



Revisión
BIBLIOGRÁFICA

Revascularización con Pasta Tri-antibiótica. Revisión Bibliográfica

Gucciardino, F., Miegimolle Herrero, M.
Revascularización con pasta tri-antibiótica. Revisión bibliográfica. Cient. Dent. 2015; 12; 1: 15-20.



Gucciardino, Federico
Graduado en Odontología por la
Universidad Europea de Madrid
(UEM).

Miegimolle Herrero, Mónica
Profesora de odontología infantil.
Universidad Europea de Madrid
(UEM).

Indexada en / Indexed in:
- IME
- IBECs
- LATINDEX
- GOOGLE ACADÉMICO

Correspondencia:
Dr. Federico Gucciardino
Via San Giacomo n.13
Agrigento 92100 Italia.
fede.gucciardino@gmail.com
Tel.: +393 398 298 717

Fecha de recepción: 21 de julio de 2014.
Fecha de aceptación para su publicación:
29 de enero de 2015.

RESUMEN

Se presenta una revisión bibliográfica sobre la revascularización con pasta tri-antibiótica. Se analizan los diferentes protocolos y los resultados obtenidos en la literatura, comparándolos y eligiendo los materiales y protocolos más actuales. Definimos un protocolo de actuación frente al tratamiento de dientes inmaduros no vitales. Se comparan la apexificación con la revascularización, definiendo las ventajas y las desventajas de ambos tratamientos.

PALABRAS CLAVE

Regeneración endodóntica en dientes inmaduros; Tratamiento de revascularización en endodoncia; Revascularización con pasta tri-antibiótica; Tratamiento con pasta tri-antibiótica en endodoncia.

Revascularization with Tri-antibiotic Paste. Literature review

ABSTRACT

We are presenting a bibliographic review about tri-antibiotic revascularization. We have analyzed different protocols and results in the literature, comparing them and choosing the best and the newest techniques, and finally we defined an ultimate treatment of necrotic immature teeth.

We compared apexification and revascularization, stating their advantages and disadvantages of both treatments.

KEY WORDS

Regeneration endodontic in immature teeth; Revascularization treatment endodontic; Revascularization with triple antibiotic paste; Treatment with triple antibiotic in endodontic.

INTRODUCCIÓN

En el diente permanente avulsionado con ápice abierto, la revascularización es la opción más deseable, porque el diente continúa su desarrollo para formar dentina radicular compacta. En el diente inmaduro infectado con afectación periapical, la revascularización pulpar se consideraba imposible debido a la presencia de bacterias en el espacio del conducto radicular, y a la falta de vitalidad de las células precursoras de la pulpa necesarias para la proliferación tejido pulpar. La apexificación induce un mayor desarrollo de un vértice para cerrar el ápice, pero no promueve el espesor de toda la capa de dentina de la pared del canal. Un diente, con este tipo de dentina radicular tan fina, discontinua y porosa, es más propenso a la fractura^{1,2}.

Teóricamente, cuando existe una comunicación extremadamente grande entre el espacio de la pulpa y los tejidos periapicales, como ocurre en los dientes inmaduros con ápice abierto, puede ser posible la presencia de pulpa parcialmente vital en la parte más apical de canal. Si éste fuera el caso, lograr la supresión y la desinfección de la pulpa coronal infectada necrótica, todavía dejaría células pulpares vitales con el potencial de proliferar nuevo tejido pulpar en el espacio de la pulpa coronal³⁻⁶.

En la literatura revisada hay casos de regeneración de tejido radicular de tamaño mayor y más fuerte respecto a los tratamientos tradicionales de apicoformación. Las opciones de tratamiento endodóntico para dientes inmaduros, con necrosis pulpar y periodontitis apical son: apexificación con hidróxido de calcio o MTA (Agregado de Trióxido Mineral). La apexificación ha demostrado ser altamente predecible, pero tiene las siguientes desventajas:

- La debilidad de las paredes por poca regeneración de dentina y no continua, además es una dentina porosa¹.
- Fracturas frecuentes^{1,2}.
- Citas frecuentes con el paciente.
- Dificultad técnica.

La base del tratamiento de apexificación está en la idea de crear un puente dentinario como ocurre en las apicogénesis; pero esto es difícil, ya que las indicaciones de apexificación, son dientes no vitales, ligeramente instrumentados, irrigados químicamente y para hacer un puente dentinario es imprescindible el contacto entre tejido pulpar vital con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (hidróxido de calcio)⁷. En la apexificación, la pulpa necrótica infectada se elimina hasta el ápice con desbridamiento mecánico y químico y se pone un tapón de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ lo más apical posible.

La introducción del MTA ha aportado alguna mejoría a esta técnica, que cambia su nombre a apicoformación, pero las ventajas frente la revascularización siguen siendo escasas, porque el tejido regenerado es débil, el seguimiento del paciente largo y la manipulación del MTA es difícil y colocarlo en el ápice de un diente inmaduro no es fácil.

La desventaja de ambos, apexificación tradicional y las barreras artificiales apicales, es que ni permite el engrosamiento de la pared radicular ni continúa el desarrollo de la raíz⁸.

Recientemente, se ha introducido una nueva opción de tratamiento, que es la revascularización con pasta tri-antibiótica. En los estudios, se ha demostrado la ventaja que este tipo de tra-

tamiento tiene frente a los antiguos. La ventaja más relevante es una longitud de raíz mayor, y, sobre todo, un mayor grosor de las paredes, con lo cual, se resuelve el problema de la fractura de raíz que aparecían tras los tratamientos de apexificación o apicoformación^{3,4,8,9}. Los primeros en demostrar esta teoría fueron, en 2001, Iwaya³ y, en 2004, Branchs y Trope¹⁰. La indicación de este tratamiento es la presencia de necrosis pulpar con periodontitis apical y abscesos en dientes inmaduros, debida también a traumatismo o avulsión. La teoría de esta técnica es que, después del trauma y de la gran infección, permanece una pequeña cantidad de tejido vital en la papila dental donde existen células madre indiferenciadas (células SCAP), precursoras de células regenerativas del diente⁴. Hay controversia sobre las células y el tipo de tejido que se genera en este tratamiento. Estudios histológicos recientes han demostrado que el tipo de tejido formado en la parte apical del diente no es dentina, sino cemento similar al hueso y tejido fibroso tipo ligamento periodontal; y, en el interior del canal, tejido periodontal. Se demostró que no son sólo las células madre SCAP las que guían la regeneración, sino que también las células HERS⁴ (vaina radicular epitelial de Hertwig) son las encargadas de modelar la forma de la raíz y su número de acuerdo a la pieza dentaria en la fase de raíz de la dentinogénesis. Estas células, en la fase de raíz, han perdido la capacidad de diferenciarse a ameloblastos, pero mantienen la capacidad de proliferar e inducir, perdiendo la capacidad de secretar. Por eso forman dentina, porque su capacidad inductora hace que células de la papila se diferencien a odontoblastos y formen dentina bajo el límite del esmalte. Esta sería la dentina de la raíz. En esta fase, el diente va subiendo para erupcionar, las células de la vaina van proliferando, y el epitelio entre la vaina y el esmalte se empieza a desintegrar. Por fuera, están las células del saco dentario, que, al contacto con la dentina, se diferencian a cementoblastos.

La formación de la raíz termina cuando las células de la vaina dejan de inducir, lo que viene determinado en el código genético. Al desintegrarse la vaina, células mesenquimáticas del saco, al entrar en contacto con la dentina, se diferencian a cementoblastos. Estas células son semejantes en su acción a los odontoblastos, fibroblastos y osteoblastos, ya que sintetizan fibras colágeno orientándolas paralelas a la dentina (fibras intrínsecas). Además, forman fascículos de orientación perpendicular al límite entre el cemento y la dentina.

La mineralización ocurre en un frente parejo. Así, se forma un espesor de cemento adherido a la dentina, del cual asoman fibras de Sharpey, las que se completan con fibroblastos del saco y con osteoblastos que generan fibras desde el hueso. Así se forma el ligamento periodontal¹¹.

Según los estudios, no instrumentando demasiado el conducto y haciendo una desinfección química con hipoclorito sódico seguido de una solución salina, porque el hipoclorito sódico es tóxico para las células de la pulpa⁵, y colocando una pasta tri-antibiótica (metronidazol, minociclina, ciprofloxacino), dejándola actuar por un tiempo dentro del conducto, y creando un andamio biológico: se consigue la formación de un coágulo de sangre desde el periodonto del paciente, que favorece la viabilidad de las células SCAP y los factores de crecimiento, y, posterior-

mente, se sella con MTA. Con este tratamiento se consigue una regeneración de los tejidos, con un grosor mayor de raíz, con las ventajas de no fracturarse en tratamiento futuros y con la posibilidad de un mejor sellado.

Para la desinfección del conducto no se utiliza hidróxido de calcio, porque, aunque tiene un pH alto (que es una desventaja en este caso porque puede dañar la células madres)⁴ y es bacteriostático, la acción desinfectante del hidróxido de calcio es eficaz al menos durante una semana. Pero, si se retrasa el tratamiento durante más de un mes, aumenta la susceptibilidad de re-infección⁷.

Por ello, se prefiere utilizar la pasta tri-antibiótica, porque es más efectiva frente las bacterias con un riesgo menor de reinfección. Pero la pasta tri-antibiótica no aporta sólo ventajas, entre las complicaciones clínicas y biológicas está el desarrollo de cepas bacterianas resistentes, la posible aparición de reacciones alérgicas a la medicación, citotoxicidad por sobredosis¹² y una decoloración de la corona por la minociclina⁵⁻⁷.

Para solucionar los casos de decoloración hay varias técnicas: blanqueamiento interno, utilizar MTA blanco, utilización de pasta bi-antibiótica, un cambio en la pasta con la sustitución de la minociclina por el cefaclor o la amoxicilina o el sellado de los túbulos dentinarios de la corona⁸.

Los mejores resultados se han obtenido en investigación animal, mediante la revascularización más andamio inyectable recubierto con bFGF^{5,13} (Factor de crecimiento de fibroblastos básico). El bFGF es un miembro de la familia de FGF, que ha demostrado ser un factor coadyuvante en el mantenimiento de las células madre embrionarias humanas indiferenciadas. También estimula la proliferación de todas las células de origen mesodérmico, y muchas células del neuroectodermo de origen ectodérmico y endodérmico. EL bFGF es un agente quimiotáctico y mitogénico para las células endoteliales in vitro e induce la diferenciación neuronal, la supervivencia y la regeneración. Ha demostrado ser crucial en la modulación del desarrollo embrionario y la diferenciación, y puede desempeñar un papel en la modulación de la angiogénesis, la reparación del tejido, el desarrollo embrionario y la función neuronal in vivo.

INDICACIONES Y TÉCNICA

Las indicaciones de la revascularización son dientes no vitales con: necrosis pulpar con periodontitis apical y abscesos en dientes inmaduros debida también a traumatismo o avulsión, en pacientes con edades comprendidas entre 8-16 años en buen estado de salud⁵.

El protocolo más utilizado es el de Banchs y Trope¹⁰ con algunas modificaciones que iremos analizando.

Primera cita:

- Anestesia.
- Dique de goma.
- Apertura cavidad.
- Sin instrumentar irrigar con hipoclorito.
- Lavado final con solución salina.

- Secar el conducto con conos de papel estéril.
- Colocación de la pasta tri-antibiótica (21 días) y obturación provisional.

Segunda cita:

- Anestesia (sin vasoconstrictor).
- Dique de goma.
- Eliminación de la obturación provisional.
- Irrigación con hipoclorito sódico para eliminar el medicamento intra-conducto
- Lavado con solución salina.
- Creación de andamio biológico (hacer sangrar el ápice del diente) con un explorador endodóntico o con una lima K hasta que la sangre llegue a LAC (línea amelo-cementaria) y esperar que se coagule (15 minutos aproximadamente).
- Sellar el coagulo con MTA y con resina fluida o cemento de vidrio ionómero.
- Restaurar el diente con composite.

Se aconseja anestesia sin vasoconstrictor, sobretodo, en la cita en la que se debe crear el andamio⁸.

La mayoría de los autores analizados, utilizan el hipoclorito de sodio a una concentración entorno al 5% y CHX (clorhexidina) al 0,12%. Aparte Thibodeau¹⁴, que utiliza sólo NaClO (hipoclorito de sodio) al 1,25%, los autores que utilizan los dos irrigantes, lavan copiosamente el canal con suero fisiológico entre los dos irrigantes para evitar que reaccionen entre ellos^{8,15}.

Estudios recientes han demostrado que la irrigación con clorhexidina puede ser perjudicial para las células madre^{8,16}.

Debido a la complejidad de las infecciones del conducto radicular, el uso de un único antibiótico no puede dar lugar a la desinfección eficaz.

PAUTA ANTIBIÓTICA

Es necesaria una combinación de antibióticos para que el medicamento sea más eficaz y también disminuya la probabilidad de desarrollo de cepas resistentes. La combinación de la pasta tri-antibiótica consiste en una mezcla de metronidazol, ciprofloxacina, minociclina (derivado sintético de tetraciclina) (Figura 1).

En el estudio de Hoshino del 1996¹⁷, analizaron los tres antibiótico individualmente, y, ninguno de los fármacos consiguió



Figura 1. Ejemplos de cajas comerciales de antibióticos utilizados por la mezcla de la pasta tri-antibiótica.

eliminar las bacterias completamente; pero los tres juntos, fueron capaces de desinfectar contundentemente las muestras de estudio¹⁸. En este estudio, refieren que la respuesta fue eficaz a una concentración de 25 mg/ml de cada antibiótico in vitro, mientras que en el estudio de Sato¹⁹, se requería una concentración de 50 mg/ml para la esterilización de la dentina de la raíz infectada in situ^{7,20}.

Otros estudios demuestran que la de 100 mg/ml, según las proporción de Hoshino, es la concentración ideal y más efectiva contra las cepas de *E. fecalis* y *P. gingivalis*, que son las bacterias más resistentes dentro de los conductos dentales^{20,21}.

En el estudio de Sabrah²⁰, también se hace una comparación entre PTA (pasta tri-antibiótica) y PBA (pasta bi-antibiótica); y se ha revelado que la pasta bi-antibiótica es efectiva sin ninguna diferencia con la pasta triple, con una concentración de 140 mg/ml de cada antibiótico, así que la eliminación de la minociclina elimina la desventaja de decoloración de la pasta tri-antibiótica.

Otro estudio de Sato y cols.,²² investigaron las propiedades antisépticas de varias combinaciones de antibióticos in vitro y se encontró que una combinación de ciprofloxacina, metronidazol, y cefaclor fue igualmente eficaz. En un trabajo de un caso posterior, Thibodeau y Trope¹⁴ informaron de la sustitución de la minociclina con el cefaclor (cefalosporina de segunda generación) en la PTA de Hoshino para evitar la decoloración de la dentina, un problema que a menudo acompaña el uso de la minociclina intracoronal.

Composición de la Pasta (PTA) según Hoshino:

Antibióticos (3Mix) - proporción 1:1:1.

- 200 mg de ciprofloxacina, metronidazol 500 mg, 100 mg de minociclina Vehículo (MP) - proporción de 1:1.
- Ungüento Macrogol, propilenglicol.

3Mix se incorpora en MP con la siguiente proporción.

- 1:05 (MP: 3Mix).
- 01:07 (mezcla estándar).

El vehículo ideal para la administración de antibióticos en el conducto radicular debe tener la capacidad de facilitar la mejor difusión del medicamento a través de los túbulos dentinarios y alteraciones anatómicas. Por lo tanto, la difusión del antibiótico en el cemento y el tejido perirradicular puede ser ventajosa, aunque la mayoría de los casos analizados utilizan agua destilada para la preparación de la pasta porque es más sencillo y rápido de preparar y no necesita un farmacéutico. Hoshino¹⁷ utiliza propilenglicol y macrogol para la mezcla de la pasta de antibiótico triple.

Cruz y cols.,²³ investigaron el efecto de la penetración de glicol de propileno en la dentina de la raíz; el área y la profundidad de penetración de safranina (colorante en glicol de propileno), resultó significativamente mayor que teñir con agua destilada en la dentina de la raíz.

3Mix -MP en Endodoncia:

La asociación de glicol fue la combinación más eficaz para reducir las bacterias y levaduras probadas. Por lo tanto, la entrega

del fármaco con vehículo ideal en el canal de la raíz reduce la carga bacteriana en el canal de la raíz infectado⁷.

Propilenglicol, macrogol y glicol son todos solventes químicamente inertes utilizados como vehículos en preparaciones farmacéuticas; porque, a menudo, las preparaciones acuosas en ambientes con pH elevado y alta temperatura se degradan²⁰.

ANDAMIO

Después de la fase antibiótica empieza la fase del andamio que es un coágulo de sangre, con la ayuda de un explorador o una lima endodóntica, se provoca el sangrado del ápice del diente y se deja llenar el conducto de sangre aproximadamente a menos 3 mm de línea amelo-cementaria (LAC)^{9-10,24}. Algunos autores comentan que, idealmente, sería mejor que el coágulo se coloque a nivel de LAC¹⁴; así, el material sellador estaría a 1-2 mm más coronal, para favorecer el desarrollo de la raíz⁸. Se espera a que se coagule para sellarlo con MTA.

El suministro de sangre directa es imprescindible para una regeneración, por la necesidad de nutrientes y factores de crecimiento contenido en la sangre del mismo paciente²⁵. Los factores de crecimiento sirven como moléculas de señalización entre las células. Ellos son capaces de estimular el crecimiento celular, la proliferación, la diferenciación, la activación metabólica y también actúan como factores quimioactivos²⁶. La cicatrización de las heridas está estrechamente relacionada con la diferenciación de las células madre y las células somáticas del tejido lesionado.

La esperanza de vida replicativa de las células madre está limitada por la longitud del ADN telomérico, y puede ser mantenida por la expresión de un bajo nivel de actividad de la telomerasa. Cada vez que hay regeneración, el ADN telomérico se acorta, entonces, el potencial de regeneración y diferenciación depende de la edad del paciente y de la etapa de desarrollo de la raíz²⁶.

Andamio alternativo

En un estudio publicado por Tawfik y cols., en 2013¹³ donde analizan estudios clínicos con varias técnicas como: apicoformación con MTA, MTA en canal vacío, revascularización con pasta tri-antibiótica y revascularización con pasta tri-antibiótica más andamio inyectable (bFGF), los resultados de este estudio demostraron que, en los grupos con apicoformación y relleno del canal con MTA, no hubo depósito de tejido duro en posición apical; mientras que en los grupos de revascularización, si hay depósito de tejido duro. No existieron diferencias significativa entre la revascularización normal en comparación con la revascularización con andamio inyectable¹³.

En un caso publicado por Keswani y Pandey²⁷, se informa de un procedimiento de revascularización en un diente inmaduro con una pulpa necrótica, utilizando fibrina rica en plaquetas (PRF), a los 12 y 15 meses de seguimiento, el diente respondió positivamente a las prueba de pulpa de frío y eléctricas. El examen radiográfico demostró un continuo engrosamiento de las paredes del conducto radicular, el alargamiento de la raíz y el cierre apical.

La fibrina rica en plaquetas es un andamio potencial en proce-

dimientos de revascularización de pulpa, ya que es rico en factores de crecimiento, aumenta la proliferación y diferenciación celular, aumenta la angiogénesis, actúa como una matriz para el crecimiento de tejido, regula las reacciones de inflamación y tiene propiedades anti-infecciosas. Además, actúa como una excelente matriz para apoyar la colocación de MTA. Las desventajas del uso de PRF incluyen el requisito de un equipo especial, el procedimiento invasivo de extracción de sangre en los pacientes, dificultad en el manejo y la colocación en el interior del espacio del canal y el aumento de costo del tratamiento. Sin embargo, se requieren ensayos clínicos a largo plazo y los estudios histológicos para analizar los beneficios del uso de PRF en procedimiento de revascularización²⁷.

SELLADO CON MTA

En el primer caso analizado, Iwaya³ (2001) realiza el sello del coágulo con Ca(OH)_2 , pero con el comienzo de la comercialización del MTA, que es un material con propiedad superiores, los autores sustituyen Ca(OH)_2 por el MTA.

La colocación de MTA, idealmente, debería estar 1-2 mm más apical a la LAC⁸, en comparación con Banchs y Trope¹⁰. Cuando la colocación del MTA puede resultar técnicamente difícil, entonces se aconseja utilizar Colla Tape[®] (Zimmer Dental) Colla Plug[®] (Zimmer Dental) como base, encima del coágulo, para facilitar la colocación del MTA, ya que tales materiales no interfieren nada con la evolución del tratamiento^{8, 28}.

ÉXITOS

El éxito del tratamiento de revascularización depende de muchos factores como:

- La edad que debe de ser entre 7-16 años⁵, (mejor cuanto más joven es el paciente porque su células madre tienen un potencial de diferenciación mayor)²⁶.
- Una buena selección del caso.
- La amplitud del foramen apical: que debe de ser mayor de 1 mm mesio-distal en rx periapical, para que el aporte de sangre sea necesario^{5, 8, 14}; aunque hay estudios en animales que dicen lo contrario²⁹.
- La colaboración del paciente y de los padres.
- La supervivencia a la infección de las células de la papila dental²⁵.

Varios estudios y un caso clínico, han realizan un estudio histológico para determinar el tipo de tejido que se genera en el tratamiento de revascularización con PTA.

Los estudios histológico de dientes revascularizados en animales mostraron que el tejido que crece en el espacio pulpar, fue tejido conectivo blando fibroso y tejido duro cemento similar al hueso^{24, 30}.

Otros estudios más recientes en humanos, confirman estos resultados^{24, 31}, en el caso publicado por Becerra y cols., en 2014²⁴, se analiza un primer premolar inferior inmaduro revascularizado con una evolución positiva de dos años. Los dos primeros premolares inferiores se extrajeron por un tratamiento de ortodoncia y se aprovecharon para un análisis his-

tológico con referencia al diente contra lateral. Los resultados mostraron: el espacio del canal estaba lleno de tejido conectivo fibroso, el cierre apical fue realizado por la deposición de cemento sin dentina; el cemento se formó en las paredes de dentina del canal. También se observaron células inflamatorias en el tercio coronal y medio (tejido revitalizado). Los resultados de este estudio confirman los resultados de los anteriores en animales³⁰ y humanos³¹. Los tejidos que se encuentran en dientes revascularizados con PTA son: tejido conectivo blando similar al ligamento periodontal, tejido duro cemento similar al hueso^{24, 30, 31}.

DECOLORACIÓN

Una de las desventajas mas frecuentes es la decoloración; si se produce la decoloración de la corona, se puede intentar el tratamiento por el blanqueamiento intracoronal con perborato de sodio. Además, el uso del MTA blanco en lugar de MTA gris también debe ser considerado. También se describe una técnica más segura y más fiable para el apósito antibiótico, utilizando una aguja 20G con un enfoque de relleno. Una opción es utilizar el protocolo de Reynolds y cols⁶, que sella los túbulos de la corona con resina fluida con la ayuda de un proyector de conductos (Figura 2). Otra opción eliminar la minociclina y utilizar una pasta bi-antibiótica³ aunque es menos efectiva y tiene un mayor riesgo de reinfección frente a la pasta tri-antibiótica a las mismas dosis²⁰ o un medicamento alternativo como el cefaclor en el caso clínico de Thibodeau y Trope¹⁴ o la amoxicilina en el caso clínico de Thomson y Kahler³².

CONCLUSIÓN

Según los resultados conseguidos en los casos clínicos analizados y las pruebas histológicas y radiográficas en los estudios analizados; podemos afirmar que:

- La revascularización con pasta tri-antibiotica es un tratamiento válido y más conveniente respecto a los tradicionales.
- Indicado para los casos de necrosis pulpar con periodontitis apical, con y sin supuración, en dientes inmaduros, porque la calidad y la cantidad de tejido generado es superior.
- Permite un cierre completo de ápice.
- Es una técnica más sencilla.



Figura 2. (a) La jeringa con aguja 20 G es aconsejada para introducir la pasta antibiótica con seguridad y baja también la posibilidad de decoloración de la corona. (b) Dibujo de un proyector de conducto utilizado en el protocolo de Reynolds y cols⁶.



BIBLIOGRAFÍA

1. Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V. Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. *J Endod* 2008; 34 (8): 919–25.
2. Hargreaves KM, Giesler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *J Endod* 2008; 34 (7 Suppl):S51–6.
3. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol* 2001; 17 (4): 185–7.
4. Huang GT-J. Apexification: the beginning of its end. *Int Endod J* 2009; 42 (10): 855–66.
5. Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dent Traumatol* 2012; 28 (1): 33–41.
6. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspids using a modified novel technique to eliminate potential coronal discoloration: a case report. *Int Endod J* 2009; 42 (1): 84–92.
7. Parasuraman VR, Muljibhai BS. 3Mix - MP in Endodontics – An overview. *J Dent Med Sci.* 2012; 3 (1): 36–45.
8. Petrino J A, Boda KK, Shambarger S, Bowles WR, McClanahan SB. Challenges in regenerative endodontics: a case series. *J Endod* 2010; 36 (3): 536–41.
9. Ding RY, Cheung GS, Chen J, Yin XZ, Wang QQ, Zhang CF. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. *J Endod* 2009; 35 (5): 745–9.
10. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 2004; 30 (4): 196–200.
11. Gómez de Ferraris M E, Campos Muñoz A. *Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental.* 3a edición Editorial Médica Panamericana S A, Madrid 2009.
12. Chuensombat S, Khemaleelakul S, Chattipakorn S, Srisuwan T. Cytotoxic effects and antibacterial efficacy of a 3-antibiotic combination: an in vitro study. *J Endod* 2013; 39 (6): 813–9.
13. Tawfik H, Abu-Seida A M, Hashem A A , Nagy MM. Regenerative potential following revascularization of immature permanent teeth with necrotic pulps. *Int Endod J* 2013; 46 (10): 910–22.
14. Thibodeau B. Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent* 2007; 29 (1): 47–50.
15. Basrani BR, Manek S, Sodhi RNS, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod* 2007; 33 (8): 966–9.
16. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry M a, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *J Endod* 2011; 37 (8): 1109–15.
17. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In vitro antibacterial susceptibility of bacteria from infected root dentin to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996; 29: 125–30
18. Mohammadi Z, Abbott P V. On the local applications of antibiotics and antibiotic-based agents in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J* 2009; 42 (7): 555–67.
19. Sato I, Kurihara-Ando N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J* 1996; 29: 118–24.
20. Sabrah AH, Yassen GH, Gregory RL. Effectiveness of antibiotic medicaments against biofilm formation of *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Endod* 2013; 39 (11): 1385–9.
21. Alam T, Nakazawa F, Nakajo K, Uematsu H, Hoshino E. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to a Combination of Antibacterial Drugs (3Mix) in vitro. *J Oral Biosci* 2005; 47 (4): 315–20.
22. Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 172–6.
23. Cruz E V, Kota K, Huque J, Iwaku M, Hoshino E. Penetration of propylene glycol into dentine. *Int Endod J* 2002; 35 (4): 330–6.
24. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, Lin LM. Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. *J Endod* 2014; 40 (1): 133–9.
25. Srisuwan T, Tilkorn DJ, Al-Benna S, Abber-ton K, Messer HH, Thompson EW. Revascularization and tissue regeneration of an empty root canal space is enhanced by a direct blood supply and stem cells. *Dent Traumatol* 2013; 29 (2): 84–91.
26. Lin LM, Rosenberg P a. Repair and regeneration in endodontics. *Int Endod J* 2011; 44 (10): 889–906.
27. Keswani D, Pandey RK. Revascularization of an immature tooth with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. *Int Endod J* 2013; 46 (11): 1096–104.
28. Jung I-Y, Lee S-J, Hargreaves KM. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *J Endod* 2008; 34 (7): 876–87.
29. Laureys WGM, Cuvelier C a, Dermout LR, De Pauw G a M. The critical apical diameter to obtain regeneration of the pulp tissue after tooth transplantation, replantation, or regenerative endodontic treatment. *J Endod* 2013; 39 (6): 759–63.
30. Yamauchi N, Yamauchi S, Nagaoka H, Duggan D, Zhong S, Lee SM, et al. Tissue engineering strategies for immature teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2011; 37 (3): 390–7.
31. Shimizu E, Ricucci D, Albert J, Alobaid AS, Gibbs JL, Huang GT-J, et al. Clinical, radiographic, and histological observation of a human immature permanent tooth with chronic apical abscess after revitalization treatment. *J Endod* 2011; 39 (8): 1078-83.
32. Thomson A, Kahler B. Regenerative endodontics biologically based treatment for immature permanent teeth: a case report and review of the literature. *Aust Dent J* 2010; 55 (4): 446-52.