

A EFETIVIDADE DO METILPARABENO COMO CONSERVANTE DE DENTES HUMANOS

DALLANORA, Léa Maria Franceschi*

FILIPIN, Juliana Arcego**

LANGER, Juliana***

GHIGGI, Liliam Daniela****

DALLANORA, Fábio*****

LUTHI, Leonardo Flores*****

Resumo

Os bancos de dentes humanos ocupam um importante espaço dentro das faculdades de odontologia, pois são locais utilizados para armazenagem de dentes humanos, porém, os dentes recém-extraídos devem ser considerados uma fonte de contaminação cruzada, assim, a correta descontaminação e armazenagem permitem a manutenção das propriedades físicas dentais e a diminuição do risco de contaminação cruzada. O objetivo com o estudo foi comparar se ocorreu diferença entre o armazenamento dos dentes humanos em H₂O destilada e em H₂O destilada mais o conservante metilparabeno 0,2% quanto à microdureza do esmalte, durante o período de três meses, e a efetividade do metilparabeno como conservante na armazenagem de dentes humanos. O trabalho foi realizado por meio de um estudo in vitro com dentes humanos no laboratório do Banco de Dentes da Unoesc Joaçaba, armazenados em H₂O destilada e solução de metilparabeno 0,2% com água destilada, utilizando-se para os testes o microdurômetro e a técnica de semeadura por esgotamento para análise microbiológica. Mediante os resultados, foi observado que não ocorreu diferença estatisticamente significativa na microdureza do esmalte dos elementos dentais, tanto nos armazenados em água destilada quanto nos armazenados em solução de metilparabeno 0,2%. Os parabenos foram efetivos nos primeiros 30 dias, perdendo sua capacidade inibitória nas amostras subsequentes, em 60 e 90 dias. Conclui-se, então, que ambas as soluções, de H₂O destilada e de metilparabeno 0,2% com água destilada, podem ser utilizadas para o armazenamento de dentes, pois não alteram suas propriedades físicas e são eficazes no controle da contaminação durante os primeiros 30 dias.

Palavras-chave: Dente. Armazenamento de substâncias, produtos e materiais. Água destilada. Metilparabeno.

* Especialista em Odontopediatria pela Associação Paulista de odontologia Regional de Bauru; Professora do Curso de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina; lea.dallanora@unoesc.edu.br

** Graduanda do Curso de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina; july_filipin@hotmail.com

*** Graduanda do Curso de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina; julianalanger@yahoo.com.br

**** Graduanda do Curso de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina; ld.ghiggi@bol.com.br

***** Especialista em Análises clínicas pela AVM Faculdade Integrada; Professor do Curso de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina; fabio.dallanora@unoesc.edu.br

***** Doutor em clínica odontológica - Prótese dental pela Universidade Estadual de Campinas; Especialista em Implantodontia pela faculdade Herrero; Professor do Curso de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina; leonardo.luthi@unoesc.edu.br

1 INTRODUÇÃO

Os bancos de dentes humanos ocupam um espaço muito importante dentro das faculdades de odontologia, pois são locais utilizados para armazenagem de dentes humanos que serão utilizados em pesquisas científicas, testes epidemiológicos, componentes biológicos, material de reabilitação, e até mesmo no estudo anatômico dental realizado pelos acadêmicos da universidade. Além disso, os bancos de dentes buscam promover a conscientização dos indivíduos sobre a importância dos dentes como órgãos e sua relação com a saúde geral, pois podem ser utilizados em estudos para tratamentos (BEGOSSO; IMPARATO; DUARTE, 2001).

Contudo, os dentes recém-extraídos devem ser considerados como uma fonte de contaminação cruzada, assim, a correta descontaminação e armazenagem permitem a manutenção das propriedades físicas dentais para que os dentes possam ser utilizados nas atividades laboratoriais de pesquisa, não alterando o substrato dentinário e não oferecendo risco de contaminação para o pesquisador (SILVA et al., 2006).

Depois de extraídos, os dentes humanos devem ser mantidos em uma condição úmida, para não os desidratar e não alterar as suas propriedades físicas (BEGOSSO; IMPARATO; DUARTE, 2001).

Ainda, de acordo com Cavalcanti et al. (2009), após a extração dentária o dente sofre modificações, como aumento na permeabilidade dentinária, resultado da perda do conteúdo orgânico dos túbulos dentinários, podendo, também, após a extração e armazenamento dental, ocorrer a interferência na resistência de união à microtração, dependendo da solução de armazenamento utilizada.

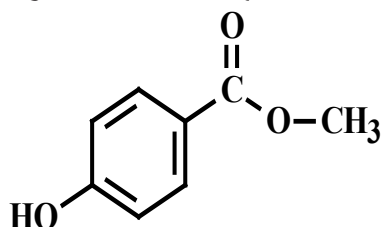
Segundo Silva et al. (2006), os dentes humanos extraídos devem ser encaminhados aos bancos de dentes, para serem desinfetados e armazenados de maneira que não se modifiquem suas propriedades físicas, porém, não existe uma substância padrão para tais procedimentos. No entanto, Begosso, Imparato e Duarte (2001) citam os diversos meios utilizados para essa armazenagem, e entre eles a água destilada é a mais utilizada, atualmente, na armazenagem de dentes humanos; no entanto, a literatura é divergente e confusa no que se refere à esterilização e à desinfecção dos dentes.

Assim, segundo Lório et al., (2007), fazem-se necessárias outras pesquisas que possam definir meios de armazenamento de dentes que não alterem e, sim, preservem as estruturas dentais, garantindo a biossegurança no manuseio dos espécimes e a obtenção de resultados mais concordantes nos testes realizados *in vitro*.

Atualmente, segundo a literatura, entre as soluções de armazenamento para dentes humanos utilizadas na maioria das vezes estão a água destilada, o timol a 0,1%, que tem ação conservante e desinfetante, a cloramina T 0,5%, o soro fisiológico e, também, o congelamento, o qual é realizado puro ou imerso em solução fisiológica (FARRET et al., 2010).

O Metilparabeno é utilizado como conservante antimicrobiano em água, alimentos, formulações cosméticas e farmacêuticas e até mesmo em cremes dentais, apresentado-se como um pó cristalino, quase inodoro e insípido. No presente trabalho buscou-se utilizá-lo como método de armazenamento dental, e a solução foi preparada com água destilada e metilparabeno (Nipagim®). Sua estrutura química é ilustrada na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura química do metilparabeno



Nota: Fórmula Molecular: C₈H₈O₃
Fonte: Os autores

Em pesquisa, o elemento dental pode ser submetido a vários testes laboratoriais; um desses testes mede a microdureza dos diferentes substratos dentais, produzindo, à medida da resistência, a deformação plástica do substrato, o que é muito importante para o avanço de novos materiais odontológicos (DONASSOLLO, 2007).

Neste contexto, surge a importância da pesquisa para provar a efetividade do metilparabeno na armazenagem dos dentes humanos, uma vez que tem ação antimicrobiana, investigando a possibilidade de não alterar a microdureza do esmalte dos elementos dentais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e pesquisa da Universidade do Oeste de Santa Catarina de Joaçaba (Processo n. 8188 /2012).

A pesquisa foi realizada utilizando-se 60 dentes hígidos, limpos, descontaminados e não estéreis do banco de dentes da Unoesc Joaçaba. Foram separadas duas amostras, A1 e A2; dos 60 dentes analisados, 30 foram armazenados em um recipiente fechado contendo solução de água destilada (A1), e 30 dentes foram submersos em solução de água destilada mais conservante metilparabeno 0,2% (A2).

No período de 30 dias após imersão, 10 dentes de cada amostra foram retirados das soluções; destes, foram selecionados sete dentes, os quais foram escolhidos pelo critério anatômico mais favorável. Esses elementos foram transformados em corpos de prova e submetidos a uma análise das suas propriedades físicas pelo microdurômetro; os estudos foram realizados mensalmente por um período de três meses.

Nesse mesmo período foi coletada amostra do líquido de imersão (a cada 30 dias), e semeada cultura em placas de petri, com leitura de 24 e 48 horas para verificar o crescimento bacteriano.

Para o teste de microdureza, os corpos de prova foram confeccionados da seguinte maneira: os sete dentes foram seccionados ao meio com disco de carborundum em baixa rotação, sob refrigeração de água, e incluídos em anéis de PVC com 1 cm de altura e 2 cm de diâmetro. A inclusão de cada metade dental foi feita sobre placa de cera utilidade, após, foi feita a colocação com pressão do PVC na cera para que ficasse firme e, assim, pudesse ser colocada a resina acrílica autopolimerizável incolor (Clássico, São Paulo, Brasil) no interior do PVC (Fotografia 1).

Fotografia 1 – Recipientes contendo as amostras A1 e A2 referentes aos três meses de estudo



Fonte: os autores.

Após a acrilização da resina, a metade dental foi lixada na máquina de recorte de gesso (Soft Line) para deixar as superfícies dentais planas, e, em seguida, utilizou-se a sequência de lixas d'água de granulação 320, 600 1.200 (3M) na máquina Politris (Fotografia 2) para tornar a superfície dental lisa, regular e polida, permitindo a realização da análise pelo microdurômetro. O total de corpos de prova somou 14 e foram analisados 10, sendo descartados os restantes; o critério de exclusão foi a lisura do corpo de prova.

Fotografia 2 – Máquina Politris



Fonte: os autores.

A medição da microdureza do elemento dental foi realizada pelo microdurômetro (Fotografia 3) (HMV/Shimadzu Corporation – Japan – Laboratório de Pesquisa, Unicamp, Piracicaba, SP). O microdurômetro possui uma ponta penetradora de diamante com forma piramidal de base losangular (*knoop*), sob carga estática de 100 gramas por cinco segundos, assim, quando acionada a ponta, realiza uma compressão na superfície do elemento dental, gerando uma figura geométrica em forma de losango.

Fotografia 3 – Microdurômetro



Fonte: os autores.

A captação dos dados foi feita pelo *software* CAMS TM _WIN (*Newage testing instruments, inc.*).

Foi por meio da forma geométrica que se determinou a microdureza superficial do dente a partir da mensuração da sua maior diagonal, cujo valor é aplicado em uma fórmula para a obtenção dos resultados. O microdurômetro mostra o resultado da equação na própria tela, sendo a seguinte fórmula:

$$KHN = (C.c) / d^2$$

Sendo: KHN = microdureza Knoop, C = constante 14,230, c = 500 gramas e

d = comprimento da maior diagonal do losango.

Para a análise foram realizadas três endentações em esmalte em cada corpo de prova.

Já para os testes de microbiologia utilizou-se a semeadura de um material para análise que se faz por várias formas de acordo com a técnica microbiológica; neste trabalho optou-se pela coleta do frasco onde os dentes estão armazenados, um contendo água destilada (A1) e o outro, a solução de metilparabeno 0,2% (A2).

Após a semeadura do material, as placas contendo o meio de cultura são submetidas ao processo de incubação em temperatura ideal para o crescimento de microrganismos mesófilos por um tempo compreendido entre 24 e 48 horas.

Para a semeadura por estrias ou esgotamento, foi realizada como específica a técnica bacteriológica, a qual permite, além da visualização de desenvolvimento de colônias de microrganismos, o isolamento dessas colônias.

Para a realização das culturas, foram utilizados dois meios de cultura, o meio de *Agar Cystine Lactose Electrolyte Deficient (CLED)*, o qual é usado para favorecer o crescimento de microrganismos presentes no material semeado, sendo um meio de crescimento geral por permitir o desenvolvimento tanto de bactérias gram positivas quanto gram negativas, além de leveduras. O segundo meio de cultura utilizado foi o *Agar MacConkey*, o qual inibe o crescimento de bactérias gram positivas permitindo o crescimento de bactérias gram negativas.

3 RESULTADOS

Após a análise estatística pelo método ANOVA, não foi encontrada diferença estatística quando comparados o grupo água destilada (A1) e o grupo solução metilparabeno 0,2% (A2) ($p=0,064$), independente de quantos meses os dentes permaneceram armazenados nas diferentes soluções, portanto, a microdureza do esmalte dental permaneceu semelhante em ambas as amostras, conforme a Tabela 1. Letras iguais demonstram ausência de diferença estatística pelo teste ANOVA ($P=0,05$).

Tabela 1 – valores médios e desvio padrão entre os grupos nos diferentes meses do estudo

Meses	Água (A1)	Metilparabeno (A2)
1	272.27 \pm 51.51 A	287.64 \pm 49.18 A
2	336.15 \pm 39.60 A	325.51 \pm 36.31 A
3	245.23 \pm 44.53 A	294.73 \pm 71.22 A

Fonte: os autores.

O teste ANOVA ($P=0,05$) proporcionou os seguintes valores: no primeiro mês os dentes imersos na solução H₂O destilada mais conservante metilparabeno apresentaram uma média de microdureza de esmalte de 287.64, com desvio padrão de \pm 49.18, no segundo mês, apresentaram microdureza do esmalte de 325.51 e desvio padrão de 36.31, já no terceiro mês a média de microdureza do esmalte dos elementos dentais foi de 294.73, e o desvio padrão, de \pm 71.22.

Na Tabela 2 foram comparadas as médias da microdureza do esmalte dental das amostras A1 e A2, as quais não apresentaram diferença média estatisticamente significativa entre as medições ($p=0,064$). Mediante este resultado, constatou-se que não ocorreu alteração da microdureza do esmalte no presente estudo.

Tabela 2 – Média da microdureza dental nas amostras A1 e A2 em cada mês e média total dos três meses de cada amostra

Meses	Água (A1)	Metilparabeno (A2)
1	272.27	287.64
2	336.15	325.51
3	245.23	294.73
Média total	248.55	302.62

Fonte: os autores

Para a análise visual dos líquidos, referente à efetividade do metilparabeno, a solução retirada do frasco A1 (sem conservante) após 30 dias de repouso apresentou turvação e odor, já o líquido retirado do frasco A2 (com conservante metilparabeno) não apresentou nem turvação nem odor.

Depois de sementeado nos meios de cultura utilizados, observou-se, também, o desenvolvimento de bactérias e fungos na cultura do líquido do frasco A2, mostrando que esse líquido estava contaminado por microrganismos viáveis, uma vez que os conservantes não destroem esses microrganismos, apenas impedem a sua proliferação. Esse fato foi observado na análise macroscópica das placas de Petri após a incubação por 24 e 48 horas à temperatura de 37 °C, em que ocorreu o crescimento de colônias bacterianas e colônias de fungos tanto na amostra A1 quanto na amostra A2.

A diferença foi que na amostra A1, contendo água destilada, o crescimento de microrganismos é visivelmente maior quando comparado à amostra A2, contendo água destilada mais conservante metilparabeno, a qual apresenta uma quantidade significativamente menor de colônias bacterianas, conforme mostra a Fotografia 4.

Fotografia 4 – Crescimento de microrganismos



Fonte: os autores.

Na coleta dos líquidos com 60 dias, o líquido A1 estava completamente turvo e com forte odor, e o líquido A2 começou a turvação sem, no entanto, apresentar odor. Portanto, não foi necessária a coleta dos 90 dias, uma vez que foi evidenciado o desenvolvimento bacteriano no mês anterior.

Os líquidos foram sementeados nos meios de cultura designados no projeto e ocorreu crescimento bacteriano nas duas amostras, sendo este mais acentuado na amostra A1. Esse fato ocorreu tanto nas amostras de 60 dias (A1 e A2) quanto nas de 90 dias, segundo o laudo apresentado pelo laboratório Dallanora, que realizou os ensaios microbiológicos.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo avaliou-se a microdureza do esmalte de dentes humanos armazenados em diferentes soluções; os dentes estavam limpos, descontaminados e não estéreis. Assim como

os testes de microdureza, também foram realizadas análises visual e microbiológica de ambas as soluções para determinar a efetividade do conservante como inibidor bacteriano e fúngico.

Na análise da microdureza do esmalte dental do presente estudo não ocorreu variação estatisticamente significativa da dureza do esmalte; segundo Donassollo et al. (2007), é de suma importância ter conhecimento das propriedades físicas do elemento dental para o entendimento das alterações que poderão ocorrer com esse órgão. As propriedades físicas e mecânicas de maior importância são o módulo de elasticidade, a resistência e a dureza dental.

De acordo com o estudo de Ghersel Guedes Pinto e Ciamponi (2001), o meio de armazenagem de dentes humanos poderá causar alterações na superfície dentária, as quais podem ser químicas e ópticas. Dessa maneira, os testes realizados neste estudo demonstraram que o meio de armazenagem utilizado se mostrou eficaz quanto a não alteração da dureza, já que não houve diferença significativa no substrato do esmalte dental.

Neste estudo, o teste de escolha para microdureza do esmalte dental foi realizado utilizando-se o microdurômetro, o qual comparou a microdureza do esmalte durante três meses em dentes que estavam armazenados em diferentes soluções, logo, segundo Ghersel, Guedes e Ciamponi (2001), pode-se afirmar que há grande dificuldade na comparação de valores de microdureza dental entre diferentes estudos, em razão da variedade de testes que podem ser realizados para esta finalidade (MAHONEY, HOLT 2000).

De acordo com o presente estudo, não ocorreram alterações na dureza do esmalte dos dentes quando estes estavam armazenados em solução de metilparabeno 0,2% e em água destilada, concordando com o estudo dos autores Silva et al. (2006), que também mostrou que os dentes armazenados apenas em água destilada não sofrem alteração significativa na microdureza.

As médias de microdureza do esmalte dental encontradas nos testes deste estudo, aplicando-se a análise de ANOVA, variaram entre 245.23 e 336.15, visto que em vários trabalhos realizados sobre microdureza constata-se que o esmalte dental apresenta valores maiores que a dentina.

O conservante de escolha utilizado na armazenagem dos dentes foi uma solução de metilparabeno a 0,2% em água destilada. Ele é conhecido comercialmente como Nipagin®, o qual em baixa concentração, possui ação antimicrobiana bacteriostática e fungistática.

Os conservantes podem ser definidos como uma substância química que tem como função inibir o crescimento microbiano no produto, deixando-o isento de degradações causadas por microrganismos, sejam eles bactéria, fungo ou levedura, assim, essa solução conservante poderá ter função bacteriostática e/ou fungistática.

Portanto, neste estudo, a análise visual das amostras (A1 e A2), mais precisamente a amostra contendo água com a concentração de 0,2% de metilparabeno (A2), a qual se manteve límpida por mais de 30 dias, demonstra que o conservante foi eficaz nesse tempo, não permitin-

do o desenvolvimento dos microrganismos, uma proliferação que seria evidenciada visualmente pela turvação desse líquido de armazenamento.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos e com a análise estatística aplicada aos resultados, pode-se concluir que não houve diferença estatística ($p=0,064$) significativa no teste de microdureza do esmalte dos elementos dentais armazenados em água destilada, assim como dos armazenados em solução a 0,2% de metilparabeno. Já na análise microbiológica nos primeiros 30 dias de armazenamento os parabenos impediram a proliferação bacteriana e fúngica, servindo ao propósito de conservação do líquido. Essa ausência de desenvolvimento de microrganismos faz com que a água utilizada para a conservação desses dentes usados em pesquisa possa ser trocada a cada 30 dias de armazenamento, porém, na análise visual do líquido com conservante após 60 e 90 dias, (Nipagim R- metilparabeno) o líquido apresentou turvação, demonstrando que, pela presença de microrganismos no líquido, o conservante perdeu a capacidade inibitória.

Fazem-se necessários mais estudos com o conservante metilparabeno para evidenciar se não ocorre alteração na elasticidade e na resistência do esmalte e alterações físicas na dentina, bem como o desenvolvimento de um estudo utilizando dentes previamente autoclavados e manuseados em condições assépticas.

THE EFFECTIVENESS OF METHYLPARABEN AS A PRESERVATIVE IN HUMAN TEETH

Abstract

Human teeth banks play an important role within the dental schools, as they are used for local storage of human teeth, however the freshly extracted teeth should be regarded as a source of cross-contamination, thus proper decontamination and storage allow the maintenance of dental physical properties and the decrease in the risk of cross contamination. The aim with the study was to compare if there was the difference between the storage of human teeth in distilled H₂O and distilled H₂O plus the preservative methylparaben 0.2% in relation to the hardness of the enamel during the period of three months, and the effectiveness of methylparaben as a preservative in human teeth storage. The work was performed by an in vitro study with human teeth on the Bank of Teeth Lab of Unoesc Joaçaba, stored in distilled H₂O and 0.2% methylparaben solution with distilled water, using for testing the microhardness and the technique of seeding by exhaustion for microbiological analysis. Through the results, it was observed that there was no statistically significant difference in the enamel microhardness of dental elements, both in the ones stored in distilled water and the ones stored in solution of methylparaben 0.2%. Parabens were effective in the first 30 days, losing its inhibitory capacity in the subsequent samples, in 60 and 90 days. It is concluded that both the solutions, of distilled H₂O and of 0.2% methyl-

paraben with distilled water, may be used for teeth storage, because they do not change their physical properties and are effective in controlling contamination during the first 30 days.
Keywords: *Tooth. Storage of substances, products and materials. Distilled water. Methylparaben.*

REFERÊNCIAS

BEGOSSO, M. P.; IMPARATO, J. P.; DUARTE, D. A. Estágio atual da organização dos bancos de dentes humanos nas faculdades de odontologia do território brasileiro. **RPG Rev. Pós-grad.**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 23-28, jan./mar. 2001.

SILVA, M. F. et al. Influência do tipo de armazenamento e do método de desinfecção de dentes extraídos sobre a adesão à estrutura dental. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 18, n. 2, maio/ago. 2006. Disponível em: <http://www.cidadesp.edu.br/old/revista_odontologia/pdf/2_maio_agosto_2006/10_influencia_tipo_armazenamento.pdf>. Acesso em: 03 maio 2012.

CAVALCANTI, A. N. et al. Efeito dos períodos de armazenamento na resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante à dentina bovina. **Revista Odontológica UNESP**, v. 38, n. 4, 2009. Disponível em: <<http://www.revodontolunesp.com.br/article/51ae4aa41ef1faca3d00320e>>. Acesso em: 03 maio 2012.

IÓRIO, S. L. et al. Avaliação da influência de diferentes meios de armazenamento de dentes humanos extraídos na infiltração marginal apical. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 19, n. 2, maio/ago. 2007. Disponível em: <http://www.cidadesp.edu.br/old/revista_odontologia/pdf/5_maio_agosto_2007/avaliacao_influencia.pdf>. Acesso em: 03 maio 2012.

FARRET, M. M. et al. Influência de variáveis metodológicas na resistência de união ao cisalhamento. **Dental Press J. Orthod.**, Maringá, v. 15, n. 1, p. 80-88, jan./fev. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/dpjo/v15n1/10.pdf>>. Acesso em: 02 maio 2012.

PHARMA SPECIAL. **Nipagin®M e Nipazol®M, Metilparabeno e Propilparabeno**. Informativo técnico. 2004. Disponível em: <http://www.pharmaspecial.com.br/imagens/literaturas/lit_nipagin_e_nipazol.pdf>. Acesso em: 02 maio 2012.

GIL, E.; BRANDÃO, A. L. **Excipientes, suas aplicações e controle físico-químico**. 2. ed. São Paulo, 2007.

DONASSOLLO, T. A. Avaliação da microdureza superficial do esmalte e da dentina de dentes bovinos e humanos (permanentes e decíduos). **Rev. Odonto Ciência**, Porto Alegre, v. 22, n. 58, p. 311-316, out./dez. 2007.

GHARSEL, E.; GUEDES PINTO, A. C.; CIAMPONI, A. L. Influência do modo de armazenamento na microinfiltração de dentes decíduos restaurados com diferentes sistemas adesivos: estudo in vitro. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 29-34, jan./mar. 2001.

MAHONEY, E et al. The hardness and modulus of elasticity of primary molar teeth: an ultra-micro-indentation study. **J Dent.**, v. 28, i. 8, p. 589-594, nov. 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11082528>>. Acesso em: 03 maio 2012.