

Bactericide effect of powerful Ultrasonic Bone Surgery device (piezo-surgery) : Oral surgery application in BRONJ treatment: (Biphosphonate Related osteonecrosis of the jaws)

Cornelio Blus¹, Giulio Giannelli^{2*}, Serge Szmukler-Moncler¹

¹ *Professore a. c. Master Nazionale di Il livello in implantologia Università degli studi di Cagliari, Istituto di Scienze Chirurgiche Odontostomatologiche Università degli Studi di Cagliari – Cagliari (Italy)*

² *Unità Operativa Dipartimentale di Odontostomatologia P.O. Sacro Cuore di Gesù ASL LECCE – Gallipoli (Le) Italy*

**Corresponding author. Tel.: +39 0833 506995 ,
Fax: +39 0833 506166, E-mail: studio.giannelli@teletu.it*

Abstract

I farmaci Bifosfonati sono composti chimici analoghi del pirofosfato e sono in grado di determinare un rallentamento del riassorbimento osseo agendo sul metabolismo degli osteoclasti. L'Osteonecrosi dei mascellari(8-9-10) è stata classificata come una potenziale reazione avversa legata all'uso di farmaci Amino-Bifosfonati ed è da lungo tempo considerata una condizione di difficile risoluzione a causa del rallentato turn-over del metabolismo osseo. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di identificare eventuali presidi chirurgici in grado di risolvere il problema dell'osteonecrosi(11) ed eventualmente impedirne la recidiva, riportata in letteratura come una evenienza frequente. Nel presente studio sono stati trattati 16 pazienti (11 donne e 5 maschi) di età compresa tra 59 e 82 anni,(69aa media). Di questi: 10 pazienti erano stati sottoposti a terapia con bifosfonati a causa di neoplasie metastatizzate, di cui 9 con Acido Zoledronico e 1 con Acido Pamidronico; invece, 6 pz. erano stati trattati per osteoporosi con Acido Alendronico. Undici pazienti riportavano lesioni osteonecrotiche a carico dell'osso mandibolare (10 nella regione anteriore e 1 in quella posteriore); quattro pazienti avevano lesioni a carico del mascellare superiore; un paziente ha avuto una osteonecrosi a carico della mandibola prima ed a distanza di 4 mesi a carico del mascellare superiore; due sul mascellare anteriore, ed altri due sul mascellare posteriore. Per il trattamento chirurgico delle lesioni necrotiche sono state utilizzate attrezzature per la chirurgia ossea ad ultrasuoni ad alta potenza (90 Watt) e bassa frequenza (24-32Kz) (Ultrasonic-Bone Surgery -U.B.S.). I risultati ottenuti hanno dimostrato che tutti i pazienti trattati avevano avuto una remissione dei sintomi ed una chiusura completa per prima o per seconda intenzione delle ferite entro le prime due settimane dall'intervento. Durante il follow-up (che va da un minimo di 6 mesi fino a 12 mesi) cui sono stati sottoposti tutti i pazienti, non si è manifestata ad oggi alcuna recidiva. Dovrebbero essere presi in considerazione altri pazienti ma gli attuali risultati incoraggiano ulteriori esperimenti in vivo/in vitro in merito all'uso della chirurgia ad ultrasuoni nel trattamento delle osteonecrosi.

Introduzione

Da quando nel 2000 il termine chirurgia ultrasonica (o piezoelettrica) è entrato nel dizionario clinico odontoiatrico e maxillo-facciale si è avuto un'evoluzione continua e ininterrotta delle tecniche di osteotomia e osteoplastica correlate .

A fronte dell'enorme diffusione che le tecniche chirurgiche ultrasoniche hanno dimostrato avere nella comune pratica clinica, sono ancora pochissimi i lavori in letteratura che consentono un'analisi chiara degli effetti che tali procedure possano avere nel lungo termine (Blus et al., 2008).

Oltre al mondo clinico anche il mondo della ricerca continua a sviluppare nuove conoscenze inerenti tali

strumenti e tecniche, cercando di raggiungere la comprensione di aspetti ancora oggi non del tutto chiari quali per esempio gli effetti della chirurgia ultrasonica sui batteri o ancora il suo utilizzo per casi fino ad oggi di difficilissimo trattamento come i pazienti affetti da osteonecrosi da bisfosfonati (ONJ).

Oggi le tecniche di chirurgia ultrasonica dimostrano essere più agevoli di quelle con strumenti tradizionali, rotanti o manuali, grazie alla maggiore precisione di taglio, alla possibilità di creare accessi chirurgici più conservativi venendo a mancare il rischio di danneggiamento dei tessuti molli, al minore affaticamento dell'operatore ed ad un rischio minimo di sviluppare termonecrosi ossee, (Barone et al., 2010; Lea et al., 2003; Romeo et al., 2009).

Il vantaggio primario degli strumenti ad ultrasuoni in chirurgia ossea è quello di ottenere, in corrispondenza dei confini della zona sottoposta al taglio chirurgico, un'area di osso altamente vitale e reattivo, ricca di osteociti fondamentale al fine di ottenere una guarigione dei tessuti ottimale. (Berengo et al., 2006; Chiriac et al., 2005; Preti et al., 2007).

BRONJ

Ormai l'osteonecrosi dei mascellari correlata all'utilizzo dei BF è una realtà patologica che negli ultimi anni ha aumentato la sua visibilità(5-6-9).

Dal 2003 sono apparse in letteratura numerose segnalazioni su una possibile relazione tra terapia endovenosa con bifosfonati ,sia con acido pamidronico che con acido zoledronico i quali causavano quadri di osteonecrosi avascolare a carico delle ossa mascellari, dovuti principalmente a manovre odontoiatriche e traumi accidentali; tuttavia in alcuni casi non era evidenziabile alcuna causa scatenante(4-5). L'effetto anti-angiogenico probabilmente dovuto alla loro capacità di ridurre il livello circolatorio del fattore di crescita vascolo-endoteliale sommato a microtraumi e successivi fenomeni di natura infiammatoria , potrebbe giocare un ruolo importante nel determinare i cambiamenti ischemici responsabili di tale fenomeno osteo-necrotico(9-10), sul quale vanno a sommarsi fenomeni di infezione batterica, che tendono a complicare ulteriormente il quadro clinico generale. (11)

La BRONJ (Biphosphonate Related Osteonecrosis of the jaw) si presenta come un focolaio osteomieltico, singolo o multiplo, che appare nelle fasi iniziali come una banale patologia infiammatoria alveolare, refrattaria alle comuni terapie sia locali che sistemiche. Tale focolaio tende ad estendersi alle zone limitrofe fino a manifestarsi con vaste aree di necrosi; l'osso esposto si presenta di colore giallo-biancastro, circondato da aree mucose fortemente edematose ed arrossate(11).

I sintomi all'esordio sono: dolore fisso ad insorgenza spontanea o dopo avulsione dentale, inabilità alla masticazione e all'utilizzo di protesi mobili, ascessi orali e/o cutanei, secrezione di materiale sieropurulento, parestesia, alitosi, malessere, tumefazione, trisma.

I segni clinici caratteristici sono: aree singole o multiple di esposizione ossea, fistola senza esposizione ossea, ascesso cutaneo e/o orale ricoperto da mucosa eritematosa, trisma, comunicazione oroantrale e/o oro-nasali, sinusite mascellare e/o pansinusite, ulcerazione eritematosa cronica della mucosa orale, affioramento di osseo necrotico sottostante, presenza di essudato purulento, possibile sanguinamento spontaneo o provocato, perdita di elementi dentari prima stabili. (9)

Radiologicamente si evidenziano: aspetto tarlato (aree) radiotrasparenti a margini poco definiti), impronta di alveoli post-estrattivi.

Con il tempo tali aree tendono ad essere isolate da un orletto radiotrasparente, formando così un sequestro osseo. Altre volte, invece, tali aree si espandono sino alla frattura patologica.

MATERIALI E METODI

Negli anni si è visto che l'approccio chirurgico⁽¹⁴⁻¹⁶⁻¹⁷⁾, nei casi di BRONJ, non sembra essere elettivo né risolutore, in quanto le lesioni osteonecrotiche che insorgono sono sempre di notevole gravità e vi è un'enorme difficoltà a mantenere un margine chirurgico pulito che consenta di non avere recidive. Per questo motivo il più delle volte l'intervento chirurgico risulta essere altamente invalidante.

Abbiamo così applicato un protocollo di chirurgia ossea ad ultrasuoni (piezoelettrica) non estesa , utilizzando il sistema Ultra-Sonic Bone Sugery (Resista srl.Omegna,Italia).

La *tecnica chirurgica ad ultrasuoni* veniva utilizzata principalmente per eseguire: curettage, debridement, sequestrectomia, corticotomia, osseoplastica, resezione ossea marginale.

Reclutamento dei pazienti

I criteri presi in considerazione nella scelta dei casi sono stati: - diagnosi di ONJ in vari stadi di progressione clinica⁽⁹⁾. Sono stati reclutati solo quei pazienti che presentavano uno stadio di malattia BRONJ 2±3 aventi lesioni non superiori ai 3 cm. [Tab. 1]

I pazienti erano trattati chirurgicamente con punte vibranti connesse ad un apparecchio ad ultrasuoni (piezoelettrico) ad alta potenza, gli stessi i sono stati poi seguiti per almeno 12 mesi dopo l'intervento chirurgico per verificare eventuali recidive.

STADIAZIONE CLINICA DELLE ONJ " BRONJ STAGE "

- **CATEGORIA A RISCHIO** : non apparente presenza di osso necrotico in pz. in trattamento con BF per via orale o EV
- **STAGE 0** : non segni evidenti di necrosi ossee
- **STAGE 1** : Osso necrotico esposto in assenza di sintomatologia
- **STAGE 2** : Osso necrotico esposto associato a dolore e infezione
- **STAGE 3** : Osso necrotico esposto associato a dolore, infezione e fratture patologiche, fistole extraorali o segni di osteolisi che si estendono fino al bordo corticale inferiore

Ruggiero S., e Altri: J. Oral Maxillofac Surg 67:2-12, 2009 Suppl1: "American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Position Paper on Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaws-2009 Update"

Tab.1: Stadiazione BRONJ

I pazienti, che rientravano nei criteri di scelta, 11 donne e 5 uomini con un'età media compresa tra 59-82 anni, sono stati trattati presso l'Ospedale di Gallipoli (Gallipoli, Puglia, Italia) da un unico chirurgo orale.

Di questi: 10 pazienti erano stati sottoposti a terapia con bifosfonati a causa di neoplasie metastatizzate, di cui 9 con Acido Zoledronico e 1 con Acido Pamidronico; invece, 6 pazienti erano stati trattati per osteoporosi con Acido Alendronico.

Undici pazienti riportavano lesioni osteonecrotiche a carico dell'osso mandibolare (10 nella regione anteriore e 1 in quella posteriore); quattro pazienti avevano lesioni a carico del mascellare superiore; un paziente ha avuto una osteonecrosi a carico della mandibola prima ed a distanza di 4 mesi a carico del mascellare superiore; due sul mascellare anteriore, ed altri due sul mascellare posteriore.

Una mandibola presentava una necrosi bilaterale nella regione posteriore; in tutto sono stati trattati 18 siti.

Le cause dell'osteonecrosi erano dovute ad estrazione in 12 pazienti e in tre pazienti ad una protesi incongrua, 1 paziente ha sviluppato Bronj come conseguenza di una grave paradentosi.

Tutti i pazienti affetti da tumore erano stati sottoposti a chemioterapia, terapia ormonale o con immunodepressori. Il trattamento con bifosfonati è durato in media dai 15 ai 94 mesi. L'osteonecrosi è stata diagnosticata in media dai 9 ai 95 mesi successivi all'inizio della terapia a base di bifosfonati. La diagnosi di BRONJ è stata fatta in media da 0 ai 6 mesi dalla sospensione del trattamento. In sei pazienti l'osteonecrosi è stata diagnosticata durante la cura a base di BF.

Protocollo del trattamento

Una volta fatta diagnosi di osteonecrosi, i pazienti sono stati trattati con un ciclo di terapia antibiotica per 2 settimane con un'associazione di Amoxicillina e acido Clavulanico (2g/die) e Metronidazolo (1g/die)

⁽²⁰⁾. Successivamente in caso di mancata guarigione⁽¹²⁾, veniva consigliato il trattamento chirurgico⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Sintomi e segni clinici

I sintomi e i segni clinici sono stati registrati per ogni paziente prima dell'intervento chirurgico e in seguito durante i successivi controlli. Tutti i pazienti oncologici presentavano esposizione d'osso a differenza di quelli affetti da osteoporosi. [In genere nei pazienti con osteoporosi l'osteonecrosi si manifesta con un sovrapporsi d'infezione, il quadro infiammatorio è quello tipico dell'osteomielite, mentre nei pazienti oncologici l'infezione si manifesta con una evidente esposizione di osso.] Due pazienti presentavano trisma ed un unico paziente riferiva parestesia del labbro inferiore.

Attrezzatura chirurgica ad ultrasuoni

Il trattamento chirurgico è stato effettuato con apparecchio UBS⁽²¹⁻²²⁾ (Resista, Omegna, Italia), un potente strumento chirurgico ad ultrasuoni con punte in lega di titanio e una potenza massima di 90 W⁽²¹⁾ [Fig. 1].



Fig 1. Il dispositivo Ultrasonic Bone Surgery e gli inserti utilizzati: a sinistra: Dispositivo ad ultrasuoni con manico vibrante. Potenza massima 90 W; a destra: inserti utilizzati. Da sopra: bone scraper, saw tip, orthogonal saw tip, round tip, straight round tip. Tutti gli inserti sono realizzati in lega di titanio.

L'attivazione dell'apparecchio ad ultrasuoni provoca onde cavitazionali che sono in grado di eliminare sia i germi in sospensione che i biofilm batterici⁽²³⁻²⁴⁾. Ciò è stato attribuito alla rottura della membrana cellulare batterica in seguito a ripetuti cicli di potenti implosioni di bolle nelle vicinanze di germi.

Sono state usate tre tipi di punte vibranti (Fig1b) con un apparecchio con potenza di 90 W (livello 5 su 9)⁽²⁴⁾ (Blus et. Al. 2009).

L'inserto "bone scraper" veniva utilizzato per rimuovere l'osso superficiale. Due lame seghettate "saw tips", una verticale e una ortogonale, venivano usate per clivare la zona di osso sequestrata. Le due

punte sferiche, una corta per la zona anteriore e una lunga e dritta, straight round tip, per poter accedere facilmente al vestibolo posteriore e zone linguali, sono state utilizzate per livellare i picchi ossei prima di suturare i tessuti molli.

Protocollo medico

Si è usata terapia antibiotica (Amoxicillina e acido clavulanico 2g/d e Metronidazolo 1g/d) per due settimane a partire dal terzo giorno precedente la chirurgia ad ultrasuoni.

Protocollo chirurgico

Fu utilizzata un'anestesia loco-regionale con Mepivacaina cloridrato *senza vasocostrittore*. Dopo un'incisione muco-periostale il successivo scollamento dei lembi avvenne in modo da avere un pieno accesso alla zona da trattare. A seconda del tipo di trattamento con bifosfonati utilizzato, l'aspetto macroscopico delle lesioni si presentava in modo diverso: nei pazienti con osteoporosi la necrosi ossea non era così estesa come nei pazienti trattati per neoplasie. Era presente osso vitale disseminato di zone necrotiche; in questo caso l'osso necrotico veniva rimosso fino ad ottenere un buon livello di sanguinamento sull'osso sano. Nei pazienti neoplastici l'osso necrotico veniva eliminato creando un piano di clivaggio tra la necrosi e la zona sana circostante per ottenere anche in questo caso un buon livello di sanguinamento. In ogni sito trattato i tessuti venivano successivamente esposti ad una azione di cavitazione intensa per due o tre minuti consecutivi, in modo da eliminare completamente gli eventuali batteri ancora presenti sul sito. Si procedeva quindi suturando i lembi, non prima di aver rimosso dagli stessi l'eventuale tessuto di granulazione residuo. In tutti i casi si è raggiunto lo scopo primario di chiusura. In tutti i casi l'esame istologico ha confermato l'osteonecrosi con infiltrato plasmacellulare; 4 pazienti presentavano inoltre infezione micotica a carico della zona rimossa.

Follow-up e criteri di successo

I pazienti sono stati controllati a distanza di due settimane dall'intervento chirurgico, dopo un mese, sei mesi, un anno e due anni e sono a tutt'oggi inseriti in un programma di richiamo a lungo termine. Sono stati presi in considerazione i sintomi e i segni clinici nei diversi momenti; è stata effettuata radiografia ortopantomica per avere informazioni radiologiche dopo 6 mesi, 1 anno.

I criteri di successo clinico erano:

- la diminuzione del dolore o la completa risoluzione,
- l'osso esposto è stato ricoperto dal tessuto molle,

- guarigione dei tessuti molli nelle zone trattate.

Per questi motivi consideriamo un successo clinico: la riduzione o la scomparsa dei sintomi (dolore, sanguinamento, gonfiore o presenza di pus); guarigione delle ulcere della mucosa e rivestimento tissutale dell'osso esposto; guarigione delle fistole mucose o cutanee.

Risultati

Il post-operatorio ha evidenziato dopo due settimane una buona guarigione dei tessuti, con scomparsa o diminuzione completa dei sintomi.

I controlli successivi a 6 e 12 mesi mettevano in evidenza una chiusura completa della ferita chirurgica con una restitutio ad integrum.

Discussione

E' stato piuttosto difficile valutare il successo del trattamento nel lungo periodo in quanto i pazienti affetti da cancro sono soggetti ad elevata mortalità. Per questa ragione il presente studio ha focalizzato la sua attenzione solo su quei pazienti che potevano essere seguiti per almeno 6-12 mesi.

Come detto precedentemente, i pazienti sottoposti a trattamento a base di bifosfonati per motivi oncologici presentavano una necrosi più avanzata rispetto a quelli in trattamento per osteoporosi.⁽²⁵⁻²⁶⁾ In letteratura sono riportati diversi metodi per la risoluzione dei problemi della Onj con alterni successi. Per la prima volta i pazienti affetti da BRONJ sono stati trattati con chirurgia ossea ad ultrasuoni e si sono eseguiti controlli a distanza di 12 mesi.

Questo lavoro è stato eseguito partendo dai risultati ottenuti in vitro sui batteri Gram positivi e Gram negativi⁽²⁷⁾ ed in vivo nella cura del piede diabetico⁽²⁸⁾ e nel posizionamento degli impianti dentali in siti infetti post-estrattivi⁽²⁹⁾.

Un altro elemento a favore è rappresentato dagli studi di Preti et al., i quali dimostrarono che siti infetti trattati con la chirurgia ad ultrasuoni prima di inserire gli impianti presentavano un incremento localizzato di proteine morfogenetiche⁽³⁰⁾.

Il protocollo medico-chirurgico si basa sull'utilizzo di una terapia antibiotica associata ad un intervento chirurgico con l'utilizzo di un apparecchio per chirurgia ossea ad ultrasuoni. I tessuti infetti e necrotici sono stati sottoposti all'effetto cavitazionale per 2/3 minuti. In esperimenti in vitro condotti dal nostro gruppo, si è evidenziato che l'effetto cavitazionale degli ultrasuoni diminuisce la vitalità batterica (Escherichia coli e B. Subtilis) da 2 a 3 log⁽³¹⁻³²⁾.

Alcuni autori sostengono che i biofilms microbici possono essere coinvolti nel processo del BRONJ⁽³¹⁻³²⁾. In questo contesto, a nostro avviso, il trattamento con la chirurgia ad ultrasuoni potrebbe aver diminuito la

massa critica microbica attorno all'osso e quindi permesso una sinergia con il trattamento medico. Il controllo a due settimane ha evidenziato la chiusura della tessuti molli per prima intenzione. Al follow-up a 30 gg. si poteva osservare la completa chiusura della ferita chirurgica e la scomparsa dell'edema e dei sintomi iniziali.

Conclusioni

L'obiettivo del presente studio era quello di provare un sistema che consentisse di ridurre la progressione dell'osteonecrosi ed evitasse le recidive. Si è introdotto un protocollo combinato medico-chirurgico per la cura di pazienti affetti da BRONJ.

I classici sintomi clinici diagnosticati precocemente in questi soggetti sono risultati scoparsi dopo un mese.

I casi sino ad oggi trattati, anche se necessitano di osservazioni a più lungo termine, ci consentono di affermare, che questa metodica è:

- semplice da usare,
- diminuisce notevolmente i tempi d'intervento,
- garantisce un minimo trauma chirurgico,
- aumenta l'accettazione del trattamento da parte del paziente

E' auspicabile che ricerche a lungo termine vengano eseguite per valorizzare i risultati preliminari fino ad oggi ottenuti.



Prima della chirurgia Onj mascellare spontanea



controllo a 12 mesi

References

1. Hortobagyi GN, Theriault RL, Lipton A, Porter L, Blayney D, Sinoff C, Wheeler H, Simeone JF, Seaman JJ, Knight RD, Heffernan M, Mellars K, Reitsma DJ. Long-term prevention of skeletal complications of metastatic breast cancer with pamidronate. Protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1998; **16**: 2038-2044.
2. Major P, Lortholary A, Hon J, Abdi E, Mills G, Menssen HD, Yunus F, Bell R, Body J, Quebe-Fehling E, Seaman J. Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *J Clin Oncol* 2001; **19**: 558-567.
3. Berenson JR, Hillner BE, Kyle RA, Anderson K, Lipton A, Yee GC, Biermann JS. American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines: the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2002; **20**: 3719-3736.
4. Rosen LS, Gordon D, Tchekmedyan NS, Yanagihara R, Hirsh V, Krzakowski M, Pawlicki M, De Souza P, Zheng M, Urbanowitz G, Reitsma D, Seaman J. Long-term efficacy and safety of zoledronic acid in the treatment of skeletal metastases in patients with nonsmall cell lung carcinoma and other solid tumors: a randomized, Phase III, double-blind, placebo-controlled trial. *Cancer* 2004; **100**: 2613-2621.
5. Saad F, Gleason DM, Murray R, Tchekmedyan S, Venner P, Lacombe L, Chin JL, Vinholes JJ, Goas JA, Zheng M. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; **96**: 879-882.
6. Assael LA. Oral bisphosphonates as a cause of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: clinical findings, assessment of risks, and preventive strategies. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; **67**: 35-43.
7. Sorensen OH. [Biphosphonates--a new treatment in osteoporosis]. *Ugeskr Laeger* 1991; **153**: 693-694.
8. Van Poznak C, Estilo C. Osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving IV bisphosphonates. *Oncology (Williston Park)* 2006; **20**: 1053-1062; discussion 1065-1056.
9. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the

- jaws--2009 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; **67**: 2-12.
10. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; **61**: 1115-1117.
 11. Vescovi P, Nammour S. Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) therapy. A critical review. *Minerva Stomatol* 2010; **59**: 181-203, 204-113.
 12. Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Fornaini C, Nammour S, Manfredi M. Nd:YAG laser biostimulation of bisphosphonate-associated necrosis of the jawbone with and without surgical treatment. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2007; **45**: 628-632.
 13. Vescovi P, Manfredi M, Merigo E, Guidotti R, Meleti M, Pedrazzi G, Fornaini C, Bonanini M, Ferri T, Nammour S. Early Surgical Laser-Assisted Management of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws (BRONJ): A Retrospective Analysis of 101 Treated Sites with Long-Term Follow-Up. *Photomed Laser Surg*. 2011 Nov 4
 14. Carlson ER, Basile JD. The role of surgical resection in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; **67**: 85-95.
 15. Stanton DC, Balasanian E. Outcome of surgical management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: review of 33 surgical cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; **67**: 943-950.
 16. Chiu CT, Chiang WF, Chuang CY, Chang SW. Resolution of oral bisphosphonate and steroid-related osteonecrosis of the jaw--a serial case analysis. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; **68**: 1055-1063.
 17. Vescovi P, Merigo E, Manfredi M, Meleti M, Fornaini C, Bonanini M, Rocca JP, Nammour S. Nd:YAG laser biostimulation in the treatment of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: clinical experience in 28 cases. *Photomed Laser Surg* 2008; **26**: 37-46.
 18. Curi MM, Cossolin GS, Koga DH, Zardetto C, Christianini S, Feher O, Cardoso CL, dos Santos MO. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--an initial case series report of treatment combining partial bone resection and autologous platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; **69**: 2465-2472.
 19. Yoneda T, Hagino H, Sugimoto T, Ohta H, Takahashi S, Soen S, Taguchi A, Toyosawa S, Nagata T, Urade M. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: position paper from the Allied Task Force Committee of Japanese Society for Bone and Mineral Research, Japan Osteoporosis Society, Japanese Society of Periodontology, Japanese Society for Oral and Maxillofacial Radiology, and Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons. *J Bone Miner Metab* 2010; **28**: 365-383.
 20. Moretti F, Pelliccioni GA, Montebugnoli L, Marchetti C. A prospective clinical trial for assessing the efficacy of a minimally invasive protocol in patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011; **112**: 777-782.
 21. Blus C, Szmukler-Moncler S. Split-crest and immediate implant placement with ultrasonic bone surgery: a 3-year life-table analysis with 230 treated sites. *Clin Oral Implants Res* 2006; **17**: 700-707.
 22. Blus C, Szmukler-Moncler S, Voza I, Rispoli L, Polastri C. Split-crest and immediate implant placement with ultrasonic bone surgery (piezosurgery): 3-year follow-up of 180 treated implant sites. *Quintessence Int* 2010; **41**: 463-469.
 23. Thacker J. An approach to the mechanism of killing of cells in suspension by ultrasound. *Biochim Biophys Acta* 1973; **304**: 240-248.
 24. Blus C, Szmukler-Moncler S. Atraumatic tooth extraction and immediate implant placement with Piezosurgery: evaluation of 40 sites after at least 1 year of loading. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2010; **30**: 355-363.
 25. Merigo E, Manfredi M, Meleti M, Guidotti R, Ripasarti A, Zanzucchi E, D'Aleo P, Corradi D, Corcione L, Sesenna E, Ferrari S, Poli T, Bonanini M, Vescovi P. Bone necrosis of the jaws associated with bisphosphonate treatment: a report of twenty-nine cases. *Acta Biomed* 2006; **77**: 109-117.
 26. Khan N, Licata A, Rogers D. Intravenous bisphosphonate for hypercalcemia accompanying subcutaneous fat necrosis: a novel treatment approach. *Clin Pediatr (Phila)* 2001; **40**: 217-219.
 27. Blus C, Szmukler-Moncler S, Orru G, Denotti G, Piras A, Piras V. Bactericide effect of vibrating ultra-sonic (piezo-surgery) tips. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res* 2009; **20**: 905 (abstract).
 28. Blus C, Szmukler-Moncler S, La Rosa A, Moia R. Ultra-sonic debridement. A novel approach of scar debridement. Proceedings of the 2nd Congress of the World Union Wound Healing Societies, 2004, July 8-13, Paris, France, p 184
 29. Blus C, Szmukler-Moncler S, Khoury PM, Piras V, Orrù G, Testori T. Immediate implants placed in infected and non-infected sites after atraumatic tooth extraction and placement with piezo-surgery (ultra-sonic surgery). A 5-

- year Life Table Analysis. Clin Implant Dent Rel Research, submitted.
30. Preti G, Martinasso G, Peirone B, Navone R, Manzella C, Muzio G, Russo C, Canuto RA, Schierano G. Cytokines and growth factors involved in the osseointegration of oral titanium implants positioned using piezoelectric bone surgery versus a drill technique: a pilot study in minipigs. *J Periodontol* 2007; **78**: 716-722.
 31. Sedghizadeh PP, Kumar SK, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW. Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2008; **66**: 767-775.
 32. Ganguli A, Steward C, Butler SL, Philips GJ, Meikle ST, Lloyd AW, Grant MH. Bacterial adhesion to bisphosphonate coated hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med* 2005; **16**: 283-287.
 33. Sedghizadeh PP, Kumar SK, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW. Microbial biofilms in osteomyelitis of the jaw and osteonecrosis of the jaw secondary to bisphosphonate therapy. *J Am Dent Assoc* 2009; **140**: 1259-1265.
 34. Bambini F., De Stefano CA, Giannotti L., Meme L., Pellecchia M. "Influence of bisfosfonates on the integration process of endosseous implants evaluated using single photon emission computerized tomography(SPECT)", *Minerva stomatologia* 2003;52:331-338.
 35. Ruggiero SL et al. "Practical Guidelines for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with cancer" *Journal of Oncology Practice*, vol.2,issue1,January 2006.
 36. Ruggiero SL. et al. "Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases", *J.oral Maxillofac Surg* 62:527-534, 2004.
 37. Ruggiero SL, Fantasia, Carlson Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *OOO*. Vol. 102 No. 4 October 2006
 38. Ruggiero SL: "Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ): Initial Discovery and Subsequent Development" 2009 American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons *J Oral Maxillofac Surg* 67:13-18, 2009, Suppl 1