

Martina Bartolino *
Cartesio Favalli **
Daniele Marino **
Deborah Siviero *
Roberta Condò *
Raffaella Docimo *

Università degli Studi di Roma Tor Vergata

* Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Cattedra di Odontoiatria Pediatrica, Direttore: professoressa R. Docimo

** Dipartimento di Microbiologia e Microbiologia Clinica,

Cattedra di Microbiologia e Microbiologia Clinica, Responsabile: professor C. Favalli

Black stain: studio clinico e microbiologico

Black stain: clinical and microbiological study

RIASSUNTO

Scopo del lavoro. Obiettivi del seguente studio sono quantificare e individuare i microrganismi nella placca dei pazienti con black stain, testare l'efficacia in vivo e in vitro di due colluttori in esame e individuare un protocollo operativo.

Materiali e metodi. Il protocollo di ricerca ha previsto una fase clinica e una microbiologica. Sono stati selezionati 63 pazienti tra i 2 e i 15 anni con black stain, in seguito divisi in 3 campioni clinici. Al Campione 1 (19 pazienti) non è stato prescritto alcun tipo di collutorio. Al Campione 2 (21 pazienti) è stato prescritto un collutorio al fluoro (fluoruro di sodio 0,05%). Al Campione 3 (23 pazienti) è stato prescritto un collutorio alla clorexidina 0,12%. La fase microbiologica ha previsto l'analisi della placca pigmentata tramite conta e identificazione batterica e test dell'alone di inibizione su piastra agar seminata per valutare il potere inibente dei colluttori in esame.

Risultati. È stata evidenziata una forte diminuzione dell'indice di placca pigmentata nel Campione 3 rispetto ai Campioni 1 e 2. L'esame microbiologico ha evidenziato una diminuzione della conta batterica maggiore nel Campione 3 rispetto ai Campioni 1 e 2. I batteri identificati in maggior quantità appartengono al genere dei Clostridi. Il collutorio alla clorexidina è risultato più efficace rispetto al collutorio al fluoro sulla crescita batterica.

Conclusioni. L'uso del collutorio congiuntamente a controlli specialistici periodici è fondamentale per coadiuvare l'igiene orale domiciliare. Si ipotizza che il collutorio alla clorexidina 0,12% sia il più efficace nella diminuzione in vivo e in vitro delle black stain.

☒ **PAROLE CHIAVE:** black stain, pigmentazioni dentali, analisi microbiologica, placca dentale.

ABSTRACT

Aim of the work. Objectives of the study are the following: quantify and identify microorganisms in the dental plaque of patients with black stain; test in vivo and in vitro efficacy of two mouthwashes; identify a protocol.

Materials and methods. The research protocol included a clinical and a microbiological stage. 63 patients between 2 and 15 years with black stain were selected, then divided into three groups. In Group 1 (19 patients) no mouthwash was prescribed. In Group 2 (21 patients) was prescribed a fluoride mouthwash (Sodium Fluoride 0,05%). In Group 3 (23 patients) a chlorhexidine 0,12% mouthwash was prescribed. The microbiological stage provided analysis of pigmented plaque through bacterial count and identification tests and aura of inhibition on agar plate to evaluate the inhibitory power of the mouthwashes examined.

Results. It was highlighted a strong decrease in index of pigmented plaque in Group 3 than Groups 1 and 2. The microbiological analysis revealed a decrease in bacterial count higher in Group 3 than Groups 1 and 2. The bacteria identified the most were Clostridia. The chlorhexidine mouthwash was more effective than fluorine mouthwash on bacterial growth.

Conclusions. The use of mouthwash in conjunction with periodic specialist visits is essential to assist oral hygiene at home. It is assumed that the mouthwash with chlorhexidine 0,12% is the most effective in reducing black stain in vivo and in vitro.

☒ **KEY WORDS:** black stain, dental discolorations, microbiological analysis, dental plaque.

Introduzione

La pigmentazione dentale è una situazione diffusa, associata a problemi clinici e, soprattutto, estetici (1). Le varie pigmentazioni differiscono in eziologia, composizione del pigmento, apparenza e localizzazione, severità e grado di aderenza (2). Essenzialmente, vi sono due tipi di colorazioni dentali: quelle legate a fattori intrinseci, come influenze congenite o sistemiche e condizioni ereditarie, e quelle causate da fattori estrinseci, legate a pigmenti metallici e non metallici (3). Questo particolare tipo di pigmentazione è stata classificata come una forma speciale di placca dentaria che differisce dalle altre tipologie di placca perché contiene sale ferrico insolubile ed un'alta concentrazione di calcio e fosfato (4, 5). Secondo Reid e collaboratori (6), il pigmento nero è un sale ferrico, probabilmente solfuro ferrico, formato dalla reazione tra il solfuro d'idrogeno prodotto dal metabolismo batterico e lo ione ferro contenuto nella saliva o nell'essudato gengivale.

Le black stain possono essere clinicamente diagnosticate come delle macchie brunastre o linee che si estendono sulla superficie dentale in modo continuo o discontinuo (7, 8) con maggiore frequenza a livello del terzo cervicale del dente in prossimità del margine gengivale, con scarso interessamento delle aree interprossimali (fig. 1). L'intensità della pigmentazione varia enormemente tra i differenti pazienti, così come il numero dei denti coinvolti (sebbene sia molto raro riscontrare

la pigmentazione esclusivamente su un singolo elemento). Questi pigmenti sono difficilmente rimovibili con le manovre d'igiene domiciliare e recidivano facilmente anche dopo un'accurata seduta di igiene professionale. Sebbene l'origine rimanga in qualche modo controversa, studi in letteratura (9, 10) riportano la prevalenza di batteri cromogeni nella placca dentale di soggetti con black stain, riferendosi particolarmente agli Actinomiceti e alla Prevotella Melaninogenica. Studi condotti sulla composizione biochimica della saliva dei pazienti con black stain (11, 12, 13) dimostrano una variazione significativa rispetto ai gruppi di controllo senza alcun tipo di pigmentazione dentale; la saliva di questi pazienti presenta, infatti, una maggiore concentrazione di calcio, fosfato, glucosio e sodio, così come una diminuzione delle proteine salivari. La dentatura decidua è interessata maggiormente rispetto alla dentatura permanente; la prevalenza è differente secondo alcuni autori: 19,9% (Gulzow, 14), 5,4% (Renz, 15), 4,6% (Koch, 16). Il maggiore interessamento della dentatura decidua e mista rispetto a quella permanente sembrerebbe dovuto alla presenza di spazi interprismatici più ampi e cristalli apatitici non ancora ben organizzati, che predisporrebbero all'accumulo di pigmenti estrinseci. Alcuni autori (17, 18) evidenziano una stretta relazione tra le black stain e la diminuzione della carie dentale negli individui interessati. Questa diminuzione dell'indice DMFT, comunque non statisticamente significativa (19, 20), sarebbe dovuta pro-

prio ad una maggiore concentrazione salivare di ioni calcio e fosfato organici ed inorganici. Sebbene l'aumento di calcio e fosfato nella composizione biochimica della saliva sia un fattore protettivo nei confronti della demineralizzazione dello smalto dentale, l'aumento del pH salivare predisporrebbe alla deposizione degli stessi ioni calcio e fosfato sulla superficie dei denti, con conseguente mineralizzazione in apatiti insolubili (tartaro) (21, 22). Tra i fattori predisponenti le black stain si evidenziano:

- frequente assunzione di alimenti e/o bevande pigmentanti: in particolare quelli contenenti ferro (come verdure, spezie, carne rossa) (23);
- abitudini viziate (onicofagia, suzione di oggetti vari), che determinano una variazione quantitativa e qualitativa della composizione della placca batterica (24, 25, 26);
- composizione biochimica salivare: concentrazione maggiore di calcio, fosfato, glucosio e sodio e una diminuzione delle proteine salivari (27);
- terapie farmacologiche recenti con ferro, antibiotici, antimicotici influiscono sulla composizione della placca batterica (28, 29, 30).

Scopo del presente lavoro è:

- quantificare e individuare le specie di microrganismi presenti nei prelievi di placca dei pazienti tra i 2 e i 15 anni (31);
- testare l'efficacia in vivo e in vitro di 2 collutori presi in esame (collutorio A al fluoro - fluoruro di sodio alla concentrazione dello 0,05%; collutorio B alla clorexidina 0,12% - Dentosan Trattamento Mese) (32);
- individuare un protocollo operativo.

Lo studio è stato condotto con l'autorizzazione del Comitato Etico Scientifico dell'Università degli Studi di Roma Tor Vergata, in accordo con i principi stabiliti dalla Dichiarazione di Helsinki nell'edizione emendata dalla 59ª Assemblea Generale dell'Associazione Medica Mondiale (AMM - Seoul 2008).



Fig. 1: aspetto clinico delle black stain: macchie brunastre o linee che si estendono sulla superficie del dente in modo continuo o discontinuo, con maggiore frequenza a livello del terzo cervicale del dente in prossimità del margine gengivale.

Materiali e metodi

I pazienti in esame sono stati opportunamente classificati come “eleggibili” tra tutti i pazienti del Reparto di Odontoiatria Pediatrica dell’Università degli Studi di Roma Tor Vergata, per i quali è stata

compilata una cartella clinica di igiene orale, suddivisa in anamnesi ed esame obiettivo e corredata da firma di consenso informato (secondo i criteri forniti dal Comitato Etico Scientifico). Il protocollo di ricerca ha previsto la fase clinica (tab. 1) e la fase microbiologica

(tab. 2).

Sono stati classificati eleggibili e significativi per la ricerca 63 pazienti tra i 2 e i 15 anni, divisi per numero, età e sesso in 3 campioni clinici che differiscono esclusivamente per il tipo di collutorio utilizzato, ovvero:

Tab. 1

TEMPO 0 (T0)	<ul style="list-style-type: none"> • Prima Visita e calcolo dell’Indice di Placca pigmentata (secondo i principi di Silness e Loe, 1964); • Spiegazione dello studio ai genitori e firma del consenso informato; • Foto cliniche; • Prelievo placca sopragengivale tramite scaler sterile e inquadramento del paziente in esame in uno dei 3 campioni clinici; • Abt/polishing professionale e Fluoroprofilassi; • Consegna Protocollo personalizzato di Igiene Orale e del collutorio secondo il Campione; consegna di un nuovo spazzolino (Campione 1, 2 e 3); • Istruzioni di Igiene Orale Domiciliare in presenza dei genitori (Tecnica di Bass) e spiegazione dei tempi di sciacqui orali con collutorio (solo per Campioni 2 e 3): sciacqui con 20 ml di collutorio non diluito, per 30 secondi, 2 volte/die per 15 giorni consecutivi a partire dal primo controllo clinico (T0).
TEMPO 15 GIORNI	<ul style="list-style-type: none"> • Sospensione collutorio specifico per Campioni 2 e 3, come definito a Tempo 0 (senza controllo da parte degli sperimentatori).
TEMPO 18 GIORNI (T1)	<ul style="list-style-type: none"> • Controllo obiettivo e registrazione in cartella clinica dell’Indice di Placca pigmentata; • Foto cliniche; • Prelievo placca sopragengivale; • Rimotivazione all’Igiene Orale Domiciliare.
TEMPO 3 MESI (T2)	<ul style="list-style-type: none"> • Controllo obiettivo e registrazione in cartella clinica dell’Indice di Placca pigmentata; • Foto cliniche; • Abt/polishing professionale; • Rimotivazione all’ Igiene Orale Domiciliare; • Consegna di un nuovo spazzolino (Campione 1, 2 e 3) e del collutorio (solo Campioni 2 e 3).
TEMPO 3 MESI E 15 GIORNI	<ul style="list-style-type: none"> • Sospensione collutorio specifico per Campioni 2 e 3 (senza controllo da parte degli sperimentatori)
TEMPO 3 MESI E 18 GIORNI (T3)	<ul style="list-style-type: none"> • Controllo obiettivo e registrazione in cartella clinica dell’Indice di Placca pigmentata; • Foto cliniche; • Rimotivazione all’Igiene Orale Domiciliare.
TEMPO 6 MESI (T4)	<ul style="list-style-type: none"> • Controllo obiettivo e registrazione in cartella clinica dell’Indice di Placca pigmentata; • Foto cliniche; • Prelievo placca sopragengivale tramite scaler sterile; • Abt/polishing professionale e Fluoroprofilassi; • Rimotivazione all’Igiene Orale Domiciliare.

Tab. 1: protocollo operativo clinico.

Tab. 2

FASE 1	<ul style="list-style-type: none"> • Prelievo placca sopragengivale a T0, T1 e T4 tramite scaler sterile e stoccaggio del prelievo in brodo di trasporto BHI in sacchetto monouso contenente il sistema AnaeroGen – Oxoid per l'anaerobiosi controllata.
FASE 2	<ul style="list-style-type: none"> • Trasporto del BHI al Reparto di Microbiologia e Microbiologia Clinica dell'Università degli Studi di Roma Tor Vergata (massimo 30 minuti dal prelievo); • Stoccaggio dello stesso in Incubatore per almeno 24 ore, a 37° C in anaerobiosi.
FASE 3	<ul style="list-style-type: none"> • Semina dopo 24 ore del brodo di trasporto su piastra agar sangue Schaedler tramite triplo striscio con ansa monouso; • Stoccaggio delle piastre agar sangue in Incubatore per almeno 48 ore a 37 °C in condizioni di anaerobiosi controllata per permettere la crescita batterica.
FASE 4	<ul style="list-style-type: none"> • Conta batterica delle colonie formanti unità (CFU) sulle piastre agar; • Identificazione dei ceppi batterici presenti tramite i test Micro-Ident e Rapid ID 32A; • Inoculo su piastra agar seminata di 50 mg dei collutori A (pazienti in Campione 2) e B (pazienti in Campione 3) su due dischetti di cotone sterili, per valutare la MIC (concentrazione minima inibente) dei due collutori in esame e per confrontare l'efficacia in vitro; • Stoccaggio delle piastre agar sangue per identificazione e per alone di inibizione in Incubatore per almeno 48 ore a 37 °C in condizioni di anaerobiosi controllata.
FASE 5	<ul style="list-style-type: none"> • Misurazione dell'alone d'inibizione tramite media dei diametri di inibizione formati a partire dai due dischetti imbibiti con i collutori in esame.

Tab. 2: protocollo operativo microbiologico.

- Campione 1 (gruppo di controllo): 19 pazienti, di cui 10 maschi e 9 femmine tra i 5 e i 15 anni con una media d'età di 9 anni; a tali pazienti non è stato prescritto alcun tipo di collutorio (sciacqui con acqua) ed è stato individuato un protocollo personalizzato di igiene orale nel quale sono state rafforzate le istruzioni d'igiene orale domiciliare, con follow-up a 6 mesi;
- Campione 2: 21 pazienti, di cui 11 maschi e 10 femmine tra i 3 e i 14 anni con una media d'età di 8 anni; i soggetti hanno assunto un Collutorio A al fluoro (fluoruro di sodio 0,05%) per 15 giorni ad intervalli trimestrali a partire dal primo controllo clinico (T0); è stato individuato un protocollo personalizzato di igiene orale (dose e tempi di sciacqui orali col Collutorio A) nel quale sono state rafforzate le istruzioni d'igiene orale domiciliare, con follow-up a 6 mesi;
- Campione 3: 23 pazienti, di cui 11 maschi e 12 femmine tra i 4 e i 15

anni con una media d'età di 9 anni; i soggetti hanno assunto un collutorio Balla clorexidina 0,12% (Dentosan Trattamento Mese) per 15 giorni ad intervalli trimestrali a partire dal primo controllo clinico (T0); è stato individuato un protocollo personalizzato di igiene orale (dose e tempi di sciacqui orali col Collutorio B) nel quale sono state rafforzate le istruzioni d'igiene orale domiciliare, con follow-up a 6 mesi.

Risultati

In base all'esame clinico, si evidenzia che:

- l'88,9 per cento dei pazienti non presenta patologie sistemiche; il 9,5 per cento presenta celiachia; solo 1 paziente su 63 (1,6 per cento) presenta Sindrome di Down;
- il 78 per cento dei pazienti esaminati assume frequentemente alimenti e/o bevande pigmentati (fig. 2);
- il 50 per cento dei pazienti pre-

senta abitudini viziate (onicofagia 31 per cento, suzione di penne 29 per cento, suzione di matite 25 per cento, suzione di giocattoli 7 per cento, suzione di lacci 6 per cento, suzione di capelli 2 per cento);

- il 60 per cento dei pazienti presenta in ambito familiare le stesse pigmentazioni brune recidivanti (l'8 per cento è presente nel padre, il 16 per cento è nella madre, mentre il 36 per cento è presente nei fratelli e/o cugini del bambino in esame); il 32 per cento dei 63 pazienti totali, invece, affermano di non avere familiari con le stesse macchie brune recidivanti, mentre il restante 8 per cento non ha risposto;
- l'82 per cento dei nostri pazienti non ha fatto uso recente di terapia farmacologica; il 16 per cento ha assunto di recente terapia farmacologica (1,6 per cento terapia con ferro; 1,6 per cento antipiretici; 6,4 per cento antibiotici; 3,2 per cento antistaminici; 3,2 per cento antinfiammato-

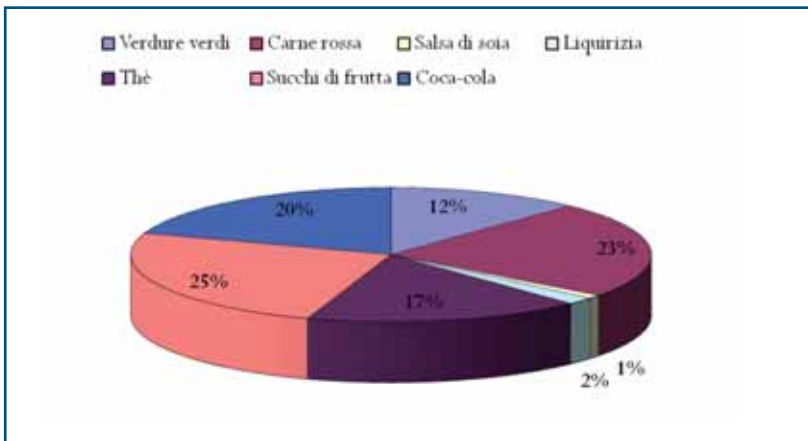


Fig. 2: percentuali di assunzione di alimenti e/o bevande pigmentanti.

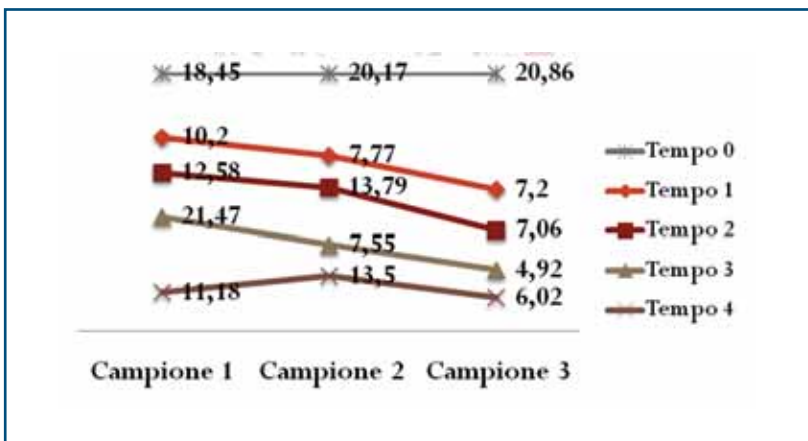


Fig. 3: medie delle percentuali dei siti totali pigmentati nei 3 campioni clinici.

Tab. 3

	CAMPIONE 1	CAMPIONE 2	CAMPIONE 3
TRA T0 E T1	-45%	-62%	-66%
TRA T0 E T2	-32%	-32%	-66%
TRA T0 E T3	+16%	-63%	-77%
TRA T0 E T4	-39%	-33%	-71%
TRA T1 E T2	+23%	+78%	-2%
TRA T1 E T3	+53%	-3%	-32%
TRA T1 E T4	+10%	+74%	-16%
TRA T2 E T3	+71%	-45%	-30%
TRA T2 E T4	-11%	-2%	-15%
TRA T3 E T4	-48%	+44%	+18

Tab. 3: riduzione/aumento indice di placca in valori percentuali per i 3 campioni clinici.

ri/antiallergici); il restante 2 per cento si è astenuto dalla risposta;

- il 68 per cento dei pazienti ha da-

to risposta negativa sulla presenza di recidive di black stain; il 24 per cento dei pazienti ha dato invece risposta affermativa; il

restante 8 per cento si è astenuto dalla risposta;

- il 61 per cento dei nostri pazienti è stato alimentato al seno; il 16 per cento è stato alimentato artificialmente; il 23 per cento è stato sottoposto ad allattamento misto;
- il 13 per cento dei pazienti presenta dentatura decidua; il 19 per cento dentatura permanente; il restante 68 per cento dentizione mista;
- il 5 per cento dei pazienti presenta anomalie dentarie (agenesia 2 per cento; fusione elementi dentari 2 per cento; ipoplasia dello smalto 1 per cento).

L'indice di placca è stato individuato nei 3 campioni clinici calcolando la media delle percentuali dei siti totali pigmentati, individuati a tempo 0, a tempo 1, a tempo 2, a tempo 3 e a tempo 4 (fig. 3). La trasformazione in percentuale dei dati in nostro possesso è stata eseguita mediante l'equazione:

$128:100=(\text{tot superfici pigmentate}):x$
(128 rappresentano i siti totali secondo l'indice di placca: 32 P, 32 V, 32 D, 32 M).

I dati in tabella 3 evidenziano come vi sia una forte riduzione a lungo termine dell'indice di placca tra i vari tempi clinici del Campione 3, il quale ha assunto il collutorio a base di clorexidina 0,12% per 2 settimane ad intervalli di 3 mesi (per un totale di 2 cicli di assunzione). Per quanto riguarda il Campione 2, che ha utilizzato collutorio al fluoruro di sodio 0,05% per 2 settimane ad intervalli di 3 mesi (per un totale di 2 cicli di assunzione), l'efficacia a lungo termine sembra esser stata minore rispetto al collutorio alla clorexidina, maggiore rispetto al gruppo di controllo che non ha utilizzato collutorio.

Dall'Esame microbiologico è emerso quanto segue.

Un aumento del 50 per cento del numero delle CFU (colonie formanti unità) tra il tempo 1 (rivalutazione a 18 giorni) e il tempo 2 (rivalutazione a 3 mesi) nel Campione 3. Trattandosi di analisi microbiologiche, possiamo trascurare questo dato poi-

Tab. 4

	CAMPIONE 1	CAMPIONE 2	CAMPIONE 3
TRA T0 E T1	+ 56%	-52%	-89%
TRA T0 E T2	-36%	-77%	-74%
TRA T1 E T2	-59%	-52%	+50%

Tab. 4: riduzione/aumento delle colonie formanti unità sulle piastre agar seminate con i prelievi di placca dei pazienti nei 3 campioni clinici.

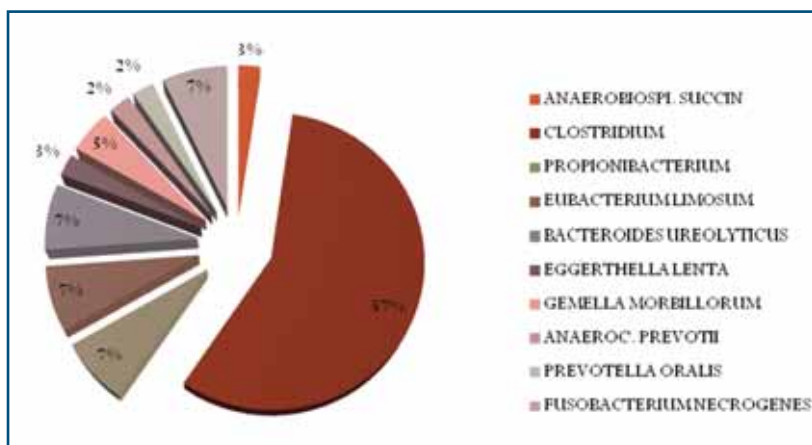


Fig. 4: batteri identificati tramite il test Rapid ID32A.

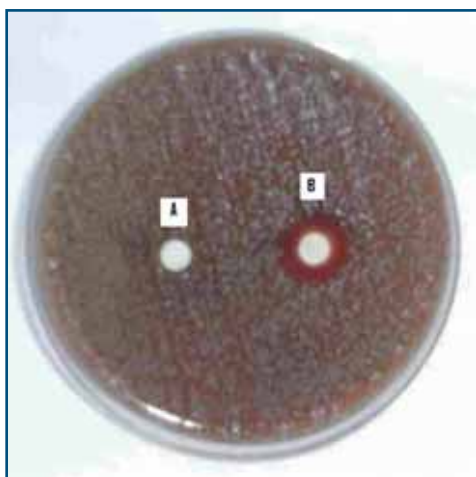


Fig. 5: dal confronto, si nota come il Collutorio A non abbia generato alcun alone di inibizione sulla crescita batterica in vitro, a differenza dell'alone generato dal Collutorio B.

ché probabilmente conseguente ad una maggiore contaminazione di batteri saprofiti durante le metodiche operative microbiologiche. Ciononostante, vi è una netta diminuzione della carica batterica sulle piastre contaminate con batteri prelevati dal cavo orale dei pazienti appartenenti al Campione 3. Per quan-

to riguarda il Campione 2, è stata riscontrata una diminuzione delle CFU a lungo termine nei pazienti che hanno assunto il collutorio al fluoro. Questo dato è apparentemente discordante con i risultati clinici, se non fosse che ad una variazione quantitativa in difetto della placca batterica orale non corrisponde qua-

si mai una variazione nella composizione qualitativa della stessa. Il Campione 1 presenta numero di CFU oscillante, come avverrebbe per un qualsiasi prelievo effettuato da superficie dentale (dunque anche senza black stain; tab. 4).

L'identificazione batterica con il test Micro-Ident/Micro-Ident plus, condotta su 16 casi clinici, è negativa in 15 su 16; l'unico caso di positività è per *Fusobacterium Nucleatum*. Con il test Rapid ID32A, i batteri identificati sono 42, per un totale di 24 casi esaminati (per un singolo caso microbiologico sono state identificate più specie batteriche) (fig. 4).

La prova della diffusibilità del collutorio su piastra agar e successiva misurazione dell'alone di inibizione sono state eseguite su 40 piastre totali, appartenenti a 19 pazienti del Campione 2 trattati col collutorio A, e 21 pazienti del Campione 3 trattati col collutorio B. Per quanto riguarda le 19 piastre seminate con il prelievo di placca appartenente al Campione 2, sulle quali dunque è stato testato il collutorio A, i risultati sono i seguenti:

- su 2 piastre non vi è stata crescita batterica, probabilmente perché la torbidità al densitometro non è stata sufficiente per la crescita;
- 8 piastre non hanno mostrato alone di inibizione sulla crescita batterica;
- 3 piastre hanno dimostrato crescita batterica congiuntamente alla crescita di muffe saprofiti;
- solo 6 piastre su 19 hanno dimostrato alone di inibizione.

Le 21 piastre seminate con il prelievo di placca appartenente al Campione 3, sulle quali è stato testato il collutorio B, danno i seguenti risultati:

- su 5 piastre non vi è stata crescita batterica, probabilmente perché la torbidità al densitometro non è stata sufficiente per la crescita;
- nessuna piastra ha presentato crescita di muffe saprofiti;
- 16 piastre su 21 hanno dimostrato alone di inibizione.

Il confronto tra il potere inibente

la crescita batterica del collutorio A e del collutorio B si evidenzia nella figura 5.

Discussione

Il 78 per cento dei pazienti esaminati assume frequentemente alimenti e/o bevande pigmentanti. Questo dato porta ad avvalorare l'ipotesi che il tipo di alimentazione sia un fattore predisponente per le black stain. Possiamo parzialmente confermare, invece, che le abitudini viziate possano essere un fattore predisponente (presenti nel 50 per cento dei pazienti). Per quanto riguarda la familiarità delle black stain, sebbene presenti nella stessa famiglia nel 60 per cento dei casi, essa non può essere assunta come dato oggettivo. Non si può invece avvalorare l'ipotesi che una recente terapia farmacologica possa influire sulla presenza di black stain, diversamente si può affermare nella presenza di recidive osservata nel 93 per cento dei pazienti esaminati. Ciò è da attribuire verosimilmente ad un insufficiente controllo dei genitori, data anche la scarsa visibilità delle pigmentazioni sulla superficie palatale dei denti. Non sufficienti invece sono i dati per valutare se l'allattamento artificiale possa essere fattore predisponente per le black stain rispetto all'allattamento materno al seno. L'indice di placca pigmentata si è ridotto fortemente a lungo termine nel Campione 3, sebbene sia da ritenere che la motivazione all'igiene orale si è ridotta nei Campioni 2 e 3 per l'utilizzo del collutorio. Dai risultati dell'analisi microbiologica tramite conta batterica e alone di inibizione, si può ipotizzare che il Collutorio A al fluoro ha parziale potere inibente sulla crescita batterica in vitro, se non addirittura potere nullo (come dimostrato dalla crescita di muffe saprofiti). Questo risultato potrebbe ascrivere al fatto che il fluoro ha forte potere antibatterico solo quando è avvenuta lisi della parete cellulare batterica.

Conclusioni

La presenza delle black stain è indice di una condizione qualitativa e quantitativa dell'ecosistema salivare favorevole a una minore cariorecettività grazie alla presenza nel cavo orale di un'elevata concentrazione molare di fosfati inorganici e di ioni calcio. L'evoluzione e la recidiva delle black stain sono caratterizzate da profondi mutamenti della flora batterica sopra e sottogengivale, come pure della morfologia del sito dentale interessato e della sua composizione chimica, come conseguenza dell'attività batterica, da una parte, e dei meccanismi reattivi dell'ospite, dall'altra. Il coinvolgimento dell'immunità specifica, legata, di volta in volta, alla diminuita o eccessiva intensità della risposta difensiva, indotta da caratteristiche proprie del soggetto, oppure dalla presenza di fattori locali, sia microbici che meccanici, è un dato considerabile. Ogni paziente quindi ha una propria, caratteristica reattività immunitaria, frutto dell'ambiente e della storia biologica del soggetto, non controllabili né prevedibili. Tra i fattori predisponenti emersi dal presente studio, sono considerabili la frequente assunzione di alimenti e/o bevande pigmentanti e le abitudini viziate quali onicofagia e suzione di oggetti. Sembra inoltre che "l'ereditarietà parziale" delle black stain (correlata a due fattori: composizione biochimica salivare e batteri cromogeni nel cavo orale) sia da interpretare come fattore predisponente alle black stain. Si ipotizza che il collutorio più efficace sulla riduzione in vitro della crescita batterica sia a base di Clorexidina 0,12% (collutorio B). Invece, il collutorio con fluoro 0,05% (collutorio A) è risultato parzialmente efficace nella riduzione della recidiva a lungo termine di black stain, mentre scarsamente efficace nell'inibizione della crescita batterica in vitro. Risulta infine confermato che i batteri identificati in maggior percentuale sono appartenenti alla specie dei Clostridi. In conclusione, si può affermare che

vi è una riduzione dell'indice di placca con un'igiene domiciliare adeguata congiuntamente a controlli specialistici periodici. L'uso del collutorio è fondamentale ai fini della diminuzione quantitativa della pigmentazione.

Bibliografia

- 1) Gasparetto A, Conrado CA, Maciel SM, Yiokihiro Miyamoto E, Chicarelli M, Zanata RL. Prevalence of Black Tooth Stains and Dental Caries in Brazilian Schoolchildren. *Braz Dent J* (2003);14(3): 157-61.
- 2) Hattab FN, Qudeimat MA, Al-Rimawi HS. Dental discoloration: an overview. *J Esthet Dent* 1999;11:291-310.
- 3) Abu Hanna A, Mjor IA. Stain Vs Caries. *Operative Dentistry* 2008;33-1:108-10.
- 4) Nathoo SA. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. *J Am Dent Assoc* 1997;128:65-105.
- 5) Baehni PC, Guggenheim B. Potential of Diagnostic Microbiology for Treatment and Prognosis of Dental Caries and Periodontal Diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7(3):259-77.
- 6) Theilade J, Slots J, Fejerskov O. The ultrastructure of black stain on human primary teeth. *J Dent Res* 1973;81:528-32.
- 7) Reid JS, Beeley JA. Biochemical studies on the composition of Gingival debris from children with Black Extrinsic Tooth Stain. *Caries Res* 1976;10:363-9.
- 8) Reid JS, Beeley JA, MacDonald DG. Investigations into Black Extrinsic Tooth Stain. *J Dent Res Aug* 1977;56(8): 895-9.
- 9) Slots J. The Microflora of black stain on human primary teeth. *J Dent Res* 1974;82:484-90.
- 10) Coury E, Bandeira SMM. Manchas dentárias extrínsecas pretas: revisão de literatura. *ROBRAC* 1998;7:26-7.
- 11) Shourie KL. Mesenteric line or pigmented plaque: a sign of comparative freedom from caries. *J Am Dent Assoc* 1947;35:805-7.
- 12) Franco KD, Issao M. Manchas extrínsecas e sua relação com prevalência de cárie. *Rev Paul Odontol* 1990;12:23-30.
- 13) Koch MJ, Bove M, Schroff J, Perlea P, Garcia-Godoy F, Staehle HJ. Black stain and dental caries in schoolchildren in Potenza, Italy. *ASDC J Dent Child Sep-Dec* 2001;68(5-6):353-5.
- 14) Koch MJ, Bove M, Niekusch U. Prävalenz schwarzer Zahnbeläge bei Schulkindern. *Dtsch Zahnärztl Z* Nov 1996;51:664-5.
- 15) Surdacka A. Chemical composition of the saliva in children and adolescents with black tartar. *Czas Stomatol* 1989;42:525-33.
- 16) Gulzow HJ. Schwarze und grüne Zahnbeläge. Untersuchungen über ihre Häufigkeit und über ihre Beziehung zur Kariesfrequenz. *Dtsch Zahnärztl Z* Dec 1963;18:1370-6.
- 17) Renz C. Etude statistique de la carie dentaire chez les enfants genevois âgés de 5 e

6 ans en 1973. *Schweiz Mschr Zahnheilk* Apr 1973;86:429-47.

18) Bastos VAS, Galan Jr J. Estudo das manchas extrínsecas negras e marrons e sua relação com as cáries dentárias. *Rev Bras Odontol* 1992;49:2-6.

19) Costa SC, Imparato JCP, Franco AEA, Camargo MCF. Estudo da ocorrência de manchas extrínsecas negras em crianças e sua relação ao baixo índice de cárie dental. *Rev Facul Odontol Santo Amaro* 1997;2:36-8.

20) Tavolaro S, Tettamanti L. Protocollo clinico per il trattamento dei batteri cromogeni nel paziente pedodontico. *Hygiene Tribune Italian Edition Anno I n.1 – Luglio 2008*.

21) Saba C, Solidani M, Berlutti F, Vestri A, Ottolenghi L, Polimeni A. Black Stains in the mixed dentition: a PCR microbiological study of the etiopathogenic bacteria. *J Clin Pediatr Dent* 2006;30(2):219-24.

22) Gallardo VP, Cencillo CP. Tinción cromógena: un problema habitual en la clínica pediátrica. *Anales de Pediatría* 2005;62(3):258-60.

23) Italian Mouthwash Guidelines 2007.

24) Heinrich-Weltzien R, Monse B, van Palenstein Helder W. Black stain and dental caries in Filipino schoolchildren. *Community Dent Oral Epidemiol* 2009;37:182-7.

25) Dahlén G, Pipattanagovit P, Rosling B, Moller AJR. A comparison between two transport media for saliva and subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 1993;8:375-82.

26) Mombelli A, McNabb H, Lang NP. Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. Topographic distribution in the human dentition. *J Periodont Res* 1991;26:301-7.

27) Petit MDA, Van Steenberg TJM, Scholte LMH, Van der Velden U, De Graaf J. Epidemiology and transmission of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* among children and their family members. A report of 4 surveys. *J Clin Periodontol* 1993;20:641-50.

28) Asikainen S, Alaluuska S, Saxén L. Recovery of *A. actinomycetemcomitans* from teeth, tongue and saliva. *J Periodontol* Mar 1991;62:3.

29) Dolinska E, Stokowska W. Short time effect of Elmex and Listerine mouthrinses on plaque in 12-year-old children. *Advances in Medical Sciences* 2006;vol 51 Suppl. 1.

30) Lee SS, Zhang W, Li Y. The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices. Results of an in vitro diffusion method study. *JADA* Aug 2004; 135.

31) Stevens A, Freeman R. The role of the mother-child interaction as a factor in nursing caries (ECC): a preliminary communication. *European Journal of Paediatric Dentistry* 2004;2.

32) Blandino G, Milazzo I, Musumeci R, Cannavò V, Rossetti B, Nicoletti G. Studio microbiologico dell'attività antibatterica "in vivo" della disinfezione "one stage full mouth" con clorexidina nella terapia della parodontite dell'adulto. *Giornale Italiano di Microbiologia Medica Odontoiatrica e Clinica* 2005;9(2): 115-21.