

Chirurgia implantare: trattamento con un gel fluido a base di acido ialuronico e piperacillina più tazobactam

Implant surgery: treatment with a fluid gel compound
with hyaluronic acid and piperacillin plus tazobactam

SCOPO DEL LAVORO

Valutazione dell'applicabilità, dei benefici clinici e della tollerabilità di un biomateriale quale scaffold organico a base di acido ialuronico e piperacillina + tazobactam utilizzato da solo o in associazione ad osso eterologo e membrana di collagene riassorbibile nella riparazione dei difetti ossei e nella prevenzione e trattamento delle infezioni perimplantari.

MATERIALI E METODI

Sono stati trattati complessivamente 43 pazienti con perimplantite, difetti ossei perimplantari, in chirurgia estrattiva, nel grande rialzo del seno mascellare. Il prodotto è stato anche utilizzato per la prevenzione delle infezioni precoci attraverso il lavaggio del sito ed applicazione del gel fluido sull'impianto prima dell'inserimento.

RISULTATI E CONCLUSIONI

I risultati preliminari di questo studio, in questi

pazienti selezionati, hanno evidenziato una buona applicabilità del prodotto ai casi chirurgici, elevati benefici clinici ed un'ottima tollerabilità. Il suddetto biomateriale ha contribuito al miglioramento dei processi di riparazione dei tessuti ricreando un ambiente favorevole alla guarigione grazie alla prevenzione di sovrainfezioni batteriche per la presenza di piperacillina e tazobactam, antibiotici con ampio spettro di azione sia su batteri Gram + che sui Gram -. L'attività antimicrobica della piperacillina è incrementata dalla associazione con il tazobactam e risulta così attiva anche su batteri che producono β -lattamasi.

AIM OF THE WORK

Evaluation of applicability, clinical benefits and tolerability of a biomaterial as an organic scaffold with hyaluronic acid and piperacillin + tazobactam used alone or in combination with bone allograft and resorbable collagen membranes in the restoration of bone defects

as well as in prevention and treatment of peri-implant infections.

MATERIALS AND METHODS

A group of 43 patients with periimplantitis and peri-implant bone defects or requiring sinus lift and extractive surgery were treated using the product in addition to standard procedures. The product was also used to wash sockets and applied on the implant before its placement in order to prevent early infections.

RESULTS AND CONCLUSIONS

The results of this preliminary study on selected patients, showed a good applicability of the product in surgical cases, with higher benefits and an excellent clinical tolerability. The biomaterial helped the processes of tissue repair creating a favourable environment for healing through the prevention of bacterial infections, owing to the presence of piperacillin and tazobactam, an antibiotic with broad spectrum activity against Gram + and Gram -.

INTRODUZIONE

Scopo dello studio è di verificare se l'associazione acido ialuronico ad alto peso molecolare e piperacillina + tazobactam può trovare utile applicazione nella terapia rigenerativa ossea, grazie alle azioni protettive dell'acido ialuronico nonché alla sua efficacia nel promuovere la riparazione tissutale e alla sua attività antinfiammatoria in senso lato (potere antiossidante, riduzione produzione eicosanoidi eccetera) insieme alle sue capacità di inibire l'adesione e la crescita batterica associata quest'ultima all'azione antibatterica della piperacillina e tazobactam. L'azione antibatterica della piperacillina + tazobactam insieme alle proprietà antiadesive, rispetto ai batteri dell'acido ialuronico, possono ridurre la formazione del biofilm batterico che riveste così grande importanza a livello degli impianti. Pertanto, il prodotto potrebbe trovare un favorevole utilizzo quando miscelato all'osso sintetico / eterologo / di banca per interventi di chirurgia orale.

Recentemente numerose pubblicazioni hanno evidenziato che un rivestimento di acido ialuronico di differenti medical devices ha capacità antiadesive nei confronti di cellule e batteri (1-3, 4-7).

Gli studi precedenti suggeriscono che l'acido ialuronico sia in grado di prevenire l'adesione batterica agli impianti esercitando, di conseguenza, un effetto batteriostatico.

Molti dei processi biologici mediati dall'acido ialuronico sono fondamentali nella riparazione tissutale e nella guarigione delle ferite e proprio i tessuti in rigenerazione sono particolarmente ricchi di questo acido (8). L'acido ialuronico contribuisce ad una grande varietà di funzioni cellulari essenziali per la riparazione dei tessuti: la risposta all'infiammazione (9-11), la migrazione cellulare (12-15), la proliferazione cellulare (16) e l'organizzazione della matrice extracellulare (17-21). Inoltre, l'acido ialuronico gioca un ruolo importante nei processi angiogenetici.

Più recentemente si è cominciato a studiare gli effetti dell'acido ialuronico sui processi



Giacomo Bartoloni
bartolonigiacomo@gmail.com

Saint Omer

Liberi professionisti

riparativi delle ferite post-estrattive (22) e delle ferite prodotte dall'applicazione di impianti (23). A questo riguardo è stato osservato che l'esposizione all'acido ialuronico di peso molecolare elevato (900-2300 kDa), in appropriati dosaggi (0,5 1,0 e 2,0 mg/ml), su colture di osteoblasti (24) aumenta, in maniera statisticamente significativa, la proliferazione cellulare. Lo studio in questione ha anche valutato l'effetto dell'aggiunta di acido ialuronico sulla differenziazione osteoblastica, e quindi sulla formazione ossea, con risultati positivi. I risultati ottenuti hanno portato gli autori a concludere che l'acido ialuronico, ad alto peso molecolare, può aumentare le proprietà osteogeniche e osteoconduttive degli innesti e sostituti ossei per i suoi effetti stimolatori sugli osteoblasti.

Altre conferme, sulle possibilità dell'efficacia dell'acido ialuronico ad alto peso molecolare nelle patologie orali emergono da uno studio di tipo split-mouth, condotto sui conigli dopo estrazione dei primi molari superiori ed inferiori, dove si evidenzia che l'esposizione a un gel di acido ialuronico ad alto peso molecolare favorisce la guarigione dell'alveolo post estrattivo in confronto alla semplice sutura nei siti di controllo (25). Lo studio condotto nel tempo, esattamente a 3, 7, 13, 20 e 30 giorni dall'estrazione, evidenzia che l'acido ialuronico migliora tutti i parametri considerati ed esattamente l'area alveolare totale, l'area di neoformazione ossea all'interno degli alveoli e la percentuale di alveolo ricolonizzata dal tessuto osseo e ciò sembra dipendere dalla capacità di promuovere e accelerare la sostituzione del coagulo con tessuto di granulazione dell'acido ialuronico. Infatti l'idrofilia dell'acido ialuronico rende il coagulo di fibrina molto più soffice e più facilmente colonizzabile dalle cellule che devono costruire il tessuto in via di formazione (13, 26). Una ulteriore conferma viene fornita da uno studio sul ratto volto ad indagare la possibilità che l'acido ialuronico potenzi la differenziazione precoce del tessuto di granulazione in tessuto mesenchimale osteogenico. Gli autori hanno studiato, con tecniche istologiche, gli effetti di un gel a base di acido ialuronico



acido ialuronico,
piperacillina-tazobactam,
chirurgia implantare,
riparazione dei tessuti,
difetti ossei.
Hyaluronic acid, piperacillin
and tazobactam, implant
surgery, tissue restoration,
bone defects.

rispetto alla neoformazione ossea senza impianto in ferite chirurgiche indotte a livello della cavità senonassali e della calvaria del ratto (27). I risultati hanno confermato il potenziamento dell'attività osteogenetica nelle ferite trattate con acido ialuronico. Tale dato conferma ed estende i dati ottenuti in altre sedi come il femore e la tibia. In particolare, l'introduzione dell'acido ialuronico nelle cavità sperimentalmente indotte nel femore di ratto produce, già dopo quattro giorni dall'applicazione, evidenti segni di una vivace attività osteoinduttiva contrariamente a quanto avviene nei siti controllo privi di acido ialuronico (28). Risultati analoghi si ottengono nella tibia di conigli dove nelle cavità esposte all'acido ialuronico si osserva una migliore guarigione a tutti i tempi studiati (20, 30 e 40 giorni) in confronto ai controlli (cavità riempite con i soli innesti di spongiosa ossea) (29).

I dati precedenti evidenziano che l'esposizione all'acido ialuronico ad alto peso molecolare migliora i processi di riparazione delle ferite indipendentemente della sede di applicazione.

Evidenze cliniche hanno dimostrato una accelerazione di deposizione ossea e del suo rimodellamento in siti post estrattivi trattati con acido ialuronico ad alto peso molecolare associato ad osso autologo rispetto ai controlli trattati con solo osso autologo, consentendo così di raggiungere una rigenerazione ossea in tempi più ridotti (30). In un altro studio sull'uomo l'acido ialuronico ad alto peso molecolare è stato utilizzato insieme ad osso autologo + eterologo e membrana riassorbibile per ottenere una rigenerazione verticale della cresta alveolare, consentendo quindi l'inserimento implantare. I risultati dello studio

hanno consentito di valutare tramite biopsia un incremento verticale di 4 mm di tessuto osseo dopo 12 mesi (31). Una ulteriore evidenza clinica sull'utilizzo di un prodotto a base di acido ialuronico ad alto peso molecolare ed una veloce riossificazione di siti post estrattivi, cavità secondarie ad estrazioni complesse di denti inclusi, cavità cistiche, inserzione di impianti eccetera (valutato tramite evidenze radiologiche dopo 2 mesi) è stata dimostrata ed è verosimilmente secondaria ad una rapida neocollagenogenesi (32).

Infine un recente lavoro, che ha valutato la correzione di difetti intraossei con acido ialuronico insieme a osso autologo in 9 pazienti, ha evidenziato, in difetti con profondità media di 8,3 mm, un guadagno di attacco clinico di 2,6 mm con stabilità degli elementi dentali anche dopo 9 mesi dal trattamento (33).

La piperacillina, come sopra ricordato, ha un ampio spettro di attività in vitro ma ha dimostrato un più ampio spettro di attività, ed in alcuni casi una maggiore potenza, contro gli organismi Gram- rispetto agli altri antibiotici appartenenti al gruppo delle penicilline (34). La piperacillina inibisce il 90% dei batteri anaerobi ad una concentrazione di 8 mg/L (34). Alcuni studi hanno valutato l'attività della piperacillina nelle infezioni della bocca in particolare in quelle associate a terapia chirurgica del cavo orale. Le infezioni post chirurgiche del cavo orale hanno risposto alla terapia con piperacillina per via sistemica (1-4 g/die per un periodo di 12 giorni) con risultati eccellenti o buoni in una media del 74% dei casi (34-38). L'attività battericida della piperacillina contro i ceppi caratteristici di suddette infezioni è risultato eccellente o buono nella quasi totalità dei casi (34). La terapia profilattica

post operatoria con piperacillina per la prevenzione delle infezioni chirurgiche del cavo orale è risultata efficace in tutti i pazienti studiati (36, 38).

L'attività antimicrobica della piperacillina è incrementata dall'associazione con il tazobactam (39) contro i batteri sia Gram- che Gram+ e batteri anaerobi. In particolare l'associazione tazobactam + piperacillina dà luogo ad un agente antimicrobico che risulta attivo anche su batteri che producono -lattamasi. Infatti tazobactam è un inibitore delle -lattamasi batteriche, quindi consente di estendere l'attività antibatterica della piperacillina anche a quei batteri resistenti alle penicilline e alle cefalosporine perché produttori -lattamasi (penicillinasi o cefalosporinasi).

MATERIALI E METODI

Il prodotto è costituito da un gel fluido i cui componenti sono il sodio ialuronato allo 0,5% ad alto peso molecolare (1,5-x106 Da) e piperacillina sodica + tazobactam sodico. Il prodotto è sterile ed è confezionato in flaconi di vetro. Sono state utilizzate inoltre siringhe sterili monouso con ago perforatore per la preparazione del gel ed aghi a punta smussa (da sostituire a quello perforatore) per l'applicazione direttamente sul sito chirurgico o prima sull'osso eterologo e sulla membrana prima del posizionamento nel sito stesso.

Lo studio ha consentito di valutare le caratteristiche di applicazione del prodotto nelle situazioni chirurgiche selezionate, i benefici clinici e gli eventuali effetti collaterali.

Sono stati trattati complessivamente 43 pazienti in età compresa tra 35 e 78 anni di cui 19 uomini

e 24 donne. In particolare, 6 per il trattamento chirurgico della perimplantite, 6 per il trattamento dei difetti ossei perimplantari (durante la fase di posizionamento di impianto immediato), 14 in chirurgia estrattiva per posizionamento di impianto ritardato con innesto osseo nell'alveolo, 3 nel grande rialzo del seno mascellare, 1 nei difetti ossei da enucleazione di cisti mandibolare, 13 durante intervento implantare con lavaggio del sito e soluzione applicata su impianto prima dell'inserimento (per profilassi infezioni precoci). Almeno un mese prima dell'intervento i pazienti sono stati sottoposti a un trattamento di igiene orale professionale ed hanno dimostrato un adeguato controllo della placca.

Tutti i pazienti hanno assunto antibiotici sistemici per il controllo delle infezioni post chirurgiche.

L'assunzione dell'antibiotico è iniziata la sera prima dell'intervento e si è protratta per i 6 giorni successivi. È stata somministrata amoxicillina + acido clavulanico (825 mg + 175 mg) ogni 12 ore o, se allergici alle penicilline, clindamicina (600 mg). I pazienti inoltre hanno utilizzato un collutorio a base di clorexidina 0,2% 2 volte al giorno con inizio 2 giorni prima dell'intervento e per i successivi 8 giorni.

Sono stati inclusi nello studio per il trattamento delle perimplantiti pazienti con tasche > 6 mm con perdita di tessuto osseo > 4 mm. Sono stati esclusi impianti con > 80% perdita di tessuto osseo, dolore o mobilità. Il prodotto in studio è stato utilizzato da solo o in associazione ad osso autologo ed eterologo (Bioss, Geistlich) e membrana riassorbibile di collagene (BioGide, Geistlich) per il trattamento chirurgico della perimplantite. In particolare, dopo l'anestesia locale, smontaggio pro-

tesi, incisione e scollamento del lembo a spessore totale con estensione oltre l'area infettata verso i tessuti sani, dopo curettage osseo accurato e rimozione del tessuto infiammatorio si è applicato un protocollo di decontaminazione dell'impianto in 6 fasi:

- fresaggio con fresa sterile della superficie dell'impianto;
- apposizione di gel a base di acido ortofosforico al 37% attorno all'impianto lasciato in situ per circa 2 minuti, successiva aspirazione con cannula sterile del gel e lavaggio con soluzione fisiologica sterile;
- impacco con strisce di garza sterili imbevute con il gel fluido a base di piperacillina + tazobactam attorno all'impianto, nel difetto e sotto il lembo mucoperiostale, lasciate in situ per 5 minuti;
- innesto di osso eterologo reidratato con la soluzione a base di piperacillina + tazobactam;
- rivestimento dell'innesto osseo con membrana riassorbibile di collagene reidratata con soluzione a base di piperacillina + tazobactam;
- sutura del lembo dopo aver inserito vite tappo.

Il gel fluido a base di acido ialuronico e piperacillina + tazobactam è stato utilizzato per il trattamento rigenerativo dei difetti ossei perimplantari della cresta alveolare ed in chirurgia estrattiva (in particolare per posizionamento impianto ritardato), nel rialzo del pavimento del seno (tecnica della finestra laterale o con accesso crestale), nei difetti ossei derivanti da enucleazione di cisti della mandibola. In particolare, il protocollo terapeutico è stato realizzato in 3 fasi:

- miscelazione del gel fluido a base di piperacillina + tazobactam con il particolato osseo fino ad otte-

nere un impasto omogeneo, eliminando l'eccesso di soluzione con garza sterile;

- applicazione del prodotto nel difetto osseo modellato con apposito strumento;
- rivestimento dell'innesto osseo con membrana riassorbibile di collagene reidratata con gel a base di piperacillina + tazobactam.

Infine, il prodotto in studio è stato utilizzato durante intervento di inserimento implantare con lavaggio del sito ed applicato su impianto prima dell'inserimento (quale profilassi delle infezioni precoci); in particolare è stato effettuato il lavaggio del sito implantare posizionando la punta dell'ago smusso vicino alla base del sito ed è stato iniettato il prodotto finché la soluzione è fuoriuscita dal margine superiore. Quindi si sono lasciate cadere alcune gocce del prodotto sull'impianto subito prima dell'inserimento nel sito in modo che tutta la superficie fosse bagnata.

I criteri di valutazione si sono basati sulla registrazione dei segni e sintomi, e valutazioni radiografiche.

Le valutazioni all'esame obiettivo del sito chirurgico (dopo 8 giorni durante la seduta di eliminazione dei punti, dopo 3 e 6 mesi) sono state effettuate in base alle variazioni dei segni e sintomi dei tessuti molli interessati del lembo e stato della sutura, quali edema, gonfiore, arrossamento, gemizio, dolore, eventuale interessamento dei linfonodi.

In particolare per le perimplantiti sono stati valutati la presenza di suppurazione, il sanguinamento al sondaggio (BOP), la profondità della tasca (PD), evidenza radiografica di perdita ossea. La BOP è stata registrata utilizzando un indice dicotomico per la presenza o assenza, aspettando un periodo di tempo di 15 secondi dopo un son-

Giorni	Difetti perimpl	Estrazioni	Rialzo seno	Cisti	Inserimento Impianti
8 giorni	+++	++	++	+	+++
3 mesi	+++	+++	+++	+++	+++
6 mesi	+++	+++	+++	+++	+++

remissione completa dei segni e sintomi infiammatori +++ (ottimo);
remissione dei sintomi con riduzione dei segni ++ (buono)
riduzione parziale dei sintomi e dei segni + (scarso);
scarsa o nulla riduzione dei segni e sintomi - (nullo)

tab. 1 Segni e sintomi dei tessuti molli interessati del lembo e stato della sutura.

Gruppo 1 Lavaggio sito	Gruppo 2 Difetti perimpl	Gruppo 3 Rialzo seno	Rialzo seno
N° soggetti	13	6	3
N° Impianti	16	6	4
N° siti con flogosi pre-tratt	0	2	0
Rx: difetti tempo 0	2	6	4

tab. 2 Cambiamento dei tessuti molli e duri dal baseline al follow-up.

N° soggetti	6
N° impianti	6
Edema pre-tratt.	6
Edema post-tratt.	0
BOP pre-tratt.	6
BOP post-tratt.	0
Suppurazione pre-tratt.	5
Suppurazione post-tratt.	0

tab. 3 Pazienti con perimplantite: cambiamenti dei tessuti molli dal baseline al follow-up (6 mesi).

N° soggetti	6
N° impianti	6
Perdita osso mm (Rx) pre-tratt.	6,46
Perdita osso mm (Rx) post-tratt.	2,61
Guadagno osso (mm) post-tratt.	3,85

tab. 4 Pazienti con perimplantite: variazioni radiografiche dei livelli di osso (mm) dal baseline al follow-up (6 mesi).

daggio delicato (40).

Inoltre sono state effettuate valutazioni radiografiche dopo 3-6 mesi al fine di valutare la guarigione e le variazioni di tessuto osseo perimplantare. L'analisi delle radiografie è stata effettuata con un metodo per digitalizzare e standardizzare le misurazioni (41).

Per tutti i pazienti è stata quindi valutata la tollerabilità del prodotto in studio registrando l'insorgenza di eventuali effetti collaterali sia locali che sistemici.

Gli autori dichiarano che lo studio presentato è stato realizzato in accordo con gli standard etici stabiliti nella Dichiarazione di Helsinki e che il consenso informato è stato ottenuto da tutti i partecipanti prima del loro arruolamento allo studio.

RISULTATI

La valutazione clinica dei segni e sintomi ha condotto a dei risultati ottimi dopo 8 giorni nel 51% dei pazienti, buoni nel 46% e scarsi nel 3%. Dopo 3-6 mesi la valutazione clinica ha dato risultati ottimi in tutti i pazienti trattati (tab. 1).

Nei 37 pazienti appartenenti ai 5 gruppi riportati in tabella 1 non si sono registrati effetti collaterali locali o sistemici, ad esclusione della segnalazione da parte di 4 pazienti (3 nel gruppo estrazioni ed 1 nei difetti perimplantari) che hanno riferito "cattivo sapore" il primo giorno dopo l'intervento.

La tabella 2 riassume i dati pre e post trattamento per i tre gruppi di pazienti a cui è stato inserito alme-

no un impianto.

Il gruppo degli affetti da perimplantite grave era costituito da 6 pazienti con 6 impianti. La tabella 3 riassume i cambiamenti dei tessuti molli pre e post trattamento, mentre la tabella 4 le variazioni radiografiche dei livelli di osso. I 6 impianti con perimplantite grave hanno dato risultato di guadagno di tessuto osseo intorno all'impianto variabile dal 50 all'80% (figg. 1).

Non si è rilevato alcun effetto collaterale locale o sistemico.

DISCUSSIONE

Il protocollo di trattamento descritto in questo studio per la prevenzione e il trattamento delle perimplantiti



A



B



C



D



E

figg. 1
 Radiografie dei livelli ossei prima e dopo il trattamento (10 mesi) che dimostrano la riduzione del difetto.
 A: tempo 0;
 B: dopo 10 mesi;
 C: inserimento dell'impianto;
 D: tempo 0;
 E: dopo 10 mesi.

ha dimostrato risultati incoraggianti. Ricerche che hanno valutato un approccio non chirurgico hanno mostrato che tale metodologia di trattamento non consente risultati predicibili.

Il livello di guadagno osseo nel presente studio, basato sulle radiografie, è risultato in media di 3,85 mm. Questo guadagno è rimasto stabile fino al follow-up di 10 mesi (figg. 1).

Una recente pubblicazione ha riportato un metodo di decontaminazione dell'impianto per rimuovere meccanicamente la placca batterica utilizzando polvere di bicarbonato abrasivo con aria unito a trattamento antibiotico locale (tetraciclina) (41). Il concetto di decontaminazione della superficie implantare può essere ottenuto in un campo operatorio come la bocca, risultando la procedura forse più importante

del trattamento dei pazienti affetti da perimplantite. Questo sottolinea l'importanza di una strategia chirurgica per facilitare la diretta visualizzazione dell'impianto. Infatti qualsiasi metodo di decontaminazione della superficie implantare che non permetta una completa visualizzazione della superficie può risultare inefficace. Ad oggi altri metodi di decontaminazione della superficie implantare non hanno dimostrato

un significativo miglioramento nei risultati del trattamento della perimplantite, forse proprio per l'incapacità di poter vedere la superficie implantare (42-45).

L'utilizzo dell'acido ialuronico associato all'antibiotico locale è estremamente importante nell'opinione degli autori. Infatti questo biomateriale ha dimostrato di prevenire l'adesione batterica agli impianti (5-7). Inoltre molti dei processi biologici mediati dall'acido ialuronico sono fondamentali nella riparazione tissutale e nella guarigione delle ferite e proprio i tessuti in rigenerazione sono particolarmente ricchi di questo acido (8). L'acido ialuronico contribuisce ad una grande varietà di funzioni cellulari essenziali per la riparazione dei tessuti: la risposta all'infiammazione (9-11), l'organizzazione della matrice extracellulare (17-21). Inoltre, l'acido ialuronico gioca un ruolo importante nei processi angiogenetici ed ha dimostrato, caratteristica più importante, attività osteogeniche ed osteoconduttive (28-30).

La decisione di utilizzare nel protocollo di decontaminazione un sostituto osseo ed una membrana di collagene nasce da uno studio che ha riportato 3 anni di stabilità dell'osso rigenerato dove erano presenti le lesioni legate alla perimplantite (46).

Le procedure ed i materiali riportati nel presente studio dovranno essere valutati clinicamente in uno studio controllato e randomizzato, su un più ampio numero di pazienti e per un follow-up più lungo.

CONCLUSIONI

L'applicazione di un protocollo di decontaminazione della superficie implantare che preveda oltre alla

rimozione meccanica aggressiva del biofilm presente (freasatura) un trattamento antibiotico locale (piperacillina + tazobactam) merita considerazione in relazione ai risultati clinici ottenuti, considerando inoltre che l'alternativa di rimuovere un impianto con perimplantite espone il paziente al rischio di un danno osseo, di un possibile danno al tessuto nervoso e anche degli elementi dentari.

I risultati incoraggianti di questo studio, anche se osservati in indicazioni differenti e su una casistica limitata, supportano l'applicabilità del trattamento antibiotico locale unito all'acido ialuronico in questi casi selezionati di chirurgia implantare.

BIBLIOGRAFIA

1. Pavesio A, Reiner D, Cassinerli C, Morra M. Anti-adhesive surface through hyaluronan coatings. *Med Device Technol* 1997;8:24-7.
2. Morra M, Cassinelli C. Non-fouling properties of polysaccharide-coated surface. *J Biomater Sci Polym Ed* 1999;10:1107-24.
3. Disegi JA, Richards GR, Harris LG. Antimicrobial Hyaluronic acid coatings for orthopedic implants. *Apr*, 14 2005; WO 2005/032417.
4. Pirnazar P, Wolinsk L, Nachnani S, Haake S, Pilloni A, Bernard GW. Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. *J Periodontol* 1999;70:370-4.
5. Harris LG, Richards RG. Staphylococcus aureus adhesion to different treated titanium surfaces. *J Mater Med* 2004;15:311-4.
6. Harris LG, Richards RG. Analysing bacterial adhesion to biomaterials. *European Cells and Materials* 2004;7(Suppl 1):39.
7. Harris LG. Bacterial Reactions to Modified Biomaterial Surfaces. *European Cells and Materials* 2005;10(Suppl 5):17.
8. Noble PW. Hyaluronan and catabolic products in tissue injury and repair. *Matr Biol* 2002;21:25-9.
9. Presti D, Scott JE. Hyaluronan-mediated protective effect against cell damage caused by enzymatically produced hydroxyl (OH⁻) radicals is dependent on hyaluronan molecular mass. *Cell Biochem Funct* 1994;12:281-8.
10. Cortivo R, Brun P, Cardarelli L, O'Regan M, Conconi I, Abatangelo G. Antioxidant effects of hyaluronan and its alpha-methyl-prednisolone derivative in chondrocyte and cartilage cultures. *Sem Arthritis Rheum* 1996;26:492-501.
11. Fraser JRE, Laurent TC et al. In: *Compendium Extracellular Matrix, Volume II: Molecular Components and Interactions*. The Netherlands: Harwood Academic Publishers;1996. p. 141-99.
12. Culp LA, Murray BA, Rollins BJ. Fibronectin and proteoglycan as determinants of cell-substratum adhesion. *J Supramol Struct* 1979;11:401-27.
13. Toole BP. Proteoglycans and hyaluronan in morphogenesis and differentiation. In: Hay ED, editor. *Cell Biology of Extracellular Matrix (Second Edition)*. NewYork: Plenum Press; 1991. p. 305-41.
14. Turley EA. Hyaluronan-binding proteins and receptors. *Adv Drug Deliv Rev* 1991;7:257-64.
15. Thomas L, Byers HR, Vink J, Stamenkovic I. CD44 regulates tumor cell migration on a hyaluronate-coated substrate. *J Cell Biol* 1992;118:971-7.
16. Lee JY, Spicer AP. Hyaluronan: a multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12:581-6.
17. Ratcliffe A, Mow VC. Articular cartilage. In: Comper WD, editor. *Extracellular Matrix, Volume I: Tissue Function*. The Netherlands: Harwood Academic Publishers; 1996. p. 234-302.
18. Fosang AJ, Hardingham TE. Matrix proteoglycans. In: Comper WD, editor. *Extracellular Matrix, Volume II: Molecular Components and Interactions*. The Netherlands: Harwood Academic Publishers; 1996. p. 200-29.
19. Weigel PH, Fuller GM, LeBoeuf RD. A model for the role of hyaluronic acid and fibrin in the early events during the inflammatory response and wound healing. *J Theoret Biol* 1986;11:219-34.
20. Weigel PH, Frost SJ, Mc Gary CT, LeBoeuf RD. The role of hyaluronic acid in inflammation and wound healing. *Int J Tiss React* 1988;10:355-65.
21. Oksala O, Salo T, Tammi R, Hakkinen H, Jalkanen M. Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. *J Histochem Cytochem* 1995;43:125-35.
22. Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodont* 2003;30:809-18.

23. Davies J. Understand peri-implant endosseous healing. *J Dent Educat* 2003;67:932-49.
24. Huang L, Cheng YY, Koo PL, Lee KM, Qin L, Cheng JC, Kumta SL. The effect of hyaluronan on osteoblast proliferation and differentiation in rat calvarial-derived cultures. *J Biomed Mater Res* 2003;66:880-4.
25. Brunel G, Piantoni P, Piotrowski B, Baysse E. Action of Hyaluronic acid on the wound healing following extraction. *Dent Inform* 2004;7:385-91.
26. Toole BP. Hyaluronan in morphogenesis. *J Intern Med* 1997;242:35-40.
27. Jacob A, Faddis BT, Chole A. MeroGel: Hyaluronic acid and sinonasal implants: osteogenic implications. *Laryngoscope* 2002;112(1): 37-42.
28. Sasaki T, Watanabe C. Stimulation of osteoinduction in bound wound healing by high-molecular hyaluronic acid. *Bone* 1995;16:9-15.
29. Muzaffer A, Simsek G, Dayi E. The effect of Hyaluronic acid-supplemented bone graft in bone healing: experimental study in rabbits. *J Biomat Appl* 2006;20:209-21.
30. Baldini A, Zaffe D, Caccianiga GL, Tredici G. La riparazione di difetti ossei con acido ialuronico ad alto peso molecolare associato con osso autologo: risultati preliminari. Congresso Nazionale Biomateriali 2004 Pisa- Italia, 11-13 Ottobre.
31. Vanden Bogaerde L. Rigenerazione ossea verticale con membrana riassorbibile in PGA-TMC associate a miscele di osso autologo, osso bovino deproteinizzato e acido ialuronico. *Dentista Moderno* 2005;109-16.
32. Favia G. La neocollagenogenesi e la rigenerazione molecolare della matrice extracellulare nella moderna odontoiatria. *Giornale dell'Odontoiatria* 2007;12.
33. Ballini A, Cantatore S, Capodiferro S, Grassi R. Esterified Hyaluronic Acid and Autologous Bone in the Surgical Correction of the Infra- bone Defects. *International Journal of Medical Sciences* 2009;6(2):65-71.
34. Holmes B, Richards DM, Brogden RN, Heel RC. Piperacillin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* 1984;28:375-425.
35. Kannagara DW, Thadepalli H, McQuirter JL. Bacteriology and treatment of dental infection. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1980;50:102-9.
36. Shimura K. Clinical experience with T-1220 in the field of oral surgery. *Chemotherapy* 1977;25:1569-74.
37. Tamai K, Nakamura M. Fundamental and clinical studies on T-1220 in oral surgical field. *Chemotherapy* 1977;25:1575-7.
38. Yamashita I. Clinical studies on T-1220 in the field of oral surgery. *Chemotherapy* 1977;25:1545-8.
39. Aswapokee N, Tiengim S, Charocnsook B, Sangsiriwut K. Antimicrobial Resistant Pattern of *Acinetobacter* spp. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 1198;15:43-8.
40. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975;25:229-35.
41. Froum SJ, Cho SC, Eilain N, Romanos G, Dent M, Jalbout Z, Natour M, Norman R, Neri D, Tarnow DP. Survival rate of one-piece dental implants placed with flapless or flap protocol. A randomized controlled study: 12 months results. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2011;31:591-601.
42. Karring ES, Stavropoulos A, Ellegaard B, Karring T. Treatment of periimplantitis by the Vector system. *Clin Oral Implant Res* 2005;16:288-93.
43. Schwarz F, Bieling K, Bonsmann M, Latz T, Becker J. Non surgical treatment of moderate and advanced perimplantitis lesions. A controlled clinical study. *Clin Oral Investig* 2006;10:279-88.
44. Schwarz F, Sculean A, Rothamel D, Schwenzer K, Georg T, Becker J. Clinical evaluation of an Er:YAG laser for non surgical treatment of peri-implantitis: a pilot study. *Clin Oral Implant Res* 2005;16:44-52.
45. Renvert S, Lindahl C, Roos Jansåker AM, Rutger Persson G. Treatment of peri-implantitis using an Er:YAG laser or an air abrasivedevice: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2011;38:65-73.
46. Roos Jansåker AM, Lindahl C, Persson GR, Renvert S. Long term stability of surgical bone regenerative procedures of peri-implantitis lesions in a prospective case control study over 3 years. *J Clin Periodontol* 2011;38:590-7.