



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



JULIANA YURI NAGATA

REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: NOVA PROPOSTA DE DESCONTAMINAÇÃO DO CANAL RADICULAR

Piracicaba

2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



JULIANA YURI NAGATA

REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: NOVA PROPOSTA DE DESCONTAMINAÇÃO DO CANAL RADICULAR

Monografia de conclusão de curso de especialização em Endodontia apresentado como parte dos requisitos finais para obtenção do título de especialista em Endodontia pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adriana de Jesus Soares.

Piracicaba

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
HELENA FLIPSEN - CRB8/5283 - BIBLIOTECA CENTRAL "CESAR LATTES" DA
UNICAMP

N131r	Nagata, Juliana Yuri, 1986- Revascularização pulpar : nova proposta de descontaminação do canal radicular / Juliana Yuri Nagata. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2012. Orientador: Adriana de Jesus Soares. Trabalho de Conclusão de Curso (especialização) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Endodontia. 2. Hidróxido de Cálcio. 3. Clorexidina. I. Soares, Adriana de Jesus. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.
-------	---

JULIANA YURI NAGATA

REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: NOVA PROPOSTA DE DESCONTAMINAÇÃO DO CANAL RADICULAR

Monografia de conclusão de curso de especialização em Endodontia apresentado como parte dos requisitos finais para obtenção do título de especialista em Endodontia pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adriana de Jesus Soares.

Aprovado em 13/02/2012

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia

Prof^a. Dr^a. Adriana de Jesus Soares

AGRADECIMENTOS

À DEUS,

AGRADEÇO SINCERAMENTE POR TER ILUMINADO MINHAS DECISÕES E POR COLOCAR AO MEU LADO AS PESSOAS QUE CONTRIBUÍRAM PARA TORNÁ-LAS REAIS.

À MINHA AMADA FAMÍLIA,

À MINHA DOCE MÃE CLARA AKIE ENOMOTO NAGATA, PELO MAIS SINCERO, VERDADEIRO E INTENSO AMOR. AS DIFICULDADES SE FIZERAM PRESENTES EM VÁRIOS MOMENTOS, MAS O APOIO, COMPANHEIRISMO, FORÇA, CARINHO E CUIDADO NÃO PERMITIRAM QUE DESISTÍSSEMOS. PALAVRAS NÃO SÃO SUFICIENTES PARA EXPRESSAR MEU SINCERO AGRADECIMENTO POR EXISTIR E SER MINHA MÃE!

AO MEU PAI HIROMITSU NAGATA, PELA IMENSA ADMIRAÇÃO E ORGULHO QUE SENTES POR MIM. SE ESTOU AQUI, GRANDE PARTE DA CONQUISTA SÓ FOI POSSÍVEL POIS TIVE SEU AMOR, APOIO, CARINHO E TORCIDA DE "PRIMEIRA FILA", QUE SEMPRE ME AJUDARAM A NÃO TER MEDO DE CAIR.

À MELHOR IRMÃ MARIANA EMI NAGATA POR SER MINHA AMIGA MAIS COMPLETA, AMIGA DE CORAÇÃO, DE SANGUE E DE PROFISSÃO. AGRADEÇO POR ME AMAR DO SEU JEITO, POR NOS DARMOS TÃO BEM, PELA TORCIDA SINCERA E POR CUIDAR DA MÃE E DO PAI, ENQUANTO ESTIVE LONGE!

AO MEU IRMÃO RENATO MITSUO NAGATA POR SUA TORCIDA, AMOR E AMIZADE. TENS UM CORAÇÃO ENORME E AGRADEÇO SINCERAMENTE PELA GRANDE CONSIDERAÇÃO, POR ACREDITAR EM MIM, E ME MOSTRAR QUE POSSO CONTAR COM VOCÊ SEMPRE!

À MINHA AVÓ YASSUCO ENOMOTO POR SE PREOCUPAR COM MEU BEM-ESTAR, ESPERAR SEMPRE ANSIOSAMENTE PELA MINHA VOLTA, E ME RECEBER CALOROSAMENTE A CADA CHEGADA EM CASA.

AOS MEUS AMIGOS DE MARINGÁ,

À MINHA QUERIDA AMIGA THAIS AGLAET MATOS MIRANDA, POR CONTINUAR A MESMA PESSOA MARAVILHOSA, MESMO COM A DISTÂNCIA QUE NOS SEPARA. POR ME CONSIDERAR SUA AMIGA, POR ME APOIAR, E O MAIS IMPORTANTE POR FICAR FELIZ COM CADA CONQUISTA MINHA! ISSO SE MOSTRA COMO UM SINAL DE VERDADEIRA AMIZADE!

À NÚBIA INNOCENCIA PAVESI PINI POR PASSAR A SER MINHA IRMÃ, AMIGA E PORTO SEGURO. OBRIGADA POR SER MINHA AMIGA FIEL, PELA SUA SENSIBILIDADE RARA, E POR TORCER

POR MIM SEMPRE! SINTO SINCERAMENTE QUE POSSO CONTAR COM VOCÊ PARA O RESTO DA VIDA!

À MINHA AMIGA LOIRA CHRISTINE MEN MARTINS, POR TRAZER ALEGRIA, DIVERTIMENTO E RISADAS AOS MEUS DIAS. AGRADEÇO PELA SINCERIDADE DE SUAS PALAVRAS, PELOS DIZERES DE APOIO E POR SEMPRE ME RECEBER COM UM SORRISO QUE TRANSFORMA MEU DIA!

AOS MEUS AMIGOS DE PIRACICABA,

À MINHA AMIGA DE CORAÇÃO MARIA TEREZA PEDROSA DE ALBUQUERQUE AGRADEÇO POR ME PERMITIR FAZER PARTE DA SUA VIDA. VOCÊ FOI UM ANJO QUE DEUS COLOCOU EM MEU CAMINHO QUANDO MAIS PRECISEI. VOCÊ ME RECEBEU EM SUA VIDA, ABRIU SEU CORAÇÃO E ME CONCEDEU O MAIOR PRIVILÉGIO: SUA SINCERA AMIZADE! OBRIGADA POR SER A MÃO QUE ME APOIA LONGE DE CASA!

À MINHA AMIGA THAIS MAGESTE DUQUE POR SER MINHA FORÇA EM PIRACICABA. AGRADEÇO PELA SEGURANÇA QUE ME FAZ SENTIR, PELA AMIZADE VERDADEIRA E POR ME AJUDAR A ENFRENTAR OS MAIORES OBSTÁCULOS COM BOM HUMOR. VEJO EM VOCÊ UMA AMIZADE PARA A VIDA TODA!

AO MEU AMIGO THIAGO FARIAS ROCHA LIMA AGRADEÇO POR ME RECEBER TÃO ABERTAMENTE E PELO COMPANHEIRISMO. AGRADEÇO PELOS ENSINAMENTOS, PELA MATURIDADE, PELO BOM CORAÇÃO E POR CONTINUAR MEU AMIGO MESMO COM AS MINHAS BRINCADEIRAS MAIS INCONVENIENTES.

AOS AMIGOS DANIELA MIYAGAKI, ANIELE LACERDA, LETÍCIA NÓBREGA E TIAGO ROSA POR ME MOSTRAR COMO VALE A PENA ESTUDAR, SE DIVERTIR E QUE A COMPANHIA É O QUE VALE! MUITO OBRIGADA POR PODER CONTAR COM VOCÊS, ISSO SIGNIFICA MUITO PARA MIM!

AOS MEUS AMIGOS DE ESPECIALIZAÇÃO, ALINE VICENTIN, MARIA TEREZA PEDROSA ALBUQUERQUE, LILIANE DINIZ, FERNANDA CHAMOSA, ADRIANA HEE SU AN, VANESSA ROSSI, ANA CAROLINA MASCARENHAS, ALESSANDRA, VIVIANE WATANABE, PRISCILA FORTES E FELIPE ANACLETO PELOS DOIS ANOS DE CONVIVÊNCIA AGRADÁVEL, APRENDIZADO CONJUNTO E POR FAZEREM PARTE DE UMA IMPORTANTE ETAPA DA MINHA FORMAÇÃO PROFISSIONAL.

AOS MESTRES

À MINHA ORIENTADORA PROFª DRª ADRIANA DE JESUS SOARES PELO APOIO, ENSINAMENTOS E ORIENTAÇÃO. O TRABALHO CONJUNTO TEM ME AJUDADO IMENSAMENTE, MUITO OBRIGADA!

AOS PROFESSORES DA ENDODONTIA, PROFº DRª BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES; PROFº DRº CAIO CESAR RANDI FERRAZ; PROFº DRº ALEXANDRE AUGUSTO ZAIA E PROFª DRª ADRIANA DE JESUS SOARES PELOS ENSINAMENTOS, PACIÊNCIA, POR ME ENSINAREM A AMAR A ENDODONTIA E POR ME FAZEREM TER CERTEZA QUE FIZ AS ESCOLHAS CERTAS. MINHA ADMIRAÇÃO POR VOCÊS É ENORME, MUITO OBRIGADA!

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS,

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA (UNICAMP), NA PESSOA DO SEU DIRETOR PROFº. DRº. JACKS JORGE JUNIOR, E AO DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA NA PESSOA DO PROFº DRº CAIO CESAR RANDI FERRAZ, PELA PARTICIPAÇÃO DESTA CONCEITUADA INSTITUIÇÃO NO MEU CRESCIMENTO CIENTÍFICO, PROFISSIONAL E PESSOAL.

SUMÁRIO

1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUÇÃO GERAL	3
4. OBJETIVO GERAL	7
5. ARTIGO	8
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
7. REFERÊNCIAS	20

1. RESUMO

Dentes com necrose pulpar e rizogênese incompleta têm sido tratados mais recentemente por meio da revascularização pulpar. Trata-se de uma alternativa de tratamento promissora que promove tanto o fechamento apical quanto o término do desenvolvimento radicular. Pode ser definida como a diferenciação de células progenitoras da porção apical de dentes jovens que passam a colonizar o canal radicular e depositar tecido mineralizado em suas paredes com o objetivo de fortalecê-las. Até o momento vários relatos de caso com diversos protocolos têm sido descritos, entretanto pouco se sabe sobre o sucesso por meio da instrumentação mecânica e do uso de medicações a base de hidróxido de cálcio nos casos com indicação de revascularização pulpar. Com isso, o objetivo do presente trabalho é descrever um caso clínico de revascularização pulpar realizado com uma nova proposta de descontaminação do canal radicular. Uma paciente de 9 anos foi acometida por uma luxação intrusiva no incisivo central esquerdo, levando à necrose do referido dente. Este se apresentava com rizogênese incompleta e paredes radiculares delgadas, o que levou à decisão por um tratamento por meio de revascularização pulpar. Este envolveu a descontaminação mecânica dos terços cervical e médio com brocas Gates-glidden e limas manuais sob presença de clorexidina gel 2% e irrigação com solução fisiológica. O dente foi mantido com medicação intranacal à base de hidróxido de cálcio e veículo clorexidina gel 2% por 21 dias. Na segunda sessão, sangramento foi induzido e o dente foi selado cervicalmente com MTA, e coronalmente com coltosol e resina composta. Os controles periódicos revelaram deposição progressiva de material mineralizado nas paredes internas radiculares e em dois anos de acompanhamento ainda se observa ausência de sinais e sintomas de qualquer patologia. Dessa forma, pode-se concluir que essa nova proposta de descontaminação parece também ser eficaz no tratamento de dentes com ápice aberto e necrose pulpar. Além disso, mais estudos são necessários na tentativa de se padronizar o melhor protocolo para essas condições.

Palavras-chave: revascularização pulpar; rizogênese incompleta; clorexidina; hidróxido cálcio.

2. ABSTRACT

Immature teeth with necrotic pulp tissue have been recently treated with pulp revascularization. It is a promising alternative treatment to promote apical closure and root end development. It is suggested that progenitors cells from apical portion of immature teeth may colonize root canal, and deposit mineralized tissue at its internal walls, with the aim of strengthen them. To date, several case reports with a variety of protocols have been described, however little is known about the success of using mechanical instrumentation associated with calcium hydroxide dressing in the cases of pulp revascularization. With this, the aim of the present work is to describe a case report of pulp revascularization performed with a new proposal of root canal decontamination. A 9-year-old patient suffered an intrusive luxation at left central incisor, which underwent pulp necrosis. This tooth presented open apex and thin root walls, which lead to the decision for a treatment with pulp revascularization. The therapy involved mechanical decontamination of cervical and medium thirds with gates-glidden burs and manual files under the presence of 2% chlorexidine gel and irrigation with sodium solution. The tooth was kept with a dressing composed of calcium hydroxide and 2% gel chlorexidine vehicle for 21 days. At second session, bleeding was induced and the tooth was sealed at cervical third with MTA, and coronally with coltosol and composite resin. Periodical controls revealed progressive deposition of mineralized material at internal root walls and during two years proservation it still may be observed absence of any pathological signals and symptoms. Therefore, it may be concluded that this new proposal of decontamination also shows efficacy at the treatment of immature teeth with necrotic pulp. Additionally, more studies are necessary in the attempt of standardize a protocol for these conditions.

Key-words: pulp revascularization; immature teeth; chlorexidine; calcium hydroxide.

3. INTRODUÇÃO GERAL

O tratamento endodôntico de dentes com rizogênese incompleta traz um desafio para os profissionais considerando que a necrose do tecido pulpar cessa o desenvolvimento radicular. Nestas situações, a terapia endodôntica convencional por meio de descontaminação mecânica das paredes dentinárias e obturação precisam ser adequadas uma vez que uma instrumentação muito vigorosa pode fragilizar ainda mais as paredes dentinárias com pequena espessura e, a obturação convencional pode levar a um extravasamento excessivo de material obturador.

A literatura tradicional tem descrito o tratamento por meio de apicificação para essa condição, podendo ser realizada de duas formas, uma por meio da colocação em sessão única de um anteparo (“*plug*”) de MTA na porção apical, permitindo a obturação posterior com gutta-percha e a outra mais amplamente empregada que se refere à apicificação com trocas periódicas de medicação intracanal. Este último envolve a permanência por um longo tempo de medicação à base de hidróxido de cálcio para induzir o fechamento apical (Rafter, 2005). Entretanto, a apicificação induzida por hidróxido de cálcio apresenta algumas limitações como o tempo requerido para a formação de barreira apical, que varia de 6 a 24 meses; sendo a barreira de consistência porosa e não contínua, e, além disso, não induz o término da formação radicular, mas apenas o fechamento apical (Shah et al., 2008). Adicionalmente, relata-se que a permanência por longos períodos com a medicação pode fragilizar a raiz devido às suas propriedades higroscópicas e proteolíticas (Andreasen et al., 2002).

Recentemente, evidências têm indicado que a revascularização pulpar parece ser uma alternativa mais promissora para esses dentes, pois se refere a um procedimento que reestabelece a vitalidade de dentes não vitais permitindo o reparo e regeneração de tecidos (Shah et al., 2008). A lógica da revascularização se baseia no fato de que se uma matriz tecidual estéril estiver presente onde células possam crescer, a vitalidade pulpar pode ser restabelecida (Shah et al., 2008), sendo dessa forma definida como a invaginação de

células indiferenciadas da região apical de dentes de pacientes jovens com ápice aberto (Garcia-Godoy e Murray, 2011). Traz vantagens quando comparada à apicificação, pois requer menor tempo clínico, pode ser concluída em uma ou duas sessões após o controle da infecção, o custo benefício é favorável uma vez que não são necessárias muitas visitas, nem materiais adicionais, e por último, a maior vantagem refere-se ao estímulo ao término da formação radicular com espessamento e consequentemente o fortalecimento das paredes radiculares (Shah et al., 2008; Bansal e Bansal, 2011).

Seus primeiros estudos remetem a 1961, quando Nygaard-Ostby avaliaram o papel do coágulo sanguíneo na terapia endodôntica, em estudo histológico de cães (Nygaard-Ostby, 1961). Observaram que após desinfecção do canal radicular, a presença de sangramento ou coágulo sanguíneo pareceu ser essencial para a formação de tecido conjuntivo fibroso em um canal vazio. Mais tarde, o mesmo autor referiu-se pela primeira vez à regeneração pulpar, entretanto na época não obtiveram sucesso devido a limitações pela falta de tecnologia, instrumentos e materiais. (Nygaard-Ostby e Hjortdal, 1971). De forma semelhante, estudos sobre ampliação foraminal em cães revelaram que dentes com ápice fechado, submetidos a instrumentação e alargamento apical, e posteriormente obturados 3 mm aquém do comprimento do dente, mostraram invaginação de tecido conjuntivo para dentro do canal radicular e a formação de uma fina camada de cemento nesta região (Benatti et al., 1985). Desde então, vários relatos de caso com dentes reimplantados ou auto-transplantados (Kling et al., 1986) e estudos controlados em animais com ápice aberto e necrose (Cvek et al. 1990a,b, Ritter et al. 2004) tem mostrado evidência radiográfica e histológica de sucesso na revascularização de dentes com rizogênese incompleta e livres de contaminação. A partir dessa possibilidade, tem-se discutido uma terapia de revascularização pulpar de dentes com necrose e rizogênese incompleta. Nessas situações, a revascularização ocorreria mais previsivelmente quando o ápice radiográfico mostrasse abertura maior que 1,1 a 1,5 mm, em dentes com rizogênese incompleta e necrose pulpar secundária a um trauma (Bansal e Bansal, 2011), quando a contaminação bacteriana fosse eliminada, pois o novo tecido cessa seu desenvolvimento no nível em que

encontrar bactéria no espaço do canal (Yanpiset & Trope 2000; Windley et al., 2005), sendo essa realizada por meio de irrigação copiosa associada ou não à colocação de pasta antibiótica. E por último, a formação de um coágulo associado ao tecido pulpar necrosado funcionando como um arcabouço (*"scaffold"*) para o crescimento do novo tecido (Bansal e Bansal, 2011).

Apesar do respeito a esses fatores demonstrar ocorrência de revascularização, ainda não se definiu a origem e o mecanismo pelo qual esse processo acontece. Há na literatura algumas sugestões com relação ao mecanismo de ação da revascularização. Sugere-se que células pulpares vitais possam sobreviver na porção apical da raiz as quais podem proliferar sobre a matriz formada dentro do canal radicular e se diferenciar em odontoblastos sob estímulo das células dos restos epiteliais de Mallassez (Banchs e Trope, 2004). A segunda possibilidade sugere que células mesenquimais indiferenciadas podem ser abundantes em dentes com rizogênese incompleta, as quais podem se aderir às paredes radiculares internas e se diferenciar em odontoblastos que secretariam dentina nesta região (Gronthos et al., 2002). Outra possibilidade poderia ser atribuída à presença de células mesenquimais indiferenciadas no ligamento periodontal, as quais podem proliferar na porção apical e se diferenciar em cementoblastos e depositar tecido mineralizado nas paredes dentinárias (Lieberman e Trowbridge, 1983). O quarto possível mecanismo poderia ser atribuído às células mesenquimais indiferenciadas da papila apical ou do osso medular, as quais quando estimuladas com um instrumento além da extensão do canal radicular por possuírem alta capacidade proliferativa, podem formar tecido mineralizado dentro do canal (Gronthos et al., 2000).

Considerando a importância da eliminação bacteriana e da característica polimicrobiana presente no tecido pulpar infectado, há na literatura uma variedade de protocolos para a terapia por meio de revascularização pulpar. O procedimento padrão envolve a realização do tratamento em duas sessões com descontaminação passiva do canal radicular com hipoclorito de sódio na primeira sessão seguida pela colocação da pasta antibiótica que permanece no canal radicular no período entre sessões. Essa pasta foi

descrita por Hoshino et al. (1996), combina ciprofloxacina, metronidazol e minociclina, e elimina bactérias presentes mesmo nas camadas mais profundas de dentina infectada demonstrando atuar melhor quando associada (Hoshino et al., 1996; Sato et al., 1996). Entretanto, apresenta desvantagens como o escurecimento coronário possivelmente decorrente da presença de minociclina. Dessa forma, algumas variações da pasta tripla antibiótica original têm sido sugeridas por meio ou da não utilização desse antibiótico ou substituindo-o por cefaclor ou fosfomicina (Kim et al., 2010; Trope, 2010). A minociclina é um derivado semi-sintético da tetraciclina sendo efetiva contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (Windley et al., 2005). Ela reage com íons cálcio via quelação formando um complexo insolúvel, que incorporada à matriz dentária causa o descoloramento (Tanase et al., 1998). Portanto, a minociclina só escure a matriz dentária se entrar em contato com a dentina coronária. Com relação a isso, Reynolds et al. (2009) recomendaram o selamento das paredes internas da câmara coronária com sistema adesivo e a utilização de um dispositivo especial, o Projetor de Canal Radicular associado a uma lima tipo K#20 inserida dentro do projetor para manter a patência. Em concordância, Kim et al. (2010) compararam a efetividade da utilização de sistema adesivo previamente à inserção de pastas contendo cada um dos antibióticos que compõem a pasta tripla antibiótica. Observaram que entre as três drogas, a minociclina foi a única a causar descoloramento. Além disso, a aplicação de adesivo reduziu a alteração de cor, mas não a preveniu, e a redução do tempo de aplicação das pastas pode também prevenir esse escurecimento (Kim et al., 2010). Outro aspecto que poderia contribuir para evitar o escurecimento coronário seria a diminuição no tempo de permanência da pasta antibiótica considerando que estudos experimentais relatam que a aplicação desta pasta por 24 a 48 horas é suficiente para uma desinfecção efetiva da dentina radicular infectada (Hoshino et al., 1996; Sato et al., 1996). Entretanto, ainda não se sabe se a diminuição do período de aplicação é suficiente para prevenir o descoloramento uma vez que de acordo com Kim et al. (2010) já nas primeiras 24 horas após a aplicação, o escurecimento já pode ser notado. Além do escurecimento coronário, pensa-se no desenvolvimento de resistência bacteriana considerando a utilização de pasta contendo

antibióticos, porém até o momento nenhum estudo conclusivo avaliou essa possibilidade. Sabe-se apenas que a combinação de antibióticos e o seu uso local podem diminuir o desenvolvimento de amostras bacterianas resistentes (Mohammadi & Abbott, 2009). Na tentativa de se contornar essa desvantagem, medicações intracanaís à base de hidróxido de cálcio também tem demonstrado efetividade em relatos de caso recentes (Iwaya et al., 2011; Cehreli et al. 2011). Essas medicações podem constituir alternativa promissora à pasta antibiótica considerando suas propriedades antimicrobianas, biocompatibilidade, disponibilidade na rotina de atendimento endodôntico e pouca possibilidade de escurecimento coronário. Além da variação ao protocolo referente à medicação, diferentes irrigantes podem igualmente contribuir para a descontaminação passiva desses canais. Nesse contexto, tem sido testada a clorexidina 2%, considerando sua ação residual (substantividade), suas propriedades antimicrobianas e a baixa toxicidade (Greenstein et al. 1986, Jeansonne & White 1994; Shin et al., 2009; Reynolds et al., 2009). Diante das limitações ainda presentes na maioria dos protocolos de revascularização pulpar relatados, mais estudos são necessários com substâncias químicas alternativas.

4. OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho é apresentar um artigo de relato de caso com uma nova proposta de revascularização pulpar, por meio de descontaminação mecânica leve e medicação intracanal.

5. ARTIGO

**PULP REVASCULARIZATION: NEW PROPOSAL TO ROOT CANAL
DECONTAMINATION**

Journal Title: Journal of Endodontics

Running title: New proposal of pulp revascularization

ABSTRACT

Introduction: Pulp revascularization may be considered a promising alternative for necrotic immature teeth. Most of the studies employed decontamination without mechanical instrumentation associated with an antibiotic paste. Recently some researchers used calcium hydroxide medication and achieved clinical and radiographic success in some case reports. To date, no report evaluated calcium hydroxide associated with 2% chlorhexidine gel for revascularization therapy. The aim of this case report was to describe a new proposal of pulp revascularization with mechanical decontamination and intracanal medication composed by calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. **Methods:** A 9-year-old patient suffered an intrusion associated with a pulp exposure due to an enamel-dentin fracture at her maxillary central left incisive. After the diagnosis, revascularization therapy was planned with gentle manual instrumentation of cervical and medium thirds of the root. With this, the tooth was kept with intracanal medication composed by calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel which remained for 21 days. At the second session, blood clot was stimulated till the cervical third of the root canal which was sealed with MTA, and coronary the tooth was sealed with temporary filling material and composite resin. **Results:** During the follow-up period, the root canal space showed progressive decrease of width, with deposition of mineralized tissue at root canal walls. **Conclusion:** This new proposal for revascularization therapy may be used for the treatment of necrotic immature root canals.

Key-words: immature teeth; pulp revascularization; chlorhexidine

INTRODUCTION

Studies have shown that pulp revascularization may be a promising alternative to the treatment of immature teeth, according to animal model studies (1-6) and case reports (7-11)

which demonstrate respectively, histologic repair and remission of clinical and radiographic signals and symptoms in this kind of teeth. This modality of therapy promotes invagination of stem cells from the apical region of young patients with open apex (12). It brings advantages when compared to apexification, because it has been suggested that promotes stimulation of root development with mineralized tissue deposition at root walls, besides the apical closure (13,14).

Literature reports that revascularization is more predictable in immature teeth with pulp necrosis followed by trauma (14), in open apex with diameters broader than 1,25 mm (12), when the contamination is eliminated without mechanical instrumentation but with chemical substances irrigation such as sodium hypochlorite and EDTA (12,15,16) in association or not with an antibiotic paste dressing (8) and finally, in the presence of a scaffold where the invaginated cells could be growing (17). Histological studies in animals tried to identify the cell type that gets into the open apex and starts to settle root canal. These articles observed the presence of *cementoblasts-like* cells, associated with a continuous layer of cementum which seems to be connected to external cementum, as well as *periodontal ligament-like* cells and some bone tissue (5,6). It has been suggested that the presence of odontoblasts adhered to canal wall are more related to the surviving of these cells and not to the development of a new tissue (5). Moreover, to date no study showed pulp tissue or dentin formation at the root walls after revascularization therapy.

A variety of decontamination protocols of root canals have been employed at several case reports (9,11,18,19), mainly through passive decontamination with irrigants (10,15,20) in an attempt of maintaining viability of the cells which could differentiate and stimulate root ending development, in association with a intracanal dressing. The most investigated intracanal dressing till this moment refers to a paste containing three antibiotics (metronidazole, minocycline and ciprofloxacin) which demonstrated antimicrobial ability against the main endodontic pathogens (3) and root ending development in case reports (18-21). However, this paste may present some disadvantages such as development of bacterial resistance, allergic reactions, and one of its components (minocycline) may produce

crown discoloration (10). Regarding these facts, it is known that endodontic therapy makes use of intracanal dressing composed by calcium hydroxide known to be effective against mainly endodontic microorganisms (22,23), which would facilitate its application in clinical routine. Recently, some case reports demonstrated satisfactory results with use of calcium hydroxide medications with aqueous vehicles (11,24,25). Meantime, to date no study showed remission of symptomatology and root development through the use of endodontic instruments in the root canals in association with intracanal dressing composed by calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. Thus, this paper aims to report a clinical case treated with a new proposal of root decontamination to pulp revascularization therapy.

CASE REPORT

A 9-year-old female patient was referred to Dental trauma service of Piracicaba Dental School – State University of Campinas/Brazil had suffered a bicycle fall one day ago. Clinical examination revealed enamel-dentin-pulp fracture at left maxillary central incisor associated with an intrusion luxation, and the another maxillary central incisor underwent a subluxation. There was no mobility, neither root fracture nor bone fractures at the teeth. At radiographic examination, incomplete root formation of the affected teeth was observed, and periodontal ligament space was apparently intact (Figure 1A). At this first visit, left incisor was sealed with calcium hydroxide on the pulp exposure, temporary restored with glass ionomer cement (SSWhite Dental Materials™, Rio de Janeiro, Brazil) and no endodontic procedure was performed, considering the recent occurrence of trauma and questionable pulp tests. After 3 weeks, sensitivity cold test (Endo-Frost, Roeko™, Langenau, Germany) and electric pulp test (Pulp Tester™, Analytic Technology, Redmond, USA) were performed, being observed negative response for left central incisor and positive response to right central incisor. In addition, only the left central incisor showed positive sensibility to percussion test and none of them with tenderness. Right central incisor prognosis was

favorable, and so, it was decided to follow-up the case. On the other hand, considering the pulp exposure and severity of intrusion luxation suffered by left central incisor, it was decided to perform endodontic treatment. In this case, root formation was incomplete, and it required a treatment that could promote its development. After complete explanation of the treatment procedure, risks and benefits, an informed consent was obtained from the patient's legal guardians, and the treatment of choice was a new proposal of pulp revascularization in two sessions. After rubber dam isolation, an access cavity was prepared by using a diamond bur (KG Sorensen™, Barueri, Brazil) and a high-speed handpiece with copious sterile physiologic solution. Pulp and necrotic tissue of the medium and cervical thirds were removed with Gates Glidden drills sizes #5, 4, 3 and 2 (Dentsply Maillefer™, Tulsa, OK), and manual endodontic K-files size # 55, 50 and 45 (Dentsply Maillefer™, Tulsa, OK), under the presence of 2% chlorhexidine gel (Endogel, Itapetininga, Brazil) and irrigated with sterile physiologic solution. No treatment was performed at apical third for the preservation of undifferentiated cells that could be present. After this cleaning, calcium hydroxide dressing medication (Biodinâmica™, Ibiporã, Brazil) with 2% chlorhexidine gel (Endogel, Itapetininga, Brazil) was inserted at root canal with lentulo bur (Dentsply Maillefer™, Tulsa, OK). Tooth was sealed with coltosol (Coltene/Whaledent™, New Jersey, USA) and composite resin (Filtek 3M Espe™, Sumaré, Brazil) and the medication remained in the root canal for 21 days, when the second session of pulp revascularization therapy was performed. Intracanal dressing was removed with manual k-files (Maillefer/Dentsply™, Balaigues, Swiss) under physiological solution irrigation. Root canal space was properly dried and the bleeding for the clot formation was stimulated with manual k-files (Maillefer/Dentsply™, Balaigues, Swiss). Soon after, MTA (Angelus™, Londrina, Brazil) was condensed to the cervical third with condensators (Konne™, Belo Horizonte, Brazil), and the tooth was sealed with coltosol (Coltene/Whaledent™, New Jersey, USA) and composite resin (Filtek 3M Espe™, Sumaré, Brazil) (Figure 1B). In all the follow-up visits (1, 3, 6, 9, 12, 15 and 24 months), the patient showed no signals and symptoms and the radiographic examinations demonstrated good conditions of periodontal tissues, with continuity of root formation and apical closure (Figures

1C-F). Cold sensibility test, percussion and palpation tests were performed in all visits and the left central incisor always responded negatively.

DISCUSSION

In this case report, the patient suffered an intrusive luxation that may be considered one of the most uncommon and severe injuries, corresponding to 0,9-1,3% of the traumatic lesions (26). Its severity could be attributed to the rupture of periodontal fibers, of neurovascular bundle, and of alveolar bone (27). With this, pulp necrosis refers to the most frequent post-traumatic complication in this type of trauma, corresponding to 73,3% of the sequels (28). Combined to intrusion luxation, there was enamel-dentin fracture with pulp exposure which also contributed to the pulp tissue contamination.

Considering necrosis diagnosis, the anatomic condition with open apex and thin radicular walls, it was decided for pulp revascularization, since several case reports in the literature showed satisfactory clinical and radiographic results with this therapy, including in intrusion luxation situations (9,18,21). The classic protocol of revascularization in most of the studies employs passive decontamination with sodium hypochlorite without any mechanical instrumentation for the prevention of cell destruction, mainly those responsible for mineralized tissue deposition at internal root walls (7,9,20). On the contrary of most of the researches, the present case report employed mechanical instrumentation of cervical and medium thirds of root radicular with manual k-files to remove pulp tissue and facilitate the insertion of intracanal medication and of the sealing material, which did not interfere in the revascularization process. In addition to irrigation, literature reports the use of intracanal dressing materials mainly those composed by the antibiotics metronidazole, ciprofloxacin and minocycline to contribute with the decontamination (10,18,20,21), which have been demonstrated antimicrobial action against endodontic pathogens, besides satisfactory results with root development in pulp revascularization (3,8). Meantime, this paste may promote

some side effects such as coronary discoloration, bacterial resistance and allergic reactions (18). In the present study, it was employed calcium hydroxide intracanal medication with 2% chlorhexidine gel in the cervical and medium thirds of the root canal for 21 days, which did not promote coronary discoloration preventing esthetic disharmony. It is known about antimicrobial potential of calcium hydroxide and the distance action of the vehicle chlorhexidine mainly in dentinal tubules (29-32). Nevertheless, some authors have related harmful action of calcium hydroxide in pulp revascularization (8). It has been suggested that because of its high pH, it will necrose tissue immediately in contact with it, destroying tissues with the potential to differentiate into new pulp (8). On the other hand, some recent case reports showed favorable results with its use (11,24,25). In the present report, it was observed increased thickness of root wall and apical closure with the use of this medication, which is already employed in endodontic routine, not presenting cytotoxic effects, which would facilitate clinical applicability of this therapy.

During all the follow-up period, apical closure and radicular increasing thickness could be noted from 9-month control being quite remarkable at the subsequent controls, which also was found by previous reports (8,15,24,33). This period of time is quite similar to that required for apexification, which only promotes apical barrier formation, without increasing the dentinal walls thickness (13,34,35). Similarly to another reports, longer periods of control showed partial canal obliteration, finding also observed in this report (7,10,11,24). At the follow-up period, tooth showed no positive response to sensitivity and vitality test, probably because the tissue invaginated into the canal space was not innervated or more likely due to the presence of MTA sealing and because root canal space was partially obliterated. Most of the studies have suggested the development of a *periodontal-like* tissue, with differentiated potential cells (36) however, more researches characterizing the developed tissue are necessary, to understand the mechanism of it and to the clinical application of this promising therapy. Besides it, comparative studies with different proposals of pulp revascularization, and more clinical controlled researches would contribute for the best form of actuation of this

therapy, as well as case reports with longer follow-up periods would elucidate some questions related to the prognosis of these teeth treated with regenerative therapy.

CONCLUSION

This report of pulp revascularization in traumatized tooth enabled to notice that mechanical instrumentation of cervical and medium thirds of root canal in association with intracanal dressing composed of calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel may present satisfactory results at root decontamination and may favor root development in necrotic immature teeth.

REFERENCES

1. Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Lownie J, Kling M, Fatti P. Pulp revascularization in reimplanted immature monkey incisors--predictability and the effect of antibiotic systemic prophylaxis. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:157-69.a
2. Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Lownie J, Kling M, Fatti P. Effect of topical application of doxycycline on pulp revascularization and periodontal healing in reimplanted monkey incisors. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:170-6.b
3. Windley W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *J Endod* 2005;31:439-443.
4. da Silva LA, Nelson-Filho P, da Silva RA, Flores DS, Heilborn C, Johnson JD, Cohenca N. Revascularization and periapical repair after endodontic treatment using apical negative pressure irrigation versus conventional irrigation plus triantibiotic intracanal dressing in dogs' teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109:779-87.

5. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2010;36:56-63.
6. Scarparo RK, Dondoni L, Böttcher DE, Grecca FS, Rockenbach MI, Batista EL Jr. Response to intracanal medication in immature teeth with pulp necrosis: an experimental model in rat molars. *J Endod* 2011;37:1069-73.
7. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol* 2001;17:185–7.
8. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 2004;30:196–200.
9. Cotti E, Mereu M, Lusso D. Regenerative treatment of an immature, traumatized tooth with apical periodontitis: report of a case. *J Endod* 2008;34:611-616.
10. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. *Int Endod J* 2009;42,84–92.
11. Cehreli ZC, Isbitiren B, Sara S, Erbas G. Regenerative Endodontic Treatment (Revascularization) of Immature Necrotic Molars Medicated with Calcium Hydroxide: A Case Series. *J Endod* 2011;37:1327-30.
12. Zhang W, Yelick PC. Vital pulp therapy-current progress of dental pulp regeneration and revascularization. *Int J Dent*. 2010; 28: 1-9.
13. 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: 919–25.
14. Bansal R, Bansal R. Regenerative endodontics: a state of the art. *Indian J Dent Res*. 2011; 22(1): 122-31.
15. Shin SY, Albert JS, Mortman RE. One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. *Int Endod J* 2009; 42: 1118–1126.

16. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, Diogenes A. 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. Trope M. Treatment of the immature tooth with a non-vital pulp and apical periodontitis. *Dent Clin North Am*. 2010; 54(2): 313-24.
18. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod*. 2010; 36(6): 1086-91.
19. Nosrat A, Seifi A, Asgary S. Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *J Endod*. 2011 Apr;37(4):562-7.
20. 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: 745–9.
21. 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.
22. Behnen MJ, West LA, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson JC. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. *J Endod*. 2001; 27(12): 765-7.
23. Lana PE, Scelza MF, Silva LE, Mattos-Guaraldi AL, Hirata Júnior R. Antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes on *Enterococcus faecalis* cultivated in root canal systems. *Braz Dent J* 2009; 20(1): 32-6.
24. Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with periradicular abscess after luxation. *Dent Traumatol* 2011; 27: 55–58.
25. Neha K, Kansal R, Garg P, Joshi R, Garg D, Grover HS. Management of immature teeth by dentin-pulp regeneration: A recent approach. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011, 15.
26. Skaare AB, Jacobsen I. Dental injuries in Norwegians aged 7-18 years. *Dent Traumatol* 2003; 19(2): 67-71.

27. Andreasen JO, Bakland LK, Matras RC, Andreasen FM. Traumatic intrusion of permanent teeth. Part 1. An epidemiological study of 216 intruded permanent teeth. *Dent Traumatol* 2006; 22: 83–9.
28. Neto JJ, Gondim JO, de Carvalho FM, Giro EM. Longitudinal clinical and radiographic evaluation of severely intruded permanent incisors in a pediatric population. *Dent Traumatol* 2009; 25(5): 510-4.
29. Gomes BP, Ferraz CC, Garrido FD, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. Microbial susceptibility to calcium hydroxide pastes and their vehicles. *J Endod*. 2002; 28(11): 758-61.
30. Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102(4): 544-50.
31. de Souza-Filho FJ, Soares Ade J, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J*. 2008; 19(1): 28-33.
32. Gomes BP, Montagner F, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Almeida JF, Souza-Filho FJ. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. *J Dent*. 2009; 37(1): 76-81.
33. Thibodeau B. Case report: pulp revascularization of a necrotic, infected, immature, permanent tooth. *Pediatr Dent*. 2009; 31(2): 145-8.
34. Jacobovitz M, de Pontes Lima RK. The use of calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate on apexification of a replanted tooth: a case report. *Dent Traumatol* 2009; 25(3): e32-6.
35. Chung H, Kim M, Yang W, Ko H. An interesting healing outcome of a replanted immature permanent tooth: a case report. *Dent Traumatol* 2011; 27(1): 77-80.

36. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod*. 2011; 37(2): 133-8.

FIGURE

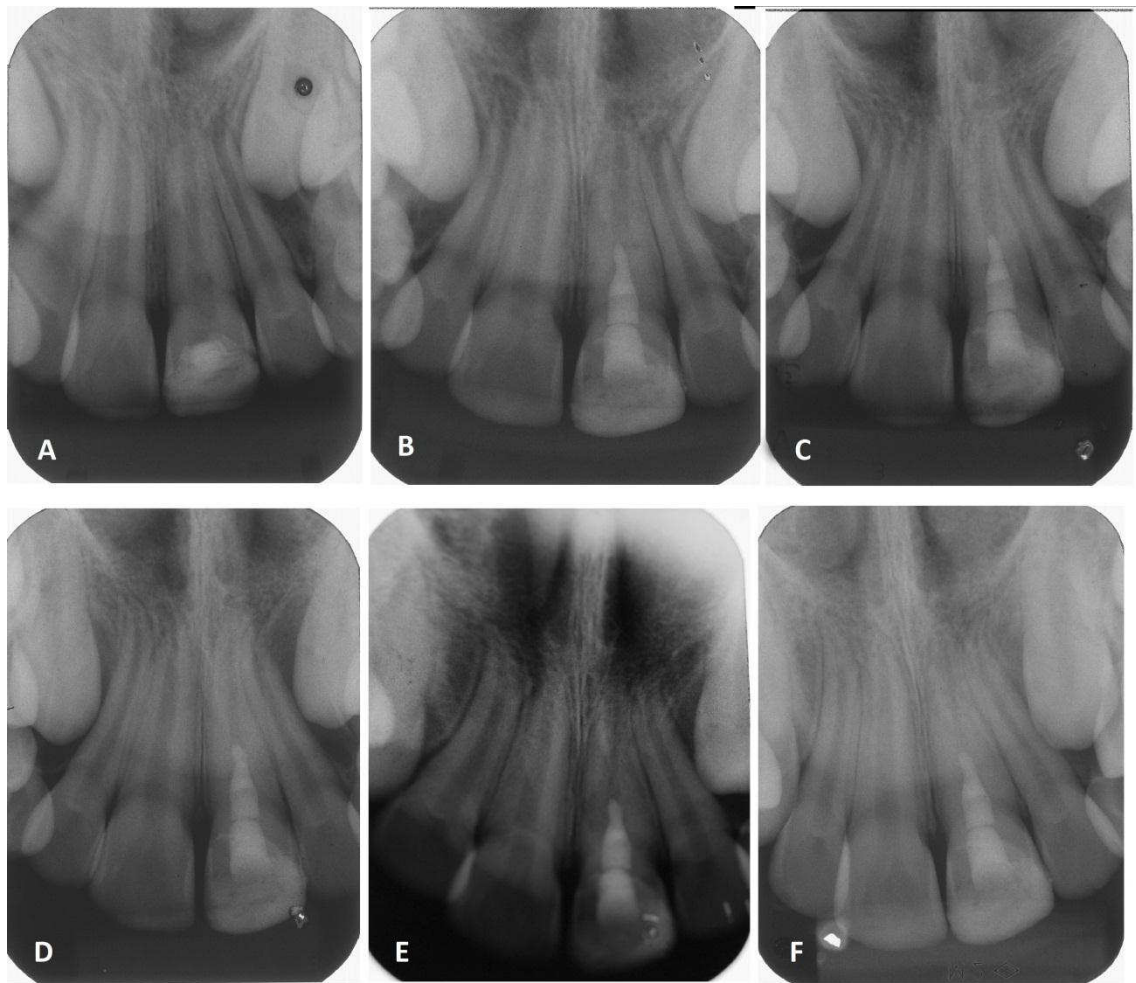


Figure 1. (A) Initial radiograph showing open apex of left central incisor. (B) Pulp revascularization sealed with MTA, coltosol and composite resin. (C) 3-month follow-up. (D) 9-month follow-up. (E) 12-month follow-up. (F) 24-month follow-up.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revascularização pulpar pode ser uma alternativa promissora no tratamento de dentes necróticos com rizogênese incompleta, por meio de espessamento das paredes radiculares e fechamento apical. A descontaminação mecânica sob presença de substância química auxiliar clorexidina gel 2%, associada à medicação intracanal composta por hidróxido de cálcio e clorexidina gel 2% pareceram eficazes no favorecimento da revascularização. Mais estudos são necessários para se conhecer o prognóstico a longo prazo de dentes tratados por meio dessa terapia além de serem importantes na padronização do melhor protocolo para essas condições.

7. REFERENCIAS

1. Rafter M. Apexification: a review. Dent Traumatol 2005; 21: 1-8.
2. 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: 919–25.
3. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase the risk of root fracture. Dent Traumatol 2002; 18: 134–7.
4. Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. Dent Traumatol, 2011: 27.
5. Bansal R, Bansal R. Regenerative endodontics: a state of the art. Indian J Dent Res. 2011; 22(1): 122-31.
6. Nygaard-Ostby B. The role of the blood clot in endodontic therapy an experimental histologic study. Acta Odont Scand 1961; 19: 324-53.
7. Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. Scand J Dent Res 1971; 79: 333-48.

8. Benatti O, Valdrighi L, Biral RR, Pupo J. A histological study of the effect of diameter enlargement of the apical portion of the root canal. *J Endod*. 1985; 11(10):428-34.
9. Kling M, Cvek M, Mejare I. Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endodontics and Dental Traumatology* 1986; 2: 83–9.
10. Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Lownie J, Kling M, Fatti P. Pulp revascularization in reimplanted immature monkey incisors - predictability and the effect of antibiotic systemic prophylaxis. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6: 157-169.a
11. Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Khng M, Lownie J, Fatti P. Efleet of topical application of doxycycline on pulp revascularization and periodontal healing in reimplanted monkey incisors. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6: 170-176.b
12. Ritter ALS, Ritter AV, Murrah V, Sigurdsson A, Trope M. Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after treatment with minocycline and doxycycline assessed by laser Doppler flowmetry, radiography, and histology. *Dent Traumatol* 2004; 20: 75-84.
13. Yanpiset K, Trope M. Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after different treatment methods. *Endodontics and Dental Traumatology* 2000; 16, 211–7.
14. Windley W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *Journal of Endodontics* 2005; 31, 439–43.
15. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 2004; 30: 196–200.
16. Gronthos S, Brahimi J, Li W, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res* 2002; 81: 531–5.
17. Lieberman J, Trowbridge H. Apical closure of non vital permanent incisor teeth where no treatment was performed: case report. *J Endod* 1983; 9: 257–60.
18. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad SciUSA* 2000; 97:13625–30.

19. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996; 29: 125–30.
20. Sato I, Ando-Kurihara 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.
21. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung Y. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod* 2010; 36: 1086–1091.
22. Trope M. Treatment of the immature tooth with a non-vital pulp and apical periodontitis. *Dent Clin North Am.* 2010; 54(2): 313-24.
23. Tanase S, Tsuchiya H, Yao J, Ohmoto S, Takagi N, Yoshida S. Reversed-phase ion-pair chromatographic analysis of tetracycline antibiotics: application to discolored teeth. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998; 706: 279–85.
24. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspids using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. *Int Endod J* 2009, 42, 84–92.
25. Mohammadi Z, Abbott PV. On the local applications of antibiotics and antibiotic-based agents in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J*, 42, 555–567, 2009.
26. Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with periradicular abscess after luxation. *Dent Traumatol* 2011; 27: 55–58.
27. Cehreli ZC, Isbitiren B, Sara S, Erbas G. Regenerative Endodontic Treatment (Revascularization) of Immature Necrotic Molars Medicated with Calcium Hydroxide: A Case Series. *J Endod*, In Press, Corrected Proof, Available online, 2011.
28. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine: an adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; 57, 370–6.
29. Jeanson JJ, White R. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod* 1994; 20, 276–8.

30. Shin SY, Albert JS, Mortman RE. One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. *Int Endod J* 2009, 42, 1118–1126.