

Actividad bactericida de castela texana sobre bacterias relacionadas a caries dental y gingivitis

Texana Castela BACTERICIDA a atividade em um bactérias e gengivite CÁRIES relacionados

María Porfiria Barrón González

Universidad Autónoma de Nuevo León

maria.barrongn@uanl.edu.mx

Yadira Quiñones Gutiérrez

Universidad Autónoma de Nuevo León

yadira.quinonesg@uanl.edu.mx

RESUMEN

Las caries dentales afectan a cualquier persona y son la causa más importante de pérdida de los dientes. Las bacterias son esenciales para el desarrollo de una lesión cariosa, en tanto que la gingivitis es una forma de enfermedad periodontal que involucra inflamación e infección que destruyen los tejidos de soporte de los dientes, esta patología se debe a la acumulación de un material adherente compuesto de bacterias, moco y residuos de alimentos que se desarrolla en las áreas expuestas del diente. Por otra parte, *Castela texana* es capaz de suprimir el crecimiento de varios microorganismos patógenos que afectan la salud del hombre y que se ha demostrado que al ingerir el extracto acuoso, este no presenta efectos secundarios nocivos al hombre. De acuerdo a los resultados obtenidos la mejor opción de estudio para bacterias relacionadas a gingivitis es el extracto metanólico de corteza y para bacterias relacionadas con caries dental es el extracto metanólico de tallo, los cuales presentan respectivamente la mayor actividad bactericida y el menor potencial tóxico sobre *Artemia salina*.

Palabras clave: caries, gingivitis, *Castela texana*, *Artemia salina*.

Resumo

Cáries dentárias afetar qualquer pessoa e são a principal causa de perda dentária. As bactérias são essenciais para o desenvolvimento de uma lesão de cárie, enquanto gengivite é uma forma de doença periodontal envolve inflamação e infecção destruir os tecidos que suportam os dentes, esta condição é devido à acumulação de um composto aderente de bactérias, muco e detritos alimentares que se desenvolve sobre as zonas expostas dos dentes. Além disso, a capacidade do Texas Castela para suprimir o crescimento de vários agentes patogénicos que afectam a saúde humana e tem sido demonstrado que ao comer o extracto aquoso, este homem não tem efeitos secundários nocivos. De acordo com os resultados a melhor opção para estudar bactérias associadas com a gengivite o extrato da casca e bactérias relacionadas à cárie dentária é o extrato do caule, que, respectivamente, têm a maior atividade bactericida e menor potencial tóxico de Artemia salina.

Palavras-chave: cáries, gengivite, Texas Castela, Artemia salina.

Fecha recepción: Diciembre 2012

Fecha aceptación: Febrero 2013

Introdução

Caries

A doença oral mais prevalente de acordo com a OMS são cárie dentária e doença periodontal (NOM-013-SSA2-1994).

A cárie dentária é uma das mais comuns, depois dos distúrbios de resfriado comum. Geralmente ocorre em crianças e adultos jovens, mas pode afetar qualquer pessoa e é a principal causa de perda dentária em pessoas mais jovens.

As bactérias normalmente presentes na boca e convertem todos os alimentos, especialmente açúcar e amido, em ácidos. A bactéria, ácido, restos de alimentos e saliva combinam na boca para formar uma substância pegajosa chamada placa que adere aos dentes e é mais proeminente nos molares posteriores, logo acima da linha da gengiva. Este é

todos os dentes e as bordas de recheios. Se a placa não for removida dos dentes em mineraliza tártaro, este irrita a gengiva, gengivite e periodontite ocorre mais tarde.

As bactérias são essenciais para o desenvolvimento de cáries. O principal agente patogénico em todos os tipos de cárie é *Streptococcus mutans*, que tem várias propriedades importantes: sintetizado polissacáridos insolúveis de sacarose, que é um homofermentante formando ácido láctico, coloniza a superfície dos dentes, é mais outros estreptococos aciduric. Isto não significa que é o único ex polissacáridos como também foi encontrado em estirpes não-cariogénicos. Outros microrganismos associados à cárie dentária são *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*. *Actinomyces viscosus* e *Lactobacillus acidophilus*.

A palavra vem do latim e significa decadência podridão. É talvez a mais comum doença humana. A cárie dentária é uma doença que, em todas as épocas e em especial no mundo, mostra um enorme magnitude sobre todas as alterações possíveis de saúde oral (Ministério da Saúde Pública, 1995).

A cárie dentária é uma doença considerada como a mais comum em humanos devido à sua alta prevalência, é um dos fatores etiológicos mais importantes de celulose e inflamação periapical. Este pode ser definido como uma degeneração progressiva e localizada dos dentes, que é iniciada pela desmineralização da superfície de ácidos orgânicos como o ácido láctico, produzido por microorganismos da placa (Seltzer S. y Belder I., 1987).

Entre os fatores de risco para a doença incluem: alto grau de infecção *Streptococcus mutans*, pobre resistência do esmalte, apinhamento dentário, experiência anterior de cárie, má higiene bucal, ingestão de alimentos açucarados, entre outros (Rodriguez , 1997). As dietas ricas em produtos refinados, como açúcar, bolos e alimentos altamente processados facilitar cárie (Hernández, G., 1998). A cárie é produzida por algumas bactérias que produzem ácidos,

especialmente os *Streptococcus mutans*. Sua fonte de alimento constituem carboidratos fermentáveis como sacarose (Newbrown, 1972).

A incidência de cárie dentária tem experimentado um crescimento muito rápido devido à transformação em curso do estilo de vida e alimentação; mudando actividades agrícolas e, por conseguinte, a utilização de grãos como um princípio básico de alimentos, juntamente com processos de cozinhar e de processamento de alimentos, que têm contribuído para aumentar a incidência desta doença, o qual atingiu níveis alarmantes, segundo as estatísticas, representam 75 a 85% (Hernandez, 1998). Há pouca informação disponível sobre as mudanças nas taxas de decaimento apresenta a população mexicana; Da mesma forma, existem poucos dados sobre os hábitos de higiene bucal desta população (Salas L. e J. Rivas Gutiérrez, 2001). No entanto, de acordo com a classificação internacional da Organização Mundial da Saúde (OMS), o México é um dos países com uma gama de alta frequência de doenças orais (NOM-013-SSA2-1994).

A cavidade oral é o primeiro segmento do tracto digestivo, que liga o exterior com o esófago. As diferentes condições que podem prevalecer nesta cavidade, juntamente com as constantes mudanças no estilo de vida e idade do homem, formam um ecossistema exposta a constantes mudanças e uma variedade de problemas microbiológicos, devido à sua natureza aberta e dinâmica (Prieto J. e R. Calvo 2004).

A ocorrência de cárie dentária está relacionada com as bactérias orais, especialmente porque os *Streptococcus mutans* cariogênicos. Estudos preliminares antibacterianos revelaram que extratos de espécies vegetais noz-moscada amplamente cultivadas por seu aroma e sabor, tem forte atividade inibitória contra *S. mutans* (JY Chung et al., 2006).

E. Palombo em 2011 relatou um grande número de extractos de plantas com actividade antimicrobiana contra as bactérias que afectam a cavidade oral e Eguizabal et al., (2001) relatam a actividade antibacteriana do extracto de etanol de própolis no Peru 0,8% de

solução de constatação de que tem uma melhor ação antibacteriana contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*, a clorexidina 0.12 %.

Gengivite

A gengivite é a inflamação ou degeneração indolor o tecido da gengiva. Neste, o tecido entre os dentes se torna irregular e inchado; o tecido na linha da gengiva (o ponto em que o dente satisfaz as gengivas) torna-se mais escura, e a goma sangra facilmente (Ferri, 2005). A gengivite é devido aos efeitos a longo prazo de depósitos de placas de um material pegajoso feito de bactérias, muco e detritos alimentares que se desenvolve sobre as zonas expostas dos dentes. A placa é a principal causa de cáries dentárias e, se não for removido, torna-se um depósito duro chamado tártaro que fica preso na base do dente. Placa bacteriana e tártaro irritar e inflamar as gengivas.

As bactérias e as toxinas que produzem causar as gengivas para se tornar infectado, inchadas, e concurso. Um prejuízo para as gengivas por qualquer causa, incluindo escovação e fio dental muito difícil, pode causar gengivite. Ela está principalmente associada com uma higiene oral ou incorrecta, o que facilita a formação do assim chamado placa dental, que pela acumulação de restos de comida, as células mortas e as formas de mucina. Esta placa proporciona um ideal para o desenvolvimento de numerosos microorganismos responsáveis por causar gengivite e cárie meios.

As bactérias da placa são jogadores-chave na patogênese da doença periodontal (Nombelli, 1994). Em numerosos investigação sugere que o sangramento da gengiva pode ser reduzida ou eliminada por um cuidadoso controlo da placa (Cato, 1998).

Estudos em microscópio de campo escuro e fase, notou a superioridade dos cocos e formas imóveis em locais gengivais saudáveis em pacientes formas espiroquetas móveis e, a médio e longo (Santamarina, 1988) predominam.

Loe em 1964 mostraram que, eliminando a higiene oral, os pacientes desenvolveram gengivite que aumentou em severidade com cada dia que passa neste estudo. Ler mais flora

bacteriana alteradas por um Gram negativo anaeróbico tipo mais agressivo e higiene restaurar a saúde gengival recuperado. Isto demonstrou a reversibilidade da gengivite (http://www.radiodent.cl/periodoncia/clasificacion_y_caracteristicas_de_gingivitis_y_%20periodontitis.pdf, acessada Setembro-2013).

A imunossupressão é considerado como o factor predominante na etiologia da gengivite ulcerativa (GUN). A resposta do hospedeiro alterada por factores predisponentes sistémicos permite um aumento do crescimento bacteriano e a invasão de tecidos (Y. Murayama et al., 2000).

Mas há fatores necessários para a manifestação da doença colaterais predisponentes, tais como estresse emocional, ansiedade, má nutrição, doenças sistêmicas (endócrinas, sangue, doenças venéreas, HIV), doenças convalescença, intoxicação por metais, tabagismo, alcoolismo, distúrbios do sono, trauma tecidual , má higiene oral com altos níveis de placa, gengivite e periodontite história (Rowland, 1999).

Gengivite em seu início é fácil de controlar, basta técnica de escovação correta eo uso de bochechos com clorexidina como adjuvante para melhorar a higiene e bactérias que destroem. O uso adequado e regular de calêndula no tratamento da gengivite é eficaz porque diminui os sinais de doença, como sangramento, inchaço e descoloração da gengiva (MA Machado et al., 2010).

O tratamento atual inclui a aplicação tópica de solução de iodo-povidona, combinado com tratamentos meticulosos locais, raiz e remoção de material de desbridamento seguido de bochecho com clorexidina (Lucht, E. et al., 1998).

Além do tratamento, incluindo o dimensionamento e raiz, talvez, as drogas são usadas, mas estes nem sempre pode substituir a cirurgia. Em alguns casos, dependendo da gravidade da doença da gengiva, o profissional treinado pode recomendar um tratamento cirúrgico. Isto irá exigir estudos a longo prazo para determinar se a utilização de drogas reduz a necessidade de cirurgia e, se estes são eficazes durante períodos prolongados.

Fitoterapia

A natureza é uma grande fonte de riqueza, plantas representam uma fonte potencial ea exploração de novos agentes antimicrobianos (Haslam et al., 1989). Plantas medicinais são considerados uma fonte potencial de novos medicamentos quimioterápicos por causa de seu conteúdo fitoquímico e pouco ou nenhum efeito tóxico (Beg, 2000).

Produtos vegetais têm inúmeras propriedades farmacológicas incluindo também outras propriedades como antimicrobiano, antimutagênica, antiviral, antifúngica; inter alia., são também utilizados no tratamento de furúnculos, acne, gengivite, candidiase vaginal e para prevenir a formação de placa dentária e a capacidade de promover a cicatrização de feridas (Dunsmore, KE 2001 e Chen, X ., 2003).

É comum a utilização de partes de plantas, a fim de obter vários efeitos terapêuticos e foram apoiados por estudos científicos. Entre as muitas aplicações terapêuticas da planta inclui a acção antibacteriana. As conclusões do estudo de plantas com potencial terapêutico pode servir como uma ferramenta para apoio médico e social para uma amostra maior, principalmente falta, a indústria farmacêutica também estar interessado no conhecimento desta área (De Paula J. y Martínez A. 2000).

Castela texana

Texana Castela, vulgarmente conhecido como "cara pouco amargo" tem sido usado no México para muitos anos para tratar o tipo disenteria amebiana. É usado para a falta de apetite, febre, amebíase e como um descongestionante. Agachamento amargo pode ser utilizado por um longo período sem causar efeitos secundários prejudiciais, ou irritação gástrica ou intestinal e também é utilizado principalmente no tratamento de amebíase diarreica causada pelo parasita protozoário *Entamoeba histolytica*.

Texana Castela (agachamento amarga) é um arborizado, branchy, arbusto espinhoso com casca cinza e amargo; ovadas ou elípticas deixa suplenente; flores solitárias, vermelhas ou roxas

e frutos globosos; Pertence à família das Simarubáceas. Flores de agosto a setembro e frutificação no período de setembro a outubro.

Ele é distribuído a partir de Texas, Estados Unidos para Oaxaca, no México e no norte da América do Sul. No México, é nos estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí e Tamaulipas. Na América do Sul, verificou-se ao norte da Colômbia e Venezuela em áreas adjacentes.

A ação terapêutica de Castela texana está bem estabelecido, como Maximino Martínez "tem uma notável ação contra a disenteria amebiana, especialmente em casos crônicos, amebas são imobilizadas e morrer logo em seguida. É 25 vezes menos tóxico do que emetina (como Gretchen M. Sprecher, University of Nebraska) e utilizado no tratamento contra amebas. Estudos médicos e farmacológicos no México entre 1910 e 1920, encontrado neste piso três glicosídeos: castelhano, castelagemina e castelamarina, que se revelaram eficazes como uma ação específica antidiarréico potente contra amebas, com a vantagem de ser 25 vezes menos tóxico do que produtos químicos e drogas sem apresentar efeitos irritantes (<http://adrianguzman.com.mx/index.php?option>, acessado novembro 2013).

Em 1847, quando as tropas norte-americanas sob o general Zachary Taylor tinha invadido o país através de Texas e em no estado de Tamaulipas, alguns militares do exército disse que os médicos notaram que alguns índios usavam o agachamento bebida amarga para tratar febres , doenças de pele, especialmente diarreia e disenteria (Lopez, 1928).

Texana Castela é uma alternativa de tratamento da doença, quando há resistência a outras drogas e também em mulheres com tricomoníase durante o primeiro trimestre da gravidez (Sapata-Flores 1998a). Ele também descartou experimentalmente o efeito tóxico da planta (Sapata-Flores. 1998b).

Entre as propriedades testadas experimentalmente C. texano tem sido postulada para inibir o enraizamento de uma ameba Entamoeba invadens que tem sido usado como um modelo de estudo para extrapolar resultados Entamoeba histolytica (calçado-Flores, 1998). Verificou-se também que o extracto aquoso tem antioxidante e possivelmente proteger o fígado e

também para combater o parasita *Trichomonas vaginalis*, a mais prevalente no mundo doença sexualmente transmissível que afecta ambos os sexos, mas principalmente para o mulher.

O extrato etanólico de *Texas Castela*, apresenta em condições anóxicas actividade in vitro contra *Entamoeba histolytica* amebicida tanto a fase de trofozoíto e estrutura quisto ou cisto-like, sendo 50 vezes mais eficaz do que o medicamento de escolha contra *E. histolytica*: metronidazol (Barron et al, 2007).

Neste momento, recomenda-se a preparar uma infusão de folhas e caules contra a diarreia, disenteria e amebíase, como um adstringente. Para tratar ameba Ferva em 1/4 litro de água algumas peças de haste e uma xícara de chá é tomado em jejum por 9 manhãs. Também é encontrada em cápsulas em lojas.

Os óleos essenciais e extratos cobrir um largo espectro de efeitos farmacológicos, mostrando as várias propriedades como anti-inflamatório, anti-oxidante e anti-cancerígeno. Outras actividades biológicas são relatados como biocidas contra uma vasta gama de microorganismos incluindo bactérias, fungos, vírus, protozoários, insectos e plantas (Kalemba e Kunicka, 2003).

Artemia salina

Artemia salina é um pequeno crustáceo que vive em locais com elevada concentração de sal (35 g por litro) que é salobra, os seus direitos protegidos por cistos ovos são incubados a uma temperatura de 28 ° C e requer uma oxigenação constante. A. O sal adulto chega a um centímetro de comprimento, em média, e sua vida média é de um ano. Este rápido desenvolvimento ea capacidade de ovos de resistir a longos períodos sob condições desfavoráveis, fizeram um modelo de valor inestimável na pesquisa biológica, alguns até mesmo desenvolvido no espaço sideral. Dentro da pesquisa fitoquímica, Dr. Jerry L. McLaughlin et al dar início a uma nova fase, com a introdução de algumas bioensaios primários, como *Artemia salina*, iniciando assim a era caracterizada por "screenings" e "divisão" (Meyer et al, 1982 ;. McLaughlin et al, 1988) ..

Estudos que sugerem a avaliação como um primeiro passo, utilizando-se um rastreio toxicológico com evidência de toxicidade aguda em várias espécies, permitindo preliminarmente determinar a toxicidade dos novos produtos químicos diferentes em mamíferos publicado recentemente (Guilhermino et al., 2000); Uma vantagem é que é económico e, por conseguinte, a quantidade de mamíferos (ratinhos) que são usadas são reduzidos.

O bioensaio "letalidade das larvas de *Artemia salina*" é a determinação da DL50 (dose letal) dos extractos de plantas, os que possuem uma DL50 <1000 mg / L é muito provável que contêm um ou mais compostos activos, assim fraccionarlos necessário repetir bioensaios em concentrações mais baixas (McLaughlin et al., 1988). É também um teste preliminar, o qual detecta uma vasta gama de compostos activos (antitumorais, antibióticos, etc); é um método simples, rápido e reprodutível para ser utilizado como um método selectivo para determinar a toxicidade de extractos de plantas antes de se mudar para linhas celulares método de teste, barata.

Justificação A investigação

Cárie e gengivite estão entre as doenças mais comuns em seres humanos; após o resfriado comum, que pode afetar qualquer pessoa e são a principal causa de perda dentária. No México cárie prevalência é de 48% e 23,8% de perda dentária em pessoas mais jovens, de modo que este artigo considera importante a validação científica da avaliação de extratos obtidos a partir de Texas Castela, arbusto tradicionalmente usado na herbal mexicana para tratar várias condições em seres humanos. Os resultados obtidos nesta pesquisa servirão no futuro para elucidar e conhecer as características das moléculas ou compostos que têm actividade contra bactérias da cárie e gengivite de extratos texana Castela.

PRESSUPOSTOS

Os extractos de metanol de casca de árvore, folhas e caule de Castela texana inibir o crescimento de bactérias relacionadas à cárie e gengivite.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Determinar a actividade biológica dos extractos de etanol de casca de árvore, folha e caule do Texas Castela em bactérias associadas com a gengivite e cárie dentária.

Objetivos específicos

Castela texana

- Colete campo Castela planta texana.
- Obtenha os extractos de metanol de casca de árvore, folhas e caule Texana Castela.
- Realizar testes para identificar grupos funcionais (colorido de teste) para cada extracto.
- Prepare a solução estoque de extractos de metanol de *Castela texana*.

Bactérias

- Amostragem de cárie e gengivite.
- Isolar bactérias relacionadas à cárie e gengivite.
- Defina a cinética do crescimento de bactérias relacionadas à cárie e gengivite.
- Identificar bactérias associadas com a gengivite e cárie dentária.

Bioensaios

- Determine o LD50 [mg / ml] dos extratos etanol das cascas, folhas e caule de Texas Castela sobre *Artemia salina*.
- Para determinar a actividade biológica dos extractos de metanol de Texas Castela em bactérias associadas à cárie dentária e gengivite.

Análise Estatística

- Realizar análise Probit usando estudo estatístico de regressão linear utilizando o programa Microsoft Excel 2007, para determinar a CL50 de cada extrato correspondente em culturas in vitro axênicas de bactérias relacionadas à cárie e gengivite.

METODOLOGIA

Material biológico

- a) Caule, folhas e casca de Castela texana.
- b) As bactérias isoladas a partir de amostras de pacientes com gengivite e cárie dentária.
- c) *Artemia salina*.

Texana Castela arbusto foi recolhido na comunidade de San Isidro, Villa Hidalgo, San Luis Potosi.

Uma vez que o material de planta recolhido procedemos de acordo com as seguintes etapas:

- 1.-Lavado O material vegetal à água corrente lavado, para remover qualquer resíduo fora do material vegetativo.
- 2.-Secado O material vegetal é espalhada e seca-se à temperatura ambiente.
- 3.-Trituración O material seco foi triturado utilizando um moinho de mão e precisas.
- 4.-Extracción A obtenção de extractos a partir de Castela texana foi realizada como descrito a seguir:
 - a) Extractos metanólicos. 200 g é pesado tanto casca, folha, raiz e caule de Castela texana e foram adicionados 300 ml de metanol. Os frascos foram mantidos num agitador durante 7 dias à temperatura ambiente. Após este tempo, cada extracto foi filtrado através de Whatman No. 2. O filtrado foi evaporado até à secura à temperatura ambiente. O extracto foi obtido por raspagem resíduos e armazenado em frascos de vidro até serem utilizadas.
 - b) Tamizaje químico parcial: Cada extracto é proposto realizados testes de identificação química, por Dominguez (1973). O extrato obtido em cada planta foi submetido à "evidência colorido" ou testes de identificação químicos.

Insaturaciones: Prueba del KMnO₄: Dissolveu-se 1,2 mg da amostra em 1 mL de água, acetona ou metanol e gota a gota uma solução de 2% de KMnO₄ em água é adicionada. O teste é positivo se a descoloração ou a formação de precipitado castanho dentro de 1 minuto, resultando na formação de dióxido de manganês é observada.

Grupo carbonilo: Prueba de la 2,4-Dinitrofenilhidracina: 1 a 10 mg, da amostra são dissolvidos em etanol, é adicionado um hidrocarboneto saturado de 2-4-dinitrofenil-hidrazina em solução de HCl 6N; a formação de um precipitado amarelo ou laranja indica a presença do grupo carbonilo.

Oxhidrilos fenólicos (taninos vegetales): Prueba del FeCl₃: 1-2 mg de amostra foram dissolvidas em 1 ml de água ou etanol e, em seguida algumas gotas de cloreto de férrico são adicionados a 12,5% de água. O aparecimento de um vermelho, azul-violeta ou precipitado verde é considerado positivo.

Esteroles y triterpenos: Prueba de Liebermann-Burchard: 1 ml de anidrido acético é misturado e um de clorofórmio, arrefeceu-se para 0 ° e é adicionada uma gota de ácido sulfúrico. Gota a gota, o reagente é adicionado à solução da amostra ou clorofórmio. Se não há formação de azul, verde, vermelho, cores laranja, etc., que mudam ao longo do tempo, o teste será positivo. A ordem e tempo de ocorrência (0, 1, 5, 20, 60 minutos) tem algum valor de diagnóstico; e, uma cor amarela depois de 15 minutos, parece corresponder a C-14-metil -7 insaturação e uma variação. O teste é positivo esterol contendo duas ligações duplas conjugadas, que podem formar um ou dois desidratações com isomerização. Teste Salkowski: Similar ao Liebermann-Burchard, amostra (1-2 mg) em contacto com 1,0 ml de ácido sulfúrico, cores amarelo ou vermelho para esteróis e methylsterols desenvolver

Carboidratos: Prueba de Molish: Um 1-2 mg. A amostra é adicionada, gota a gota, reagente de Molish (alfa-naftol 1% em etanol), em seguida, 1 ml de ácido sulfúrico por as paredes. O teste é positivo quando um colorido na interface do anel roxo é formado. As cumarinas teste: 1-2 mg de amostra foi dissolvida em NaOH a 10%; Se aparecer uma cor amarela que desaparece acidify é positivo.

Lactonas: Dissolve-se 1-2 mg de amostra em uma solução de álcool de NaOH a 10%. Uma cor amarela ou laranja perdido ou desaparece por adição de algumas gotas de HCl indica a presença de um anel de lactona.

Sesquiterpenlactonas: Prueba de Baljet: A 2-3 mg, del compuesto se le agregan 3-4 gotas de la solución mezcla, siendo positiva si se torna de color naranja a roja oscura. La solución mezcla 1:1 consiste de una solución A que contiene: ácido pícrico al 1 % en etanol y una B: NaOH al 10 %.

Flavonoides: Prueba del H₂SO₄: Uma pequena quantidade de amostra é dissolvida em H₂SO₄ e amarelecimento é observado para flavonóis; laranja-gelo para flavones; vermelho-azulada para chalcones vermelho-púrpura e quinonas.

Alcaloides: Prueba de Dragendorff: Mudando Mounier e Michelob. 2 soluções serão feitas. Para preparar a solução A, foi dissolvido em 0,85 g de nitrato de bismuto em uma mistura de 10 ml de ácido acético glacial e 40 mL de água. Para a solução B, 8 g de iodeto de potássio são dissolvidos em 20 ml de água. O reagente é preparado por mistura de 5 ml de solução A, a 4 ml de solução B e 100 ml de água. O reagente é estável durante um ano eo teste é positivo para a placa de alcalóides de cor vermelha ou laranja persistente por 24 horas (Pérez-Cepeda, 2000).

Saponinas: Prueba del bicarbonato de sodio: O sal é preparado em 10% de água. Dissolve-se 1-2 mg de uma amostra dissolvida em água ou etanol são adicionados 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Agita-se ligeiramente, depois 2-3 gotas de uma solução de bicarbonato de sódio são adicionados. Borbulhagem e retenção por mais de um minuto indicando a presença de saponinas.Prueba de Salkowski para saponinas: Dissolve-se 1-2 mg de amostra em 1 mL de clorofórmio adicionou-se 1 mL de ácido sulfúrico. O ensaio é positivo caso aparência vermelha.

Aromaticidad: Prueba del ácido sulfúrico-formaldeído: Uma mistura de 1 mL de ácido sulfúrico concentrado com uma gota de formaldeído é preparado. São adicionados de 1 a 5 mg de uma amostra dissolvida em solvente não aromático, algumas gotas da mistura anterior são adicionados e, se uma cor vermelho-violeta aparece, o teste é positivo.

Toma de muestra y mantenimiento de las bacterias: A amostragem é feita nas instalações da Faculdade de Odontologia por um especialista. As amostras imediatamente depois de serem levadas foram transportados para o laboratório, em que eles foram transferidos para um tubo contendo meio nutriente (MPTT média); subsequentemente, sob condições anaeróbicas, foram realizadas sementeiras. Imediatamente é entre MPTT-agar é feita estriado em quatro quadrantes, e incubou-se a 37 C durante 24 horas, em seguida, uma amostra de cada colônia foi recolhido, inoculou-se um tubo através MPTT e incubou-se a 37 C durante 24 h, e uma vez que já tinha estabelecido em cultura in vitro, foi realizado a cinética de crescimento de cada colônia única.

Cinética de crecimiento de bacterias relacionadas con caries dental y gingivitis: Nas bactérias isoladas a partir de pacientes com cárie dentária e gengivite foram submetidos a cinética de crescimento de modo a corresponder a uma das fases para realizar o bioensaio. A 9 MPTT tubos de caldo de carne com um volume de 9 ml e 30 ml de bactérias inoculadas foram incubadas a 37 ° C, a absorvância de cada tubo foi determinada num espectrofotómetro a 635 nm durante 24 h.

Identificación parcial de las bacterias relacionadas con gingivitis y caries dental: Uma vez que a cinética de crescimento de bactérias isoladas, está estabelecida, a morfologia da bactéria é determinado por coloração simples, e Gram ser determinado pela técnica estabelecida; Além disso, a identificação parcial será feita pelo sistema API-20 e A-20 API.

Bioensayos

- a) **Preparación de solución madre:** A solução-mãe foi preparada tal como descrito na Tabela 1, e a partir desta solução foram retiradas quantidades necessárias para se obter a concentração desejada.

Tabla 1

Preparación de la solución madre de extractos metanólicos de *C. texana*

	Hoja	Tallo	Corteza
Gramos	1.14	3.72	1.21
DMSO (mL)	10	10	10
Medio MPT-T (mL)	4	4	4

b) Avaliação da actividade biológica do extracto de etanol de *C. texana* dentários em bactérias e gengivite cárie relacionados

Técnica de espectrofotometria: Para realizar o ensaio biológico de diferentes extratos de etanol de *C. texana* (raiz, caule, folha e casca) em 72 13x100 tubos contendo 8 ml de várias concentrações de meio de cultura, foram acrescentados foram realizadas nos extractos de metanol de *C. Texas*. Cada tubo foi inoculado com 30 uL de bactérias isoladas a partir de pacientes com a cárie dentária e a mesma quantidade para a bactéria isolada da gengivite, em seguida, incubadas a 37 ° C durante 24 h; para cada tubo de absorvância a 635 nm foi lida. Em seguida, a unidades formadoras de colónias por mL (CFU / ml) foi determinada usando a técnica de contagem de placa bacteriana (RBP).

Técnica de Recuento Bacteriano en Placa (RPB): A partir de cada cultura de bactérias contendo relacionadas com a cárie dentária e gengivite e na presença de extracto de cada tubo, previamente incubadas a 37°C durante 24 horas, um mililitro ser tomada e foram feitas diluições correspondentes até 10,09 e 10 de diluição -5 a 9,10 mililitro adoptar e estar colocada numa placa de Petri, a qual irá acrescentar imediatamente médio 15 mL MPTT-ágar, é deixado a solidificar e, em seguida, incubadas a 37°C para um mínimo de 24 horas, e, em seguida, executa placa de conta para determinar a UFC/mL (Tabla 3).

c) Determinación de la DL₅₀ de los extractos metanólicos de *C. texana*: De acordo com os resultados obtidos por meio da técnica de absorvância e RBP técnica, o LD50 foi determinada pelo método probit para cada replicado usando análise de regressão linear com o programa estatístico Microsoft Excel 2007.

d) Determinación de toxicidad de los extractos metanólicos de *C. texana* sobre *A. salina*: Para a incubação de ovos de *A. salina* água do mar artificial se segue é preparado: 40 g de sal marinho (Instant Ocean Aquarium System), 0,006 g de fermento (Mead Johnson) é pesado em uma afora litro de água bidestilada, o pH ajustado a 7,8. O método é realizado através da incubação de 0,1 g de ovos de *A. salina* em água do mar artificial, colocado num recipiente de plástico dividido por uma parede intermédia com um espaço na parte inferior de 2 mm; Elas são mantidas no escuro e oxigenação. Um compartimento é mantido iluminado com uma lâmpada de 20 watts para eclodir como nauplii são atraídas pela luz.

Após 24 h, os náuplios são colocados com uma pipeta para outro vaso e mantidos em condições de temperatura e de oxigenação 22-29 ° C durante 24 h. Em uma microplaca de 96 cavidades que são adicionados 100 ml da suspensão de náuplios / cavidade (cerca de 10 náuplios) mais 100 mL das diluições dos extractos testados. Avaliando concentrações vão variar de 10 a 1000 mg / mL. Como um controlo positivo de dicromato de potássio foi usado a uma concentração de 400 ppm; e DMSO nas mesmas doses que são manipulados no bioensaio e de água do mar como um controlo negativo. Após 24 h de extractos e aplicados com o auxílio de um microscópio estereoscópico, contando vivo náuplios por dose foi realizada.

e) **Análise estatística:** Para determinar a actividade biológica do extracto de metanol de Texas Castela em cultura axénica in vitro de bactérias relacionadas com a cárie dentária e gengivite, os dados obtidos a partir da absorvância em triplicado e as unidades formadoras de colónias (CFU) Foi calculada a média em duplicado e comparadas com culturas de controlo por análise de variância com um $P < 0,05$, teste de Dunnett utilizando o-T (2-lado) com o pacote de estatística SPSS para Windows versión 2007.

RESULTADOS

Identificação de grupos funcionais nos extractos etanólicos de *C. texana* resultados de testes químicos para identificar os grupos funcionais e metabolitos secundários presentes nos extractos de metanol de folha, caule, raiz e casca de *C. texana* são apresentados na Tabela 2.

Tabla 2

Grupos funcionales y metabolitos secundarios presentes en los extractos metanólicos de tallo, hoja y corteza de *Castela texana*

Grupo funcional	Pruebas	Tallo	Hoja	Corteza
Insaturaciones	KMnO ₄	-	+	-
Grupo carbonilo	2,4-Dinitrofenilhidracina	+	+	+
Oxhidrilos fenólicos	FeCl ₃	+	+	-
Esteroles y triterpenos	Liebermann-Burchard	+		
	Salkowski	+	+	+
Carbohidratos	Molish	+	+	+
	Cumarinas	+	-	+
Lactonas	Lactonas	+	+/-	+
Sesquiterpenlactonas	Baljet	A + B+	A - B-	A - B+
Flavonoides	H ₂ SO ₄	Flavonas	Flavonas	Flavonas
Alcaloides	Dragendorff	A +	A -	A +
Saponinas	Bicarbonato de Sodio	+	+	+
	Salkowski	+/-	+/-	+
Aromaticidad	Ácido Sulfúrico-formaldheído	+	+	+

Bioensayo de toxicidad sobre nauplios de *Artemia salina*: A actividade tóxica do etanol extraí caule, raíces, cascas e folhas de *C. texana* foi avaliada em *A. salina* nauplii. Com os

resultados a DL50 (Dose Letal) de cada um dos extractos, o ensaio com base na análise de Probit foi concebido usando a versão 17 do programa SPSS foi calculada.

Na Figura 1 os resultados obtidos para a actividade de *Artemia salina* letalidade para cada um dos extractos, uma actividade tóxica marcado foi observada em *A. salina* é porque os extractos mostraram doses mais baixas de 500 µg/mL.

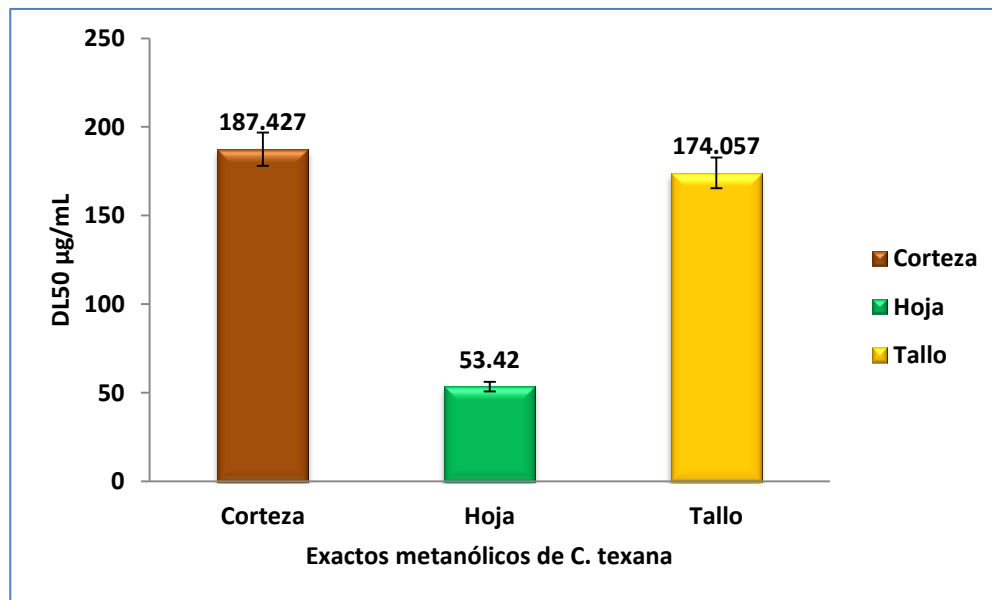


Figura. 1. Comparación del potencial tóxico de los extractos metanólicos de corteza, hoja y tallo de *C. texana* sobre *A. salina*

Cinética de crecimiento: A cinética de crescimento de bactérias isoladas a partir de pacientes com gengivite mostrados na Figura 2, em que se observa uma fase de latência longa, durante a primeira hora, seguido por um crescimento logarítmico de las 10 h a 25 h. A fase estacionária é tipicamente observado, quer a fase de morte, como se observa o crescimento de bactérias esta era muito lenta. Cada ponto traçado representa a média de leitura triplicado de sete tubos.

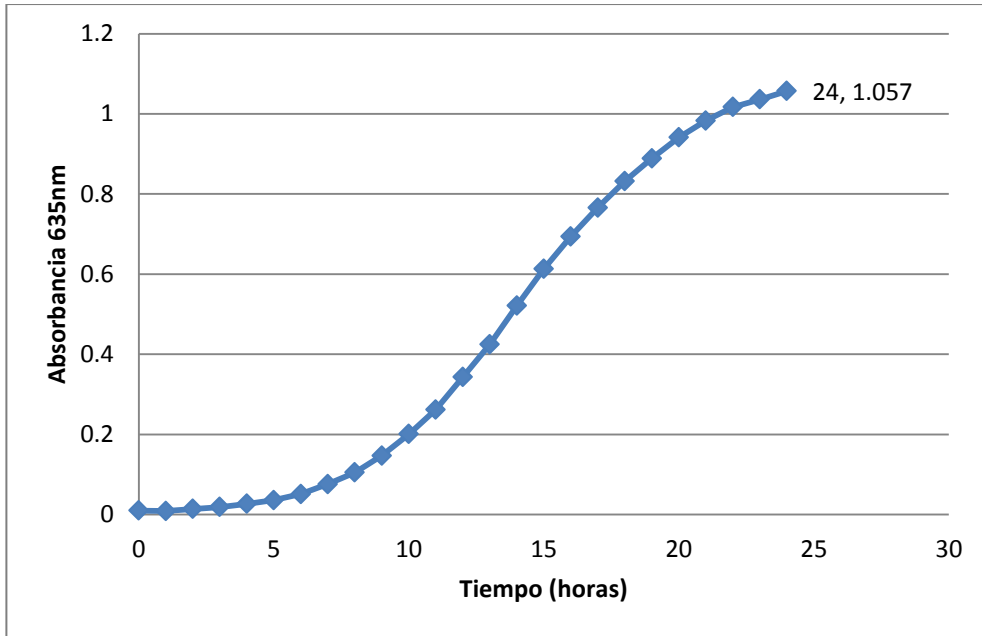


Figura 2. Cinética de crecimiento de la bacteria aislada de paciente con gingivitis, se observa que a las 24 h presenta el máximo rendimiento celular.

As cinéticas de crescimento das bactérias isoladas a partir de um paciente com a cárie dentária é mostrado na Figura 3. Pode observar-se um longo período de adaptação durante as primeiras horas, e em seguida, um crescimento logarítmico de 10 h a 18 h. Além disso, uma fase estacionária normal, e esta cinética seja a fase de morte observada uma vez que o crescimento da bactéria era também um pouco lento. Cada ponto traçado representa a média de leitura triplicado de sete tubos.

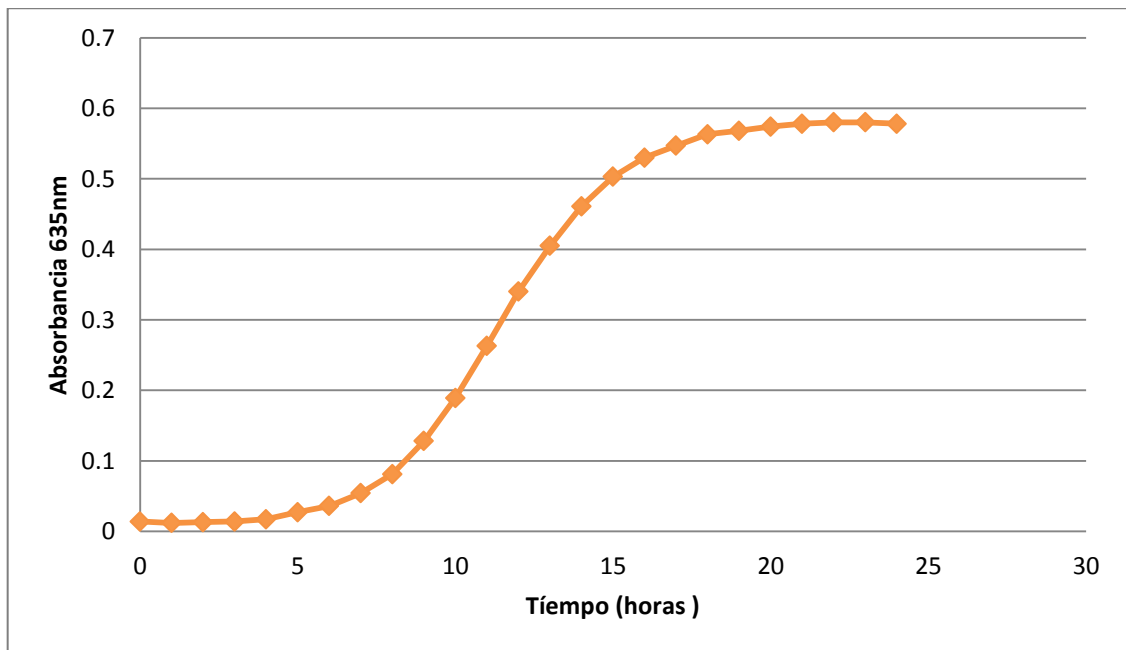


Figura 3. Cinética de crecimiento de la bacteria aislada de paciente con caries dental. Aproximadamente en las 18 hs se observa el máximo rendimiento celular.

Identificação de bactérias associadas com a doença cárie e gengivite: Uma vez isolados e a cinética de crescimento de cada bactéria a partir de culturas estabelecidas a partir de gengivite / ou cáries dentárias, e testes bioquímicos para identificação parcial da amostra isolamento bacteriano. A morfologia indica a presença de cocos em cadeias e coloração de Gram observado vermelho, isto é, são gram (-), o melhor rendimento celular foi obtida sob condições de microaerofílicas e testes bioquímicos indicam que ambas as bactérias são *Streptococcus sp.*

A atividade biológica do extrato etanólico da casca, folhas e caules de *C. texana* em bactérias associadas com a doença cárie e gengivite

Método de turbidimetria: Ao avaliar a actividade biológica dos extractos etanólicos de casca, folhas e caules de *C. texana* em bactérias gengivite relacionado (Figura 4) e cáries dentárias (Figura 5), observou-se uma inibição marcada do desempenho da célula de bactérias em pacientes asilo com gengivite e cárie dentária. Este extracto de metanol na presença de caule, raiz, folhas e casca de *C. texana*, utilizando 0,1 mg / mL, 1 mg / ml e 10mg / ml de extracto, bactericidas resultados que indicam a capacidade de estes extractos sobre as bactérias acima.

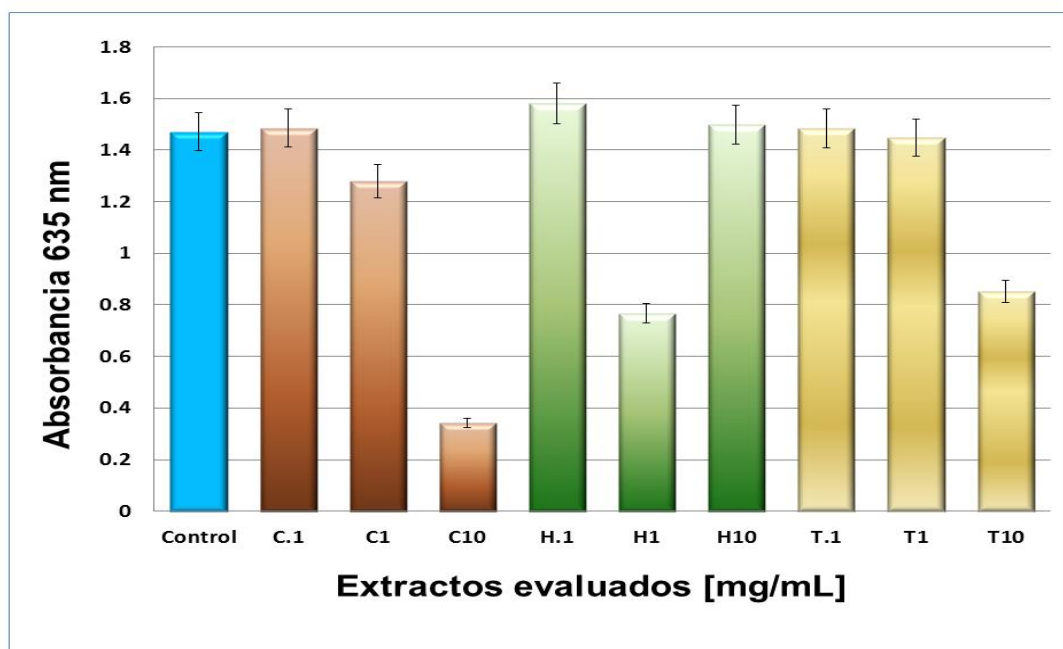


Figura 4. Gráfico que compara a actividade biológica dos extractos de *C. texana* em bactérias relacionadas a gengivite (C=corteza, H=hoja y T=tallo).

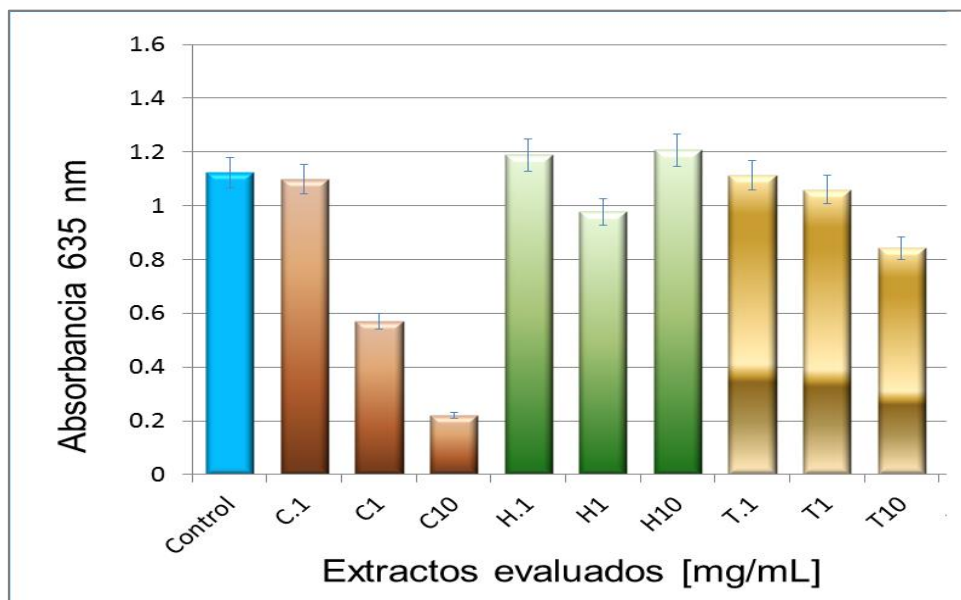


Figura 5. Actividad biológica de los extractos de *C. texana* sobre bacterias relacionadas con caries dental (C=corteza, H=hoja y T=tallo).

Técnica de Recuento bacteriano en Placa (UFC/mL): O método directo de quantificar a actividade biológica dos extractos de metanol de *C. texana* em bactérias associadas com a gengivite e cárie dentária (Tabela 3) foi determinada pela técnica de contagem de placa (RBP) para determinar unidades formadoras de colónias.

Tabla 3

Determinación de las UFC/mL de bacterias relacionadas con gingivitis y caries dental cultivadas en presencia de extractos metanólicos de *Castela texana*

	Control	Extracto metanólico de <i>C. texana</i>								
		Corteza			Hoja			Tallo		
		0.1*	1*	10*	0.1*	1*	10*	0.1*	1*	10*
Gingivitis	830,000,000	I	6,850,000	490,000	299,550	210,000	380,000	I	3,200,000	8,650,000
Caries	178,000,000	I	179,500	I	89,000	32,500	7,900	I	I	245,000

* mg/mL I=Incontable

DISCUSSÃO

Neste trabalho é avaliada a filtragem de produtos químicos de Castela planta texana e a determinação da actividade biológica dos extractos de metanol sobre o cultivo de bactérias relacionadas com a cárie dentária e gengivite. Os resultados dos testes de extractos de metanol coloridos da folha, caule, raiz e casca de *C. texana* indica a presença dos seguintes metabólitos secundários: para a folha insaturada foi o único resultado positivo neste teste, enquanto outros vieram teste negativo em flavonóides em folha era o único diferente dos outros foi com uma pontuação de flavonas, enquanto outras partes de *C. texana* contêm flavonas. Como aromaticity, todos foram positivos para este teste; teste em hidratos de carbono, Molish teste na folha e da raiz foram negativas, enquanto os outros testes para detectar os hidratos de carbono foram positivas (Tabela 2).

Na avaliação da atividade tóxica dos extratos metanol do caule, casca, raízes e folhas de *C. texana* em *A. salina nauplii*, notamos que o extrato da folha de *C. texana* tem uma DL50 53,42 ug / mL em Um . solução salina, o que indica uma actividade tóxica elevado em comparação com o resto dos extractos (Figura 1). O extrato de casca de metanol teve o menor DL50, com 187 427 mg / mL, o que indica que mostraram menos atividade tóxica contra *A. salina* Vale ressaltar que o valor mínimo eo valor máximo para o DL50 correspondem aos extratos de folhas *C. casca* e *Texas*, no entanto, a variante do casquilho é utilizado para a extracção, o que indica que cada um dos compostos tem o arbusto diferentes.

Como para a actividade antibacteriana, procedeu-se para determinar a inibição por absorvância e CFU sobre o crescimento de bactérias relacionadas com a cárie dentária e gengivite. Foram avaliados apenas os extractos de metanol de folha, caule e casca de *C. texana* em diferentes concentrações, o extrato selecionado para realizar esta avaliação da atividade antibacteriana, já que este tipo de extração pode extrair mais compostos de cada amostra de planta.

Os resultados indicam que o extracto de metanol de *C. texana* folha concentração de 1 mg / mL, as culturas inibiu ambas as bactérias isoladas de cárie dentária e gengivite em 80% e 78%, respectivamente, mostrando maior inibição extracto *C. folha texana* nas bactérias associadas com a gengivite. Além disso, a actividade antibacteriana de extracto de metanol de folha foi maior no Texas Castela bactérias relacionadas cárie dentária (Tabela 3).

Bush, avaliados neste estudo, não são amplamente relatados trabalho apenas a atividade amoebicidal dos extratos de *C. texana* de inibir in vitro o crescimento de *E. histolytica* e *Entamoeba* inibir invadens encistamento (Calçado et al. , 2007), que também tem sido relatada a inibição in vitro enquistamiento axénica a *E. histolytica* (Barron et ai, 2007).

Extrair a folha metanólico *C. Texas* teve a maior atividade antimicrobiana, no entanto, também teve o maior potencial tóxico do modelo de estudo biológico (*Artemia salina*). Esta toxicidade é diferente da encontrada em modelos murinos, não toxicidade relatada (Calçado et ai, 1998). O potencial de toxicidade indicam que não é a melhor escolha para obter estudo de metabolitos com actividade bactericida, então concluiu-se que a melhor opção para estudar bactérias associadas com gengivite é o extracto de casca de metanol, e bactérias relacionadas à cárie dentária, o extrato do caule, que, respectivamente, têm a maior atividade bactericida e menor potencial tóxico de *Artemia salina*.

Os extractos com actividade antibacteriana pode ser utilizada em pesquisas futuras destinado a inibir o crescimento tanto de bactérias que causam a cárie dentária e gengivite.

CONCLUSÕES

O extracto de etanol de casca de *C. texana* tem baixo potencial tóxico de *A. salina* e tem a maior actividade inibidora do crescimento de bactérias associadas com a gengivite.

Melhor extracto de metanol para inibir o crescimento de bactérias relacionadas com a cárie dentária é a de extracto de metanol a haste porque tem baixo potencial tóxico de *Artemia salina*.

BIBLIOGRAFIA

Beg, A. (2000). Effect of *Plumbago zelanica* extract and certain curing agent on multidrug resistant bacterias of clinical drugs. *Word Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 841-864.

Calzado-Flores, C. (1998). In vitro anti-trichomonic activity of *Castela texana*. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 41, 173-174.

Caton J., (1988). Cell populations associated with conversion from bleeding to non bleeding gingiva. *Journal of Periodontology*. 59, 7-10.

Domínguez X.A. (1973). Métodos de Investigación Fitoquímica. México: Ed. Limusa.

Hernández G. (1998). Cuide su boca. España:Editorial Everest.

Kalemba, D. & A. Kunicka., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Journal of Microbiology*. 10(10), 813-829.

Murayama, Y., Kurihara, H., & Nagai, A. (2000). Acute necrotizing ulcerative gingivitis: Risk factors involving host defense mechanisms. *Periodontol*. 6, 116-124.

Prieto-Prieto J, & Calvo. A., (2004). Bases microbiológicas en las infecciones bucales y sensibilidad en los antibióticos. *Medical Oral Patology*. 9, 8 - 11.

Rodríguez Calzadilla A. (1997). Enfoque de riesgo en la atención estomatológica risk approach in dental care. *Revista Cubana Estomatológica*. 34(1), 40-49