyente, sia per l'ingrandirsi di singole colonie, che per il sopraggiungere di nuovi batteri. Man mano che la placca aumenta di spessore le cellule si dispongono in lunghe file perpendicolari alla superficie (una fila può contare oltre 500 cellule). Nelle placche mature predominano forme filamentose in bande parallele. In alcune zone ristrette della placca si

osservano talvolta delle singolari figurazioni «a pannocchia di granturco». Si tratta di forme filamentose alle quali aderiscono numerosi cocci (i chicchi della pannocchia) per mezzo di sottili propaggini simili a fimbrie. Non sono ancora state identificate le specie che compongono queste formazioni che rappresentano un chiaro esempio di associazione microbica.

Il materiale di origine salivare, che si deposita sulle superfici batteriche durante l'accrescimento della placca svolge, probabilmente, una funzione simile al collagene dei tessuti nel tenere insieme le varie cellule. L'interazione specifica delle glicoproteine salivari e di macromolecole batteriche con le superfici cellulari gioca un ruolo importante in questa azione cementante. Nella descrizione delle specie batteriche che contribuiscono alla formazione della placca è utile distinguere una fase iniziale di colonizzazione (8 ore), una fase di crescita rapida (8-48 ore) ed una di maturazione (2-6 giorni).

Nella fase iniziale *Str. sanguis* rappresenta l'organismo predominante. Sono isolabili altre specie streptococciche (*Str. mitis*) ed *A. viscosus*, ma anche anaerobi come *Peptostreptococcus*. Nella fase di crescita rapida aumenta notevolmente la complessità della placca, con uno spostamento verso forme di anaerobi obbligati e l'abbassamento del potenziale di ossido-riduzione. Si aggiungono alla comunità, in questa fase, *Veillonella*, *Lactobacillus casei*, *Rothia dentocariosa*, *Neisseriae* e *Fusobacterium*.

Nella fase di maturazione aumenta di poco il numero complessivo di microrganismi ma si ha un incremento del numero delle specie presenti ed ulteriori variazioni nelle loro proporzioni.

ASPETTI MICROBIOLOGICI DELLA CARIE DENTARIA

Caratteri generali

La carie dentaria è una malattia batterica caratterizzata dalla distruzione localizzata e progressiva dei tessuti duri del dente e dalla formazione di cavità. La carie spesso determina, oltre che la distruzione di buona parte della coro-

na dentaria, processi infettivi della polpa e dei tessuti peri-apicali.

La malattia colpisce non solo lo smalto e la dentina, ma anche il cemento se questo viene esposto all'ambiente orale (carie radicolare). Verranno considerati qui gli aspetti batteriologici della fase iniziale di questa affezione, che riguarda solo lo smalto.

La carie, assai diffusa in un numero sempre crescente di regioni del mondo, rappresenta uno tra i più urgenti problemi di sanità pubblica. I successi ottenuti nel controllo di molte altre malattie batteriche durante gli ultimi 100 anni stanno in netto contrasto con l'indifferenza e l'immobilismo che hanno circondato il problema della carie fino ad anni molto recenti. Eppure, il prezzo pagato dalla comunità per il trattamento delle conseguenze della carie supera quello di qualsiasi altra malattia infettiva.

Oggi appaiono ben consolidate le basi scientifiche che hanno consentito la comprensione della patogenesi di questa malattia.

È possibile prevedere che nei prossimi anni verranno ottenuti importanti successi nel controllo della carie se verranno allargati i canali di informazione tra la comunità scientifica, il pubblico e gli operatori sanitari. I dati fin qui raccolti giustificano pienamente gli sforzi che si stanno compiendo per la messa a punto di un vaccino anti-carie, oltre che per l'attuazione di misure preventive il cui valore è stato già da tempo dimostrato. Tra queste, la consulenza dietetica, l'insegnamento delle pratiche di igiene orale e l'aggiunta di fluoruro alle acque potabili che ne sono povere.

La carie è una malattia multifattoriale che origina da un'alterazione dell'equilibrio omeostatico tra l'ospite ed il microbiota indigeno della placca. Questo equilibrio viene influenzato, nella genesi della carie, in maniera determinante dall'assunzione dei carboidrati della dieta.

Dalla parte dell'ospite giocano un ruolo importante fattori dello smalto, della saliva e del sistema immune. Per quel che riguarda la plac-

ca, rivestono grande importanza la composizione batterica, la capacità di produrre acidi organici e la loro diffusibilità attraverso la matrice.

La presenza di batteri è un requisito indispensabile per la genesi della malattia. Non vi è dubbio che la fase iniziale della carie consista in una demineralizzazione dello smalto dovuta ad un abbassamento locale del pH. Questo abbassamento è causato dalle elevate concentrazioni di acidi organici prodotti dai batteri della placca durante la fermentazione di diversi tipi di carboidrati.

D.W. Miller fu il primo ad ipotizzare un meccanismo di questo tipo, che va sotto il nome di **teoria chimico-parassitaria**. Egli dimostrò nel 1890 che l'aggiunta *in vitro* di carboidrati a sospensione di batteri orali induceva la formazione di sostanze acide in quantità sufficiente a demineralizzare i tessuti duri del dente. Scrive Miller: «una mistura di 68 grammi di saliva più un grammo di pane, più mezzo grammo di carne e mezzo grammo di zucchero, mantenuto per 48 ore alla temperatura del corpo umano, generava una quantità di acido più che sufficiente a decalcificare l'intera corona di un dente molare».

In anni più recenti, dopo la dimostrazione che lo smalto contiene piccole quantità di una matrice proteica, sono state avanzate teorie diverse da quella chimico-parassitaria per spiegare la patogenesi della carie. Secondo queste teorie la fase iniziale della malattia sarebbe rappresentata dalla rimozione della matrice organica da parte di enzimi proteolitici prodotti dai batteri della placca. Successivamente il materiale inorganico disorganizzato verrebbe solubilizzato da molecole in grado di complessarlo, derivate dalla placca o da frammenti di matrice. Queste teorie non sono state supportate da convincenti prove sperimentali. Al contrario, la teoria chimico-parassitaria ha ricevuto numerosissime conferme.

La dimostrazione da parte di Pasteur, Koch ed altri che determinati agenti microbici erano la sola causa di svariate malattie infettive diede il via alla ricerca di un microorganismo che potesse essere considerato, da solo, causa della carie. Dal momento che i lattobacilli si rinvenivano in alto numero nelle lesioni cariose e sono

in grado di produrre notevoli quantità di acido, questi batteri vennero implicati come agenti eziologici. È improbabile, tuttavia, alla luce delle conoscenze odierne, che essi siano responsabili dell'instaurarsi della fase iniziale della carie.

Negli anni '40 Stephan condusse importanti osservazioni *in vivo* misurando il pH della placca con un elettrodo posto sulla superficie dentaria. Subito dopo uno sciacquo con una soluzione di saccarosio o di glucosio, il pH della placca scendeva nel giro di pochi minuti a valori nettamente inferiori per poi risalire, più lentamente, ai valori precedenti il test. La figura 13-1 mostra una tipica «curva del test di Stephan».

È possibile distinguere nella figura 13-1 una fase di formazione di acido, una breve fase in cui il pH si mantiene ad un livello minimo ed una fase di rimozione dell'acido. La rapida diminuzione del pH si verifica perché, all'inizio, i batteri della placca producono acidi organici a partire dal carboidrato somministrato con una velocità maggiore della velocità di diffusione, al di fuori della placca, degli acidi organici stessi. Curve di pH simili a quelle descritte si verificano in qualsiasi tipo di placca, sia a ridosso di aree colpite da carie che in aree sane e sia in soggetti normali che in soggetti affetti da carie in fase attiva.

In questi ultimi, tuttavia, anche su zone normali di smalto la posizione della curva del test

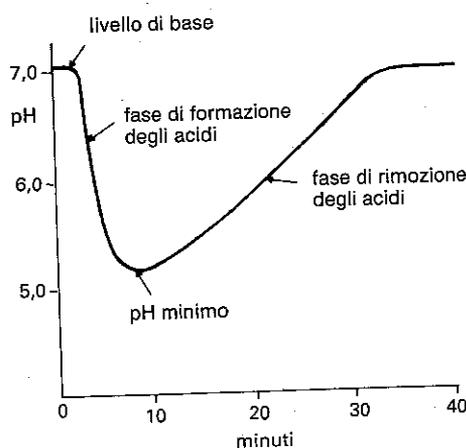


Fig. 13-1. - Curva del test di Stephan.

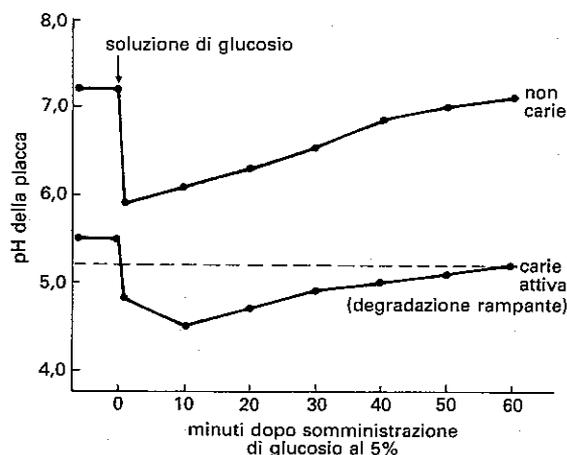


Fig. 13-2. — Curve di Stephan di soggetti esenti da carie e di quelli con degradazione rampante (ridisegnata da Michalek S.M., McGhee J.R. e Cassell G.H.: *Microbiologia dentale*, Piccin, Padova, 1988).

di Stephan sulla scala del pH si trova più in basso (fig. 13-2). In particolare, non solo i livelli basali, ma anche il pH minimo è inferiore e la fase di rimozione delle sostanze acide più lenta. La concentrazione di lattato nella placca segue da vicino i valori di pH della curva del test di Stephan.

Numerosi studi hanno confermato queste osservazioni. In soggetti normali il pH minimo, durante il test di Stephan, è in media di 6,4, mentre in soggetti affetti da carie in fase attiva è, in media, 5,4.

Una conseguenza di queste osservazioni è che non tutte le placche dimostrano la stessa capacità di produrre acidi organici e quindi la stessa cariogenicità. Posseggono questa caratteristica le placche in grado di far diminuire il pH al di sotto di un certo livello critico in seguito all'esposizione ai carboidrati della dieta.

L'idrossiapatite, una delle forme minerali di fosfato di calcio ed il costituente principale dello smalto, della dentina e del cemento, è scarsamente solubile a pH neutro o alcalino e diviene progressivamente più solubile con l'aumentare dell'acidità.

Il livello critico di pH (**pH critico**) corrisponde al grado di acidità al quale l'idrossiapatite

dello smalto si solubilizza ed ha inizio la demineralizzazione.

Come dettato da una legge di chimico-fisica, questo valore dipende, tra l'altro, dalla concentrazione di fosfato di calcio presente nell'ambiente immediatamente circostante l'idrossiapatite. Nonostante il concetto di "pH critico" sia stato formulato inizialmente in relazione al pH della saliva, è indubbio che la placca dentaria e non la saliva costituisce l'immediato ambiente che circonda la superficie dello smalto potenzialmente soggetta alla demineralizzazione.

Numerose difficoltà si frappongono all'esatta determinazione sperimentale del pH critico. Non sono ben conosciuti la concentrazione e lo stato fisico del fosfato di calcio all'interno della placca. È inoltre verosimile che il livello di pH critico vari entro un certo margine in individui diversi o anche in zone diverse dello stesso dente a seconda della composizione chimica dello smalto, come per un differente contenuto di fluoro.

È stato calcolato che il pH critico della placca si trova in un ambito di valori che vanno da 5,2 a 5,7. Studi che correlano nell'animale e nell'uomo il pH della placca con l'attività della carie confermano queste valutazioni. La nozione di pH critico rappresenta, comunque, un concetto teorico di importanza cruciale alla comprensione della patogenesi della carie. Se si accetta la nozione di pH critico, i batteri della placca possono essere suddivisi in due categorie in base alla capacità, o meno, di convertire i carboidrati in sostanze acide al di sotto del pH critico. Infatti, mentre la grande maggioranza dei batteri del cavo orale è in grado di produrre acidi organici a partire da svariati carboidrati in condizioni di neutralità, solo poche specie batteriche riescono a farlo in presenza di valori di acidità vicini al pH critico.

Da quanto detto è evidente che la capacità di produrre acidi organici (potenziale acidogeno) varia grandemente a seconda del tipo di placca e della specie batterica considerata. Poiché solo placche con forte potenziale acidogeno si associano a carie dentarie, il problema della patogenesi della carie può essere riformulato nella maniera seguente: quali sono i fattori responsabili dell'incremento del potenziale acidogeno della placca? Questi fattori riguardano

alcune proprietà della saliva, dei carboidrati della dieta e della placca stessa.

Saliva

L'influenza della saliva sul processo della carie riguarda, in primo luogo, i suoi effetti neutralizzanti l'acidità della placca. Un flusso salivare adeguato, infatti, diluisce ed allontana gli acidi organici contribuendo al ritorno del pH verso i valori normali dopo l'esposizione a cibi ricchi di carboidrati. A conferma di questo assunto esistono numerose osservazioni. Se si riduce il flusso di saliva risucchiandola nel punto di sbocco dai dotti delle ghiandole maggiori, la concentrazione di lattato e l'acidità della placca aumentano in maniera marcata in seguito all'esposizione a carboidrati. La rimozione delle ghiandole salivari negli animali accelera enormemente lo sviluppo di carie. Anche i pazienti che soffrono di una diminuita secrezione salivare (xerostomia), spesso secondaria ad irradiazione, sviluppano forme gravi di carie. Va notato, inoltre, che i denti posti in zone del cavo orale più direttamente esposte al flusso salivare, sviluppano meno frequentemente carie rispetto ai denti meno esposti; ad esempio, vengono colpiti raramente i denti mandibolari anteriori che ricevono direttamente il flusso salivare proveniente dagli orifici delle ghiandole sottolinguali e sottomandibolari.

Nel caso di placche dotate di forte spessore, l'effetto neutralizzante della saliva è assai meno efficace. Grossi accumuli batterici sono, infatti, suscettibili di rallentare considerevolmente la diffusione degli acidi organici verso la superficie esterna della placca.

Ciò può spiegare l'associazione tra placche dentarie abbondanti e attività della carie nell'uomo.

Il ruolo protettivo della saliva può essere spiegato, almeno in parte, anche da fattori diversi dalla diluizione degli acidi organici.

È intuibile come l'azione neutralizzante della saliva possa essere tanto maggiore quanto più è elevato il potere tampone o il pH intrinseco,

come nel caso di concentrazioni elevate di urea ed ammoniaca.

Un terzo effetto protettivo è rappresentato dal rallentamento, da parte della saliva, della formazione di accumuli batterici sulla superficie dentaria. Si è già detto, infatti, del continuo allontanamento dei batteri operato dalla saliva sia con mezzi puramente meccanici (velocità di flusso), che attraverso un'inibizione specifica dell'aderenza (glicoproteine con attività agglutinante).

Carboidrati

Tranne che per piccolissime quantità provenienti dalle glicoproteine salivari e dalle cellule di sfaldamento della mucosa orale, i carboidrati fermentabili dai batteri della placca provengono dalla dieta sotto forma di oligo- e polisaccaridi. I cibi contenenti saccarosio ed amido sono quelli più suscettibili di contribuire, nell'uomo, alla formazione di acido da parte dei batteri orali.

Entrambi questi zuccheri possono essere trasformati in glucosio ed in altri substrati prontamente fermentabili. L'amido viene idrolizzato a maltosio dalle amilasi salivari; il maltosio viene a sua volta degradato a glucosio dalla maltasi dei batteri della placca.

Anche il saccarosio viene rapidamente scisso in glucosio e fruttosio da enzimi batterici.

È probabile che il saccarosio contribuisca maggiormente, rispetto all'amido, alla formazione di acido. Il saccarosio è, infatti, assai solubile e diffonde rapidamente nella placca producendo livelli istantanei di carboidrati fermentabili assai più elevati. Va ricordato, d'altra parte, che l'amido viene trattenuto più facilmente del saccarosio nelle zone ritentive dei denti e potrebbe contribuire alla formazione locale di acido per periodi più protratti.

Non vi è dubbio che esista uno stretto rapporto tra l'assunzione giornaliera di carboidrati e l'entità della carie in tutti i tipi di popolazioni umane esaminate. Oltre al consumo tota-

le dei carboidrati gioca un ruolo importante anche la frequenza di assunzione.

L'attuale, elevatissima, incidenza di carie delle società occidentali industrializzate sembra derivare, in special modo, dall'alta disponibilità di carboidrati raffinati. Infatti, le popolazioni primitive che consumano cibi contenenti alte percentuali di carboidrati non raffinati sono meno soggette alla carie. Quando queste popolazioni, come gli Eschimesi o gli Indios dell'Amazzonia, vengono esposti a diete occidentali sviluppano anch'esse una elevata incidenza della patologia.

L'importante ruolo del saccarosio nella patogenesi della carie viene confermato da osservazioni condotte su pazienti che non consumano saccarosio, perché affetti da intolleranza secondaria ad una deficienza congenita dell'enzima saccarasi. Una minore incidenza di carie è evidente, non solo in questi malati, ma anche in individui sottoposti a diete nelle quali il saccarosio viene sostituito da surrogati non fermentabili.

Placca

Nell'uomo la placca è *conditio sine qua non* per lo sviluppo della carie. Esiste, inoltre, un'associazione, sia pure non assoluta, tra quantità della placca e carie. Numerosissimi studi hanno dimostrato che la rimozione della placca, mediante pratiche regolari di igiene orale, ha un effetto protettivo nei confronti della malattia. È noto che la carie si verifica soprattutto in zone del dente nelle quali la placca si accumula più spesso ed in maggiore quantità, come ad esempio nelle aree più difficilmente raggiungibili dalle manovre di igiene orale.

Fino ad anni recenti era opinione diffusa che la placca dentaria possedesse cariogenicità indipendentemente dal tipo di batteri da cui è composta (teoria della non-specificità della placca).

Numerose osservazioni nell'uomo e negli animali da laboratorio contraddicono questa nozione ed indicano che esiste un notevole grado di specificità batterica nell'eziologia della carie.

Innanzitutto, nonostante l'associazione di massima tra quantità di placca e carie umana, alcuni individui non sviluppano la malattia nonostante la scarsità o l'assenza di misure di igiene orale e nonostante presentino placche abbondanti.

Inoltre, campioni di placca, provenienti da diversi individui, o da aree dentarie diverse di uno stesso individuo ed accuratamente standardizzati in base al peso e alla densità batterica, variano grandemente per quel che riguarda il potenziale acidogeno. Le esperienze nell'induzione di carie sperimentali in roditori sottolineano ulteriormente l'importanza della composizione della placca, piuttosto che della sua massa o di altri fattori non specifici. Infatti, alcuni batteri della placca non riescono a provocare carie in roditori, anche quando venga loro somministrata una dieta ricca in saccarosio e, perciò, altamente cariogena. Al contrario, altre specie batteriche, tra cui in particolare *Str. mutans*, inducono regolarmente la malattia nelle medesime condizioni sperimentali.

Sono cariogene, inoltre, alcune specie di *Streptococcus faecalis*, alcuni streptococchi orali e pochi membri dei generi *Lactobacillus* ed *Actinomyces*.

La cariogenicità varia, però, grandemente anche tra i batteri cariogeni, a seconda della gravità delle lesioni indotte e del numero di denti colpiti. *Str. mutans* è la specie che possiede maggior cariogenicità.

Questo microorganismo è inoltre capace di indurre la malattia in un ambito ampio di ospiti diversi, dai roditori alle scimmie.

Non v'è dubbio che la cariogenicità sia, in parte, strettamente legata all'abilità di un microorganismo ad infettare il dente, aderendo alla superficie dello smalto e formando accumuli relativamente densi di cellule batteriche.

Molti batteri, dotati di forte acidogenicità ed acido-tolleranza (e cioè capaci di sopravvivere e riprodursi a valori relativamente bassi di pH), non sono cariogeni nell'animale da laboratorio, per il semplice fatto che non sono in grado

di colonizzare le superfici del dente e vengono rapidamente eliminati.

È indubbio, inoltre, che un determinato microrganismo cariogeno avrà tante maggiori probabilità di iniziare la demineralizzazione di una zona di smalto, quanto maggiore sarà il numero di cellule che colonizzano quella zona. Infatti, la densità di cellule batteriche che si trovano a ridosso dello smalto è direttamente proporzionale alla quantità di acido, per unità di superficie, che esse possono produrre in seguito all'assunzione di carboidrati.

Nel caso di animali mono-infettati (gnotobiotici che ospitano una sola specie microbica) con un batterio cariogeno, esiste una stretta relazione tra gravità della carie e massa della placca.

Va sottolineato, però, che la massa della placca rappresenta solo uno degli elementi determinanti del potenziale cariogeno. Infatti, la capacità di colonizzare il dente è un fattore necessario, ma non sufficiente, allo sviluppo della carie.

Alcune specie di *Actinomyces* aderiscono massivamente alla superficie dentaria nei criceti, formando abbondanti ammassi di placca, ma sono incapaci di indurre carie. Ciò avviene probabilmente per il fatto che queste specie batteriche non sono in grado di produrre, o di tollerare, elevate concentrazioni di acidi organici.

L'importanza del potenziale acidogeno dei batteri viene sottolineata da studi nei quali sono stati impiegati mutanti di *Str. mutans* che differiscono dal ceppo di derivazione per la mancanza dell'enzima lattico-deidrogenasi, e, quindi per l'incapacità di convertire l'acido piruvico in acido lattico. Questi mutanti aderiscono efficacemente alle superfici dentarie di ratti gnotobiotici e formano depositi abbondanti, ma, al pari delle specie su citate di *Actinomyces* nel criceto, non inducono carie. Al contrario, il ceppo di *Str. mutans* da cui derivano è fortemente cariogeno. Ciò dimostra che la capacità di un batterio di produrre acidi organici in quantità sufficiente a demineralizzare lo smalto è un prerequisito per la cariogenicità.

Nel considerare il potenziale cariogeno di un determinato microrganismo, gioca un ruolo importante non solo la quantità di acido che esso riesce a produrre, o meglio la velocità di produzione, ma anche la sua acido-tolleranza. Tornando al concetto di pH critico (e cioè del grado di acidità necessario ad indurre la solubilizzazione dell'idrossiapatite dello smalto), è comprensibile come un microrganismo possa essere considerato responsabile della demineralizzazione solo se è in grado di sopravvivere e di continuare la produzione di sostanze acide in condizioni di pH vicine al pH critico. In caso contrario, il batterio non riuscirebbe a mantenere il pH a livello sufficientemente bassi e per un lungo tempo.

L'acido-tolleranza può venire espressa in vari modi e studiata con diversi modelli sperimentali. Vanno innanzitutto considerati i valori di pH più bassi ai quali sono possibili: 1) la crescita; 2) la produzione di acido; 3) la sopravvivenza.

Il «pH finale» rappresenta il pH osservato dopo incubazione di una coltura pura in brodo in presenza di un eccesso di carboidrati per un periodo di alcuni giorni. Esso dà un'indicazione approssimativa del grado di acido-tolleranza del metabolismo fermentativo (e quindi della stessa produzione di acidi organici) dei vari batteri.

Dati dettagliati sull'acido-tolleranza esistono solo per pochi batteri della placca. Di gran lunga più acido-tolleranti sono, nell'ordine, i lattobacilli omofermentativi (e cioè quelli in cui i prodotti della fermentazione sono rappresentati quasi esclusivamente da acido lattico), *Str. mutans* e *Str. salivarius*.

In questi microrganismi, l'acido-tolleranza è accompagnata anche da un grado elevato di acidogenicità.

Tra i batteri acido-tolleranti solo *Str. mutans* sembra possedere una spiccata abilità a colonizzare le superfici lisce del dente, aderendo tenacemente ad esse. Va ricordato, comunque, che i lattobacilli possono colonizzare le superfici ritentive del dente.

I lattobacilli omofermentativi possono iniziare la crescita a pH inferiore a 5 e sopravvivono a valori inferiori a 4. Il loro pH finale è uguale o inferiore a 4. Per *Str. mutans* e *Str. salivarius* il pH finale è di poco superiore a quello dei lattobacilli ed essi possono iniziare la crescita a pH di 5,1 - 5,2.

Sono relativamente acidogeni alcuni ceppi di stafilococchi, di lieviti, di actinomiceti e di enterococchi, anche se in misura minore ai batteri precedentemente citati. Gli altri batteri della placca sono considerevolmente meno acidotolleranti.

Da quanto detto è comprensibile come, in placche frequentemente esposte ad elevate concentrazioni di carboidrati fermentabili, possano più facilmente crescere e riprodursi i batteri acido-tolleranti rispetto agli altri batteri della placca. Nelle placche a potenziale particolarmente acidogeno, i valori di pH saranno frequentemente inferiori alla neutralità rallentando il metabolismo e la crescita di microrganismi relativamente acido-intolleranti. In altre parole, i batteri acido-tolleranti usufruiscono di un vantaggio selettivo quando l'esposizione a carboidrati sia particolarmente ripetuta od intensa.

Ciò è stato comprovato da numerose osservazioni che indicano una maggiore prevalenza di lattobacilli e di *Str. mutans* in placche con metabolismo acido.

È chiaro che la selezione di microrganismi più acido-tolleranti tende ad aumentare anche il potenziale acidogeno della placca. Infatti i batteri più acido-tolleranti sono anche quelli più acidogeni.

Va ricordato, infine, un terzo fattore che, oltre alla acidogenicità e alla acido-tolleranza dei batteri, potrebbe contribuire al potenziale acidogeno della placca: la diffusibilità in essa, e particolarmente nella matrice, di carboidrati fermentabili e di acidi organici. Una maggiore diffusibilità di carboidrati favorirebbe una maggiore acidità perché li renderebbe più immediatamente disponibili al metabolismo fermentativo dei batteri.

L'opposto accadrebbe, invece, per quel che

riguarda gli acidi organici che verrebbero trattenuti per un tempo più breve all'interno della placca e sarebbero propriamente disponibili all'azione tampone e diluitrice della saliva. Poiché la matrice della placca è composta in buona misura da prodotti batterici extracellulari, il potenziale cariogeno di un batterio potrebbe essere, in parte, determinato anche dal tipo di matrice interbatterica che esso crea ed alla diffusione, in questa, degli acidi organici. Esiste qualche dato indicante che, in placche particolarmente acidogene, è ridotta la diffusibilità di acidi organici nella matrice.

Meccanismi patogenetici

Sono stati sin qui esaminati isolatamente i fattori della saliva, della dieta e della placca che possono contribuire allo sviluppo della carie dello smalto. È possibile, a questo punto, organizzare le informazioni raccolte per ricapitolare alcuni dei meccanismi patogenetici più importanti.

Si è visto come le placche con un forte potenziale cariogeno abbiano anche una capacità nettamente maggiore, rispetto a quelle normali, di sviluppare sostanze acide. Un punto cruciale nello spiegare la patogenesi della carie è quello di analizzare il meccanismo che induce una placca «normale» a trasformarsi in una placca «patogena». Non vi è dubbio che, in questo processo, la quantità e la frequenza di assunzione di carboidrati con la dieta e in particolare del saccarosio giochi un ruolo determinante. Infatti, placche con basso potenziale acidogeno si ritrovano non solo in individui o in popolazioni non affetti da carie, ma anche in individui nutriti mediante sondino gastrico o mediante diete prive di saccarosio e fruttosio. Quando primati nutriti con sondini gastrici assumono di nuovo una dieta *per os*, ricca di carboidrati fermentabili, le loro placche mostrano un progressivo incremento dell'acidità di base e del potenziale acidogeno. Infine, le curve di pH dopo il test di Stephan, in questi animali, diventano indistinguibili da quelle di pazienti con carie in fase attiva.

Le alterazioni del potenziale acidogeno, indotte dai carboidrati, si accompagnano a im-

portanti alterazioni nella composizione della placca; in particolare, aumentano le proporzioni di lattobacilli omofermentanti, di *Str. mutans* e di lieviti e si assiste ad un aumento dei batteri acidogeni ed acido-tolleranti. Ciò è dovuto al fatto che le condizioni di diminuito valore di pH, associate alla frequente assunzione di carboidrati fermentabili, favoriscono selettivamente i microrganismi più acido-tolleranti. Poiché i batteri più acido-tolleranti sono anche quelli più acidogeni, viene ad instaurarsi un circolo vizioso per il quale il pH della placca tocca il pH critico sempre più frequentemente e per periodi più protratti.

La situazione è interamente reversibile con una riduzione nell'assunzione di carboidrati fermentabili e la composizione della placca torna alla norma, purché non sia già iniziato il processo di demineralizzazione. Le aree demineralizzate ed in preda a carie con le particolari condizioni chimico-fisiche e nutritive che esse offrono creano, a loro volta, nuove nicchie ed *habitat* ed ospitano una flora caratteristica in cui i lattobacilli ed altri batteri acido-tolleranti acquistano ulteriore preminenza.

Una dieta ricca di saccarosio può determinare alterazioni nella composizione della placca anche indipendentemente dalla selezione di organismi più acido-tolleranti. In particolare, *Str. mutans* sintetizza glucani extracellulari insolubili con grande efficienza proprio a partire dal saccarosio. I glucani extracellulari particolarmente viscosi facilitano la colonizzazione del microrganismo consentendogli di aderire tenacemente alle pareti del dente. Così, *Str. mutans* riceve un doppio vantaggio selettivo dalla frequente assunzione del saccarosio: da una parte il diminuito pH favorisce i microrganismi che, come *Str. mutans*, sono più acido-tolleranti, dall'altra, l'aumentata disponibilità di saccarosio fornisce maggiori quantità di substrato per la produzione di un importante fattore di colonizzazione, quale il glucano extracellulare.

È opportuno sottolineare che le variazioni nella composizione della placca non riguardano necessariamente l'intera superficie dentaria. Talvolta solo zone molto ristrette della placca

mostrano una predominanza delle specie acido-tolleranti. Ciò non sminuisce affatto l'importanza di queste variazioni nella patogenesi della carie, dal momento che questa rappresenta un processo localizzato che inizia su di una superficie di piccola estensione.

Nonostante i carboidrati giochino un ruolo preponderante, anche i fattori della saliva possono modulare l'acquisizione, da parte della placca, di un forte potenziale acidogeno. Come si è visto, un diminuito flusso salivare tende ad aumentare l'acidità della placca poiché viene ad essere ostacolata la rimozione degli acidi organici che essa produce. Inoltre, lo stesso effetto può essere indotto da un abnorme spessore della placca o alternativamente dalla formazione di una matrice relativamente impermeabile agli acidi organici. In ogni caso la conseguenza è una persistente condizione di acidità che ancora una volta favorisce la flora più acido-tollerante. Tranne che in condizioni estreme, come in pazienti con grave xerostomia, è improbabile, però, che un ridotto flusso salivare sia sufficiente ad iniziare da solo la malattia.

***Streptococcus mutans* e prospettive di un vaccino anti-carie**

È possibile chiedersi a questo punto: *Str. mutans* è la causa della carie? È impossibile dare una risposta netta, perché al problema della carie sono solo parzialmente applicabili i postulati di Koch.

Infatti, essendo la carie un'infezione causata dal microbiota indigeno, gli agenti causali sono presenti sia in condizioni normali che in lesioni cariose. Inoltre, *Str. mutans* colonizza il dente nel contesto di una comunità microbica estremamente complessa.

Batteri della placca, diversi da *Str. mutans*, sono capaci di produrre acidi organici al pH critico contribuendo all'instaurarsi della malattia; altri, al contrario, utilizzano questi stessi acidi organici o producono sostanze basiche in grado di riportare l'intero sistema alla neutralità. È probabile, quindi, che la carie sia causata da un intero ecosistema microbico, piuttosto che da un singolo microrganismo.

Ciò non significa che tutti i batteri della placca abbiano lo stesso potere patogeno, come vuole la teoria della non specificità della placca. Al contrario, la carie sembra essere causata da un ecosistema altamente specifico cui contribuiscono diverse, ma ben identificabili, specie batteriche. Fra queste, *Str. mutans* è quella che sembra rivestire di gran lunga maggiore importanza.

Da un punto di vista pratico, ha molto più senso riformulare la domanda iniziale nei seguenti termini: è possibile ridurre l'incidenza della carie eliminando, completamente o in parte, *Str. mutans* dalla placca? Allo stato attuale delle conoscenze la risposta è affermativa, per lo meno negli esperimenti condotti su animali, e l'unico metodo praticabile per il controllo di *Str. mutans* su larga scala sembra la stimolazione del sistema immune, sia locale che sistemico, a mezzo di vaccini.

Esistono, infatti, diverse osservazioni che legano il sistema immune al grado di suscettibilità nei confronti della carie. La placca è continuamente in contatto con gli anticorpi salivari appartenenti alla classe IgA ed, in misura assai minore, a quella IgG. Questi anticorpi sono in grado di inibire l'aderenza, e quindi la colonizzazione, delle superfici orali da parte di numerosi microrganismi.

I bassi livelli di anticorpi salivari caratteristici dei pazienti geneticamente affetti da ipogammaglobulinemia (un difetto della funzione dei linfociti B) si associano ad una forte prevalenza di *Str. mutans* nella placca e ad una elevata incidenza della carie. Anche in individui normali sembra esistere una correlazione di massa tra i livelli di IgA anti-*Str. mutans* e la resistenza alla carie.

Fra i pazienti affetti da deficienza selettiva delle IgA, solo quelli che non sviluppano un incremento compensatorio delle IgM salivari dimostrano un'aumentata suscettibilità alla carie.

Come logica conseguenza di queste osservazioni sono stati fatti diversi tentativi negli animali sperimentali di indurre uno stato di im-

munità nei confronti della carie. Sono stati impiegati criceti, primati e, soprattutto, ratti gnotobiotici. Questi ultimi possono essere manipolati in maniera da ottenere animali privi di *Str. mutans* e con un'incidenza di carie estremamente bassa in condizioni normali. Per determinare il grado di suscettibilità alla carie i ratti vengono nutriti con una dieta ricca di saccarosio ed alcuni vengono immunizzati con cellule o componenti purificate di un ceppo virulento di *Str. mutans*. Successivamente, tutti gli animali vengono infettati con lo stesso ceppo virulento. La resistenza indotta con l'immunizzazione viene determinata paragonando la risposta anticorpale e l'incidenza della malattia negli animali immunizzati rispetto ai controlli, che, nelle condizioni sperimentali descritte, sviluppano la carie in forma grave.

L'iniezione di cellule uccise di *Str. mutans* in adiuvante completo di Freund nelle ghiandole salivari induce un incremento delle IgA salivari specifiche e delle IgG del siero. Il livello di anticorpi locali si correla, in questo modello, ad uno stato di protezione nei confronti della carie. Va sottolineato, tuttavia, che l'iniezione di adiuvante di Freund (un'emulsione di micobatteri uccisi che ha lo scopo di aumentare la risposta immune) provoca un'infiammazione locale e una disfunzione delle ghiandole salivari. Questi effetti collaterali limitano, ovviamente, l'uso di questo regime di immunizzazione nell'uomo.

Nei roditori è possibile ottenere uno stato di protezione anche impiegando componenti purificate di *Str. mutans*. È stato soprattutto studiato l'enzima di superficie glucosil-transferasi (GTF), di cui si è detta l'importanza nel favorire lo stadio irreversibile di aderenza di *Str. mutans* alla superficie dentaria. L'iniezione di GTF nelle ghiandole salivari induce protezione nei confronti della carie, anche quando questa è causata da sierotipi di *Str. mutans* diversi da quello di provenienza dell'antigene.

Diversi studi in primati (*Macaca fascicularis* e *Macaca mulatta*) indicano che è possibile ottenere un'immunità anti-carie attraverso l'induzione di anticorpi nel siero con regimi di immunizzazione parenterale.

Negli studi citati, sia in roditori che in primati, l'immunità anti-*Str. mutans* era sempre associata alla presenza di anticorpi sierici (oltre che salivari) in grado di raggiungere il cavo orale attraverso il fluido gengivale. In altre circostanze, tuttavia, è possibile stimolare selettivamente una risposta secretoria di tipo IgA senza indurre anticorpi sierici. Questo approccio presenta il vantaggio di evitare possibili effetti collaterali dovuti alle IgG del siero.

Le IgG, al contrario delle IgA, presentano la caratteristica di amplificare la risposta infiammatoria attraverso il sistema del complemento ed i fagociti «professionali» e possono, in determinate circostanze, indurre reazioni avverse. Inoltre, è stato dimostrato che sieri di conigli immunizzati con *Str. mutans* contengono spesso anticorpi in grado di reagire con diversi tessuti umani (anticorpi *cross-reattivi*).

Sebbene queste osservazioni siano, per ora, limitate al coniglio e non sia chiaro il reale significato patogenetico degli anticorpi *cross-reattivi*, questi ultimi costituiscono un rischio potenziale di quelle vaccinazioni che si associano alla comparsa di anticorpi circolanti anti-*Str. mutans*.

È ben nota da tempo la possibilità di indurre una risposta immune locale, di tipo esclusivamente secretorio, applicando l'antigene in corrispondenza della mucosa o all'interno dei dotti di diverse ghiandole a secrezione esterna, tra cui le ghiandole salivari.

Tuttavia, è stato dimostrato solo di recente che il sistema immune secretorio agisce come un complesso funzionale unico, dotato di meccanismi comuni in regioni differenti dell'organismo.

Così, un antigene che venga ingerito o inalato stimola le cellule linfoidi locali a differenziarsi e a proliferare in precursori di plasmacellule che vanno a popolare aree distanti delle mucose. Questo fenomeno spiega, tra l'altro, la presenza di IgA dirette contro batteri autoctoni dell'intestino nelle secrezioni di sedi mucose normalmente sterili come il sacco congiuntivale.

Queste osservazioni hanno aperto la strada al tentativo di indurre una risposta salivare di tipo IgA attraverso l'ingestione di *Str. mutans* e, presumibilmente, la stimolazione del GALT intestinale (*Gut Associated Lymphoid Tissue*).

La somministrazione orale di cellule intere di *Str. mutans* a ratti gnotobiotici induce IgA specifiche nella saliva, nel colostro e nel latte, in assenza di anticorpi sierici. La presenza di IgA si associa ad una ridotta incidenza di carie in seguito all'infezione con un ceppo omologo, virulento, di *Str. mutans*. La quantità di cellule batteriche necessarie ad indurre una risposta ottimale in questo modello sperimentale, è relativamente elevata (10^8 /ml di acqua da bere).

È possibile ottenere uno stato di resistenza nei confronti della carie, nel ratto, anche con la somministrazione orale di sopranatanti di colture di *Str. mutans* contenenti GTF. La somministrazione di antigene solubile si associa ad una modesta risposta di tipo IgA ed IgM nel siero.

Purtroppo sono stati compiuti pochi studi nei primati con tecniche di immunizzazione orale. Per quel che riguarda l'uomo, in volontari quasi del tutto privi di anticorpi diretti contro il sierotipo *E* di *Str. mutans* è stato possibile indurre una risposta specifica di tipo IgA nella saliva e nelle lacrime in seguito alla somministrazione giornaliera, per due settimane, di una capsula contenente cellule uccise del sierotipo *E*.

Inoltre, una seconda serie di somministrazioni a distanza di 80 giorni dalla prima induceva un ulteriore, brusco aumento degli anticorpi, con una cinetica tipica delle risposte secondarie.

Un approccio alternativo alla prevenzione della carie riguarda l'induzione di una immunità passiva, attraverso la somministrazione di anticorpi preformati. Anche in questo campo i primi dati sperimentali sono incoraggianti. Nel ratto, il trasferimento di IgA o di IgA anti-*Str. mutans*, con il colostro di madri immunizzate, induce protezione nella prole.

Di importanza pratica ben maggiore, è il ri-

lievo che la somministrazione con la dieta di latte bovino contenente Ig anti-*Str. mutans* è in grado di prevenire la carie in ratti gnotobiotici infettati con il microrganismo. Questi risultati lasciano ben sperare sulla possibilità di ridurre l'incidenza umana della malattia attraverso un regime di immunizzazione delle bovine lattifere, tale da indurre la comparsa di anticorpi anti-*Str. mutans* nel latte.

È ben comprensibile come il latte bovino rappresenti un veicolo ideale per una prevenzione di massa, dal momento che viene consumato quotidianamente da buona parte della popolazione di diversi Paesi.

Nonostante siano, nel complesso, buone le prospettive per la prevenzione immunitaria della carie, passeranno sicuramente diversi anni prima che possa essere messo a punto un vaccino sicuramente efficace e privo di effetti collaterali. In particolare, sono necessarie numerose campagne di vaccinazione sperimentale, ed un lungo lavoro di controllo dei risultati.

ASPETTI MICROBIOLOGICI DELLE PARODONTOPATIE

Parodontopatie

Le parodontopatie sono malattie di natura infiammatoria delle strutture che circondano il dente e ne assicurano la stabilità meccanica. Esistono però anche parodontopatie di natura degenerativa o neoplastica che sono assai meno frequenti di quelle infiammatorie.

Queste ultime sono così diffuse che, se si considerano anche le forme meno gravi, vengono sperimentate praticamente da ogni individuo provvisto di denti in un periodo o nell'altro della vita.

Le parodontopatie determinano, nel tempo, lesioni distruttive delle fibre collagene e dell'osso alveolare che sostengono il dente e ne causano la caduta. La rapidità di questo processo varia considerevolmente da un individuo all'altro e da dente a dente nello stesso individuo. Le parodontopatie rappresentano la pri-

ma causa di perdita di denti, superando in frequenza anche la carie.

È possibile dividere le parodontopatie infiammatorie in quattro entità:

- 1) gengivite cronica;
- 2) parodontite;
- 3) gengivite acuta necrotizzante ulcerativa (GANU);
- 4) parodontite giovanile o parodontosi.

Tutte queste condizioni sono causate o iniziate da microrganismi.

La **gengivite cronica** è una malattia praticamente universale e consiste in un processo infiammatorio a carico della gengiva, in assenza di lesioni distruttive dell'osso alveolare. Al contrario, la **parodontite**, assai comune negli adulti, è caratterizzata da perdita del tessuto osseo-alveolare, delle fibre connettive parodontali e da recessione, verso l'apice del dente, dell'attacco dell'epitelio gengivale, con il conseguente approfondirsi del solco gengivale.

Il solco gengivale misura, in condizioni normali, meno di 3 mm.

Oltre che dalla misurazione della profondità di quest'ultimo, la gravità della parodontite viene valutata clinicamente dal grado di mobilità del dente e dall'esame radiologico del tessuto alveolare. È importante notare lo stato di arrossamento e di edema della gengiva, non solo per stabilire la gravità della gengivite, ma anche per una stima del grado di attività della parodontite. Questa condizione procede infatti tra l'alternanza di periodi di remissione e riascerbazione.

La **gengivite acuta necrotizzante ulcerativa (GANU)**, meno frequente della gengivite cronica e della parodontite, è caratterizzata dalla rapida formazione di zone necrotiche nelle gengive, che danno luogo ad ulcere dolorose.

La **parodontite giovanile** è una malattia alquanto rara. Essa si localizza per lo più agli incisivi ed ai primi molari (ma esistono anche

forme generalizzate) producendo una distruzione estremamente rapida dei tessuti parodontali. Essa colpisce soprattutto soggetti in giovane età nei quali esiste una forte predisposizione genetica.

Non v'è dubbio che i processi distruttivi dei tessuti parodontali vengano iniziati e/o perpetuati da due tipi di fattori:

- 1) microrganismi della placca dentaria;
- 2) sistema di difesa dell'ospite nei confronti di questi microrganismi.

Inoltre, fattori meccanici di tipo irritativo, come la presenza di tartaro o interventi iatrogeni, possono rivestire un ruolo patogenetico anche se a nostro avviso di gran lunga meno importante di quelli citati.

I primi studi sulla patogenesi delle parodontopatie (e, come si è visto anche della carie) sono stati impostati sul convincimento che la placca sia di per sé tossica, indipendentemente dal tipo di batteri che la compongono. Secondo questa teoria (teoria della non specificità della placca) ogni specie batterica componente la placca gengivale possiede lo stesso potenziale patogeno. Numerose osservazioni contraddicono questa affermazione e dimostrano che a determinare malattie parodontali si associano placche con composizione nettamente diversa.

Considereremo dapprima gli aspetti microbiologici ed immunologici della gengivite cronica e della parodontite:

Gengivite cronica e parodontite

Anche se queste due condizioni non possono essere considerate come un processo morboso unico, è opportuno considerarle assieme gli aspetti microbiologici. Infatti, la gengivite cronica evolve frequentemente dopo un periodo variabile di tempo in parodontite. Quest'ultima è sempre preceduta da gengivite cronica.

I microrganismi della placca sono *conditio sine qua non* per l'instaurarsi di entrambe queste malattie sia nell'uomo sia negli animali. Tuttavia la semplice presenza di microrganismi, anche se dotati di un forte potenziale pa-

togeno, è insufficiente. La persistenza di uno stato di infiammazione a carico del parodonzio viene determinata dall'interazione tra i batteri della placca sottogengivale ed il sistema di difesa, sia specifico che aspecifico, dell'ospite.

Viene così a stabilirsi una situazione in cui quest'ultimo svolge, da una parte, un'azione protettiva nei confronti dei tessuti parodontali difendendoli dai microrganismi, mentre, dall'altra, partecipa attivamente alla lenta distruzione di questi stessi tessuti. Nel corso della parodontite, sia l'azione protettiva che quella distruttiva si verificano simultaneamente e con meccanismi che hanno numerosi punti di contatto.

Nella fase attiva della malattia il danno tissutale prevale sull'attività di difesa anti-batterica. Come per altre infiammazioni croniche, la malattia rimane in fase attiva finché persiste il «*primum movens*», cioè i microrganismi patogeni. La malattia entra in una fase di quiescenza quando questi ultimi vengono rimossi.

Da quanto detto scaturisce che un trattamento razionale della gengivite cronica e della parodontite dipende molto più dal controllo dei batteri della placca sottogengivale, che dalla manipolazione del sistema di difesa dell'ospite. È molto difficile, infatti, influenzare le difese dell'ospite indebolendone il potenziale distruttivo nei confronti dei tessuti parodontali, senza contemporaneamente intaccarne le attività protettive.

Patogenicità della placca sottogengivale. Come si è detto, la placca sottogengivale è indispensabile allo sviluppo della gengivite cronica e della parodontite. Essa si ritrova a ridosso della giunzione tra lo smalto e l'epitelio gengivale e presenta alcune peculiarità ecologiche che ne influenzano la composizione batterica (vedi: «Ecologia del cavo orale»).

Poiché non è possibile dimostrare un'invasione batterica dei tessuti parodontali, è evidente che i batteri esercitano un'azione indiretta, tramite la produzione di sostanze diffusibili e/o l'intervento di fattori dell'ospite.

L'importanza dei batteri nella patogenesi

della parodontite è sottolineata dal fatto che questa non si verifica in roditori *germ-free*.

Questi vanno, infatti, incontro ad alterazioni estremamente lente del parodonzio che sono di tipo degenerativo e legate all'età avanzata.

In ceppi di ratti e criceti convenzionali è presente una parodontite spontanea trasferibile mediante batteri della placca. In questo modello sperimentale la specie *Actinomyces viscosus* gioca un ruolo importante soprattutto nel criceto poiché è capace di trasferire, da sola, la parodontite.

A. viscosus determina parodontite anche in criceti monoinfettati, oltre che in animali convenzionali. Nei primi il potere patogeno sembra strettamente legato alla capacità di formare forti ammassi di placca sottogengivale. Va sottolineato, tuttavia, che diversi altri tipi di batteri della placca, sia Gram-positivi sia Gram-negativi, sono in grado di indurre parodontite in diverse specie di animali gnotobiotici. Altri microrganismi della placca sono invece del tutto incapaci di indurre parodontite sperimentale.

In quanto ai germi che inducono parodontite, per i Gram-positivi sono necessari maggiori accumuli di placca rispetto ai Gram-negativi. In altre parole, i germi Gram-negativi sembrano dotati di un potenziale patogeno maggiore, in quanto non necessitano di grossi accumuli di placca in animali monoinfettati.

Riguardo all'uomo, esistono numerose osservazioni epidemiologiche che sottolineano l'associazione tra la quantità di placca dentaria e la gravità della gengivite e della parodontite. La dimostrazione di un rapporto causa-effetto è, però, dipesa dalla messa a punto di alcuni eleganti modelli, tra cui la **gengivite sperimentale** di Loe e collaboratori.

Se in pazienti sani viene interrotta ogni manovra di igiene orale si assiste, infatti, ad un accumulo graduale della placca. Successivamente da 10 a 21 giorni dall'inizio del periodo sperimentale compare edema ed arrossamento della gengiva. Questi segni regrediscono prontamente in seguito alla rimozione della placca.

Ovviamente una accurata rimozione della placca risulta pure efficace nei pazienti con gengivite spontanea.

Che i microrganismi della placca rivestano un ruolo causale viene suggerito, oltre che dalla gengivite sperimentale, anche dalla possibilità di controllare la gengivite mediante l'uso topico di antisettici o l'uso topico e sistemico di antibiotici.

Per quel che riguarda il passaggio da gengivite a parodontite nell'uomo, le osservazioni a favore di una eziologia batterica sono più indirette, ma ugualmente convincenti. Anche per la parodontite i processi patologici possono essere ritardati o arrestati dalla rimozione della placca o attraverso la applicazione di sostanze antibatteriche.

Un approccio naturale allo studio del ruolo eziologico dei batteri è rappresentato dall'analisi delle specie batteriche che si ritrovano nella porzione di placca a diretto contatto con la gengiva in condizioni normali ed in varie malattie del parodonzio.

La stessa presenza di una placca sottogengivale viene da taluni considerata patologica. Infatti, il solco gengivale non è riscontrabile né in animali *germ-free* né in soggetti che vengono sottoposti ad accuratissime e continue manovre di rimozione della placca.

Tuttavia, come è stato detto, un solco di profondità inferiore a 3 mm, posto tra il bordo gengivale e lo smalto, è caratteristico degli individui normali e degli animali convenzionali.

Come si è visto a proposito dell'ecologia del cavo orale, la placca sottogengivale in condizioni normali non differisce molto da quella sopragengivale, con poche eccezioni. Ad esempio il genere *Veillonella*, abbondantemente rappresentato nella placca sopragengivale, costituisce solo il 2% della placca sottogengivale. È quindi possibile concludere che la placca sottogengivale, in assenza di gengivite, rappresenti essenzialmente un'estensione di quella sopragengivale.

Alcuni problemi si frappongono allo studio della composizione della placca sottogengivale in condizioni di malattia. In primo luogo, il numero di batteri stimato in base alla conta di colonie; anche in condizioni di anaerobiosi continua, rappresenta solo una parte (talvolta meno del 40%) dei batteri visibili microscopicamente. Ciò dipende, in parte, dalla difficoltà di disperdere gli aggregati di più cellule batteriche senza inibirne la vitalità. È molto probabile, però, che la discrepanza tra tecniche di coltura e microscopia dipenda soprattutto dal fatto che alcune specie della placca sono tuttora sconosciute e non si conoscono i metodi per coltivarle. Inoltre, esiste ancora una estrema incertezza dal punto di vista tassonomico circa l'individualità delle varie specie batteriche. Un altro fattore che va tenuto in grande considerazione è che, come per la placca sopragengivale, anche per quella sottogengivale esistono grosse variazioni da una zona all'altra di aree apparentemente identiche da un punto di vista ecologico. In altre parole, la flora batterica varia molto tra zone molto vicine della placca. È dunque importante analizzare piccoli campioni di placca, in zone il più possibile vicine alla sede del processo morboso. Nel caso delle parodontopatie, ovviamente, è essenziale prelevare i microrganismi nella sede più apicale. Questa manovra va condotta con grande cautela, soprattutto nelle tasche gengivali profonde, caratteristiche della parodontite in fase avanzata. È, infatti, essenziale evitare la contaminazione del campione da parte della saliva o della placca coronale.

Una prima serie di indagini sugli aspetti microbiologici delle parodontopatie riguarda osservazioni di microscopia diretta. Questi studi sono concordi nell'indicare un aumento progressivo nel numero totale di microrganismi e nella percentuale di spirochete, vibroni e batteri fusiformi, con l'instaurarsi ed il procedere di parodontiti. Su preparati colorati si osserva un aumento notevole nella proporzione dei Gram-negativi (che in condizioni normali si aggira intorno al 15%). Su preparati a fresco si osserva un aumento dei batteri mobili, secondario soprattutto all'aumento di vibroni e spirochete. In condizioni normali il rapporto tra specie immobili e mobili è di 40:1.

In condizioni normali, inoltre, lo spessore della placca sottogengivale misura circa 20 cellule batteriche disposte in fila. Una tipica placca associata a parodontite ha uno spessore di 100 o più cellule batteriche. Gli studi microscopici hanno l'ovvia limitazione che specie batteriche diverse possono apparire morfologicamente identiche.

Gli studi colturali hanno confermato quelli microscopici, nel dimostrare che cocchi e bastoncini Gram-positivi rappresentano la maggioranza dei batteri della placca sottogengivale. Cocchi e bastoncini Gram-positivi rappresentano, infatti, ciascuno il 40% circa della flora coltivabile in condizioni normali. I cocchi Gram-positivi sono soprattutto rappresentati da *Streptococcus sanguis* e *Str. mitior*; i bastoncini Gram-positivi da *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii* e *Rothia dentocariosa*. Solo il 12% circa della flora coltivabile è costituita da bastoncini Gram-negativi anaerobi, rappresentati soprattutto dai generi *Bacteroides* e *Fusobacterium* in condizioni normali.

Lo sviluppo di gengivite si accompagna ad un netto aumento nella proporzione di *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides melaninogenicus* ss. *intermedius* e di membri del genere *Haemophilus*.

Nel corso di parodontite avanzata, più del 75% della flora è rappresentata da bastoncini Gram-negativi anaerobi. Sono maggiormente rappresentati *B. asaccharoliticus* e *Fusobacterium nucleatum*, ma aumentano anche le specie fusiformi di *Bacteroides* e i vibroni anaerobi. In alcuni casi di parodontite non trattata, le specie del genere *Bacteroides*, da sole, possono superare il 40-50% della flora coltivabile. Aumenta notevolmente, come si è visto, anche il numero di *Fusobacterium nucleatum*, di vibroni anaerobi e di spirochete.

Gengivite acuta necrotizzante ulcerativa (GANU)

Non sono ben caratterizzati i microrganismi associati a questa condizione morbosa. Non vi è dubbio, tuttavia, che essa sia causata da batteri. In primo luogo, studi di microscopia otti-

ca ed elettronica rilevano chiari segni di invasione batterica dei tessuti malati. I batteri coinvolti sono rappresentati pressoché esclusivamente da grosse spirochete e da bastoncelli fusiformi (fusobatteri). Per questo motivo la GANU viene spesso inclusa nel gruppo delle infezioni fuso-spirochetali.

Un'eziologia batterica viene anche suggerita dall'effetto curativo degli antibiotici, sia locali sia sistemici, e dagli antisettici locali.

Il materiale biotico delle caratteristiche lesioni interdentali è rappresentato essenzialmente da uno strato più esterno ricco di granulociti misti a fusobatteri e spirochete, e da uno

strato più interno di cellule epiteliali necrotiche. Ancor più internamente, tra queste ed i tessuti sani, si ritrova uno spesso strato di grosse spirochete.

Parodontite giovanile

La flora caratteristica della parodontite giovanile differisce da quella associata alla parodontite dell'adulto. Anche in questo caso abbondano i bastoncelli anaerobi Gram-negativi e sono ben rappresentati membri del genere *Bacteroides*, ma si ritrovano in numero dominante alcune specie di *Capnocytophaga* ed *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.