

CHRISTIANO CÂNDIDO ZERBINATI

**CIMENTO PBS® CIMMO EM
PREENCHIMENTO DE FALHAS ÓSSEAS:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS**

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

POUSO ALEGRE - MG

2018

CHRISTIANO CÂNDIDO ZERBINATI

**CIMENTO PBS® CIMMO EM
PREENCHIMENTO DE FALHAS ÓSSEAS:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS**

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

ORIENTADOR: Prof^o. Dr. José Dias da Silva Neto

COORIENTADORES: Prof^a. Dra. Daniela Francescato Veiga

Prof^a. Prof. Dr. Taylor Brandão Schnaider

POUSO ALEGRE - MG

2018

Zerbinati, Christiano Cândido.

Cimento Pbs@cimmo em preenchimento de falhas ósseas: estudo experimental em ratos / Christiano Cândido Zerbinati – Pouso Alegre: UNIVÁS, 2018. 50f.

Trabalho Final do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde, Universidade do Vale do Sapucaí.

Título em inglês: Pbs@cimmo cement in filling bone defects: an experimental study in rats.

Orientador: Prof^o. Dr. José Dias da Silva Neto

Coorientadores: Prof^a. Dra. Daniela Francescato Veiga

Prof^a. Prof. Dr. Taylor Brandão Schnaider

1. Carga Imediata em Implante Dentário. 2. Implantação Dentária Endo-Óssea. 3.Regeneração Tecidual Guiada Periodontal. 4. Substitutos Ósseos. 5. Cimentos para Ossos. 6. Compostos Inorgânicos. I. Título.

UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ

**MESTRADO PROFISSIONAL EM
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE**

COORDENADOR: Prof. Dr. José Dias da Silva Neto

Linha de Atuação Científico-Tecnológica: Padronização de procedimentos e inovações em lesões teciduais.

DEDICATÓRIA

Ao meu Pai OLANDO ZERBINATI FILHO e ao meu Sogro MESSIAS APARECIDO DA SILVA, que nos deixaram nos dias 26/09/2016 e 25/12/2016. Por tudo que foram e pelos exemplos de fé, humildade, dedicação, ética, trabalho e grande amor pela família. Certo de que hoje o céu está muito melhor, este trabalho é para vocês!

Aos meus queridos filhos, JOÃO PAULO SILVA ZERBINATI e GABRIEL SILVA ZERBINATI, meus motivos para tudo e o fim de tudo, minhas alegrias, a qualquer tempo e em qualquer lugar, amo vocês!

À CLAUDIANE TADEA SILVA ZERBINATI, meu amor, por apoiar e tolerar minhas ausências, chorar meu pranto e sorrir meu riso, na alegria e na tristeza, sempre comigo!

AGRADECIMENTOS

AO PROFESSOR DR. JOSÉ DIAS DA SILVA NETO, COORDENADOR DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAUDE. Como é bom poder agradecer ao meu orientador! Permitiu que eu estudasse o seu sonho, seu produto, sua invenção: o Cimento PBS®CIMMO, num breve momento em que encontrei com ele na clínica da ABO (Associação Brasileira de Odontologia) e lhe disse – “vamos levar o cimento para implantodontia?” Aqui estamos nós! Um orientador ímpar, um cientista apaixonado pela Odontologia, um paizão, que se prontifica em arcar com os custos dos materiais cirúrgicos e implantes. Um pesquisador que colabora diretamente com os alunos cirurgiões, permanecendo no laboratório até tarde da noite, realizando juntamente conosco todo procedimento necessário, um grande amigo, um gigante. JD, obrigado pela paciência comigo, esperou que eu superasse as perdas, segurou na minha mão e me trouxe até este trabalho finalizado.

À PROFESSORA DRA. DANIELA FRANCESCATO VEIGA, COORDENADORA ADJUNTA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAUDE, coorientadora deste trabalho, pela dedicação e disponibilidade imediata em atender nossas solicitações, pela simpatia e solidez de conhecimento.

AO PROFESSOR TAYLOR BRANDÃO SCHNAIDER, coorientador deste trabalho, pelos conhecimentos e contribuições.

À PROFESSORA LYDIA MSAKO FERREIRA, PROFESSORA TITULAR DA DISCIPLINA DE CIRURGIA PLÁSTICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO-ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA(UNIFESP-EPM), COORDENADORA DA ÁREA DE MEDICINA III DA CAPES, PESQUIZADORA CNPQ NÍVEL 1 A, PROFESSORA ORIENTADORA DO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP-EPM, pelo incentivo à pesquisa.

AO PROFESSOR RODRIGO MACHADO PEREIRA, pela colaboração decisiva nas análises histológicas e pelas belíssimas imagens das lâminas, sempre solícito em nos atender. Pela excelência em cada detalhe.

AOS ALUNOS GRADUANDOS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UNIVAS, LUIS PAULO FERRAZ, MONIQUE AMANDA BATISTA OLIVEIRA E SAMIRA THAÍS PEREIRA, pela colaboração e elaboração de estudo piloto sob orientação do **PROFESSOR RODRIGO MACHADO PEREIRA** no preparo e análises das lâminas.

AOS ALUNOS GRADUANDOS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVAS SAULO PEREIRA CAMACHO ROQUE E ISABEL ÁREA LEÃO DE ALMEIDA ANDRADE, pela elaboração de Estudo Piloto: Adaptação do modelo Experimental no **LABORATÓRIO DE BASES TÉCNICAS CIRÚRGICAS DA UNIVAS** sob orientação do **PROFESSOR JOSÉ DIAS DA SILVA NETO**, coorientação do **MESTRANDO CHRISTIANO CÂNDIDO ZERBINATI, MESTRANDO FRANCISCO AZEVEDO E MÉDICO VETERINÁRIO WELLINGTON DELFINO**.

AO BIÓLOGO IVAN LÚCIO DE MELO E AO MÉDICO VETERINÁRIO WELLINGTON DELFINO, por participarem ativamente dos procedimentos no Laboratório de Bases Técnicas Cirúrgicas da UNIVAS.

AO SR. JOSÉ LOPES CHAVES, que zelou pelos animais no Laboratório de Bases Técnicas Cirúrgicas da UNIVAS.

AOS PROFESSORES YARA JULIANO E NEIL FERREIRA NOVO, pela colaboração no planejamento da BIOESTATÍSTICA. Pela simpatia de sempre. Pelo exemplo de amor pela ciência.

AO PROFESSOR PAULO ROBERTO MAIA, pela ajuda e orientações na realização dos testes estatísticos.

AO SECRETÁRIO DO MESTRADO PROFISSIONAL GUILHERME OLIVEIRA SANTOS E À AUXILIAR ADMINISTRATIVO GISLAINE BITTENCOUT, pela competência e gentileza.

AO COLEGA E AMIGO FRANCISCO AZEVEDO, meu professor da Especialização em Implantodontia, que o destino me presenteou como colega de mestrado. Pelo auxílio nas cirurgias e no trabalho.

AO AMIGO CARLOS EDUARDO SÂMIA, proprietário da empresa **DENTAL SÂMIA**, que gentilmente cedeu os implantes para o trabalho.

AOS PROFESSORES DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAUDE, pela sabedoria, exemplo e orientações.

AOS COLEGAS E AMIGOS DO CURSO, pela alegria do convívio. Quando ingressamos, sabíamos que seria difícil e trabalhoso, o que ninguém nos disse é que seria uma festa com rigor científico, uma jornada acadêmica espetacular, um grande estreitamento de laços, nas mais variadas áreas profissionais. “AMIGO É O IRMÃO QUE A GENTE ESCOLHE”.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANILAB	Animais de Laboratório Criação e Comércio LTDA-EPP
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
Cm	Centímetro
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
HE	Hematoxilina e Eosina
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
J&J	Johnson & Johnson
Kg	Kilograma
Mg	Miligrama
Mg/Kg	Miligrama por Kilograma
ml	Mililitro
Mm	Milímetro
M.O.	Microscopia óptica
µm	Micrometro
MTA	Agregado, trióxido, mineral
N	Número
PBS®CIMMO	Cimento Reparador
pH	Potencial Hidrogênico
ROG	Regeneração óssea guiada
RPM	Rotações por minuto
SB	<i>Stevenel's Blue</i>
SPSS	<i>software</i> estatístico
TNT	Tecido não tecido
UI	Unidade Internacional
UNIVAS	Universidade do Vale do Sapucaí
SA	Sociedade Anônima
X	Vezes
ZIPS	Desvios em Canais Radiculares

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Incisão.	7
Figura 2 - Fêmur.	7
Figura 3 - Fresa lança em contra ângulo 20:1.	8
Figura 4 - Fresagem.	8
Figura 5 - Defeito ósseo.	8
Figura 6 - Cimento PBS® CIMMO.	9
Figura 7 - Manipulação do cimento.	9
Figura 8 - Manipulação do cimento com espátula flexível sobre placa de vidro.	9
Figura 9 - Aplicação do cimento no defeito ósseo	10
Figura 10 - Instalação do mini-implante sobre o cimento PBS®CIMMO.	10
Figura 11 - Defeito ósseo com o cimento PBS®CIMMO aplicado e o mini-implante instalado.	10
Figura 12 - Sedação.	13
Figura 13 - Perfuração do fêmur.	13
Figura 14 - Falha óssea.	14
Figura 15 - Aplicação do cimento PBS® CIMMO.	14
Figura 16 - Instalação do implante de titânio sobre o cimento PBS® CIMMO.	15
Figura 17 - Implante de titânio instalado.	15
Figura 18 - Serra manual.	17
Figura 19 - Preparo manual das lâminas do Grupo 1.	18
Figura 20 - Peça incluída com resina.	18
Figura 21 - Bloco em resina.	19
Figura 22 - Bloco em resina.	19
Figura 23 - Lâminas obtidas do preparo manual.	20
Figura 24 - GRUPO 1 (implante-cimento-tecido ósseo) HE aumento 100x M.O. 100 µm.	20
Figura 25 - GRUPO 2 (cimento- tecido conjuntivo) HE aumento 40 x M.O. 250 µm	21
Figura 26 - GRUPO 2 (cimento-osteóide -tecido conjuntivo) HE aumento 100x M.O. 100 µm.	21
Figura 27 - GRUPO 2 (cimento-osteoblasto-osteoclasto) HE aumento 400x M.O. 25 µm.	22
Figura 28 - GRUPO 2 (cimento-fibroblastos) HE aumento 400x M.O. 25 µm	22
Figura 29 - GRUPO 3 (osso compacto) HE aumento 100 x M.O. 100 µm	23
Figura 30 - GRUPO 1 (implante de titânio) HE M.O.	23
Figura 31 - GRUPO 2 (tecido osteóide) HE M.O.	24

Figura 32 - GRUPO 2 (Tecido conjuntivo de reparo) HE M.O.	24
Figura 33 - GRUPO 2 (cimento- osteoide- tecido conjuntivo) HE aumento 100x M.O. 100µm	29
Figura 34 - GRUPO 2 (nova formação óssea) HE M.O.	29
Figura 35 - GRUPO 3 (cavidade) HE aumento 40 x M.O. 250 µm	30
Figura 36 - GRUPO 1 (tecido conjuntivo e cristais de cimento) SB M.O. 100 µm	30
Figura 37 - GRUPO 1 (formação de tecido ósseo e tecido conjuntivo de reparo na região do cimento) SB M.O. 100 µm	31
Figura 38 - GRUPO 1 (tecido conjuntivo e cristais de cimento) SB M.O. 25 µm	31
Figura 39 - GRUPO 1 (tecido ósseo mineralizado) SB M.O.	32
Figura 40 - Fêmur com o implante de titânio.	44
Figura 41 - Peças em frascos com formol 10% tamponado.	44
Figura 42 - Fêmur com implante de titânio.	45
Figura 43 - Fêmur com cimento PBS® CIMMO.	45
Figura 44 - Fêmur controle.	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados gerais obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 nas áreas A,B e C após a aplicação do teste de <i>Kruskal Wallis</i>	26
Tabela 2 - Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área A após a aplicação do teste de <i>Kruskal Wallis</i> e comparações pelo método de <i>Dunn</i>	27
Tabela 3 - Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área B após a aplicação do teste de <i>Kruskal Wallis</i> e comparações pelo método de <i>Dunn</i>	27
Tabela 4 - Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área C após a aplicação do teste de <i>Kruskal Wallis</i> e comparações pelo método de <i>Dunn</i>	27
Tabela 5 - Quantificação em <i>pixels</i> das células de neoformação óssea de CT (Grupo 1) e descrição de presença e ausência de células específicas nas áreas A, B e C.....	28

SUMÁRIO

1 CONTEXTO.....	1
2 OBJETIVO	5
3 MÉTODOS.....	6
3.1 Delineamento do estudo.....	6
3.2 Procedimento para coleta dos dados.....	6
3.3 Planejamento cirúrgico	7
3.4 Protocolo cirúrgico	11
3.5 Processamento histológico	16
3.6 Análise histológica	20
3.7 Análise histomorfológica	25
3.8 Planejamento estatístico.....	25
4 RESULTADOS	26
4.1 Produto.....	33
5 APLICABILIDADE	34
6 CONCLUSÃO	38
7 IMPACTO SOCIAL	39
REFERÊNCIAS	40
NORMAS ADOTADAS.....	43
APÊNDICE	44
APÊNDICE 1 - Coleta de peças do fêmur.....	44
ANEXOS.....	47
ANEXO 1 - Ração utilizada na alimentação dos ratos.....	47
ANEXO 2 - Aprovação do CONCEA.....	48
ANEXO 3 - DANFe de aquisição dos ratos utilizados no experimento e credenciamento da empresa ANILAB no CONCEA	49

RESUMO

Contexto: As extrações dentárias originam falhas ósseas, alvéolos frescos. Condições clínicas que exigem abordagem com instalação de implantes e reabilitação estética através de próteses sobre os implantes. Este procedimento reabilitador chama-se carga imediata e a condição para que seja possível ser realizada é a estabilidade primária dos implantes. **Objetivo:** Avaliar cimento PBS@CIMMO no preenchimento de falhas ósseas. **Métodos:** Trinta e seis ratos *Wistar* adultos machos foram organizados em três Grupos de doze indivíduos cada (Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3). Aprovação CEUA parecer 265/17. Em todos os Grupos realizou-se uma falha óssea no fêmur com as dimensões de 2,0 mm de largura por 7,0 mm de profundidade. No Grupo 1, aplicou-se o cimento PBS@CIMMO na falha óssea produzida e instalou-se implante de titânio (CONEXÃO®) medindo 1,5mm de espessura e 6mm de comprimento na cavidade. No Grupo 2, aplicou-se o cimento PBS@CIMMO na cavidade. No Grupo 3 realizou-se apenas a falha óssea. **Resultados:** Realizou-se os testes de *Kruskal Wallis* para cada área e comparou-se a média dos três Grupos. Foi aplicado o teste *Dunn* que comparou a média de cada Grupo entre si: Grupo 1 com Grupo 2, Grupo 1 com Grupo 3 e Grupo 2 com Grupo 3. Em todas as comparações ocorreu significância para o Grupo 2 $p = 0,0014$. **Conclusão:** O cimento PBS@CIMMO induziu neoformação óssea e observou-se integração osso neoformado, cimento e parafuso de titânio.

Palavras chave: Carga Imediata em Implante Dentário; Implantação Dentária Endo-Óssea; Regeneração Tecidual Guiada Periodontal; Substitutos Ósseos; Cimentos para Ossos; Compostos Inorgânicos.

ABSTRACT

Context: Dental extraction causes bone defects, fresh sockets. Clinical conditions that require approach with installation of implants and aesthetic rehabilitation through prostheses on the implants. This rehabilitation procedure is called immediate loading and the condition for it to be performed is the primary stability of the implants. **Purpose:** To evaluate PBS®CIMMO cement in the filling of bone defects. **Methods:** Thirty-six adult male Wistar rats were organized into three groups of twelve individuals each (Group 1, Group 2 and Group 3). Approval CEUA opinion 265/17. In all groups, a femoral bone defect with a size of 2.0 mm wide and 7.0 mm deep was performed. In Group 1, the PBS®CIMMO cement was applied to the bone defect produced and a titanium implant (CONNECTION®) measuring 1.5mm thick and 6mm long was installed in the cavity. In Group 2, the PBS®CIMMO cement was applied to the cavity. In Group 3 only bone failure was performed. **Results:** Kruskal Wallis tests were performed for each area and the mean of the three groups was compared. The Dunn test was used, comparing the mean of each Group: Group 1 with Group 2, Group 1 with Group 3 and Group 2 with Group 3. In all comparisons, significance was observed for Group 2 $p = 0.0014$. **Conclusion:** PBS®CIMMO cement induced bone neoformation and integration of neoformed bone, cement and titanium screw was observed.

Key words: Immediate Dental Implant Loading, Dental Implantation, Endosseous, Guided Tissue Regeneration, Periodontal, Bone Substitutes, Bone Cements, Inorganic Chemicals.

1 CONTEXTO

A Implantodontia e Ortopedia em sua prática, deparam-se com situações em que existem alterações da continuidade óssea, falhas ósseas, perda óssea segmentar ou fraturas, especialmente, devido aos traumatismos de alta energia, tumores, infecções, malformações congênitas e fraturas radiculares que ocasionam alvéolos dentais frescos após as exodontias. As alternativas para a reparação das falhas ósseas incluem a utilização dos vários tipos de enxertos ósseos. O transporte ósseo e os implantes de biomateriais, dentre os quais os materiais metálicos, as cerâmicas e os biopolímeros (IGNÁCIO *et al.*, 2002) e a instalação de implantes dentários, associados ou não aos enxertos e aos biomateriais, em alvéolos frescos ou processos alveolares cicatrizados restabelecem a função, a estética, melhora da autoestima e o convívio social (ATIEH *et al.*, 2015; GUARNIERI *et al.*, 2017; IOCCA *et al.*, 2017).

Um problema constante na prática clínica da implantodontia é a indicação de exodontia de elementos dentários na região estética. Alvéolos frescos de elementos dentários recém extraídos são falhas ósseas que requerem atenção especial dos clínicos, pois na maioria dos casos, é imprescindível uma reconstrução estética imediata com a instalação de implantes e confecção de prótese provisória ou definitiva do elemento perdido associando ou não aos enxertos ósseos autólogos, homólogos ou alógenos. O momento da exodontia é o melhor período de reconstrução alveolar. Ao empregar-se biomateriais para preservação da arquitetura do alvéolo - altura e largura – melhora-se os resultados na reabilitação com implantes dentais (ATIEH *et al.*, 2015; GUARNIERI *et al.*, 2017; IOCCA *et al.*, 2017).

Esse conhecimento aplica-se aos alvéolos frescos de elementos dentários recém extraídos, que sem uma gestão reabilitadora funcional imediata do elemento perdido, vai se remodelar durante o processo cicatricial, resultando em diminuição da margem alveolar, constituindo falhas ósseas de elevado nível de dificuldade na reconstrução e reabilitação com implantes dentais (ARAUJO *et al.*, 2005; ATIEH *et al.*, 2015; GUARNIERI *et al.*, 2017; IOCCA *et al.*, 2017). Porém, ao contrário do que se acreditou por muito tempo na atividade da Implantodontia, apenas a instalação de implantes imediatos nos alvéolos frescos de dentes recém extraídos não garante a estabilidade dimensional da margem alveolar, que parece existir devido à presença do elemento dentário e suas fibras de sustentação. Com ou sem a instalação do implante, o osso alveolar se remodelará e perdas dimensionais de altura e largura serão observadas (ARAUJO *et al.*, 2005).

Atualmente, a realização de implantes imediatos é reportada nas referências como a melhor e mais rápida forma de preservar a margem alveolar e reabilitar o paciente.

Entretanto, a indicação dessa modalidade de tratamento é dependente de diversos fatores, com a existência de um suporte ósseo apical adequado, presença de tábua óssea vestibular, fenótipo gengival favorável, e outros (NÓIA e SÁ, 2017). Sendo assim, uma preocupação constante dos profissionais da Implantodontia está relacionada ao tratamento daqueles pacientes cujo remanescente alveolar não atende aos requisitos para uma implantação imediata. Os implantes instalados sobre “carga imediata” requerem atributos do osso suporte a fim de que se obtenha a estabilidade primária: justaposição do implante às paredes do alvéolo cirúrgico. A estabilidade primária dos implantes osteointegráveis pode ser conceituada como a estabilidade mecânica, solidez, rigidez e resistência ao movimento do implante obtida no momento da inserção. A estabilidade primária aumenta com o aumento da resistência para a inserção do implante (ROCHA e ELIAS, 2010).

As instalações dos implantes imediatos, em alvéolos frescos, geram espaços entre a superfície do implante e a tábua óssea vestibular. As reconstruções de alvéolos frescos – preenchimento desses espaços - têm sido usadas com a finalidade de manter as dimensões de altura e largura, porém estes procedimentos não aumentam a estabilidade primária dos implantes (TURKYILMAZ, 2006; ALKUDMANI *et al.*, 2017).

Atualmente, o uso do enxerto ósseo autógeno é considerado como procedimento padrão e ideal no manejo dessas complicações. Suas propriedades de osteoindução, osteocondução e osteogênese são fundamentais para tal (LANE *et al.*, 1999; GIORDANO *et al.*, 2000; SALAMANCA *et al.*, 2017).

No entanto, desvantagens nesse procedimento têm sido repetidamente apontadas, tais como: estoque ósseo inadequado, queixas relacionadas ao sítio doação (YOUNGER e CHAPMAN, 1989). A disponibilidade limitada pode gerar preenchimentos incompletos dos defeitos, requerendo mais procedimentos cirúrgicos com o aumento da morbidade (SALAMANCA *et al.*, 2017). Portanto, há necessidade da busca de substitutos que mimetizem as funções principais do enxerto ósseo autógeno. Diversos biomateriais vêm sendo testados com essa finalidade; entretanto, a ausência, principalmente de características osteoindutoras relacionadas à bioatividade, têm frustrado os pesquisadores na maioria dos produtos estudados (TORABINEJAD *et al.*, 2017).

Um biomaterial ideal seria aquele que fosse biocompatível, bioativo, e tivesse a propriedade de aumentar a estabilidade primária nas implantações imediatas. Autores têm demonstrado características osteoindutoras e osteocondutoras capazes de induzir neoformação óssea com o uso desses novos biomateriais (COOK *et al.*, 1998; SALAMANCA *et al.*, 2017).

Há uma ampla aplicação de cimentos ortopédicos e dentários para os mais diversos fins dentro das ciências biomédicas. Os biomateriais com características de

biocompatibilidade e bioatividade são cada vez mais aprimorados e utilizados para aplicações médica e odontológicas (SOARES, 2006; TORABINEJAD *et al.*, 2017). O advento dos cimentos biológicos determinou a implantação de uma nova era na odontologia. É importante compreender que estes cimentos são alternativas biocompatíveis e eficientes para serem usados em casos não convencionais, como qualquer perfuração na área perirradicular; perfuração de furca, zips (desvios da luz do canal com perfuração lateral), arrombamento de forame, rizogênese incompleta, capeamento pulpar direto, pulpotomias, trincas radiculares causadas por trauma, abscessos alveolares com indicação de retratamento endodôntico, retroobturações e casos de destruição grande da dentina (SILVA NETO *et al.*, 2010; SILVA NETO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016; BOCZAR *et al.*, 2018).

A base destes cimentos é o cimento Portland utilizado na construção civil, que tem como matéria prima o calcário. O primeiro cimento biológico a surgir na odontologia foi o MTA (agregado, trióxido, mineral) cimento composto por cimento portland comum acrescido de óxido de bismuto, agente radiopacificador. As marcas comerciais deste cimento são: Pro Root Dentsply® e MTA Ângelus®. Ambos têm a desvantagem do custo ser alto, como também a presença do óxido de bismuto que confere ao cimento radiopacidade, no entanto deixa o cimento friável e com baixa resistência à compressão e apresenta chumbo em sua composição (PARIROKH e TORABINEJAD, 2010; TORABINEJAD *et al.*, 2017).

Estudos recentes determinaram desenvolvimento de cimento biológico com a mesma base do MTA, no entanto, com o acréscimo de aditivos (elementos naturais responsáveis pelo aumento da resistência do cimento) e sem radiopacificador, elemento que interfere na propriedade resistência do cimento, requisito importante devido à necessidade de resistência às forças mastigatórias. Este cimento foi patenteado pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial- INPI, em Junho de 2013 e publicado em Novembro de 2015 (patente no. BR10 2013 031603-2 A2). O pedido de marca para o cimento PBS foi arquivado no INPI (processo n. 909673667) em julho de 2015 e o cimento médico está atualmente na fase de industrialização autorizado para comercialização, publicada no diário Oficial da União Nº 226, segunda-feira, 27 de novembro de 2017. Cimento PBS®CIMMO (Pozolana, Biológico, Silva) (SILVA *et al.* 2016; BOCZAR *et al.*, 2018).

Desenvolveu-se inicialmente modelo experimental para avaliar a ação biológica reparadora deste cimento, em lesões de furca experimentais, em dentes de cães (SILVA NETO *et al.*, 2010). Este estudo calibrou instrumentos para realização de trabalho maior para definir a capacidade regeneradora do cimento em lesão de furca (SILVA NETO *et al.*, 2012). A partir deste ponto, desenvolveu-se possibilidade de realização de estudo clínico com finalidade de avaliação da regeneração de dentes submetidos a cirurgia pararendodôntica,

retroobturados com cimento MTA Ângelus e cimento aditivado (SILVA *et al.*, 2015). Os resultados demonstraram que o uso clínico do cimento PBS®CIMMO é viável porque produz a regeneração óssea e das estruturas de ligamento periodontal, além de ter resistência devido à presença de aditivos, que se mantém a longo prazo, devido à ausência em sua composição de radiopacificador (SILVA *et al.*, 2016; BOCZAR *et al.*, 2018).

Os resultados destes e outros estudos suportam a ideia de que o cimento PBS®CIMMO, tem potencial para ser utilizado nas situações clínicas similares àquelas em que se utiliza aloenxertos e sulfato tricálcico. Propõe-se estudo experimental com utilização deste cimento, para preenchimento de falhas ósseas experimentais simulando alvéolos frescos de elementos dentários, almejando possibilidade de realização de implantes imediatos.

2 OBJETIVO

Avaliar a ação do cimento PBS®CIMMO em preenchimento de falhas ósseas em ratos.

3 MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de pesquisa experimental primária, longitudinal, prospectiva e analítica. O projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e aprovado sob o parecer 265/17 (Anexo1).

3.2 Procedimento para coleta dos dados

Trinta e seis ratos *Wistar* machos com peso médio de 350 a 450g, adquiridos da empresa Anilab Animais de Laboratório Criação e Comércio Ltda, credenciada pelo CONCEA (Anexo2), foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro/escuro de 12h, (luz após as 7:00 horas) e água *ad libitum* no biotério da UNIVÁS, após cumprimento do período de quarentena.

Os critérios de inclusão foram: ratos machos, peso médio de 350 a 450g, animais que apresentaram saúde e atividade normais durante o período de quarentena.

Os critérios de não inclusão foram: ratos fêmeas, peso fora de 350 a 450g, estipulado em critérios de inclusão.

Os critérios de exclusão foram: ratos que vieram a óbito ou apresentaram diarreia e abscesso durante o experimento.

Os animais foram organizados em 3 (três) Grupos de 12 (doze) animais cada, N=12, conforme planejamento estatístico fundamentado em literatura (NORMANDO *et al.*, 2010). Para estabelecer padrões de técnica cirúrgica experimental, de forma preliminar, realizou-se planejamento de técnica cirúrgica fundamentada em anatomia de ratos e em literatura (BRITO *et al.*, 2009; QUINTERO *et al.*, 2010; SIQUEIRA *et al.*, 2015). Os padrões estabelecidos foram ilustrados através de desenhos esquemáticos de acordo com o planejamento idealizado (Figuras de 1 a 11).

Três animais, um de cada Grupo foram submetidos aos protocolos iniciais e cirúrgicos para calibração de instrumentos. Estudo piloto realizado pelos alunos Graduandos em Medicina da UNIVAS.

3.3 Planejamento cirúrgico

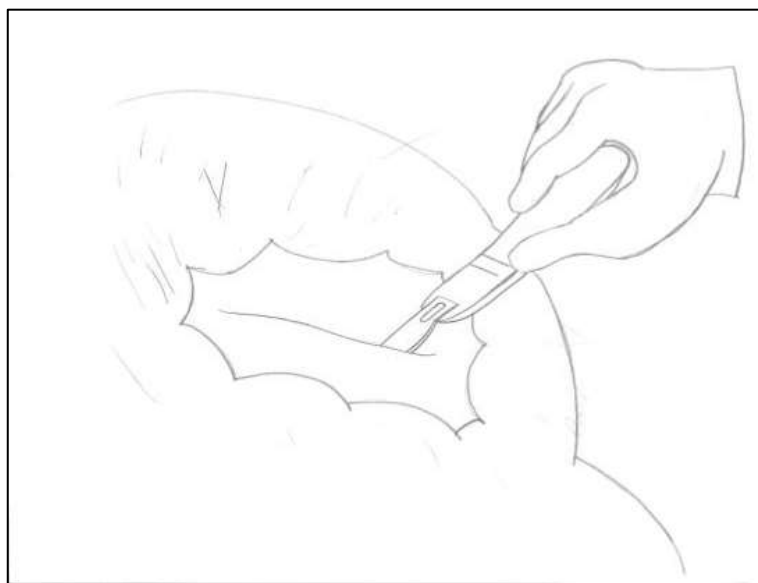


Figura 1 - Incisão.

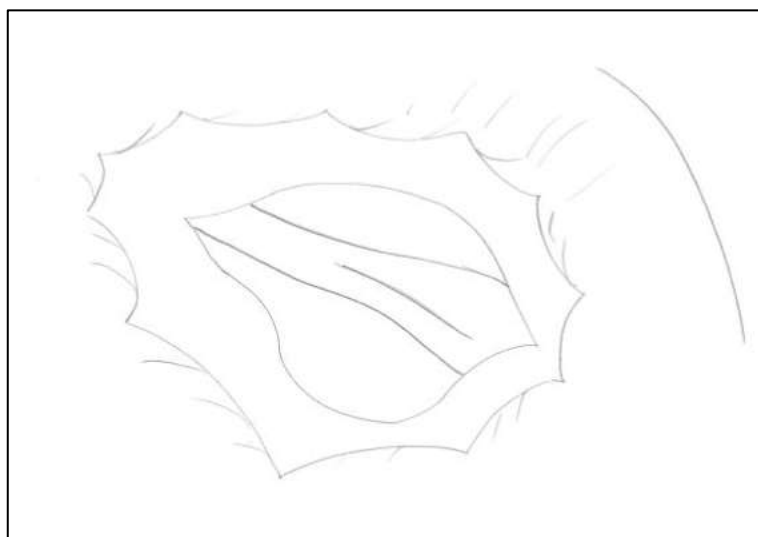


Figura 2 - Fêmur.

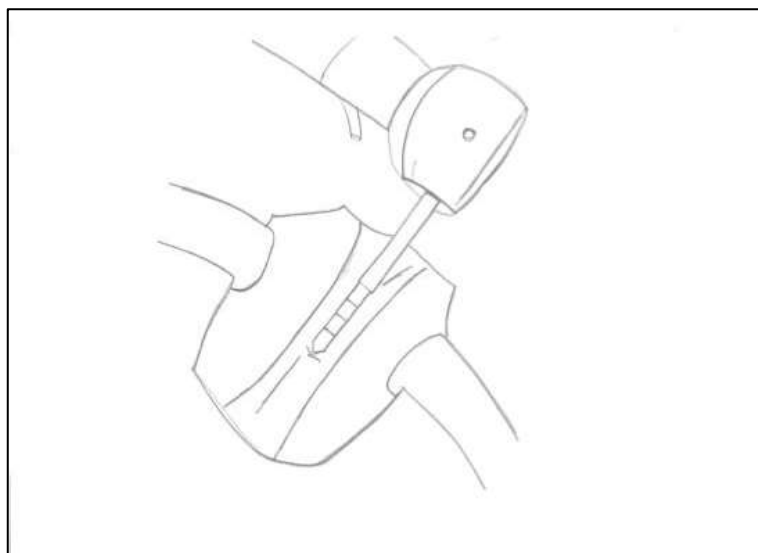


Figura 3 - Fresa lança em contra ângulo 20:1.

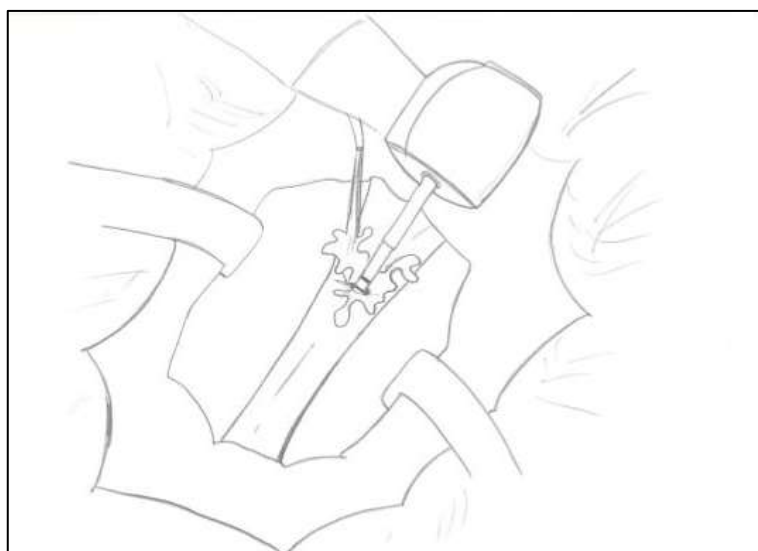


Figura 4 - Fresagem.

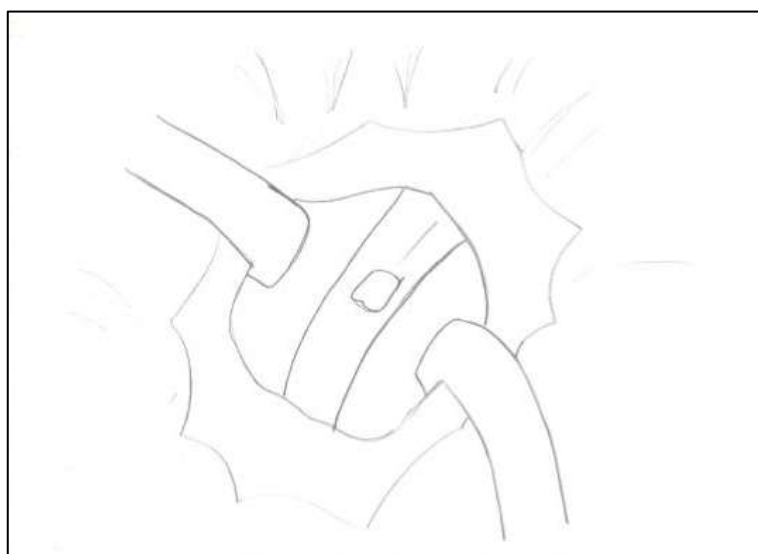


Figura 5 - Defeito ósseo.



Figura 6 - Cimento PBS® CIMMO.

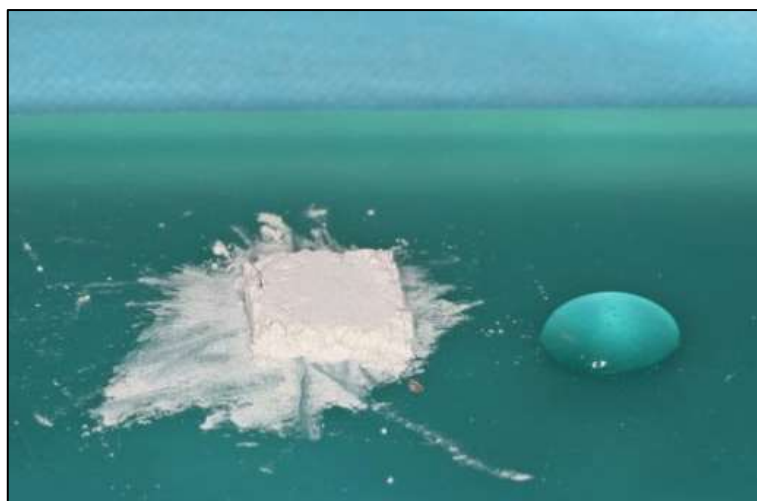


Figura 7 - Manipulação do cimento.



Figura 8 - Manipulação do cimento com espátula flexível sobre placa de vidro.



Figura 9 - Aplicação do cimento no defeito ósseo

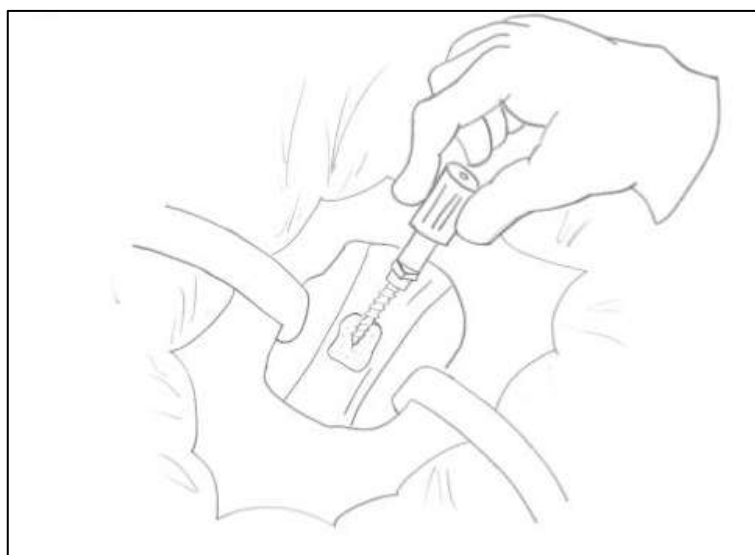


Figura 10 - Instalação do mini-implante sobre o cimento PBS®CIMMO.

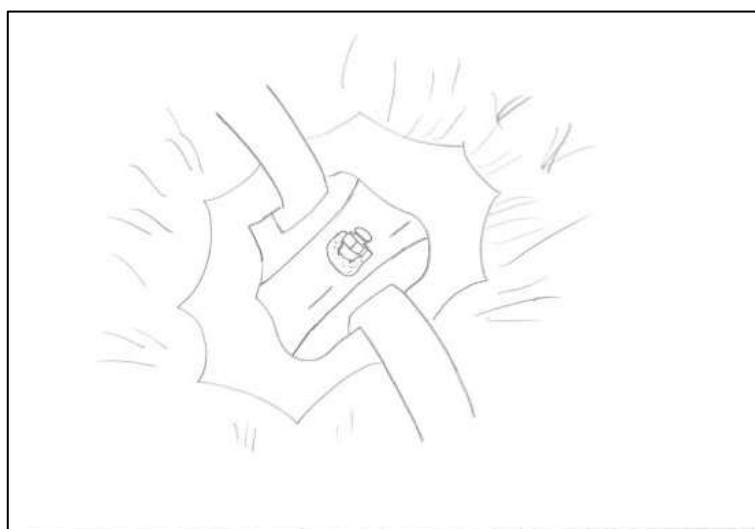


Figura 11 - Defeito ósseo com o cimento PBS®CIMMO aplicado e o mini-implante instalado.

3.4 Protocolo cirúrgico

O alojamento foi realizado em gaiolas individuais onde os ratos receberam alimentação balanceada com ração comercial própria para a espécie (ANEXO 1) e água *ad libitum*. O responsável pelo confinamento realizou diariamente a higienização do local, assim como a alimentação, nos períodos anterior e posterior à etapa experimental. Durante a semana precedente à etapa experimental, foi realizado exame clínico minucioso por Médico Veterinário qualificado, executando cuidados relativos a vacinas e dieta.

Realizou-se a antibioticoprofilaxia e terapia com Pentabiótico (Antibiótico para animais de pequeno porte) benzilpenicilina benzatina (600.000 UI), benzilpenicilina procaína (300.000 UI), benzilpenicilina potássica (300.000 UI), sulfato de dihidroestreptomicina (250mg) e sulfato de estreptomicina (250 mg), por via oral, na dose de 1mg/kg de peso, a cada 12 horas, com início 24 horas antes do procedimento cirúrgico e mantido por 7 dias.

A sedação foi realizada com cloridrato de cetamina (70mg/kg) (Ketalar® 10%, Pfizer, São Paulo) e cloridrato de xilazina (6mg/kg) (Rompum® 2% - Bayer SA) via intramuscular. A tricotomia foi realizada na região do fêmur com aparelho de barbear (GILLETE®) em seguida anestesia infiltrativa local (12,5mg/kg) de bupivacaína (Neocaína® 5% - Cristália). A respiração foi espontânea.

Foram realizados cuidados de ordem geral: a assepsia e degermação das mãos e antebraços e paramentação da equipe cirúrgica com *Kit* cirúrgico descartável, estéril de tecido TNT (Suprimed®). Foi realizada a degermação da pele com clorexidina degermante a 2% (Diclonato de Clorexidina – Riohex) 2%.

GRUPO 1

Após infiltração anestésica, realizou-se a tricotomia e o acesso ao fêmur mediante a uma incisão linear cutânea, medindo aproximadamente 3 cm de extensão com lâmina de bisturi n. 15 (Swann-Morton®), foi descolado o retalho com descolador de *Molt* 2/4 e dissecação com tesoura romba até exposição do fêmur. Foi produzido um defeito simulando uma falha óssea análoga a um alvéolo dental na região proximal da superfície do fêmur utilizando uma broca lança de diâmetro máximo de 2,0 mm de largura e 7 mm de profundidade mediante um ângulo de perfuração de 45 graus em relação à superfície do fêmur através de contra ângulo de redução 20:1, com motor elétrico programado a 1200 RPM (KAVO®) e irrigação constante com soro fisiológico. Após limpeza, o cimento PBS®CIMMO foi manipulado com água destilada através de espátula flexível sobre placa de vidro estéreis, segundo recomendação do fabricante e inserido à cavidade. Neste momento,

antes do endurecimento do cimento, foi instalado um implante de ancoragem ortodôntica (CONEXÃO®) medindo 1,5mm de espessura e 6mm de comprimento, utilizando uma chave de instalação manual (CONEXÃO®). Em seguida, o periósteo foi reposicionado e a sutura interna foi realizada por pontos simples com fio poligalactina 910c (Vicryl® 4.0) J&J. A sutura externa da derme foi realizada com fio mononylon (4-0) – (SHALON®).

GRUPO 2

Após infiltração anestésica, foi realizada a tricotomia e o acesso ao fêmur mediante a uma incisão linear cutânea, medindo aproximadamente 3 cm de extensão com lâmina de bisturi n. 15 (*Swann-Morton*®), foi descolado o retalho com descolador de *Molt 2/4* e dissecação com tesoura romba até exposição do fêmur. Foi produzido um defeito simulando uma falha óssea semelhante a um alvéolo dental na região proximal da superfície do fêmur utilizando uma broca lança de 2.0 mm de largura e 7 mm de profundidade, mediante ângulo de perfuração de aproximadamente 45 graus em relação à superfície do fêmur com o uso de contra ângulo de redução 20:1 com motor elétrico programado a 1200 RPM (KAVO®) e irrigação constante com soro fisiológico. Após limpeza, o cimento PBS®CIMMO foi manipulado com água destilada através de espátula flexível sobre placa de vidro estéreis, segundo recomendação do fabricante e inserido à cavidade. Em seguida, o periósteo foi reposicionado e a sutura interna foi realizada por pontos simples com fio poligalactina 910c (Vicryl® 4.0) J&J. A sutura externa da derme foi realizada com fio mononylon (4-0) – (SHALON®).

GRUPO 3 (CONTROLE)

Após infiltração anestésica, foi realizada a tricotomia e o acesso ao fêmur mediante a uma incisão linear cutânea, medindo aproximadamente 3 cm de extensão com lâmina de bisturi n. 15 (*Swann-Morton*®), foi descolado o retalho com descolador de *Molt 2/4* e dissecação com tesoura romba até exposição do fêmur. Foi produzido um defeito de modo a simular uma falha óssea semelhante a um alvéolo dental na região proximal da superfície fêmur utilizando uma broca lança de 2,0 mm de largura e 7 mm de profundidade mediante um ângulo de perfuração de aproximadamente 45 graus em relação à superfície do fêmur com o uso de contra ângulo de redução 20:1 com motor elétrico programado a 1200 RPM (KAVO®) e irrigação constante com soro fisiológico. Em seguida, o periósteo foi reposicionado e a sutura interna foi realizada por pontos simples com fio poligalactina 910c (Vicryl®4.0) J&J. A sutura externa da derme foi realizada com fio mononylon (4-0) – (SHALON®) (Figuras 12 a 17).



Figura 12 - Sedação.



Figura 13 - Perfuração do fêmur.



Figura 14 - Falha óssea.



Figura 15 - Aplicação do cimento PBS® CIMMO.



Figura 16 - Instalação do implante de titânio sobre o cimento PBS® CIMMO.



Figura 17 - Implante de titânio instalado.

Após 8 semanas da realização da cirurgia, foram colhidos os materiais para análises após a eutanásia dos animais. O procedimento de eutanásia seguiu o protocolo de sedação com Cloridrato de Xilazina (6mg/kg) - Injeção intramuscular e anestesia geral com Cloridrato de Cetamina (70mg/kg) - Injeção intramuscular (Anestesia Geral). Logo pós a anestesia geral, os animais foram eutanasiados com injeção intracardíaca de Cloreto de Potássio (19,1% a 2ml/kg).

A seguir, foi removida a área enxertada do fêmur dos animais com dissecação do osso. As peças foram identificadas, fotografadas e acondicionadas em recipientes de plástico com tampa, contendo substância descalcificadora (558 ml de formol a 10% e 42 ml de ácido nítrico a 65%). O período necessário para o processo de desmineralização foi de 15 dias. As peças foram submetidas à rotina histológica, sendo lavadas em água corrente por 24 horas e incluídas em parafina. Os blocos, dispostos longitudinalmente, foram reduzidos para facilitar a microtomia, em cortes seriados com espessura de seis micrômetros, sendo corados com Hematoxilina e Eosina (HE). O trabalho de análise histomorfológico foi realizado pelo departamento de biologia da UNIVÁS. Realizou-se estudo de iniciação científica que definiu metodologia de preparo histológico e histomorfológico.

3.5 Processamento histológico

As peças ósseas foram fixadas em formol a 10% em tampão de fosfato em pH de 7,2. Em seguida, foram descalcificadas em solução de EDTA a 10% durante 15 dias.

Posteriormente, as peças passaram pelo processo laboratorial de rotina para inclusão em parafina. Para tanto, foram submetidas a lavagem em água corrente por 1 hora, seguido do processo de desidratação em bateria alcoólica crescente (Etanol 70%, Etanol 95%, Etanol Absoluto I, Etanol Absoluto II e Etanol Absoluto III – 1 hora em cada banho). A clarificação foi realizada em dois banhos de xilol, e posteriormente procedeu a impregnação em parafina pura em estufa a 65°C por três banhos consecutivos por 1 hora em cada. E por fim, a inclusão foi realizada em moldes apropriados.

Obtidos os blocos, foram realizados cortes transversais com espessura de 4 micrômetros em micrótomo rotativo, resultando em cortes semi-seriados que foram submetidos à coloração pela hematoxilina e eosina.

Para coloração, os cortes foram desparafinizados em três banhos de xilol e hidratados em série alcoólica decrescente (Etanol Absoluto I, Etanol Absoluto II, Etanol Absoluto III, Etanol 95%, Etanol 70% (1 minuto em cada) seguido de lavagem em água corrente por 1 minuto. A coloração primária foi realizada em hematoxilina de *Harris* por 2 minutos. Para contra-coloração, foi utilizada Eosina Alcoólica por 2 minutos antecedido da semi-desidratação dos cortes em etanol 70%.

Por fim, as lâminas foram desidratadas em série etanólica crescente, clarificadas em xilol, limpadas e montadas permanentemente em verniz sem lamínula para melhor visualização.

O preparo para as lâminas do Grupo 1 iniciou-se com o processo de desidratação, mergulhando as peças em álcool 70 por 24 horas e posteriormente em álcool a 100%, realizando a troca após 24, 48 e 56 horas, facilitando a penetração da resina. Após este processo, realizou-se a diafanização, que consistiu em mergulhar as peças em xilol por 48 horas (trocando a solução após as primeiras 24 horas), para remoção das impurezas. A inclusão foi realizada com a imersão das amostras em frasco de vidro com tampa, de aproximadamente 20ml, que serviu de molde para a resina. As peças permaneceram de 5 a 6 dias mantidas em geladeira, em solução de 25% de dibutilftalato e 75% de metilmetacrilato. Para ativação da resina utilizou-se 1% de peróxido de benzoila, por 4 a 6 dias. Após sua polimerização, foram levadas à estufa a 37° C por 48 horas e o vidro quebrado para obtenção de um bloco endurecido. O frasco foi quebrado, e obteve-se um bloco retangular com o auxílio de serra, sendo respectivamente lixado e identificado, estando pronto para a microtomia que foi executada manualmente (Figuras 18 a 23) a fim de se preservar as estruturas de osso e implante de titânio. Por este mesmo motivo e devido à dificuldade em cortar-se o titânio, as peças foram incluídas em resina, o que não alterou os resultados das análises histológicas e histomorfológicas.



Figura 18 - Serra manual.

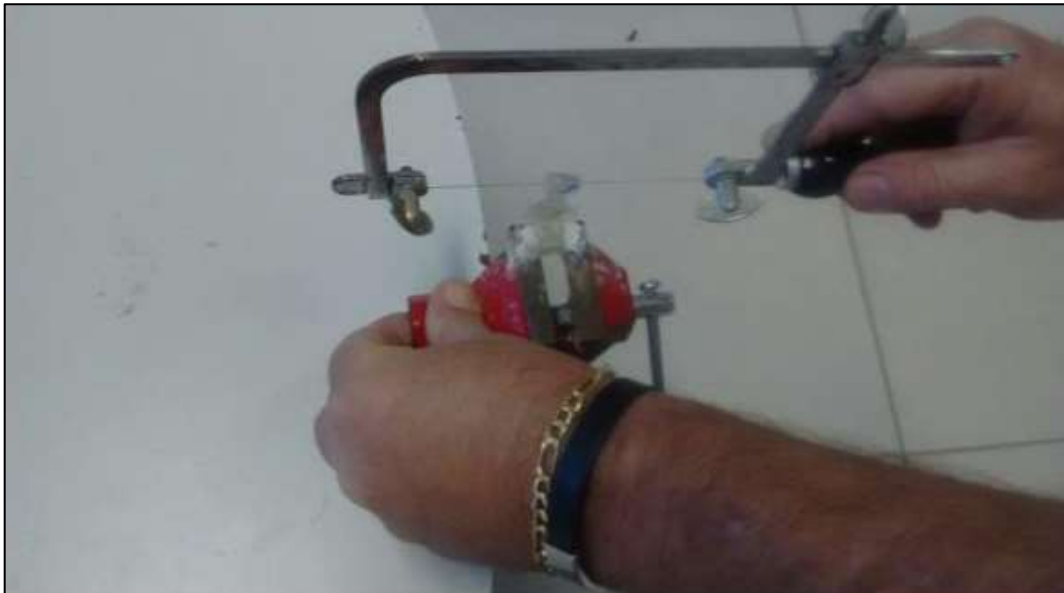


Figura 19 - Preparo manual das lâminas do Grupo 1.



Figura 20 - Peça incluída com resina.



Figura 21 - Bloco em resina.



Figura 22 - Bloco em resina.

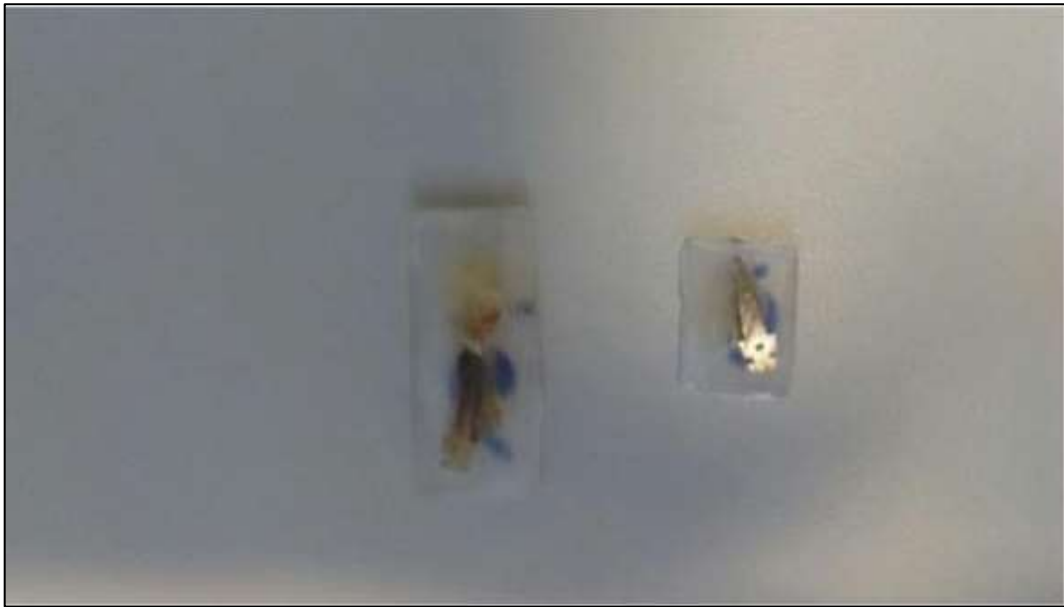


Figura 23 - Lâminas obtidas do preparo manual.

3.6 Análise histológica

A região lesionada foi avaliada por microscopia óptica, a fim de avaliar a presença de processos reacionais de reparo e/ou inflamação. A presença dos seguintes constituintes celulares e teciduais também foram considerados: tecido conjuntivo, fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos e osteoide (Figuras 24 a 32).

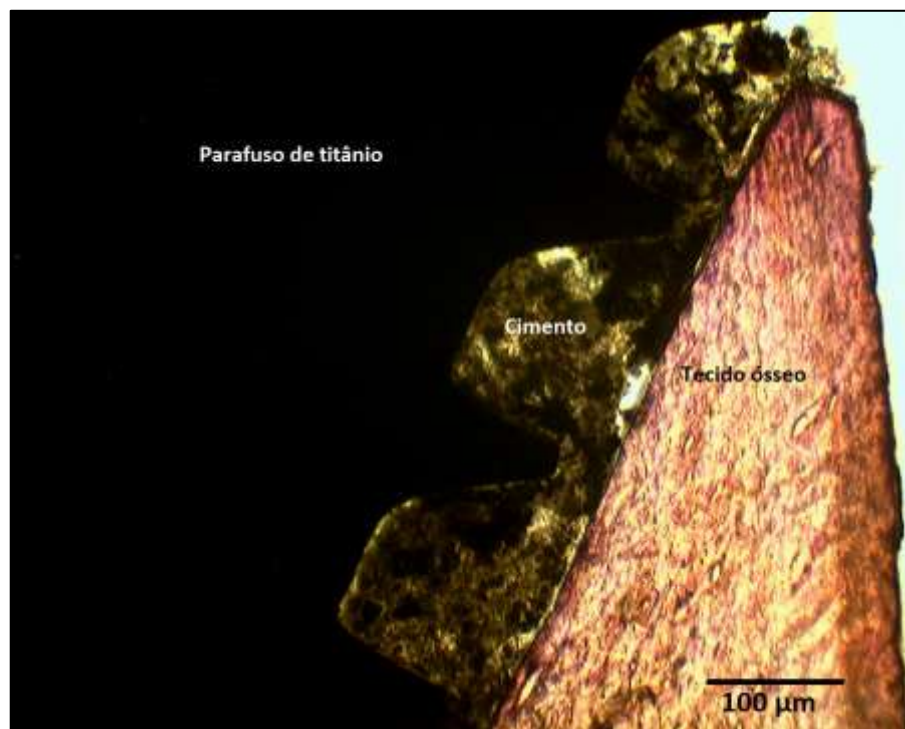


Figura 24 - GRUPO 1 (implante-cimento-tecido ósseo) HE aumento 100x M.O. 100 μm

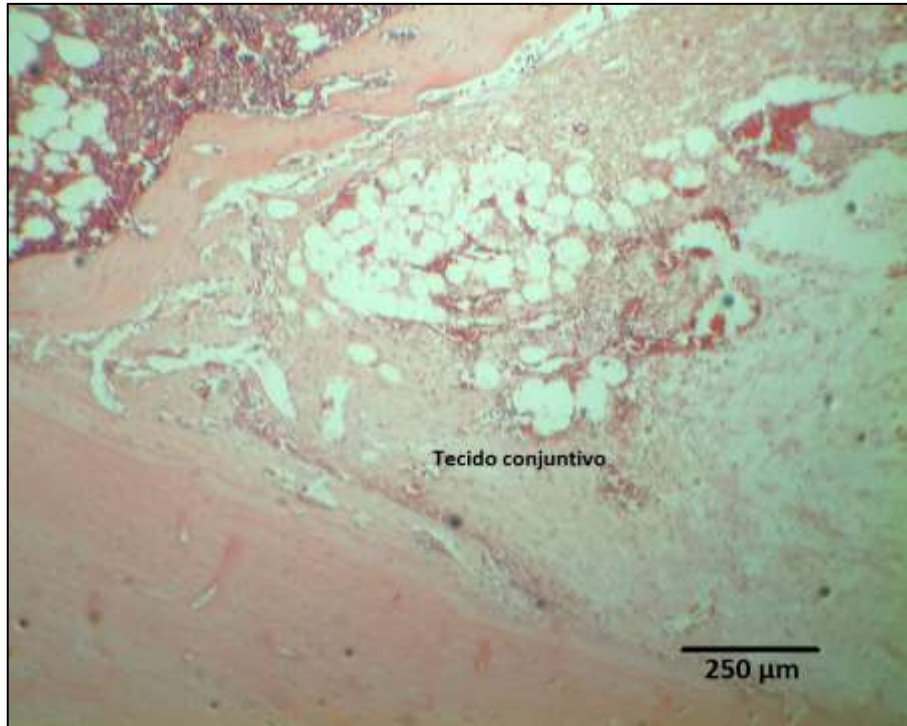


Figura 25 - GRUPO 2 (cemento- tecido conjuntivo) HE aumento 40 x M.O.250 μm

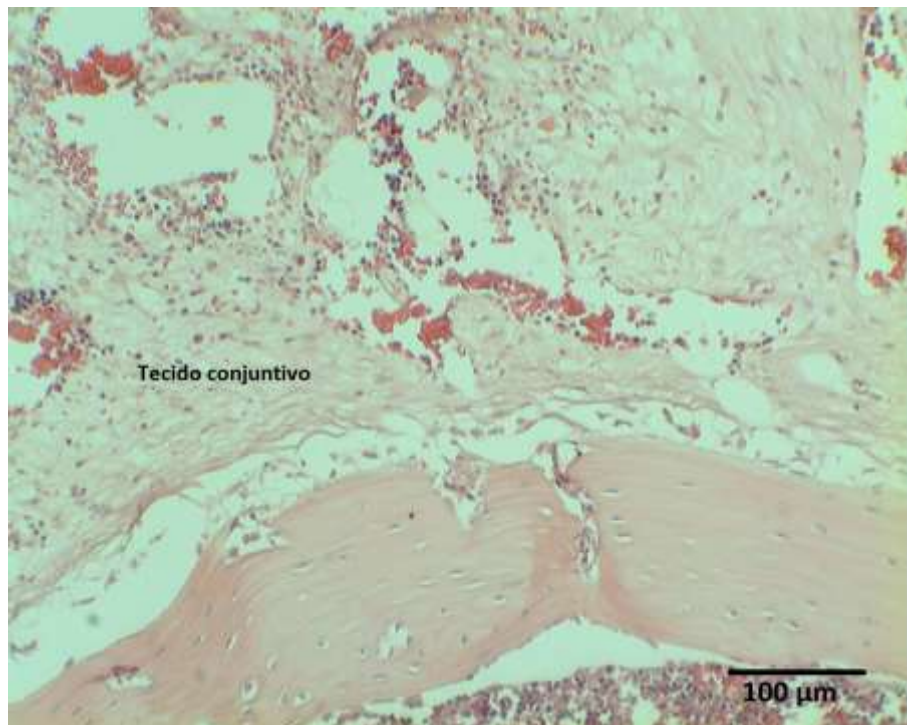


Figura 26 - GRUPO 2 (cemento-osteoid -tecido conjuntivo) HE aumento 100x M.O. 100 μm

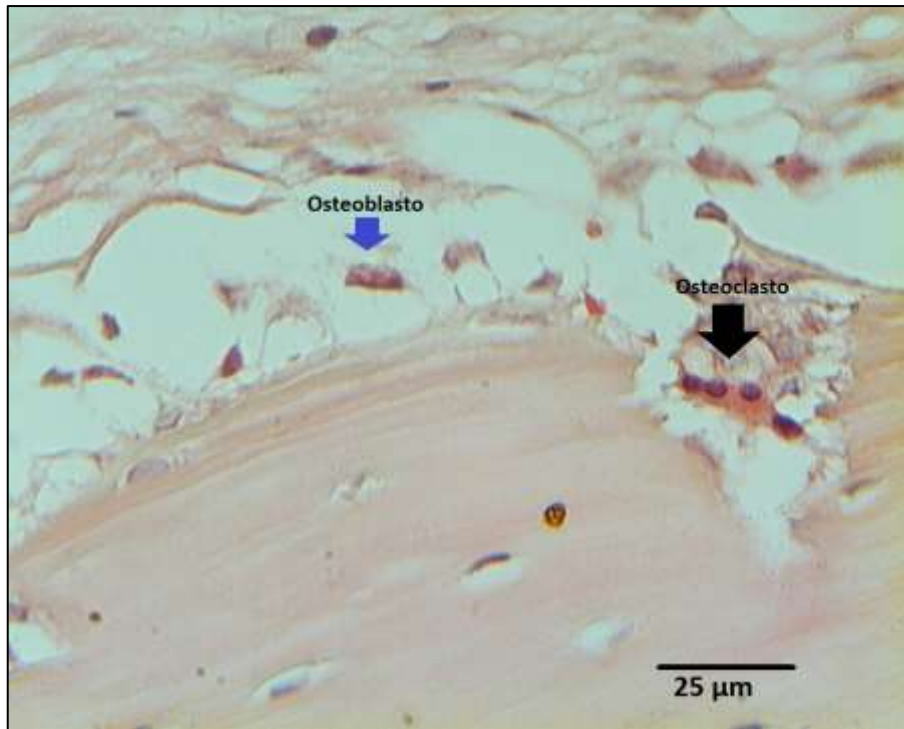


Figura 27 - GRUPO 2 (cemento-osteoblasto-osteoclasto) HE aumento 400x M.O. 25 μ m

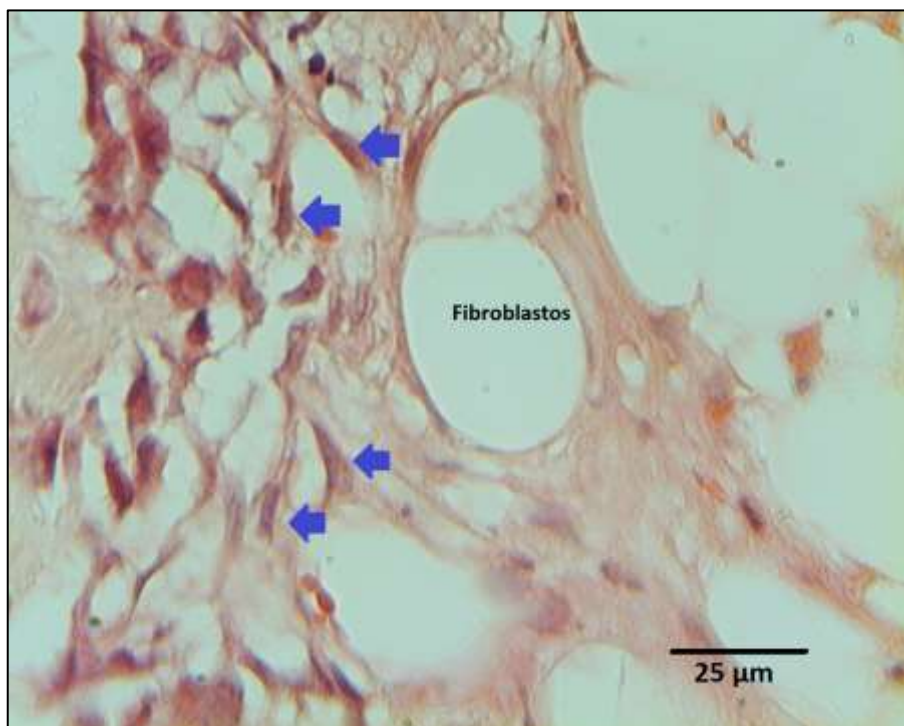


Figura 28 - GRUPO 2 (cemento-fibroblastos) HE aumento 400x M.O. 25 μ m

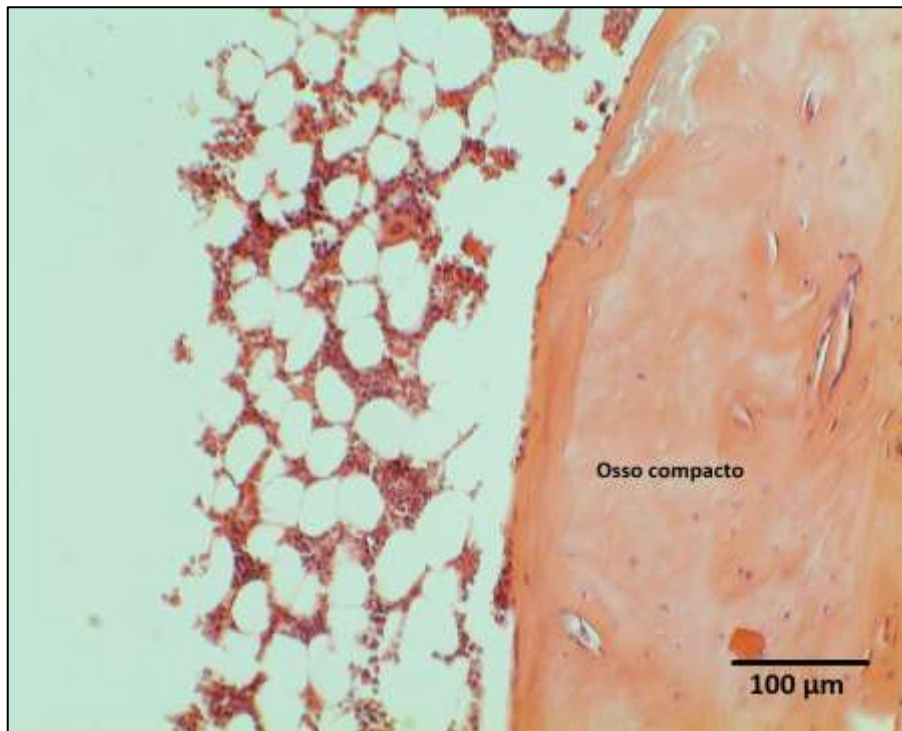


Figura 29 - GRUPO 3 (osso compacto) HE aumento 100 x M.O. 100 μm

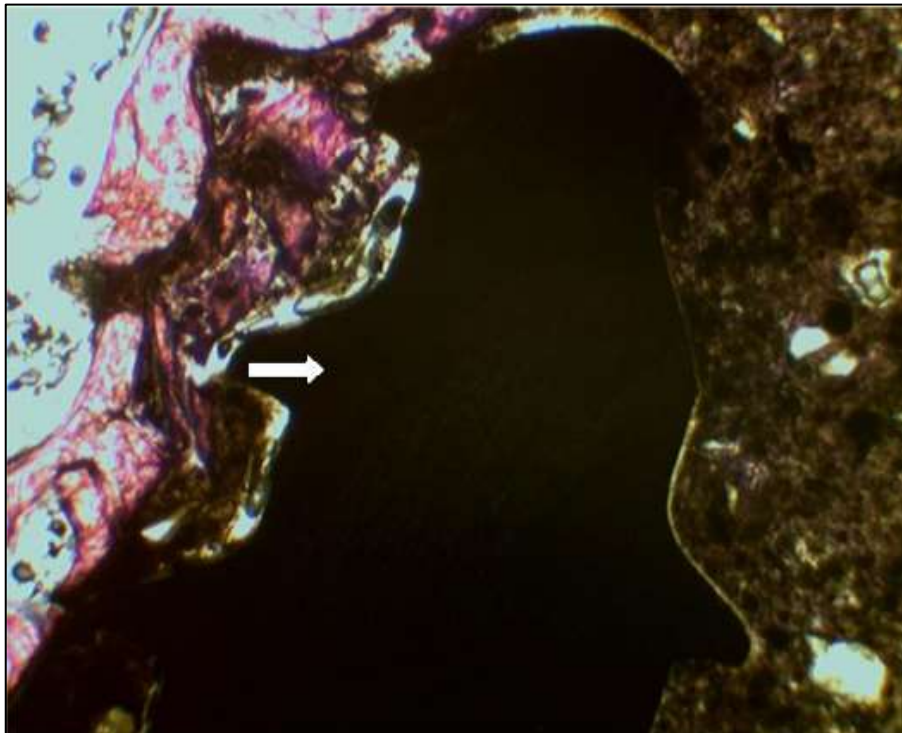


Figura 30 - GRUPO 1 (implante de titânio) HE M.O.

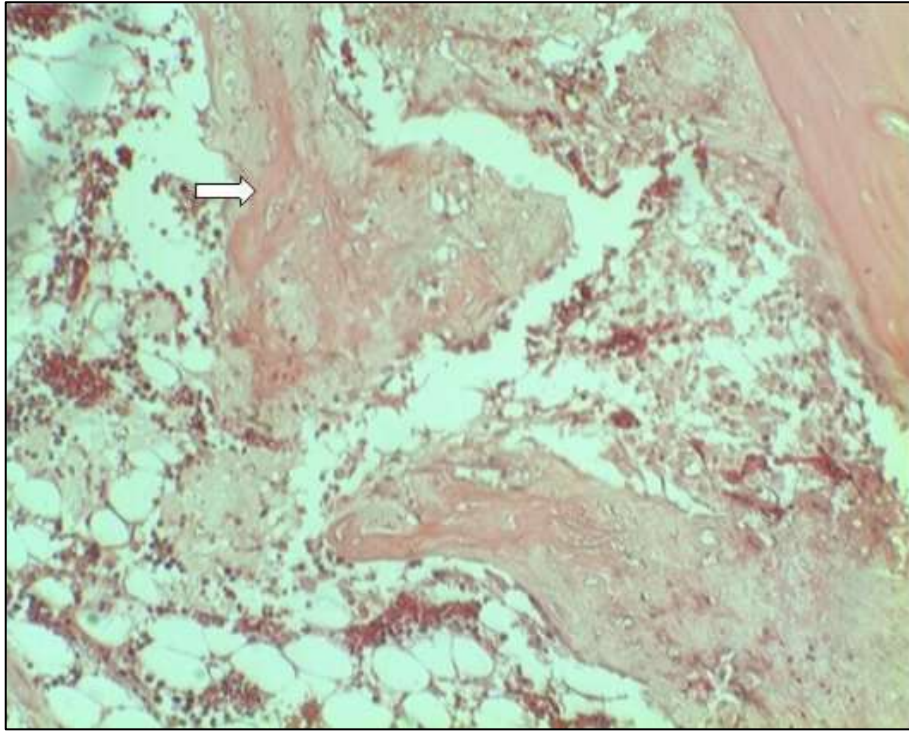


Figura 31 - GRUPO 2 (tecido osteoide) HE M.O.

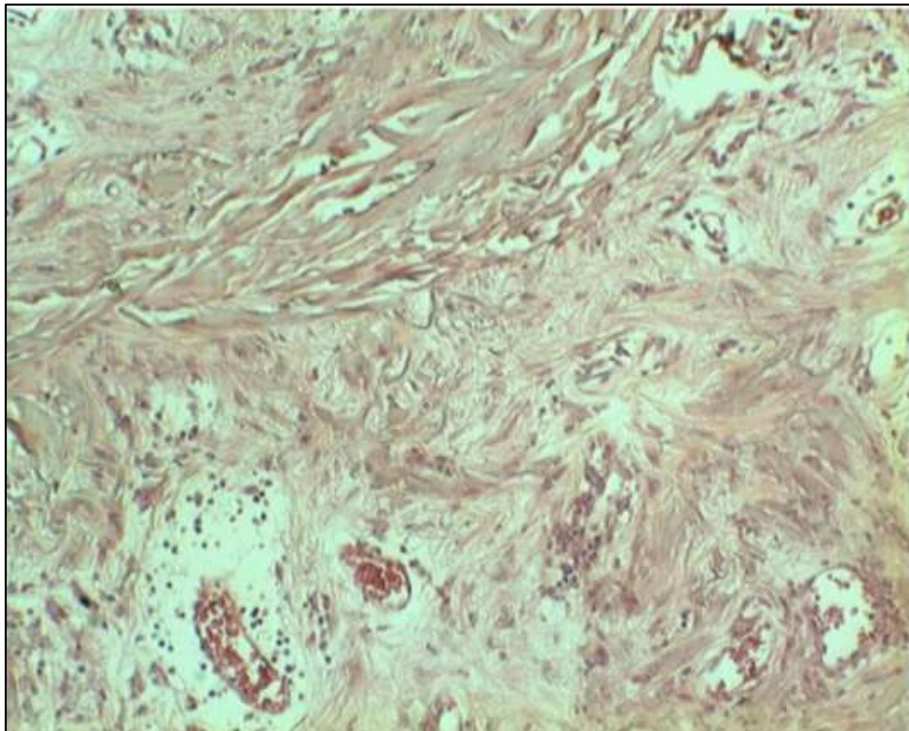


Figura 32 - GRUPO 2 (Tecido conjuntivo de reparo) HE M.O.

3.7 Análise histomorfológica

Para morfometria, foram capturadas imagens com a câmera digital *Moticam M1000*, acoplada ao microscópio óptico, utilizando o *software Motic Images Plus*. As imagens foram capturadas em aumento do 100x, e exportadas em formato *Bitmap*. Para cada amostra, foram selecionadas três regiões distintas para realização das fotomicrografias.

As áreas de reparo foram avaliadas pela mensuração manual através do *software ImageJ* versão 1.51 (*National Institute of Health, USA*). Para tanto, os arquivos foram importados para o *software*. O tecido de preenchimento da lesão foi selecionado mediante a função de *Color threshold*. Os intervalos de cor, saturação e brilho foram ajustados a fim de que a maior área do tecido fosse selecionada, excluindo as áreas não preenchidas. Os valores de área foram obtidos pela função *Measure* e submetidos à análise estatística.

As lâminas do Grupo 1 foram reprocessadas através de desgaste e coradas novamente com *Stevenel's Blue*, a fim de proporcionar condição de realizar-se análise do tipo de célula encontrada em meio à estrutura cimento/pino.

3.8 Planejamento estatístico

Foram realizados os testes *Kruskal-Wallis* em conjunto com o teste *Dunn*. Considerou-se em todos os testes, o nível de significância de 5%. O *software* utilizado foi o SPSS.

4 RESULTADOS

Os dados obtidos pela análise histomorfométrica das células de neoformação óssea dos grupos 1, 2 e 3 foram obtidos através de medições de três áreas para cada grupo A, B e C.

Realizou-se os testes de *Kruskal Wallis* para cada área e comparou-se a média dos três Grupos. Foi aplicado o teste *Dunn* que comparou a média de cada Grupo entre si: Grupo 1 com Grupo 2, Grupo 1 com Grupo 3 e Grupo 2 com Grupo 3. Os testes foram ilustrados pelas Tabelas 1, 2, 3 e pelos gráficos (Figuras 43, 44 e 45). Em todas as comparações ocorreu significância para o Grupo 2 $p = 0,0014$. Esta comparação 2 a 2 definiu que o Grupo 2 obteve significância em relação ao 1 e 3.

Através da tabela 1 foram apresentados os resultados gerais obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 nas áreas A, B e C.

Tabela 1 - Resultados gerais obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 nas áreas A,B e C após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis*.

	Áreas		
	A	B	C
H	13.1655	11.9324	12.01006
GL	2	2	2
(p) <i>Kruskal-Wallis</i>	0.0014	0.0026	0.0024
CT	280.5000	285.0000	289.0000
CI	271.5000	261.0000	257.0000
C	114.0000	120.0000	120.0000
CT (Posto Médio)	23.3750	23.7500	24.0833
CI (Posto Médio)	22.6250	21.7500	21.4167
C (Posto Médio)	9.5000	10.0000	10.0000

H = *Kruskal – Wallis* qui-quadrado; GL – Graus de Liberdade; (p) – *Kruskal Wallis* = p-valor, CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle).

Através das tabelas 2, 3 e 4 foram apresentados os resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área A, B e C após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*. Não houve significância.

Tabela 2 - Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área A após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	Z calculado	Z crítico	P
Postos médios CT e CI	0,7500	0,1744	2,394	ns*
Postos médios CT e C	13,8750	3,2259	2,394	< 0,05
Postos médios CI e C	13,1250	3,0515	2,394	< 0,05

ns = não significativo a 5% pelo teste de *Kruskal Wallis* e aplicação do Teste *Dunn*.

CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle)

Tabela 3 - Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área B após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	Z calculado	Z crítico	P
Postos médios CT e CI	2,0000	0,4650	2,394	ns*
Postos médios CT e C	13,7500	3,1968	2,394	< 0,05
Postos médios CI e C	11,7500	2,7318	2,394	< 0,05

ns = não significativo a 5% pelo teste de *Kruskal Wallis* e aplicação do Teste *Dunn*.

CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle).

Tabela 4 - Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área C após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	Z calculado	Z crítico	P
Postos médios CT e CI	2,6667	0,6200	2,394	ns*
Postos médios CT e C	14,0833	3,2743	2,394	< 0,05
Postos médios CI e C	11,4167	2,6543	2,394	< 0,05

ns = não significativo a 5% pelo teste de *Kruskal Wallis* e aplicação do Teste *Dunn*.

CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle).

Na Tabela 5 está demonstrada a quantificação em *pixels* das células de neoformação óssea de CT no Grupo 1, como também a descrição de presença e ausência de células específicas nas áreas A, B e C.

Tabela 5 - Quantificação em *pixels* das células de neoformação óssea de CT (Grupo 1) e descrição de presença e ausência de células específicas nas áreas A, B e C

Amostra	Áreas			Células específicas						
	A	B	C	Osteoblastos	Osteoclastos	Tecido conjuntivo	Fibroblastos	Osteóide	Inf Inflamatório	Reparo
1	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
2	0	0	16909	P	A	P	P	P	A	P
3	310687	350000	0	A	A	A	P	P	A	P
4	912705	909605	947474	P	A	P	P	P	A	P
5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
6	1068502	1030457	998128	P	A	P	P	P	A	P
7	627464	0	0	A	A	P	P	P	P	P
8	635028	337116	909443	P	P	P	P	P	A	P
9	0	0	0	A	A	P	P	P	A	P
10	488223	694846	389698	A	P	P	P	P	P	A
11	1016146	829529	1007194	P	P	P	P	P	A	P

na = não se aplica em função de perda da amostra; P = presença da célula específica; A= ausência da célula específica; N= não há informação do rato cinco por motivo de óbito.

A análise da Tabela 5 demonstra que a maioria das amostras apresentaram células de neoformação, onde foram observadas a presença de células de tecido conjuntivo, fibrobrastos, osteóide e de reparo na grande maioria das amostras observadas. Da mesma maneira, observou-se no Grupo 2, ilustrado pelas figuras 31 e 40. Enquanto que o Grupo 3 não apresentou formação celular. A cavidade óssea permaneceu vazia figura 35.

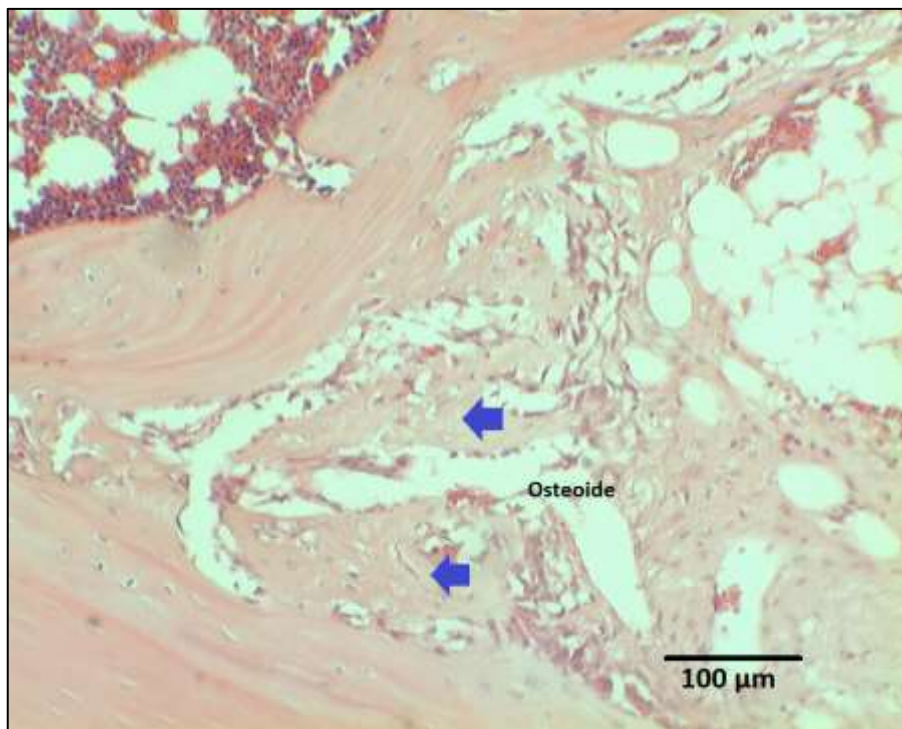


Figura 33 - GRUPO 2 (cimento- osteoide- tecido conjuntivo) HE aumento 100x M.O. 100μm

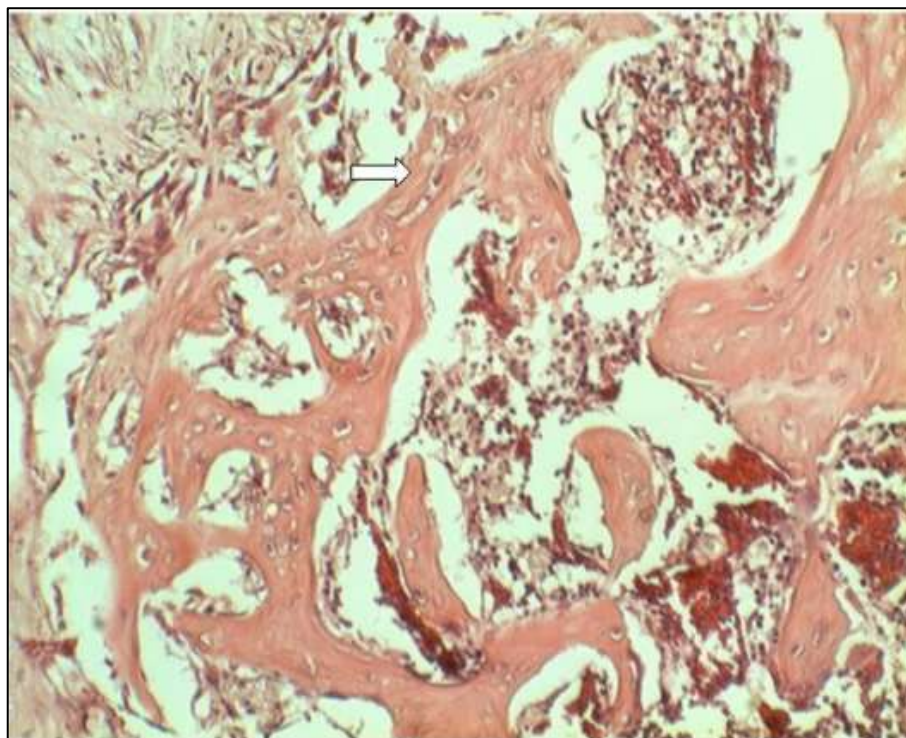


Figura 34 - GRUPO 2 (nova formação óssea) HE M.O.

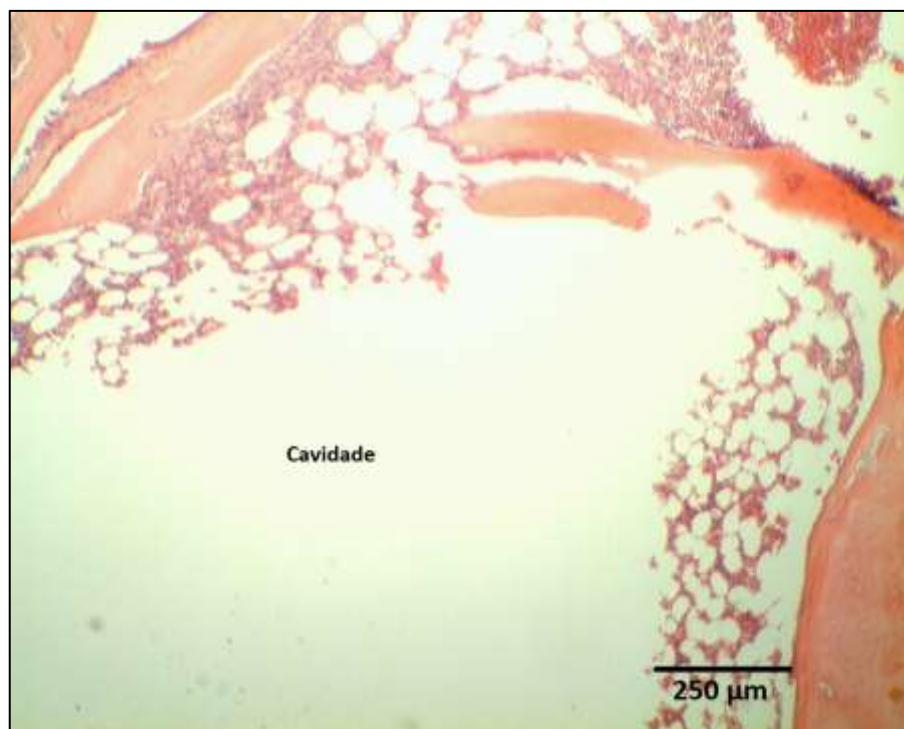


Figura 35 - GRUPO 3 (cavidade) HE aumento 40 x M.O. 250 μm

As lâminas do Grupo 1, foram analisadas à parte para definição do tipo de tecido apresentado envolvendo cimento e implante. Os tecidos encontrados foram: fibras de tecido conjuntivo e tecido ósseo mineralizado, como também cristais de cimento (Figuras 36 a 39).

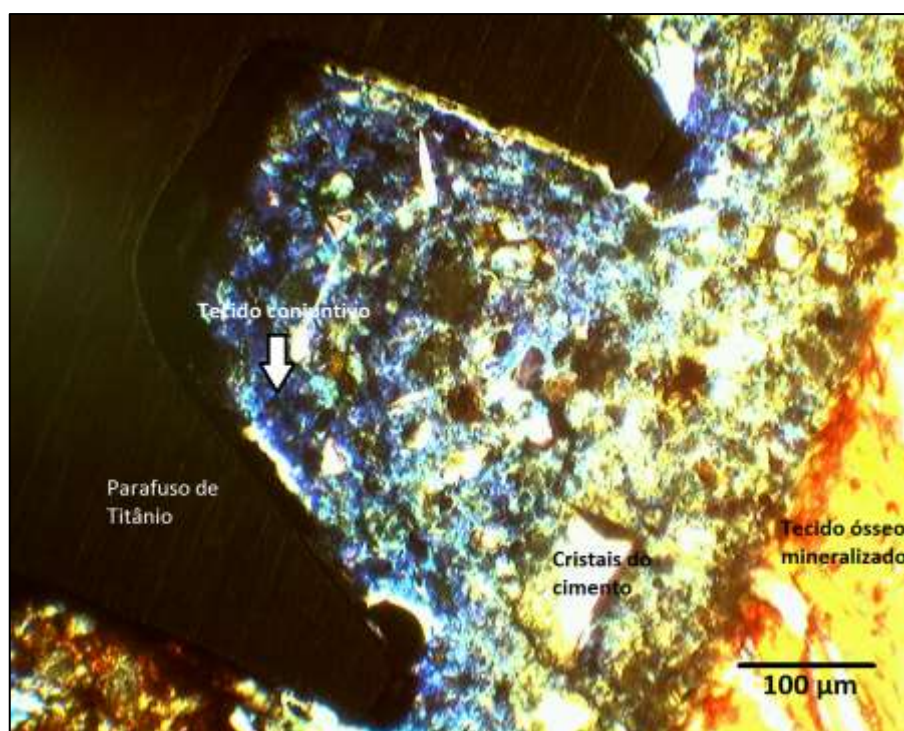


Figura 36 - GRUPO 1 (tecido conjuntivo e cristais de cimento) SB M.O. 100 μm

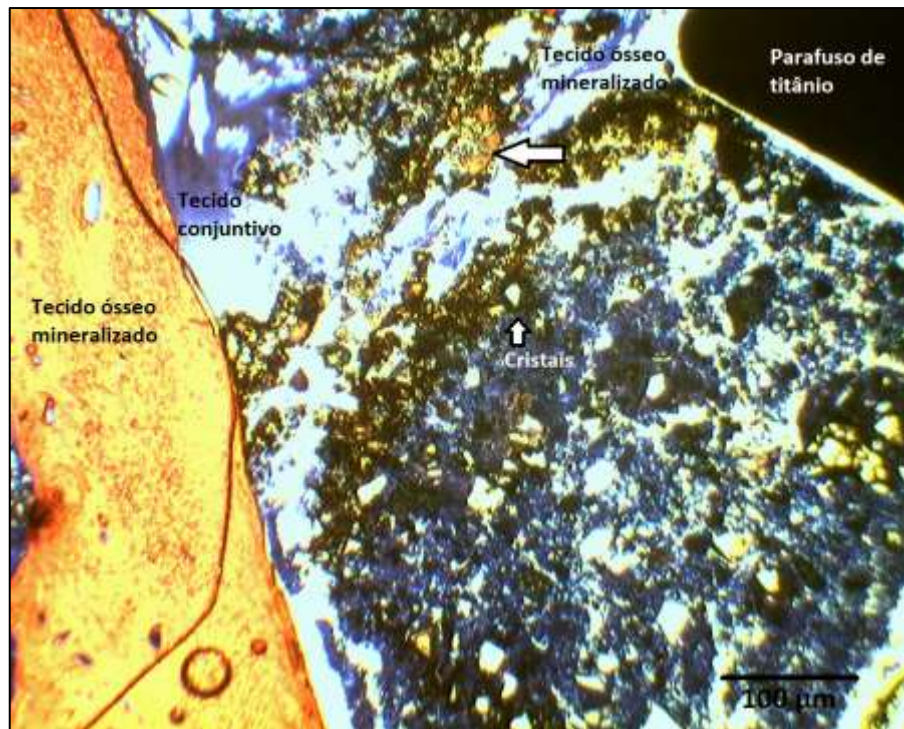


Figura 37 - GRUPO 1 (formação de tecido óseo e tecido conjuntivo de reparo na região do cimento) SB M.O. 100 µm

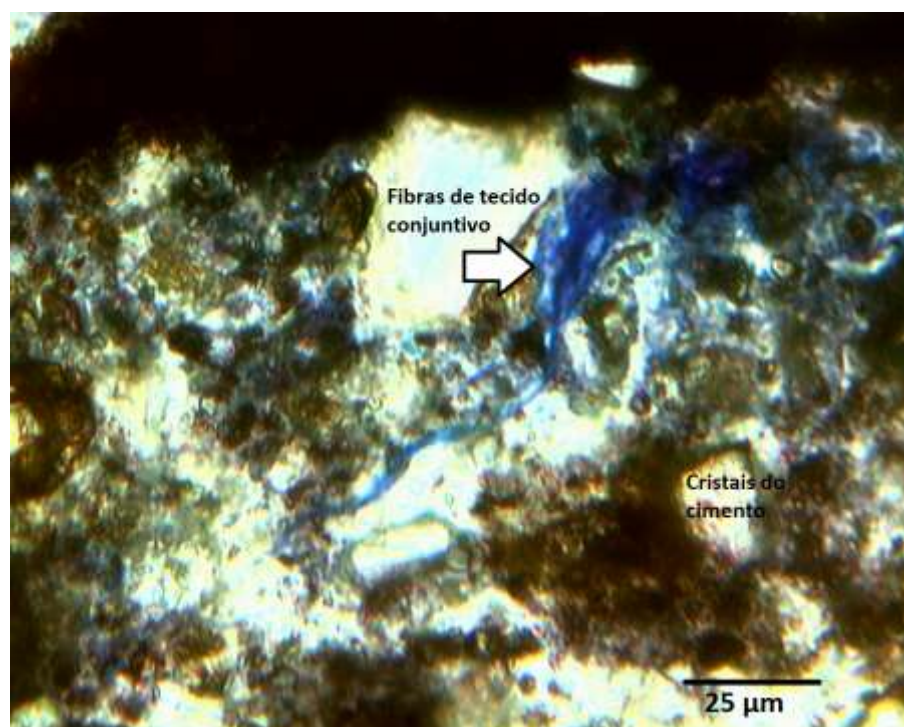


Figura 38 - GRUPO 1 (tecido conjuntivo e cristais de cimento) SB M.O. 25 µm

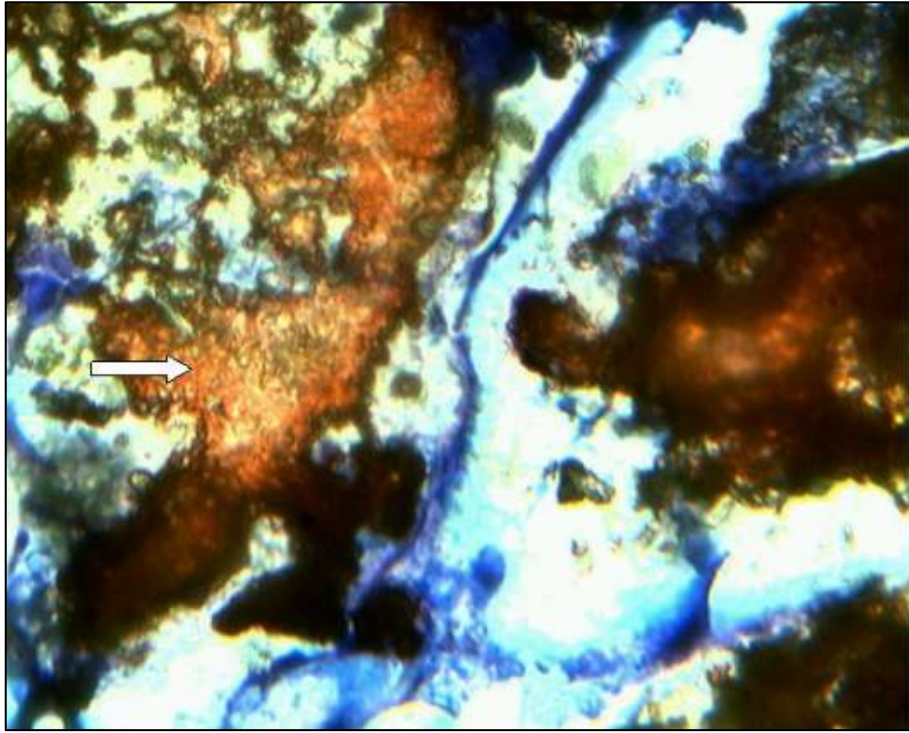


Figura 39 - GRUPO 1 (tecido ósseo mineralizado) SB M.O.

4.1 Produto



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2018 004434 6

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: FUNDAÇÃO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAI

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 23951916000203

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470 - Bairro Fátima I

Cidade: Pouso Alegre

5 APLICABILIDADE

A exodontia é indicada nas seguintes situações: traumatismos que provocam fraturas radiculares irrecuperáveis, infecções endodônticas e periodontais que resistem aos tratamentos convencionais e má formações congênitas. Após a remoção do dente, a região óssea recebe a nomenclatura “alvéolo fresco”. O Profissional que realizará a reabilitação, deparar-se-á muitas vezes, com ocorrência problemática: alterações da continuidade óssea - falhas ósseas- (perda óssea segmentar) que impedem a instalação imediata do Implante Dental (IGNÁCIO *et al.*, 2002). Um problema constante na prática clínica da Implantodontia é a indicação de exodontia para elementos dentários em região estética. Na maioria dos casos, é imprescindível reconstrução estética imediata com instalação de implantes e confecção de prótese provisória ou definitiva do dente perdido. No entanto, as falhas ósseas necessitam ser regeneradas antes da instalação do Implante de titânio que irá substituir a raiz dental, devido à falta de estrutura óssea para suportá-lo. Este processo chamado Regeneração Óssea Guiada (RGO) requer tempo, quatro a seis meses, quando empregam-se técnicas convencionais como: enxertos ósseos autólogos, homólogos ou alógenos (LANE *et al.*, 1999; GIORDANO *et al.*, 2000; SALAMANCA *et al.*, 2017) e desta maneira, a estética permanecer-se-á comprometida (ATIEH *et al.*, 2015).

O momento da exodontia é o melhor período para reconstrução alveolar. Ao empregar-se biomateriais para preservação da arquitetura do alvéolo - altura e largura – melhores serão os resultados na reabilitação com Implantes Dentais, que poder-se-iam ser instalados em seguida à extração, determinando possibilidade de reabilitação estética imediata (GUARNIERI *et al.*, 2017; IOCCA *et al.*, 2017). Almeja-se com esta possibilidade, a aquisição da estabilidade primária: justaposição do implante às paredes do alvéolo cirúrgico, estabilidade mecânica, solidez, rigidez e resistência ao movimento do implante, obtida no momento da inserção (ROCHA e ELIAS 2010), que ocorre somente quando o alvéolo não apresenta falha óssea.

O presente estudo apresentou proposta de desenvolvimento de protocolo como modelo de utilidade para resolução da problemática supracitada, através da utilização de biomaterial para reconstrução imediata do alvéolo fresco, possibilitando a instalação do Implante de titânio. Nos modelos experimentais em fêmur de ratos Wistar observou-se estabilidade primária, no entanto a justaposição do Implante não foi diretamente às paredes da cavidade óssea e sim ao cimento PBS®CIMMO, instalado previamente ao Implante. Observou-se no Grupo 1: nos 12 espécimes, ocorreu estabilidade mecânica, rigidez e resistência ao movimento do Implante imediatamente à sua instalação. Além dos resultados

mecânicos no momento do experimento, a histologia do Grupo 1 demonstrou que após 8 semanas, formaram-se estruturas ósseas emaranhadas ao cimento e ao Implante, o que sustenta a hipótese de que uma nova modalidade de integração está despontando através deste estudo: integração implanto-cimento-óssea.

O biomaterial ideal necessita apresentar propriedade osteoindutora, definida na literatura pelo termo “bioatividade” que significa interação de seus componentes com o osso, determinando produção de apatitas carbonatadas e osso neoformado. Esta propriedade está atrelada à biocompatibilidade que é relacionada à ausência de toxicidade e compatibilidade com os tecidos orgânicos (PARIROKH e TORABINEJAD, 2010; TORABINEJAD *et al.*, 2017).

Dentre os biomateriais desenvolvidos nos últimos anos, os cimentos biológicos odontológicos destacaram-se por proporcionarem possibilidade de resolução de casos dantes impossíveis. Estes cimentos apresentam como base o cimento Portland utilizado na construção civil, que tem como matéria prima o calcário. O primeiro cimento biológico a surgir na odontologia foi o MTA (agregado, trióxido, mineral) atualmente não mais comercializado em sua fórmula idealizada (PARIROKH e TORABINEJAD, 2010; TORABINEJAD *et al.*, 2017).

Estudos recentes determinaram desenvolvimento de cimento biológico (PBS@CIMMO presa rápida) com a mesma base do MTA, no entanto, com o acréscimo de aditivos (elementos naturais responsáveis pelo aumento da resistência do cimento como também do tempo de endurecimento) e sem radiopacificador (SILVA *et al.*, 2016). Os estudos experimentais e clínicos que culminaram na criação do cimento (PBS@CIMMO presa rápida) foram idealizados para instalação em estruturas de coroas e raízes dentárias, em situações chamadas não convencionais porque não havia até então, protocolos desenvolvidos para estas aplicações. As raízes eram condenadas (SILVA NETO *et al.*, 2010; SILVA NETO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016). Todavia, recentemente, realizou-se estudo recente utilizando-se o cimento PBS@CIMMO em retratamento endodôntico em abscessos alveolares com sucesso (BOCZAR *et al.*, 2018). Os resultados destes estudos que demonstraram total compatibilidade do cimento com o osso alveolar, impulsionaram a idealização do presente estudo.

Dessa maneira, desenvolveu-se modelo experimental para que o cimento fosse instalado diretamente sobre a cavidade óssea. A finalidade de se ter dividido as amostras em 3 Grupos foi proporcionar maneira de demonstrar que o cimento em contato com o osso alveolar determinaria neoformação. Observou-se no Grupo 2 (perfuração e cimento) significância, quando comparado aos Grupos 1 (perfuração-cimento-Implante) e Grupo 3

(perfuração) $p = 0,0014$. Comprovou-se com esta constatação, que o presente estudo corroborou com os estudos anteriores, o cimento promoveu neoformação óssea em contato com o osso somente, da mesma maneira que quando instalado em perfurações dento-radiculares.

As comparações entre os Grupos demonstraram principalmente que entre os Grupos 1 e 2 não houve significância em relação à nova formação óssea, o que significa que ocorre nova formação de forma diferenciada no Grupo 1, devido à presença do Implante, os tecidos conjuntivos e ósseo ficam emaranhados em meio ao cimento e espiras do Implante. Em relação ao Grupo 3, observou-se ausência de nova formação óssea e presença de infiltrado inflamatório, constatação que indica a bioatividade do cimento PBS®CIMMO presa rápida.

É relevante relatar nesta discussão a funcionalidade e cicatrização que ocorreu ao longo das 8 semanas de confinamento. Foram submetidos ao experimento trinta e seis ratos Wistar e ocorreu uma perda ao final de 7 semanas. O espécime de número 5 do Grupo 1 adquiriu diarreia e foi tratado pelo Veterinário responsável pelo biotério, porém não resistiu. Segundo relato do Profissional, a diarreia não teve correlação com o procedimento experimental, visto que ocorreu 7 semanas após e durante todo período pós-operatório e até à sétima semana ele estava em estado normal, como os outros trinta e cinco ratos. Optou-se por não incluí-lo na análise histológica e histomorfométrica. Mesmo assim, observou-se que, funcionalmente, os 36 ratos se mantiveram de forma natural no período de confinamento, locomovendo e alimentando-se naturalmente. Em relação à cicatrização, todos apresentaram regeneração dos tecidos 1 semana após o experimento, exceto o espécime 35 e 33 que após 2 semanas observou-se formação de pequeno abscesso na região operada. É importante ressaltar que os 2 que apresentaram esta reação compunham o Grupo 3 controle, sem cimento. Nos ratos dos Grupos 1 e 2 não houve sinal e sintoma de alteração de saúde. Situação que corrobora com os resultados histológicos.

Os resultados do presente estudo sinalizam possibilidade de utilização do cimento PBS®CIMMO presa rápida em estudos clínicos futuros extrapolando-se o presente modelo de utilidade e protocolo clínico, almejando-se idealizá-lo como material para enxerto sintético em alvéolo fresco com instalação imediata do Implante e prótese.

O cimento PBS®CIMMO apresenta técnica de execução reprodutível, simples e de rápida aplicação. Não requer treinamento especializado em sua manipulação para utilização em procedimentos cirúrgicos rotineiros, a prática diária da Implantodontia. A resposta tecidual e a possibilidade de aumentar a estabilidade primária dos implantes, quando utilizado nos procedimentos de carga imediata, em Implantodontia representam fatores de resolução em procedimentos estéticos e funcionais que os profissionais se deparam no dia a

dia. Obter estabilidade em carga imediata é uma situação desejável na Implantodontia. Possuir um produto com modelo de utilidade que aumente a estabilidade primária dos implantes representam um alento de previsibilidade aos Implantodontistas. O cimento PBS®CIMMO diante da situação iminente, no transoperatório, poderá ser utilizado de maneira absolutamente prática e rápida.

6 CONCLUSÃO

O cimento PBS®CIMMO induziu neoformação óssea e observou-se integração osso neoformado, cimento e parafuso de titânio.

7 IMPACTO SOCIAL

O cimento PBS®CIMMO, em uso rotineiro pelo Cirurgião-Dentista Implantodontista, favorece a reintegração do paciente desdentado, imediatamente ao seu convívio social através da confecção de dente provisório sobre os implantes instalados, fomentando a melhora da autoestima e prevenindo desconforto emocional por parte do paciente. Também promove impacto social ao profissional, otimizando o procedimento, consumindo menos tempo e menor retorno em consultas para a confecção de próteses parciais removíveis provisórias, que são extremamente desconfortáveis para o paciente, além de dispendiosas, financeiramente, tanto para o paciente quanto para o profissional, melhorando a qualidade técnica e o conforto paciente/profissional nas reabilitações orais.

REFERÊNCIAS

Al Kudmani H, AL Jasser , Andreana S. Is Bone Graft or Guided Bone Regeneration Needed When Placing Immediate Dental Implants? A Systematic Review. *Implant dentistry*. 2017. 26(6) 346-354.

Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(2):212-18.

Araújo MG, Sukekava F, Wennstrom JL, Lindhe J. Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 645–652.

Atieh MA, Alsabeeha NHM, Payne AGT, Duncan W, Faggion CM, Esposito M. Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015; 28(5): 712-717.

Boczar RML, Silva SR, Alves LO, Zotarelli Filho IJ, Silva Neto JD. Single Element In Obturation With Endodontic Retreatment With PBS® CIMMO Cement In Alveolar Tooth Abscess - Case Report. *WULFENIA*. Vol 25, No. 2;Feb 2018. 119-128.

Brito AT, Rosa BT, Nogueira-Filho GR, Todescan SMC. Avaliação histométrica em ratos do efeito da fumaça da cannabis (maconha) no reparo ósseo ao redor de implantes de titânio. *R. Periodontia*. 2009; 19(2):100-108.

Cook SD, Salkeld SL, Brinker MR, Wolfe MW, Rueger DC. Use of an osteoinductive biomaterial (rhOP-1) in healing large segmental bone defects. *J Orthop Trauma*. 1998; 12(6):407-412.

Giordano V, Giordano M, Knackfuss IG. Fatores de crescimento e diferenciação ósseos. Efeitos sobre o processo de consolidação de fratura: presente e futuro. *RBM Rev. Bras. Med.*2000; 57(9):1018-1029.

Guarnieri R, Stefanelli L, De Angelis F, Mencio F, Pompa G, Di Carlo S. Extraction Socket Preservation Using Porcine-Derived Collagen Membrane Alone or Associated with Porcine-Derived Bone. Clinical Results of Randomized Controlled Study. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*. 2017;8(3):e5.

Ignácio H, Mazzer N, Barbieri CH, Chierice GO . Utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães*. *Rev. Bras. Ortopedia*.2002.

Iocca O, Farcomeni A, Pardiñas-Lopez S, Talib HS. Alveolar ridge preservation after tooth extraction: a Bayesian Network meta-analysis of grafting materials efficacy on prevention of bone height and width reduction. *J Clin Periodontol.* 2017; 44: 104–114.

Lane JM, Yasko AW, Tomin E, Cole BJ, Waller S, Browne M, Turek T, Gross J. Bone marrow recombinant human bone morphogenetic protein-2 in osseous repair. *Clin. Orthop. Relat.*; 1999 361:216-227.

Nóia CF, Sá BCM. Preservação do rebordo alveolar através de membranas não reabsorvíveis. *Full Dent. Sci.* 2017; 8(32): DOI 10.24077/2017;832-814.

Normando D, Tjäderhane L, Quintão CCA. A escolha do teste estatístico – um tutorial em forma de apresentação em PowerPoint. *Dental Press J. Orthod.*; 2010, 106(1) 101-106.

Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part III: Clinical Applications, Drawbacks, and Mechanism of Action. *JOE* — Volume 36, Number 3, March 2010.

Quintero DG, Winger JN, Khashaba R, Borke JL. Advanced Glycation Endproducts and Rat Dental Implant Osseointegration, *Journal of Oral Implantology.* 2010;36(2):97-103.

Rocha FA, Elias CN. Influência da Técnica Cirúrgica e da Forma do Implante na Estabilidade Primária. *Rev Odontol Bras Central* 2010;18(48):26-29.

Salamanca E, Pan YH, Tsai, AI, Lin, PY, Lin, CK, Huang HM, Chang WJ. "Enhancement of Osteoblastic-Like Cell Activity by Glow Discharge Plasma Surface Modified Hydroxyapatite/ β -Tricalcium Phosphate Bone Substitute." *Materials.* 2017; 20(12) 1347-1352.

Silva SR, Silva Neto JD, Novo NF, Veiga DF, Schnaider T, Ferreira LM. Portland cement versus MTA as a root-end filling material. A pilot study *Acta Cir Bras.* 2015;30(02):160-164.

Silva SR, Silva Neto JD, Schnaider, TB, Veiga DF, Novo NF, Mesquita Filho M, Ferreira LM. The use of a biocompatible cement in endodontic surgery. A randomized clinical trial 1. *Acta Cir. Bras.* 2016; 31(6): 422-427.

Silva Neto JD, Brito RH, Schnaider TB, Gragnani A, Engelman M, Ferreira LM. Root perforations treatment using mineral trioxide aggregate and Portland cements. *Acta Cir Bras.* 2010; 25:479-484.

Silva Neto JD, Schnaider TB, Gragnani A, Paiva AP, Novo NF, Ferreira LM. Portland cement with additives in the repair of furcation perforations in dogs. *Acta Cir Bras.* 2012; 27:809-814.

Silva SR, Silva Neto JD, Novo NF, Veiga DF, Schnaider T, Ferreira LM. Portland cement versus MTA as a root-end filling material. A pilot study Acta Cir Bras 2015;30(02):160-164.

Silva SR, Silva Neto JD, Schnaider TB, Veiga DF, Novo NF, Mesquita FM et al . The use of a biocompatible cement in endodontic surgery. A randomized clinical trial 1. Acta Cir. Bras. [Internet]. 2016 June [cited 2018 Jan 03] ; 31(6): 422-427

Siqueira CR, Semenoff TA, Palma VC, Borges ÁH, Silva NF, Segundo AS. Effect of chronic stress on implant osseointegration into rat's mandible. Acta Cir. Bras.2015; 30 (9): 598-603.

Soares C. Síntese e Caracterização de Biocimentos Nanoestruturados para Aplicações Biomédicas Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PGCEM da Universidade de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

Torabinejad M, Parirokh M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part II: other clinical applications and complications. International Endodontic Journal. Ago. 2017.

Turkyilmaz I. A comparison between insertion torque and resonance frequency in the assessment of torque capacity and primary stability of Brånemark system implants. J of Oral Rehabil. 2006; 33(10): 754-759.

Younger EM, Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. J. Orthop. Trauma.1989; 3(3):192-1989.

NORMAS ADOTADAS

Normas para elaboração do Trabalho de Conclusão do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde, da Universidade do Vale do Sapucaí. Pouso Alegre – MG. Disponível em: <http://www.univas.edu.br/mpcas/docs/normas.pdf>

Descritores em Ciências da Saúde: DeCS [Internet]. ed. 2017. São Paulo (SP): BIREME / OPAS / OMS. 2017 [atualizado 2017 Mai; citado 2017 Jun 13]. Disponível em: <http://decs.bvsalud.org>.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 - Coleta de peças do fêmur



Figura 40 - Fêmur com o implante de titânio.



Figura 41 - Peças em frascos com formol 10% tamponado.

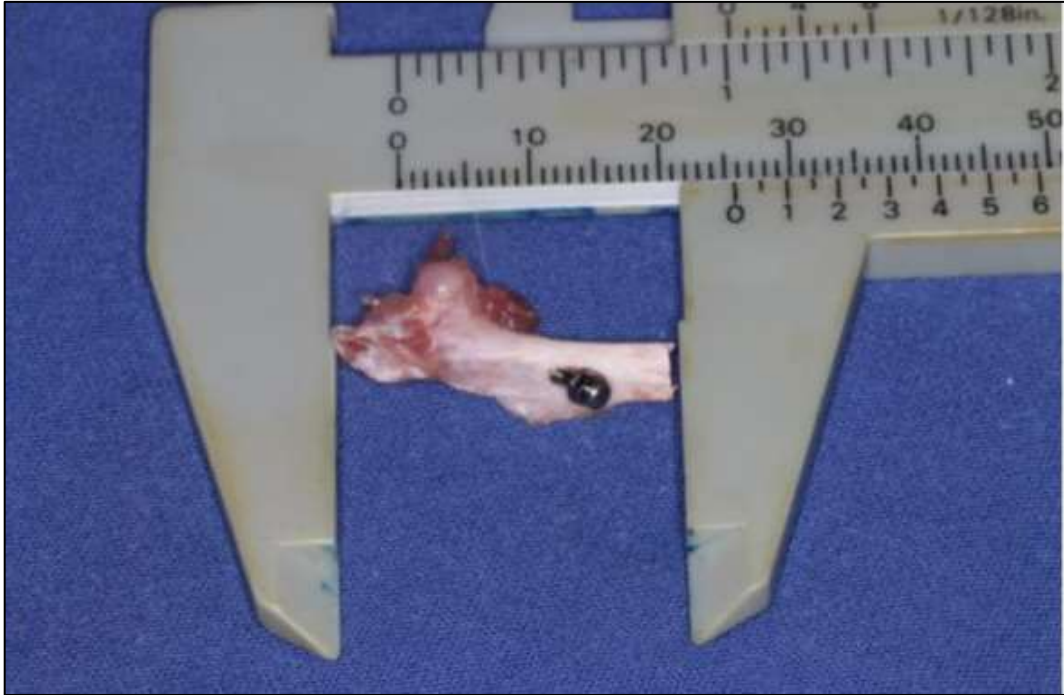


Figura 42 - Fêmur com implante de titânio.



Figura 43 - Fêmur com cimento PBS® CIMMO.



Figura 44 - Fêmur controle.

ANEXOS

ANEXO 1 - Ração utilizada na alimentação dos ratos

Ração Premier Pet®.

Alimento completo, rico em nutrientes, não recomendados nenhum tipo de suplementação.

Níveis de garantia: _ Umidade máxima, 10,00%; proteína bruta mínima, 29,00%; extrato etéreo mínimo, 19,00%; matéria fibrosa máxima, 3,00%; matéria mineral máxima, 7,50%; cálcio máximo, 1,50%; fósforo mínimo, 0,80%.

É recomendado como medida, um copo de “requeijão” (250mg), contendo aproximadamente 120g de ração.

Composição básica do produto: _ Farinha de carne de frango, farinha de vísceras de frango, quirera de arroz, milho integral moído, gordura de frango, polpa de beterraba, ovo integral, farinha de salmão, levedura seca de cervejaria, hidrolisado de frango, óleo de peixe refinado, l-lisina, di-metionina, mananoligossacarídeos, antioxidantes (BHA e BHT), extrato de yucca, premix vitamínico, premix micromineral transquelatado, cloreto de potássio e cloreto de sódio.

Enriquecimento por quilograma de produto: _ Ácido fólico, (2,10mg), ácido pantotênico (30,00mg), colina (300,00mg), cobre (31,50mg), ferro (100,00mg), iodo (2,10mg), manganês (40,00mg), selênio (0,08mg), vitamina A (26.000UI), vitamina B1(16,00mg), vitamina B12 (200,00mcg), vitamina B2 (25,00mg), vitamina B6 (8,40mg), vitamina C (126,00mg), vitamina D3 (1.800UI), vitamina E (220,00mg), vitamina K3 (1,70mg), zinco (150,00mg), niacina (63,00mg) e biotina (0,50mg).

GRANDFOOD Indústria e Comércio Ltda. Rodovia SP 215, Km 204- Dourado-SP- 13590-000. CNPJ-MF: 46.325.254/0003-42. Inscrição Estadual: 291.005.572.114; rótulo registrado no Ministério da Agricultura sob o número SP- 05086 30059; alimento completo composto.

ANEXO 2 - Aprovação do CONCEA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS PROTOCOLO: 265/17

TÍTULO: "CIMENTO PBS EM IMPLANTODONTIA, PARA PREENCHIMENTO DE FALHAS ÓSSEAS E DE ALVÉOLOS FRESCOS DE ELEMENTOS DENTÁRIOS."

PESQUISADOR: Christiano Cândido Zerbinati
Colaboradores: José Dias da Silva Neto

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Vale do Sapucaí, reunidos em 18 de fevereiro, após analisar o projeto de pesquisa acima descrito votou por sua **APROVAÇÃO**.

Diante deste parecer o pesquisador deverá apresentar **01 Relatório Final das atividades da pesquisa conforme o cronograma apresentado**.

O CEUA em sua reunião ordinária votou ainda por sugestões a serem inseridas no projeto. Descritas abaixo:

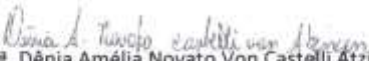
- Corrigir o tamanho da incisão linear para apenas 3 cm.

Deverá o pesquisador responsável solicitar autorização prévia a esta CEUA, quando for necessárias alterações no projeto, conforme Art. 9º da Resolução Normativa nº 01 de 2010 e a Resolução Normativa nº 6 de 2012 do CONCEA.


Diante deste parecer o pesquisador deverá apresentar **01 Relatório Final das atividades da pesquisa conforme o cronograma apresentado**.

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Vale do Sapucaí, reunidos em 18 de fevereiro, após analisar o projeto de pesquisa acima descrito e constatado a necessidade de alterações no projeto decidiu por ficar:

Pouso Alegre, 18 de fevereiro de 2017.


Profª. Dênia Amélia Novato Von Castelli Atzingen
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

ANEXO 3 - DANFe de aquisição dos ratos utilizados no experimento e credenciamento da empresa ANILAB no CONCEA

ANILAB ANIMAIS DE LABORATORIO CRIACAO E COM. LTDA EPP SERVIDAO QUATRO, 292 SAO DOMINGOS Cep.13140-000 - PAULINIA - SP (19)3874-4538		DANFe Documento auxiliar da Nota Fiscal Eletrônica 1 - SAIDA 2 - ENTRADA 1 Nº 0.004.571 FL. 01/01 SÉRIE 1		CÓDIGO DO FISCAL 									
TIPO DE OPERAÇÃO VENDA		CHAVE DE ACESSO DA NF = Nº CONSULTA DE AUTENTICAÇÃO NO SITE WWW.NF.FAZENDA.GOV.BR (X) NO SITE DA SEFAZ 3517 0365 4406 1200 0140 5500 1000 0045 7114 3443 4141											
INSCRIÇÃO ESTADUAL 513020551118	INSC. ESTADUAL DO SUBST. TRIBUTADO 65.440.612/0001-40	CNPJ 06.440.612/0001-40	PROTOCOLO DE AUTENTICAÇÃO DE CHAVE 135170165541436 11.05.02										
DESTINATÁRIO / REMETENTE													
NOME / RAZÃO SOCIAL CRISTIANO CANDIDO ZERBINATI			UF / CEP 039.709.426-40		DATA DE EMISSÃO 16/03/17								
ENDEREÇO RUA MARIA CONCEICAO DA FONSECA, 21			BAIRRO / DISTRITO EDITH LOPES		DATA DE SUBSTITUIÇÃO 16/03/17								
CEP 37600-000		MUNICÍPIO / UF CAMBUÍ / MG		ESTADO 13									
FATURA A VISTA													
CÁLCULO DO IMPOSTO													
BASE DE CÁLCULO DO ICMS 0,00	VALOR DO ICMS 0,00	BASE DE CÁLCULO DO IPI SUBSTITUIÇÃO 0,00	VALOR DO IPI SUBSTITUIÇÃO 0,00	TOTAL APROXIMADO DOS TRIBUTOS 291,60 (18,20%)	VALOR TOTAL DOS PRODUTOS 1.800,00								
VALOR DO FISCAL 500,00	VALOR DO ICMS 0,00	DESCONTOS 0,00	DEDUÇÕES DEPENDENTES ACESSÓRIAS 0,00	VALOR DO IPI 0,00	VALOR TOTAL DA NF 2.300,00								
TRANSPORTADOR / VOLUMES TRANSPORTADOS													
RAZÃO SOCIAL EMPRESAS		PREÇO POR UNIDADE 1 (UNIDADES)	CÓDIGO NCM 01069000	PLACA DO VEÍCULO UF 13	CNPJ / CEP								
ENDEREÇO CAMBUÍ		MUNICÍPIO CAMBUÍ		UF 13	INSCRIÇÃO ESTADUAL								
QUANTIDADE 30	ESPÉCIE RATOS	MARCA WISTAR	SUBSCRIÇÃO 102	PÊSO BRUTO 60,00	PÊSO LÍQUIDO								
DADOS DO PRODUTO / SERVIÇOS													
CÓDIGO DE IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO / SERVIÇO 09	DESCRIÇÃO DO PRODUTO / SERVIÇO RATOS WISTAR	NCM / N1 01069000	ESTADO 102	CFOP 6101	UNID CB	QUANTIDADE 60,00	V. UNITÁRIO 30,00	V. TOTAL 1.800,00	ICMS 0,00	V. ICMS 0,00	V. IPI 0,00	IPI 0,00	IPI 0,00
DADOS ADICIONAIS													
Informações complementares: FAVOR DEPOSITAR AG. BRADESCO 0318-2 C.C. 26.486-0 DOCUMENTO EMITIDO POR ME OU EPP OPTANTE PELO SIMPLES NACIONAL. NÃO GERA DIREITO A DIREITO A CREDITO DE IPI. PERMITE O APROVEITAMENTO DO CREDITO DE ICMS NO VALOR DE R\$ 70,01 CORRESPONDENTE A 2,84% NOS TERMOS DO ART. 23 DA LEI COMPLEMENTAR 123/2006. TOTAL APROXIMADO DE TRIBUTOS FEDERAIS, ESTADUAIS E MUNICIPAIS : R\$ 291,60 informações adicionais de interesse do fisco:			RESERVA DE FISCAL										
RECEBEMOS DE ANILAB ANIMAIS DE LABORATORIO CRIACAO E COM. LTDA EPP OS PRODUTOS CONSTANTES DA NOTA FISCAL INDICADO AO													
DATA DE RECEBIMENTO	IDENTIFICAÇÃO E ASSINATURA DO RECEBEDOR				NF-e Nº 0.004.571 SÉRIE 1								



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
Secretaria Executiva do CONCEA

Ofício nº 263/2014-SE/CONCEA

Brasília, 16 de dezembro de 2014.

Ilmo. Senhor

RUBENS APARECIDO PERECINI

Sócio Proprietário

ANILAB ANIMAIS DE LABORATORIO CRIACAO E COMERCIO LTDA - EPP

Rua Fernando Argentin, 292, São Domingos

CEP: 13.145-446 - Paulínia/SP.

Prezado Senhor,

1. Em atenção à solicitação de credenciamento da "ANILAB ANIMAIS DE LABORATORIO CRIACAO E COMERCIO LTDA - EPP" no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), informo a Vossa Senhoria que a solicitação foi **DEFERIDA**, conforme consta do Extrato de Parecer nº 188/2014-CONCEA.
2. Exposto isso, encaminho a Vossa Senhoria Comprovante de Registro de Credenciamento Institucional para Atividades com Animais em Ensino ou Pesquisa Científica, referente ao processo 01200.002729/2014-31 (321).

Comprovante de Registro de Credenciamento

CNPJ: 65.440.612/0001-40 MATRIZ


Razão Social: ANILAB ANIMAIS DE LABORATORIO CRIACAO E COMERCIO LTDA - EPP

Nome da Instituição: *****

Atividade: Produção, manutenção ou utilização de animais em ensino ou pesquisa científica.

CIAEP/CONCEA Nº: 01.0264.2014

Data de Emissão: 01/09/2014


Ana Cláudia Moura Torres
Secretária-Executiva Substituta do CONCEA