

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Odontología
Escuela Profesional de Odontología



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE
CURCUMA LONGA LINN AL 4, 8, 12 Y 16% SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA
EN ALUMNOS DEL X SEMESTRE DEL CENTRO ODONTOLÓGICO DE LA
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA. AREQUIPA – 2018.**

Tesis presentada por la Bachiller
Bravo Oviedo, Diana Jimena

para optar el Título Profesional de
Cirujano Dentista

Asesora: Dra. Salas Rojas, Mónica.

Arequipa - Perú

2019



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ ucsm@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe Apartado:1350

AREQUIPA - PERÚ

DR.(A) EDITH CHÁVEZ OBLITAS

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 048

Vista la solicitud que presenta don (ña) **DIANA JIMENA BRAVO OVIEDO** sobre el dictamen de la Tesis titulada **"EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA CÚRCUMA LONGA LINN SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA DE ALUMNOS DEL X SEMESTRE DEL CENTRO ODONTOLÓGICO, AREQUIPA 2018"** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) EDITH CHÁVEZ OBLITAS
DR.(A) VÍCTOR NÚÑEZ CHAVEZ
DR. (A) RUTH ALVAREZ MONGE

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Herbert Gallegos Vargas
DR. HERBERT GALLEGOS VARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 09 DE JULIO del 2019

INFORME

Habiendo revisado el trabajo de Investigación presentado por la Sra. Boletilla Diana Jimena Bravo Oviedo habiéndole indicado sus observaciones y siendo estas corregidas se da paso para que siga el trámite respectivo.

Edith Chávez Oblitas

Arequipa, 2019 *Julio 18*



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ucsm@ucsm.edu.pe 🌐http://www.ucsm.edu.pe Apartado:1350

AREQUIPA - PERÚ

DR.(A) VÍCTOR NÚÑEZ CHÁVEZ

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 048

Vista la solicitud que presenta don (ña) **DIANA JIMENA BRAVO OVIEDO** sobre el dictamen de la Tesis titulada **"EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA CÚRCUMA LONGA LINN SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA DE ALUMNOS DEL X SEMESTRE DEL CENTRO ODONTOLÓGICO, AREQUIPA 2018"** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) EDITH CHÁVEZ OBLITAS
DR.(A) VÍCTOR NÚÑEZ CHAVEZ
DR. (A) RUTH ALVAREZ MONGE

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DR. HERBERT BALLEGOS VARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 09 DE JULIO del 2019

INFORME

SR. Decano:

Habiendo revisado el presente borrador de Tesis se recomienda:
corregir: Título, Variables, Interrogante, Justificación, Objetivos,
Antecedentes, Hipótesis y algunos Taxonomía de la investigación. Atte. *[Firma]*

SR. Decano:

Habiéndose hecho las correcciones indicadas, se emite "Dictamen Favorable" para que siguiendo el Trámite correspondiente, pueda proceder a la Sustentación. Atte. *[Firma]*

Arequipa, 2019 29 de Agosto.



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ucsm@ucsm.edu.pe 🌐http://www.ucsm.edu.pe Apartado:1350

AREQUIPA - PERÚ

DR.(A) RUTH ALVAREZ MONGE

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 048

Vista la solicitud que presenta don (ña) **DIANA JIMENA BRAVO OVIEDO** sobre el dictamen de la Tesis titulada **"EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA CÚRCUMA LONGA LINN SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA DE ALUMNOS DEL X SEMESTRE DEL CENTRO ODONTOLÓGICO, AREQUIPA 2018"** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra SEGUNDO Y TERCER JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR.(A) EDITH CHÁVEZ OBLITAS
DR.(A) VÍCTOR NÚÑEZ CHAVEZ
DR. (A) RUTH ALVAREZ MONGE

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DR. ROBERTO BALLEGOS VARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

Arequipa, 09 DE JULIO del 2019

INFORME

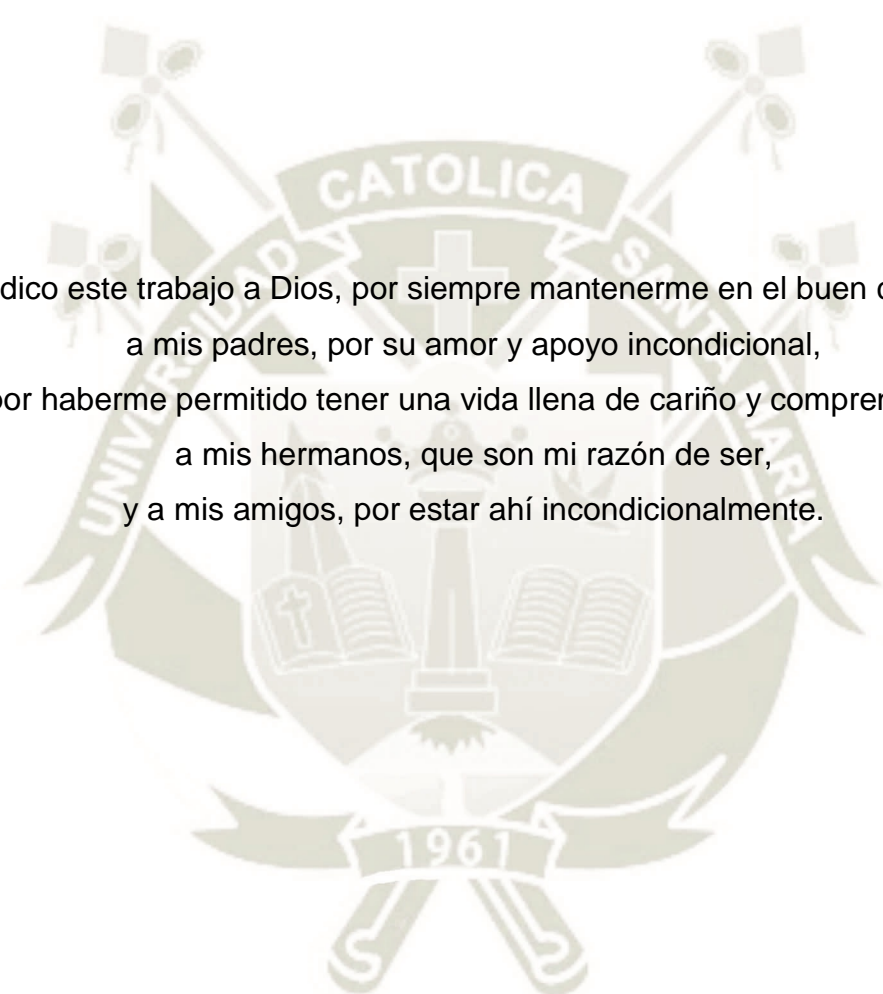
16-07-19 En presencia de la interesada se revisa el borrador de Tesis y se sugiere cambio en el título de "Efectividad por Actividad" se solicita corregir resultados y mejorar introducción y resumen.

29-07-19- Realizo levantamiento de correcciones y repite
'prueba para verificación de resultados'

10-08-19. Se corrige los Resultados y se ordenan los mismos de acuerdo a objetivos

29-08-19 Realizados todos la correcciones se da
pase para sustentación.

Arequipa, 2019 Agosto 2019.



Dedico este trabajo a Dios, por siempre mantenerme en el buen camino,
a mis padres, por su amor y apoyo incondicional,
por haberme permitido tener una vida llena de cariño y comprensión,
a mis hermanos, que son mi razón de ser,
y a mis amigos, por estar ahí incondicionalmente.

INTRODUCCIÓN

La complejidad de la ecología microbiana oral es magnificada por el hecho de que la boca también posee otras superficies, como mucosa bucal y vestibular, paladar duro, lengua y piso de la boca, que constituyen hábitats únicos para la colonización microbiana. También ocurren considerables fluctuaciones en los parámetros ambientales orales, como temperatura, disponibilidad de oxígeno, pH y composición de los constituyentes alimentarios y exposición a ellos.

Por último, los tejidos bucales están bañados por saliva, la cual es un limpiador físico debido a sus efectos de flujo y dilución, así como los factores de defensa inmunitarios y no inmunitarios que contiene y que juntos tienen profundos efectos en la ecología microbiana.

Ante la presencia de tan variados microorganismos en el hábitat de la cavidad oral, y la incesante búsqueda por disminuir sus efectos adversos en la población, en el año 2000, la Organización Mundial de la Salud (OMS) vio por conveniente y necesario el incorporar los usos y técnicas de la medicina tradicional a la salud pública. Con este método, se buscaba contribuir a la solución del problema mediante terapias naturales frente a enfermedades.

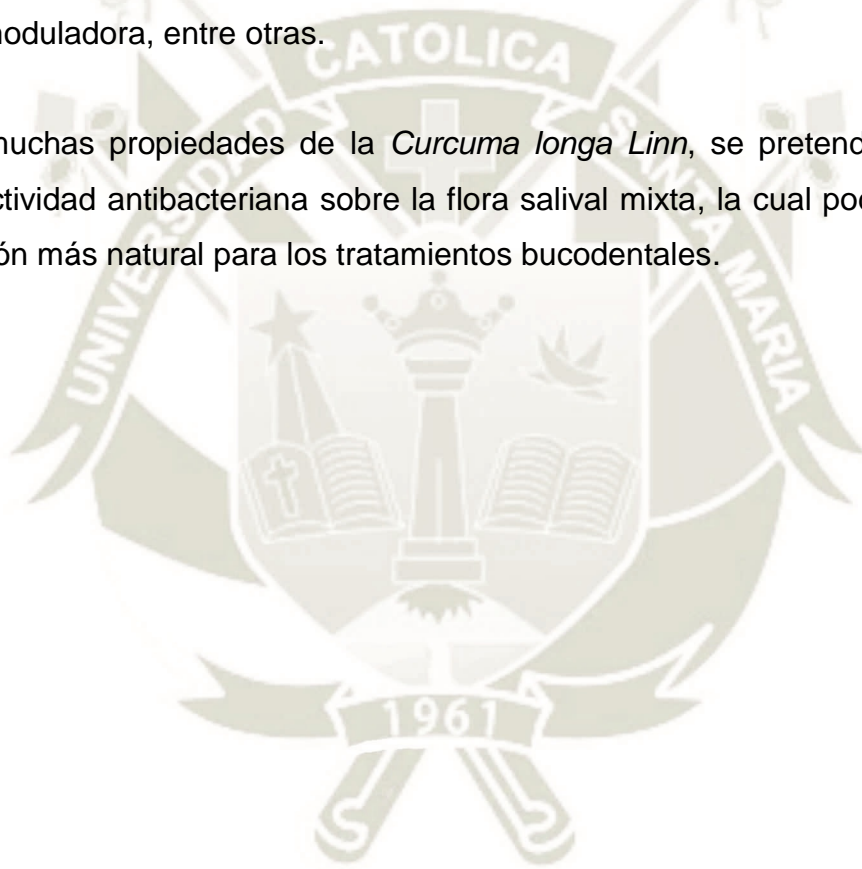
Las plantas medicinales fueron los primeros medicamentos que utilizaron los humanos para curar sus enfermedades. Su uso aún está vigente, y dichas plantas contienen muchas veces principios activos que son utilizados en la formulación de medicamentos en laboratorios farmacéuticos.

En este rubro cabe destacar el ingreso de la fitoterapia, que a través de extractos naturales de plantas, alimentos y elementos nutritivos, demuestra sus propiedades curativas.

En nuestro país, el estudio y utilización masiva de manera empírica de las plantas medicinales es vasto, pero desde un enfoque científico está limitado, por lo que es necesario contribuir a la investigación y posterior difusión de sus propiedades.

La *Curcuma longa Linn*, familia de las Zingiberáceas, es usualmente conocida por su alta actividad antiinflamatoria, pero se debe recordar que no es su única propiedad, ya que posee propiedad antioxidante, hepatoprotectora, neuroprotectora, antiprotozoaria, nematocida, antibacteriana, antiveneno, inmunomoduladora, entre otras.

De las muchas propiedades de la *Curcuma longa Linn*, se pretende conocer si posee actividad antibacteriana sobre la flora salival mixta, la cual podría significar una opción más natural para los tratamientos bucodentales.



RESUMEN

El propósito de este estudio fue demostrar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de la *Curcuma Longa Linn* frente a los microorganismos presentes en la flora salival.

La investigación tuvo como muestra la flora salival de estudiantes del X Semestre de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica de Santa María. El método utilizado para su tratamiento fue Kirby Bauer, con discos de inhibición del extracto alcohólico de cúrcuma, en concentraciones de: 4%, 8%, 12% y 16%. Se utilizaron como control positivo clorhexidina al 2% y control negativo solución salina al 0.09% (suero fisiológico).

Se obtuvieron resultados de los promedios de las medidas de halos de inhibición para el extracto alcohólico de cúrcuma: al 4% 7.588mm, al 8% 7.763mm, al 12% 8.163mm y al 16% 8.463mm, para el control negativo de solución salina al 0.09%: 6mm, y el control positivo de clorhexidina al 2%: 18.475mm.

Estadísticamente se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$). entre las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn*, de mayor halo obtenido en la concentración al 16%, seguida del 12%. Las otras concentraciones no tuvieron mayor relevancia.

De este modo se concluye que el extracto alcohólico de *Curcuma Longa Linn* no posee actividad antibacteriana frente a los microorganismos de la flora salival mixta.

Palabras clave: Cúrcuma longa, flora salival, halo de inhibición, sensibilidad, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

The purpose of this study was to demonstrate the antibacterial activity of the alcoholic extract of *Curcuma Longa* Linn against the pathogen microorganisms at the salivary flora.

The investigation had as sample the salivary flora of the students of X semester of Dentistry of the Catholic University of Santa María- the method used for its treatment was Kirby Bauer, with discs of inhibition of the curcuma alcoholic extract at concentrations of 4%, 8%, 12% and 16%. The positive control was chlorhexidine at 2% and negative control was saline solution at 0.09% (physiological serum).

The results obtained were averages of measures of inhibition halos for the curcuma alcoholic extract: at 4% 7.588mm, at 8% 7.763mm, at 12% 8.163mm, and at 16% 8.463mm, for the negative control of saline solution at 0.09%: 6mm, and the positive control with chlorhexidine at 2%: 18.475mm.

Statistically it was found significant difference ($P < 0.05$) between the different concentrations of the alcoholic extract of *Curcuma longa* Linn, with the highest halo obtained with the 16% concentration, followed by 12%. The other concentrations had no greater relevance.

In this way, it concludes that the alcoholic extract of *Curcuma longa* Linn doesn't have antibacterial activity against microorganisms of the mixed salivary flora.

Key words: cúrcuma longa, salivary flora, inhibition halo, sensibility, antibacterial activity.

INDICE

INTRODUCCIÓN	I
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO TEÓRICO	1
1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1.1. Determinación del problema	2
1.1.2. Enunciado del problema	2
1.1.3. Descripción del problema	3
1.2. JUSTIFICACIÓN	4
1.2.1. Relevancia científica	4
1.2.2. Relevancia contemporánea	5
1.2.3. Relevancia social	5
1.2.4. Viabilidad	5
1.2.5. Utilidad	5
1.2.6. Interés personal	5
1.3. OBJETIVOS	5
1.3.1. Objetivo General	5
1.3.2. Objetivos específicos	6
1.4. ANTECEDENTES	6
1.4.1. ANTECEDENTES LOCALES	6
1.4.2. ANTECEDENTES NACIONALES	7
1.4.3. ANTECEDENTES INTERNACIONALES	8
1.5. MARCO TEÓRICO	9
1.5.1. CURCUMA LONGA LINN	9

1.5.1.1. Composición Fitoquímica	11
1.5.1.2. Cinética y Metabolismo del Curcumin	13
1.5.1.3. Propiedades	14
1.5.1.4. Toxicidad.....	20
1.5.2. MICROBIOLOGÍA ORAL	20
1.5.2.1. Introducción.....	20
1.5.2.2. Características generales del Ambiente Oral	22
1.5.2.3. Saliva y su interacción con microorganismos.....	24
1.5.2.4. Desarrollo de la flora bucal.....	27
1.5.2.5. Parámetros que afectan la colonización microbiana oral	28
1.6. HIPÓTESIS	30
CAPÍTULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL	31
2.1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN	32
2.1.1. Técnicas	32
2.1.2. Instrumentos	35
2.1.3. . Diseño investigativo	36
2.1.4. Campo de verificación	37
2.1.5. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN.....	38
2.1.6. ESTRATEGIA PARA MANEJAR RESULTADOS	39
CAPÍTULO III RESULTADOS	41
RESULTADOS	42
DISCUSIÓN.....	50
CONCLUSIONES	52
RECOMENDACIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54

INFOGRAFÍA.....	54
ANEXOS	57
FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO EN LABORATORIO	64
RESULTADOS.....	75





CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1.1. Determinación del problema

Las plantas medicinales fueron los primeros medicamentos que utilizaron los humanos para curar sus enfermedades. Su uso aún está vigente, y dichas plantas son muchas veces componentes esenciales en los medicamentos realizados en laboratorios farmacéuticos.

En nuestro país, la utilización empírica de las propiedades de las plantas medicinales es masiva, pero es necesario contribuir a la investigación y posterior difusión científica de tan accesibles productos.

La *Curcuma longa L.* pertenece a la familia de las Zingiberáceas y posee origen asiático. Su rizoma es usado como especia, considerada en la cultura asiática como una planta mágica por poseer propiedades terapéuticas y protectoras a nivel hepático y cutáneo, además de sus características organolépticas. La raíz contiene el polifenol natural curcumin (ácido turmérico), además de un aceite esencial en el parénquima cortical, rico en sesquiterpenos, monoterpenos e hidrocarburos terpénicos.

En la actualidad, muchos arequipeños no poseen los recursos suficientes para obtener un buen cuidado bucal, tanto por el profesional como la higiene personal que es necesaria. Por ende, no existe un producto accesible para la población que permita un ecosistema bucal favorable para el paciente. Como consecuencia de este problema, se busca integrar a la sociedad una opción innovadora al alcance de toda la población.

1.1.2. Enunciado del problema

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA *CURCUMA LONGA LINN* AL 4, 8, 12 Y 16% SOBRE LA FLORA SALIVAL MIXTA EN ALUMNOS DEL X SEMESTRE DEL CENTRO ODONTOLÓGICO DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA. AREQUIPA – 2018.

1.1.3. Descripción del problema

1.1.3.1. Área del conocimiento

Área general : Ciencias de la Salud
 Área específica : Odontología
 Especialidad : Microbiología
 Tópico : Fitoterapia

1.1.3.2. Análisis de variables

Variable Independiente
Extracto alcohólico de <i>Curcuma longa</i> Linn al 4, 8, 12 y 16%

Variable Dependiente	Indicadores
Flora salival mixta	Sensibilidad nula
	Sensibilidad límite
	Sensibilidad media
	Sensibilidad alta

1.1.3.3. Interrogantes básicas

- a) ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 4% de la *Curcuma longa* L. sobre flora salival mixta a las 24 horas?
- b) ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 8% de la *Curcuma longa* L. sobre flora salival mixta a las 24 horas?
- c) ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 12% de la *Curcuma longa* L. sobre flora salival mixta a las 24 horas?
- d) ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 16% de la *Curcuma longa* L. sobre flora salival mixta a las 24 horas?

e) ¿Cuál de las concentraciones investigadas posee mayor actividad antibacteriana frente a flora salival mixta?

1.1.3.4. Taxonomía de la investigación

Abordaje	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Por la técnica de recolección	Por el tipo de dato que se planifica recoger	Por el número de modificaciones de la variable	Por el número de muestras o poblaciones	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Longitudinal	Descriptivo	Laboratorial	Experimental	Cuasi-Experimental

1.1.3.5. Tipo de investigación

De campo – Laboratorial

1.1.3.6. Nivel investigativo

Investigación cuasi – experimental

1.2. JUSTIFICACIÓN

Este estudio es realizado con el objetivo de hallar la probabilidad de actividad antibacteriana en las concentraciones de 4, 8 ,12 y 16% del extracto alcohólico de la *Curcuma longa Linn*. De esta manera, se busca encontrar una nueva fuente antibacteriana para combatir los problemas bucodentales.

1.2.1. Relevancia científica

Ya que permite ampliar los conocimientos en cuanto a la aplicación de fitoterapia en el ámbito odontológico, con el fin de demostrar las propiedades antibacterianas de *Curcuma longa L.* sobre flora salival mixta.

1.2.2. Relevancia contemporánea

Ya que busca mejorar la higiene bucal de la población con un producto bastante conocido en otros campos, pero aún no utilizado en el ámbito odontológico.

1.2.3. Relevancia social

Debido a que permite la posible adquisición de un componente antibacteriano de fácil uso y acceso para la mayoría de la población arequipeña.

1.2.4. Viabilidad

Se trata de una investigación viable, ya que se posee la disponibilidad de unidades de estudio, recursos tales como infraestructura, equipos y materiales, así como el conocimiento y tiempo necesarios para su realización.

1.2.5. Utilidad

Permitirá al investigador poseer un instrumento de fácil acceso para realizar un producto de cuidado oral al alcance de toda la población, con características que beneficien la salud bucal.

1.2.6. Interés personal

Por medio de la presente investigación, se busca conseguir el título profesional de Cirujano Dentista.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

Determinar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de la *Curcuma longa Linn* sobre flora salival mixta.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 4% de la *Curcuma longa Linn* sobre flora salival mixta a las 24 horas.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 8% de la *Curcuma longa Linn* sobre flora salival mixta a las 24 horas.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 12% de la *Curcuma longa Linn* sobre flora salival mixta a las 24 horas.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 16% de la *Curcuma longa Linn* sobre flora salival mixta a las 24 horas.
- Comparar la efectividad antibacteriana del extracto alcohólico de la *Curcuma longa Linn* al 4%, 8%, 12% y 16% en cada control: positivo y negativo.

1.4. ANTECEDENTES

1.4.1. ANTECEDENTES LOCALES

- “Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Curcuma longa L.* (palillo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*”

Autores: Espinoza Gómez Angelina Viviana, La Fuente Ríos Kevin Karl.
Arequipa – 2017

Con 27 cepas de los diferentes microorganismos recolectadas de hospitales de la región, se procedió a evaluar el efecto antimicrobiano de la *Curcuma longa L.* Por el método de dilución en tubo. Los resultados obtenidos fueron de CIM 3.83mg/ml para *S. aureus*, 31.11 mg/ml para *E. coli* y 27.78 mg/ml para *C. albicans*. En cuanto a la CBM, para *S. aureus* se obtuvo un valor de 5.00 mg/ml, para *E. coli* 41.11 mg/ml y para *C. albicans* 27.78 mg/ml. Se concluyó que el extracto etanólico de *Curcuma longa L.* tiene efecto antimicrobiano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* (1).

1.4.2. ANTECEDENTES NACIONALES

- “Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de *Curcuma longa* (Guisador), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*”

Autores: Velasco Chong Jonás Roberto, Navarro Navarro Pedro Aldo. Iquitos – 2013.

La muestra fue recolectada en la comunidad Nina Rumi (Maynas), para su identificación taxonómica y screening fitoquímico, evidenciando presencia de fenoles, mucílagos, almidón, aceite esencial, entre otros. Para el estudio de la actividad antibacteriana se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, para posteriormente encontrar la CIM por macrodilución. Los resultados fueron de CIM para *E. coli* de 16mg/ml y para *S. aureus* de 8 mg/ml, concluyendo que el extracto es inactivo y poco activo respectivamente para dichas bacterias (2).

- “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Curcuma longa* L. sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, comparada con oxacilina, estudio in vitro.”
Autor: Mego Terrones Walter. Trujillo – 2019.

Se procedió a la determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico obtenido de los rizomas de *Curcuma longa* L frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante el método de Kirby Bauer. Se utilizaron 10 placas Petri con dichas cepas y discos de inhibición con extracto al 100 y 75%, así como oxacilina como control positivo. Los resultados obtenidos indicaron que el extracto etanólico al 100% mostraba un halo de inhibición promedio de 18.10mm, mientras que al 75% presentó 15.20mm. el control positivo de oxacilina mostró un promedio de 40.70mm. Se concluye que el extracto etanólico de *Curcuma longa* L. tiene menor efecto antibacteriano que la oxacilina sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (3).

- “Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Curcuma longa L.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.”

Autores: Puente Contreras Ema Edith, Torres Casanova Shirley Jeanette.
Lima – 2018.

Mediante el método de macrodilución, se busca determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Curcuma longa L.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados de la CIM del extracto etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (kion) fue de 2.34 mg/ml, mientras que para la *Curcuma longa L.* (palillo) fue de 1.17 mg/ml. De este modo se concluye que ambos extractos poseen actividad antibacteriana (4).

1.4.3. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

- “Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rossmarinus Officinalis*), tomillo (*Thymus Vulgaris*) y cúrcuma (*Cúrcuma Longa*) de Colombia”

Autores: Coy Barrera C. y Acosta G. 2013

Estudiaron la composición química por cromatografía gaseosa-espectrometría de masa de tres aceites esenciales extraídos de romero, tomillo y cúrcuma, para luego evaluarlos frente a dos cepas grampositivas y dos cepas gramnegativas. En el estudio in vitro de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales, la cepa *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo más sensible con un porcentaje considerable (5).

- “Evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de jengibre (*Zingiber officinale*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 12600”

Autor: Vera Castro Jhoana Marianela. Cuenca – Ecuador. 2018.

El estudio se basó en la evaluación de las características físico-químicas de los aceites esenciales, comparación de la actividad antimicrobiana mediante

prueba de discos y determinación de la CIM. Para ambos aceites esenciales se utilizaron concentraciones de 25, 50 y 100%, con control positivo de vancomicina 30mg y control negativo agua destilada. El mayor porcentaje de inhibición fue obtenido para el 100% del aceite esencial de cúrcuma (7.56mm) y el 50% del aceite esencial de jengibre (7.11mm). Para determinar la CIM se utilizó el método de doble dilución, con resultados de CIM al 0.31% para Curcuma y 1.25% para jengibre. Se concluye que los aceites esenciales de *Zingiber officinale* y *Curcuma longa* poseen propiedades antimicrobianas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 (6).

- “Estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa* L.”

Autores: Torres R. Eugenio, Moreno S. Rogelio, Tamayo V. Yosel, Hermosilla E. Robinson, Guillén G. Sonia. Cuba – 2014.

Luego de probar diversos métodos para la extracción del aceite esencial de la *Curcuma longa* L., se concluyó que la hidrodestilación es la más eficiente. Dicho aceite fue evaluado frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. Los resultados obtenidos en cuanto a CBM fueron de 128 ug/ml para *Escherichia coli*, 64 ug/ml para *Pseudomonas aeruginosa*, 32 ug/ml para *Staphylococcus aureus* y 8 ug/ml para *Bacillus subtilis*. De esta forma se concluye que el aceite esencial posee actividad antibacteriana frente a dichos microorganismos, siendo más promisorio frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* (7).

1.5. MARCO TEÓRICO

1.5.1. CURCUMA LONGA LINN

La *Curcuma longa* Linn pertenece a la familia de las Zingiberáceas y posee origen asiático. Su rizoma es usado como especia, considerada en la cultura asiática como una planta mágica por poseer propiedades terapéuticas y protectoras a nivel hepático y cutáneo, además de sus características

organolépticas. En la antigua Europa, se utilizaba como cura de la ictericia y fiebres biliares, por ser de color amarillo (8).

El rizoma de cúrcuma es el más utilizado y estudiado en la actualidad, buscando optimizar su actividad mediante sus principios activos y su mecanismo de acción. Entre sus componentes se encuentran: carbohidratos (4.7 – 8.2%), aceites esenciales (2.4 – 4.0%), ácidos grasos (1.7 – 3.3%), curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina – 2.0 – 5.0%), y otros polipéptidos como turmerina (0.1%) (8).

La sustancia que proporciona el color amarillo característico es la curcumina, uno de los ingredientes activos responsables de su actividad biológica. Su estructura y síntesis fueron determinadas en 1973 por Roughley y Whiting. Se derrite a temperaturas de 176-177°C y forma sales rojizas con álcalis. La curcumina es soluble en etanol, álcalis, cetona, ácido acético y cloroformo; y es insoluble en agua (9).

La medicina Ayurveda, sistema medicinal característico de la India antigua, utiliza la curcumina como antialérgico, antimicrobiano, estimulante, antiinflamatorio, cicatrizante, antioxidante, protector hepático, entre otras propiedades (10).

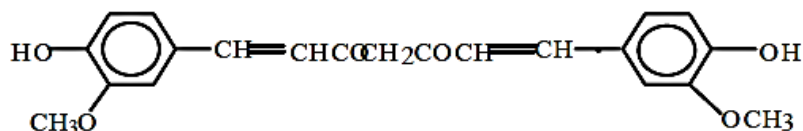


Imagen 1. Estructura química del curcumin según Roughley & Whiting (1973).

Fuente: Araújo y León. Biological activities of *Curcuma longa* L. 2001. (10)

Los compuestos fenólicos de la cúrcuma han sido centro de muchas investigaciones en el mundo por lo cual han sido extraídos, separados y analizados, por diferentes métodos como maceración-agitación, molienda agitación, agitación extracción asistida por microondas (MWHD) (9), cromatografía de capa delgada y columna (11) y cromatografía líquida de alta resolución (12). Ni et al. utilizó numerosos extractos, con diferentes concentraciones de solventes entre estos etanol, metanol, hexano, con el fin de encontrar sus principios, analizar sus actividades biológicas, optimizar su actividad y explicar sus mecanismos de acción (13).

De acuerdo con los parámetros de clasificación de alimentos propuestos por Harris et al, los rizomas de cúrcuma se clasifican como alimento energético. Además, cabe destacar que los porcentajes de proteína son muy similares a los valores promedio de los granos de arroz (8%) y trigo (14%) (10).

1.5.1.1. Composición Fitoquímica

La raíz contiene el polifenol natural curcumin (ácido turmérico), además de un aceite esencial en el parénquima cortical, rico en sesquiterpenos, monoterpenos e hidrocarburos terpénicos. Se debe saber que la proporción de los activos varía entre los rizomas frescos y secos (14).

Según Govindarajan, son 3 los pigmentos curcuminoideos: curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina, presentes en el rizoma en concentraciones de 60, 20 y 18% respectivamente. En la molécula del curcumin, la cadena principal es alifática, insaturada y el grupo arilo puede ser sustituido o no (10).

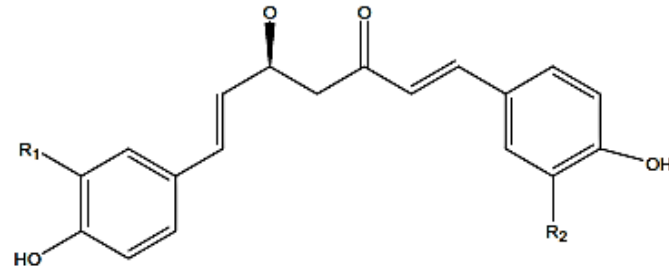


Imagen 2. Estructura de la curcumina.

Fuente: Bengmark, Mesa & Gil. Plant-delivered health – the effects of turmeric and curcuminoids. 2009. (15)

Componente	Investigador		
	PRUTHI (1980)	GONVIDARAJAN (1980)	FILHO & BOAS (1996)
Unidad	-	-	74.70
Proteína	-	6 a 11	11.68
Extracto etéreo	-	-	7.20
Almidón	24.40	30 a 50	35.30
Fibra	-	-	5.50
Cinzas	9.00	2 a 6	6.44
Azúcares reductores	-	-	1.25
Azúcares no reductores	-	-	0.57
Extracto no nitrogenado	-	-	69.17

Tabla 1. Composición centesimal de rizomas de cúrcuma.

Valores relativos a materia seca.

Fuente: Cecilio, Souza, Trevizan y Tavares. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. 2000. (16)

1.5.1.2. Cinética y Metabolismo del Curcumin

El curcumin es el componente principal de la *Curcuma longa* Linn, el cual posee alta tolerabilidad y gran variabilidad en su farmacocinética. Sufre metabolismo microbiano a nivel intestinal: la enzima curcumin reductasa NADPH-dependiente lo metaboliza en dos etapas de reducción: el producto intermedio es dihidrocurcumin y el producto final es tetrahydrocurcumin (17).

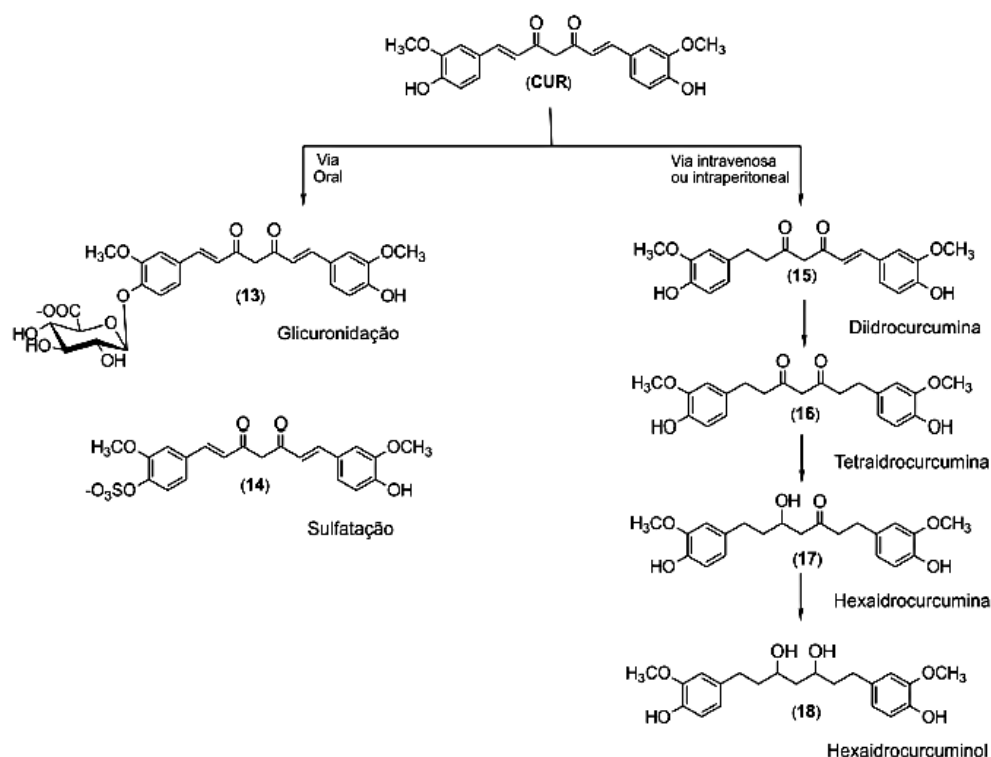


Imagen 3. Representación de los principales metabolitos de la curcumina formados en las diferentes vías de administración.

Fuente: Sueth-Santiago, Perón, Decoté-Ricardo & Freire de Lima. Curcumina, o pó dourado do acafrao-da-terra: introspeccoes sobre química e atividades biológicas. 2015. (18)

1.5.1.3. Propiedades

La población utiliza la cúrcuma popularmente como antiinflamatorio, antioxidante y para mejorar la indigestión por comidas grasas. Las pruebas in vitro mostraron actividades antiparasitaria, antiespasmódica y antiinflamatoria. También ha sido empleado como antiespasmódico, antimicrobiano, antimicótico, antitrombótico, contraceptivo, hipoglucemiante, hepatoprotector y estimulante del apetito. Además, según Goldberg, se adiciona en el tratamiento de pacientes con Alzheimer, HTA, epilepsia, hepatitis, asma bronquial, fibrosis quística, cálculo renal, catarata, lepra y esclerodermia; aparte de reducir edemas, hematomas y aumentar el número de espermatozoides (17).

a) Actividad antiinflamatoria

Hay una gran cantidad de artículos que hablan sobre los compuestos extraídos de la *Curcuma longa* L., los cuales son inhibidores de la inflamación. Estas sustancias son los curcuminoides, análogos de los diarilheptanoides. Hay dos tipos de inflamación a estudiar: la inflamación crónica, que se desarrolla en un período de tiempo, lo que indica la fase proliferativa; y la inflamación aguda, en los cuales se estudia el efecto de los agentes antiinflamatorios, probando su acción inhibidora (10).

Mukophadhyay y col.(1972) demostró la actividad de la curcumina y análogos semi-sintéticos (curcumina sódica, diacetil-curcumin, y tetrahydrocurcumin) en modelos de inflamación inducida en ratas. En este estudio usaron ácido ferúlico y fenilbutazona como medicamento de referencia o control. La curcumina sódica fue el análogo más potente y más soluble en agua que la curcumina en sí. De todos los análogos curcuminoides, el trietil-curcumin fue el antiinflamatorio más potente en casos de inflamación crónica, mientras que el tetrahydrocurcumin no mostró actividad alguna (10).

Ghatak y Basu(1972) demostraron la acción de la curcumina sódica como agente antiinflamatorio, siendo mejor incluso que la curcumina y el acetato de hidrocortisona, en el estudio de inflamación experimental inducido por carragenina en ratas albinas, sin efectos colaterales (17).

En el trabajo realizado por Srimal y Dhawan en 1973, se reportó que la curcumina tiene efectos para casos agudos y crónicos de inflamación, teniendo una potencia similar a la fenilbutasona, con resultados de 1 a 2 en comparación de inflamación crónica y aguda respectivamente (17).

b) Actividad antioxidante

La cúrcuma es una fuente de antioxidantes naturales, así como sus propiedades citoprotectora, hepatoprotectora e inmunomoduladora, tanto del curcumin como de los péptidos y residuos de metionina presentes en dicha planta (15).

Unnikhrisnnan y Rao demostraron que los componentes de la cúrcuma proveían protección de la hemoglobina frente a la oxidación a una concentración de 0.08mM. Además, la cúrcuma inhibe la peroxidación lipídica, mediante el mantenimiento de las actividades de enzimas antioxidantes como catalasa y glutatión peroxidasa, estudio realizado en ratas por Pulla Reddy y Lokesh en 1994(29). Dichos autores observaron que la curcumina tenía el efecto de barrer con radicales libres de oxígeno. Se debe considerar que la peroxidación lipídica tiene un rol fundamental en la inflamación, enfermedades cardíacas y cáncer (17).

Dichos autores, en un estudio de 1992, observaron que la *Curcuma longa L.* es capaz de disminuir la peroxidación lipídica a través del mantenimiento de enzimas como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa en niveles elevados, ya que son las enzimas reguladoras (8).

c) Actividad antiprotozoaria

Un estudio in vitro realizado en formas intra y extracelulares de *Leishmania amazonensis* demostró que la curcumina y la metilcurcumina tienen un efecto positivo frente a las formas promastigotes. Cuando este estudio se llevó a cabo in vivo en ratas, se observó, además de la disminución del tamaño de la herida, la ausencia de inflamación en la zona (10).

En el año 2000, Ramussen et al. reportaron la eficacia del extracto etanólico de la cúrcuma in vitro para inhibir el crecimiento de *Plasmodium falciparum* y *L. major* (19).

Chopra et al realizaron un estudio con diferentes concentraciones de óleo de cúrcuma frente a *Paramecium caudatum*, donde se comprobó que sus cilios se volvieron lentos, finalizando en la muerte del microorganismo (10).

d) Actividad nematocida

En 1993, Kiuchi et al demostraron la actividad de las fracciones de extractos etanólicos y clorofórmicos de la cúrcuma frente a *Toxocara canis*, logrando aislar un nuevo curcuminoide, el ciclocurcumin. Al unir dichas sustancias, es que consiguieron su actividad nematocida, sugiriendo una acción sinérgica (17).

e) Actividad antibacteriana

El aceite esencial de cúrcuma fue probado frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. albus* y *Bacillus typhosus*, inhibiendo el crecimiento de las dos primeras cepas en concentraciones de 1 en 5000, según estudios realizados por Chopra et al (10).

Lutowski et al, en 1974, demostró la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de cúrcuma, de la curcumina y de sus aceites esenciales contra las bacterias Gram-positivas. Asimismo, en 1987, se comprobó que la

curcumina era bastante tóxica para *Salmonella*, pero no para *E. coli*, teniendo la capacidad de alterar el ADN en presencia de luz visible (17).

En 1979, se realizó un estudio a cargo de Bhavani Shankar y Murthy, probando fracciones de cúrcuma frente a *Lactobacilli* in vitro. Cuando se utilizó la totalidad de la cúrcuma, se observó la inhibición total de la bacteria intestinal (4.5 – 90 μ l/100ml). Mientras el extracto alcohólico no obtuvo el mismo nivel de inhibición (10-200mg/ml). La curcumina solo inhibió *S. aureus* (2.5-50 mg/ml) (10).

Utilizando el método de pozos en agar, se evaluaron los curcuminoides a 10000 ppm, frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. Los resultados fueron positivos para actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, mientras que para las bacterias Gram negativas y los hongos fue negativo (20).

En otro estudio realizado en Cuba, se utilizó el aceite esencial de la cúrcuma frente a cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, mostrando actividad antibacteriana frente a las cuatro especies estudiadas, pudiendo destacar los resultados de CBM de 32 para *Staphylococcus aureus* y 8 para *Bacillus subtilis* (7).

f) Actividad antiveneno

La fracción extraída de la cúrcuma, conocida como ar-turmerona, neutralizó tanto la actividad hemorrágica como el efecto letal del veneno de serpiente en ratones. El veneno de *Bothrops* fue neutralizado en su totalidad, mientras que el de *Crotalus* fue neutralizado en un 70% (17).

g) Actividad inmunomoduladora

Por los efectos inmunoestimulantes de los curcuminoides y polisacáridos presentes en la fracción de alta polaridad de un extracto acuoso caliente de *Curcuma longa L.* cruda, es de gran importancia como suplemento adyuvante en pacientes con cáncer, en especial los que reciben quimioterapia, por tener deprimida la función (21).

h) Protector gástrico

Su administración por vía oral en ratas disminuye la secreción de jugo gástrico e incrementa los contenidos de mucina. Protege contra las úlceras gástricas causadas por AINES. Sin embargo, en dosis altas o prolongadas, puede provocar malestar estomacal, por lo que se necesitan más estudios y evidencias confiables (17).

i) Actividad hepatoprotectora

En casos de enfermedad hepática de desarrollo por virus de la hepatitis B, y al administrar un concentrado acuoso de *Curcuma longa L.*, se redujo la grasa visceral, aumentó el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), con la consiguiente regeneración del tejido hepático dañado, por lo que puede resultar un agente hepatoprotector potencial (22).

j) Actividad hipoglucemiante

Según un estudio realizado por Kang y Kim (2010), se demostró un efecto sinérgico del curcumin y la insulina sobre el metabolismo de la glucosa en mioblastos de ratón, ya que la estructura polifenólica del curcumin induce la recaptación de glucosa y la fosforilación de AMPK/ACC (23).

k) Actividad hipocolesterolémica

Un estudio inducido en ratas demostró que el extracto etanólico de la *Curcuma longa Linn* reduce las tasas de colesterol y triglicéridos, disminuye

los niveles de lípidos peroxidados, lipoproteínas oxidadas y fibrinógeno, además del LDL (24).

I) Actividad vasodilatadora

En un estudio preclínico realizado en ratas por El-Moselhy et al (2011), hubo evidencia indirecta de que el extracto metanólico de cúrcuma relaja el endotelio de la arteria mesentérica superior mediante la inducción del intercambio Na^+/Ca^{2+} (25).

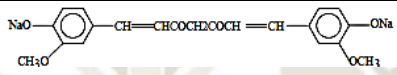
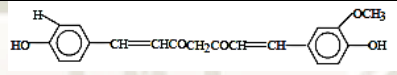
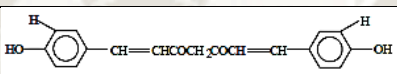
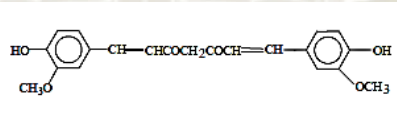
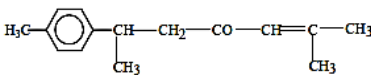
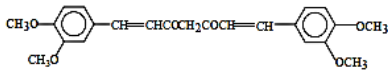
COMPONENTES	ESTRUCTURA QUÍMICA	ACTIVIDAD
Curcumina sódica		Antiinflamatorio
Demetoxicurcumina		Antioxidante
Bisdemetoxicurcumina		Antioxidante
Curcumina		Antibacteriana <i>L. amazonensis</i> Antioxidante Antiinflamatorio Antitumoral
Ar- turmerona		Mordida de serpiente
Metilcurcumina		<i>L. amazonensis</i>

Tabla 2. Derivados de *Curcuma longa* L. con actividades biológicas.

Fuente: Araújo & León. Biological activities of *Curcuma longa* L. 2001. (10)

1.5.1.4. Toxicidad

Los estudios toxicológicos a nivel internacional establecen una DL50 del extracto acuoso de cúrcuma de 30mg/kg y alertan que el consumo continuo de curcumin por vía oral, en dosis de 100mg/kg tienen efecto ulcerogénico. No se poseen casos registrados de sobredosis por el empleo de esta planta (10).

1.5.2. MICROBIOLOGÍA ORAL

1.5.2.1. Introducción

Las bacterias están presentes durante toda la vida en muchos lugares del cuerpo humano. Pueden ser beneficiosas, inocuas o nocivas para el organismo. En la cavidad oral se ha detectado hasta ahora la presencia de más de 500 microorganismos distintos, los cuales normalmente se mantienen en un equilibrio ecológico fisiológico con el organismo huésped. Sólo en situaciones esporádicas, por ejemplo, en condiciones patológicas, se encuentran mayores cantidades de determinadas bacterias facultativamente patógenas. No está claro si estas bacterias son la causa de la enfermedad o si simplemente encuentran condiciones de vida favorables en el medio patológico (26).

Es reconocido en el ámbito oral, que los dientes, la lengua, la mucosa y la saliva corresponden individualmente hábitats únicos de poblaciones microbianas diferentes y características, con su propia población microbiana dinámica (27).

El conocimiento de los componentes estructurales de un microorganismo es importante porque ciertos determinantes en la superficie celular dictan cuáles tejidos pueden ser colonizados por el microorganismo. De modo similar, muchos componentes que contribuyen a la capacidad de los microorganismos de causar enfermedad y dañar tejidos del huésped se localizan en la superficie celular (26).

La eficacia con que un microorganismo dado utiliza los nutrimentos disponibles determina si se establecerá y competirá con éxito en sitios específicos de la boca. Además, los productos finales del metabolismo de estos nutrimentos, como los ácidos orgánicos, tienen efectos perjudiciales en los tejidos bucales (28).

Las bacterias presentes en la superficie y el interior del cuerpo humano exceden en número a las células corporales, en una proporción de 10 a 1. La cantidad de bacterias que colonizan al ser humano es bastante pequeña comparada con el número total de bacterias conocidas, y las que de manera sistemática causan enfermedad hacen una lista aún menor. Una colonia bacteriana de alrededor de 3mm de diámetro que se forma en una placa de agar puede contener más de 100 millones de microorganismos (26).

Los componentes microbianos normales hacen una contribución importante a la homeostasis tisular de la cavidad oral. Estas poblaciones por lo general son benignas y colonizan toda la superficie de la boca, comienzan a establecerse poco después del nacimiento, persisten durante toda la vida del individuo, y de manera general son compatibles con la salud bucal (28).

La boca tiene diversos habitantes, y las bacterias orales se encuentran como biopelículas adhesivas. El modo de vida en biopelículas facilita la diversidad en la población y permite el establecimiento de comunidades metabólicas, cuyos miembros cooperan para convertir los complejos constituyentes de la saliva y los alimentos, en sustancias que puedan usar en multiplicación y generación de energía (29).

1.5.2.2. Características generales del Ambiente Oral

a) Dientes

En una persona sana, los dientes emergen de los tejidos de soporte que cubren la raíz en el sentido apical de la unión cemento-esmalte; así, sólo el esmalte está expuesto en la cavidad oral. La superficie del esmalte está cubierta por la película, una capa de saliva y otras proteínas. Esta película juega un papel importante en la interacción de las bacterias con la superficie dental y en la prevención de la pérdida mineral del diente (28).

Determinadas bacterias orales, en especial las implicadas en el proceso de la caries dental, pueden interactuar de manera específica con proteínas dentinarias como el colágeno. Esta interacción podría ayudar a la invasión bacteriana en la dentina con caries. Los depósitos bacterianos inician en las fisuras y fosas oclusales, en defectos de esmalte, espacios interproximales y cerca al borde gingival. Suelen estar siempre presentes los estreptococos orales, bacilos, filamentos Gram positivos y algunos anaerobios Gram negativos (30).

b) Tejidos blandos

En muchos sentidos, los tejidos que recubren mucosa bucal, vestíbulo, piso de la boca, paladares duro y blando y lengua guardan semejanza histológica con la piel. La superficie de la mucosa bucal está recubierta por epitelio, soportado por un tejido conectivo subyacente. La mucosa bucal difiere de la piel en que el epitelio no es queratinizado, y es mantenida húmeda por saliva en vez de aceites sebáceos y sudor (27; 29).

- **Labios**

A causa de la transición entre la piel y la mucosa bucal, predominan el *Staphylococcus aureus* y *Streptococos* típicos. Si se produjera queilitis angular, estarían presentes *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* (27; 29; 30; 31).

- **Mejilla**

Las bacterias inherentes son *Streptococcus milleri*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus salivarius*. Es posible aislar levaduras, así como *Haemophilus influenzae* y la especie *Neisseria* (31; 29).

- **Paladar**

El paladar duro también posee el género streptocócico de la mejilla, además de encontrar levaduras y lactobacilos en presencia de prótesis. En el paladar blando se encontrarán *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Neisseria* y *Branhamella* (27; 31).

- **Lengua**

En la lengua existe mayor volumen de microorganismos por la presencia de papilas. Predomina *Streptococcus salivarius* en un 20-50%, seguido de *Streptococcus mitis* y *Haemophilus*. En el dorso se encuentra *Candida albicans* y *Micrococcus mucilagenous*. Cuando el paciente sufre de xerostomía, suele ser colonizado por *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus*, bacterias entéricas gramnegativas y enterococos en cantidades mayores (32; 31).

- **Surco gingival**

Es la población más numerosa de la cavidad oral, ya que el líquido crevicular es un medio rico en nutrientes para la proliferación de microbios (31).

Los primeros colonizadores son streptococos comensales, como *S. sanguinis*, *S. gordonii* y *S. oralis*, además de actinomicetos. En presencia de gingivitis predominan las bacterias filamentosas y gramnegativas (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Selenomonas sputigena*, *Campylobacter sputorum* y *Haemophilus parainfluenzae*). Las bacterias grampositivas filamentosas, gramnegativas móviles y espiroquetas están

presentes en cuadros de periodontitis crónica (33). En periodontitis activa, el microorganismo principal es *Aggegatibacter actinomycetemcomitans*.

Microorganismos	Áreas (%)				
	1	2	3	4	5
1. Cocos	97	67	50	67	65
Gram+ anaerobios facultativos	95	45	37	50	44
Gram- aerobios	<1	2	2	<1	3
Gram+ anaerobios estrictos	<1	4	<1	4	3
Gram- anaerobios estrictos	1.5	16	12	13	15
2. Bacilos	<4	33	48	32	35
Gram+ anaerobios facultativos	<1	12	40	18	15
Gram+ aerobios	<1	2	<1	<1	2
Gram+ anaerobios estrictos	<1	6	<1	3	7
Gram- anaerobios facultativos	<1	5	3	6	4
Gram- anaerobios estrictos	<1	8	3	5	7
3. Treponemas	-	<1	1	1	-

Tabla 3. Distribución aproximada de microorganismos en la cavidad oral. 1. Mucosa oral 2. Dorso de la lengua 3. Placa supragingival madura 4. Surco gingival en estado de salud periodontal 5. Saliva.

Fuente: Liébana. Microbiología Oral. 2002. (26)

1.5.2.3. Saliva y su interacción con microorganismos

La saliva es un fluido biológico incoloro, insípido, algo espumoso y muy acuoso, constituido por sustancias provenientes de las glándulas mayores y menores. Al instalarse en la cavidad oral, este fluido se une a pequeñas

partículas alimentarias, microorganismos, células de descamación del epitelio oral, secreción del fluido gingival, secreción de glándulas sebáceas y otros (29).

La mayor parte de la saliva es producida por las glándulas salivales mayores. Cerca del 65% del volumen total de saliva es segregado por las parótidas, el 20 al 30% por las glándulas submandibulares, del 2 al 5% por las sublinguales y el 7% por las glándulas salivares menores (29). La saliva contiene 99% agua y 1% de sólidos disueltos, que pueden ser diferenciados en componentes orgánicos proteicos, no proteicos y electrolitos (34).

En cada persona las concentraciones de los componentes salivales varían de acuerdo al flujo salival, el aporte de cada glándula, ritmo circadiano, la dieta, la naturaleza del estímulo, así como el estado salud/enfermedad y la administración de medicamentos (35; 31; 29).

La saliva del ser humano tiene aproximadamente 6000 millones de bacterias por mililitro, como *Streptococos*, *Peptostreptococos*, En la lengua existe mayor volumen de microorganismos por la presencia de papilas. *Veillonella*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacilos*, *Actinomyces*, *Espiroquetas*, Levaduras, Protozoarios y más (30).

La saliva no posee microbiota propia, ya que todos son transitorios de otros microsistemas orales primarios. El 44% de esta microbiota transitoria está compuesta por cocos grampositivos anaerobios facultativos, un 15% de bacilos grampositivos anaerobios facultativos y otro 15% de cocos gramnegativos anaerobios estrictos (36).

FUNCIONES	COMPONENTES
Lubricación	Mucina, glicoproteínas ricas en prolina, agua
Antimicrobiana	Lisozima, lactoferrina, lactoperoxidasas, mucinas, cistinas, histatinas, Ig A, proteínas ricas en prolina
Mantenimiento de la integridad de la mucosa	Mucina, electrolitos, agua
Limpieza	Agua
Capacidad tampón y remineralización	Bicarbonato, fosfato, calcio staterina, proteínas aniónicas ricas en prolina, flúor
Preparación de alimentos para deglución	Agua, mucina
Digestión	Amilasa, lipasa, ribonucleasas, proteasas, agua, mucina
Sabor	Agua, gustina
Fonación	Agua, gustina

Tabla 4. Funciones y componentes de la saliva.

Fuente: Huarino Acho M. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta. 2011. (29)

Los microorganismos que conforman la flora salival son todos aquellos que se desprenden de las demás poblaciones bacterianas explicadas con anterioridad, llegando a poseer aproximadamente 6000 millones de bacterias por mililitro recolectado de saliva. Es por esta razón que muchas

investigaciones han utilizado la flora salival en vez de muestras de placa dentaria (37).

MICROORGANISMOS	SALIVA
COCOS	65%
Gram+ anaerobios facultativos	44%
Gram+ anaerobios estrictos	3%
Gram- aerobios	3%
Gram- aerobios estrictos	15%
BACILOS	35%
Gram+ anaerobios facultativos	15%
Gram+ aerobios	2%
Gram+ anaerobios estrictos	7%
Gram- anaerobios facultativos	4%
Gram- anaerobios estrictos	7%

Tabla 5. Distribución porcentual de microorganismos en saliva.

Fuente: Mamani BI. Actividad antibacteriana de aceite esencial de *Mentha spicata* L. sobre flora mixta salival. 2013. (30)

1.5.2.4. Desarrollo de la flora bucal

La boca del recién nacido adquiere microorganismos con rapidez, encontrándose *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus albus*, y otras bacterias de las especies *Neisseria* y *Veillonella*. Cuando empieza su alimentación por medio de la lactancia materna, la flora incrementa en gran número. En otras ocasiones, *Candida albicans* se multiplica con rapidez en la boca y el pH bajo impide el crecimiento normal de otros comensales, lo que una proliferación excesiva produciría aftas bucales (31).

Este ambiente microbiano cambia al erupcionar los dientes temporarios, que con sus superficies permiten la adherencia de *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans*, modificándose cuando la alimentación no sólo se basa en la leche (30).

Cuando los dientes permanentes, con sus características únicas de anatomía, empiezan a erupcionar, las especies *Bacteroides*, *Leptotrichia*, *Fusobacterium* y Espiroquetas son abundantes, al igual que los Estreptococos (31).

Ya en la edad adulta, la flora bucal es bastante extensa y compleja, por la presencia de caries dental, enfermedad periodontal, restauraciones poco satisfactorias, entre otros factores que incrementan la acumulación de microorganismos y el inicio de enfermedades bucales (31).

Cuando inicia la pérdida dental y el edentulismo, se reduce la cantidad de espiroquetas y bacteroides, y aumenta el número de levaduras que se multiplican en la superficie de las prótesis dentales (30).

1.5.2.5. Parámetros que afectan la colonización microbiana oral

a) Temperatura

Se ha medido una variación de la temperatura media de los surcos gingivales sanos de 33.7 a 36.6°C, según el diente, mientras que la temperatura dentro de una bolsa periodontal enferma pueden ser varios grados más altos. Es posible que estas fluctuaciones de temperatura influyan en los microorganismos orales, dado que se sabe que tales fluctuaciones incluyen en la síntesis de reguladores globales de la expresión génica en bacterias conocidas como reguladores de la transcripción. Estas proteínas reguladoras son capaces de dirigir la expresión de las proteínas de choque térmico, por lo que podrían modular la virulencia de determinados patógenos sometidos a estrés térmico, como ocurre durante el proceso de infección (28).

b) pH

El metabolismo de los microorganismos depende con frecuencia del pH, así las bacterias inhibidas por el bajo pH no pueden sobrevivir en las condiciones ácidas de la placa dental o bajo una prótesis. Las especies *Lactobacillus* y *Candida albicans* son capaces de tolerar proporciones muy bajas de pH (31).

Las bacterias presentes en la placa dental producen cantidades considerables de ácido láctico, como lo demostró Robert Stephan (1940) en sus estudios con resultados de pH en placa en ausencia de caries de 7.2, mientras que en presencia de caries el pH llega a un nivel de 5.5 (28).

c) Oxígeno

La placa dental incipiente tiene un alto nivel de oxígeno, mientras que la placa madura se caracteriza por ser anaerobia. En dicha placa, la biopelícula ajusta las condiciones ambientales para permitir que las bacterias anaerobias prosperen frente al ingreso de oxígeno a la cavidad oral (28).

d) Fuerzas mecánicas abrasivas

La placa dentobacteriana se limita a expandirse a las superficies dentales interproximales, bucales y linguales que son adyacentes al margen gingival (33).

e) Flujo de líquido

Unas de las funciones de la saliva son la dilución y depuración de ácidos y toxinas bacterianas. De esta forma, en personas con disfunción salival se presenta mayor formación de placa y mayor riesgo de enfermedades bucales (28).

f) Edad del huésped

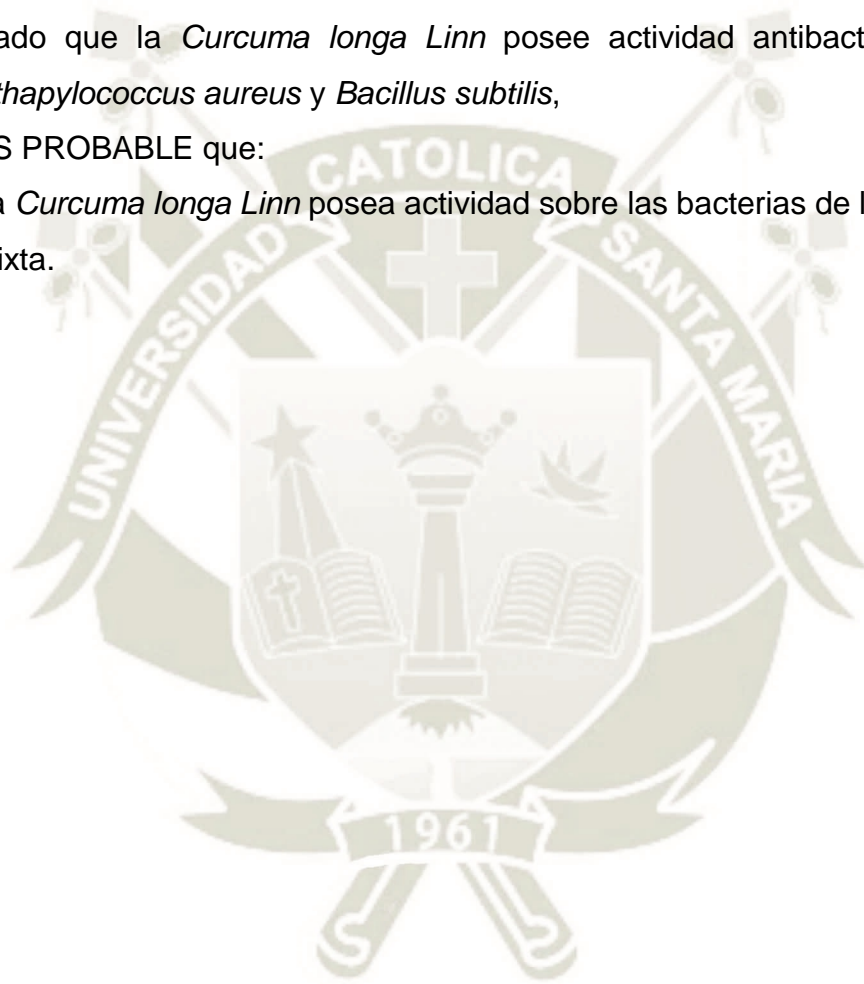
Los *Streptococos mutans*, las bacterias más reconocidas de la microbiota oral, requieren la presencia de dientes para su aparición, por lo que los lactantes edéntulos son incapaces de poseer estos microorganismos (28).

1.6. HIPÓTESIS

Dado que la *Curcuma longa Linn* posee actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*,

ES PROBABLE que:

La *Curcuma longa Linn* posea actividad sobre las bacterias de la flora salival mixta.





CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

2.1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

2.1.1. Técnicas

2.1.1.1. Precisión de la técnica

Se empleó la metodología de Kirby-Bauer con la técnica de observación cuasi experimental laboratorial a través de la difusión disco agar para evaluar la actividad antibacteriana de las concentraciones del extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* en flora salival mixta.

2.1.1.2. Descripción de la técnica

a) Obtención del extracto alcohólico de *Curcuma longa L.*

Según estudios realizados por Ribeiro, Ferreira y Abreu (2004), se procedió a la preparación del extracto alcohólico con 200 g de cúrcuma en polvo a diluir en 1200 ml de alcohol etílico de 96°, utilizando proporciones de 1:6, considerando el extracto obtenido como 16%. Luego de 48 horas, se procedió a filtrar el extracto a través de papel filtro, lo que demoró otras 48 horas. El extracto obtenido fue sometido a esterilización por 30 minutos en autoclave a 120°C. Este procedimiento fue realizado según la metodología de ensayo de la NBR 13624 de la Asociación Brasileira de Normas Técnicas (1996) (Anexo 5).

Seguidamente, se disolvió el extracto obtenido del 16% de cúrcuma con suero fisiológico en porcentajes de 12, 8 y 4% para el posterior estudio in vitro.

2.1.1.3. Obtención de la muestra salival

La muestra se obtuvo directamente de la cavidad bucal por frote en la zona sublingual, con un hisopo estéril, obteniéndose 0.5ml de saliva estimulada por persona, tratando de obtenerla en un solo intento.

2.1.1.4. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro

Método de Difusión en Agar

Fundamento:

La inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido la que se evidencia con la formación de halos de inhibición.

Preparación de la muestra a utilizar

En condiciones estériles se realizó la preparación de Agar Mueller Hinton. Luego se procedió a esterilizar el preparado en autoclave a 121° por 15 minutos. Dicho medio se distribuyó en 160 placas Petri estériles con 25ml de agar en cada una, dejando solidificar a temperatura ambiente. Luego, todas las placas fueron refrigeradas.

Según las muestras obtenidas de cada individuo, se procedió a numerarlas del 1 al 80, al igual que las placas Petri, que se dividieron en grupos A (80 placas Petri iniciales) y grupo B (80 placas Petri para los resultados finales), así como los caldos de tripticasa soya.

En las primeras 80 placas Petri con Agar Mueller Hinton, se procedió a la siembra de la muestra obtenida de la población, mediante estría simple sobre la superficie del medio en 3 direcciones, cerrando con tapa y dejando secar por 10 minutos. Luego, las 80 placas sembradas fueron incubadas por 24 horas a 37°C.

Inoculación e incubación de la muestra

Pasadas las 24 horas de incubación de la muestra, se procedió a seleccionar 5 colonias para transferirlas a un tubo con 4 ml de caldo Tripticasa Soja, para su incubación por 8 horas a 37°C. Posteriormente, se procedió a diluir el

cultivo con solución salina estéril hasta conseguir una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de McFarland (10^8 UFC).

Bajo condiciones estériles se procedió a sembrar el inóculo de 10^8 UFC con un hisopo estéril en 80 placas que contenían Agar Mueller Hinton, dejándolo secar con la tapa cerrada por 10 minutos.

Con pinzas estériles se colocó en cada placa 6 discos de la siguiente manera:

- 1 disco de papel filtro con 5 μ l de clorhexidina 2% (control positivo)
- 1 disco de papel filtro con 5 μ l solución salina (control negativo)
- 1 disco de papel filtro con 5 μ l del extracto de *Cúrcuma longa L.* al 4%
- 1 disco de papel filtro con 5 μ l del extracto de *Cúrcuma longa L.* al 8%
- 1 disco de papel filtro con 5 μ l del extracto de *Cúrcuma longa L.* al 12%
- 1 disco de papel filtro con 5 μ l del extracto de *Cúrcuma longa L.* al 16%.

Entre disco y disco se dejó un espacio aproximado de 2 cm.

Finalmente, se procedió a la incubación de las 80 placas Petri a 37°C por 24 horas.

Control negativo

Se utilizó solución salina al 0.09%.

Control positivo

Se usó clorhexidina al 2%.

2.1.1.5. Lectura de los halos de inhibición

Se realizó la lectura mediante la medición en milímetros (mm) de las zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano utilizando una regla Vernier, registrándose los diámetros promedios que se formaron alrededor de los discos de papel filtro. Dicha lectura se realizó a las 24 horas.

En este apartado se utilizó como referencia para el análisis y discusión, la escala de sensibilidad definida por Duraffourd (38).

- Sensibilidad nula (-) si es menor o igual a 8mm
- Sensibilidad límite (+) de 9 a 14mm
- Sensibilidad media (++) de 15 a 19mm
- Sensibilidad alta (+++) si es igual o mayor a 20mm

2.1.2. Instrumentos

2.1.2.1. Instrumento documental

Ficha de registro operacional para obtener los diámetros de los halos de inhibición.

2.1.2.2. Instrumentos mecánicos

a) Equipos de laboratorio

- Mechero Bunsen
- Estufa de cultivo
- Refrigerador
- Congelador
- Autoclave
- Balanza

b) Materiales

- 160 Placas Petri
- 80 Asas de inoculación
- 80 Tubos de ensayo
- 1 Regla Vernier
- 100 Hisopos

- 30 Pinzas estériles
- Matraz Erlenmeyer
- Probeta
- Varilla de vidrio
- Trípode
- Malla de Asbesto
- Gradilla
- Pipeta Pasteur
- Etiquetas
- Papel kraft
- Discos de papel filtro Whatman Grado 3 (55mm)

c) **Reactivos**

- Caldo tripticasa soya 3.6 g (4ml por tubo)
- Solución salina 0.9% estéril 300 ml (9ml por tubo)
- Agar Mueller – Hinton 37 g (25ml por placa Petri)
- Etalon 0.5 McFarland
- Agua destilada

2.1.3. . Diseño investigativo

Tipo: cuasi experimental

Esquema básico:

Grupo experimental	<i>Cúrcuma longa</i> Linn (extracto alcohólico) 4, 8, 12 y 16% de concentración.	Observación
Grupo control	Clorhexidina 2% Solución salina 0.09%	Observación

2.1.4. Campo de verificación

2.1.4.1. Ámbito Espacial

a) Ámbito general

Universidad Católica de Santa María

b) Ámbito específico

Clínica Odontológica y Laboratorio de Microbiología de la Universidad Católica de Santa María

2.1.4.2. Ubicación temporal

La investigación se realizó entre Junio y Noviembre del 2018.

2.1.4.3. Unidades de estudio

La población de estudio fue conformada por 80 estudiantes del Décimo Semestre de la Clínica Odontológica de la UCSM en el periodo 2018, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión.

a) Alternativa

Grupos

b) Identificación de los grupos

Grupo de estudio: Extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn*

Grupo control: Clorhexidina 2% y solución salina 0.09%

c) Control de los grupos

Criterios de inclusión

- Alumnos que dieron su consentimiento para la obtención de la muestra.
- Alumnos con un pH salival entre 6 y 7.
- Alumnos que acudieron entre las horas 8.30 y 13.00, sin haber ingerido almuerzo.

- Alumnos con un máximo de 3 lesiones cariosas.

Criterios de exclusión

- Alumnos con enfermedad periodontal.
- Alumnos que posean más de 3 lesiones cariosas.
- Alumnos con un pH salival menor a 6 o mayor a 7.
- Alumnos que ingirieron almuerzo antes de la toma de muestra.
- Alumnos con enfermedades sistémicas que repercuten en el sistema estomatognático.
- Alumnos con terapia farmacológica en las últimas dos semanas.

2.1.5. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN

2.1.5.1. Organización

- Solicitud de autorización para el uso del Laboratorio de Microbiología de la UCSM (Anexo 1).
- Solicitud de autorización para la toma de muestras en la Clínica Odontológica de la UCSM (Anexo 2).
- Elaboración del material para la toma de muestras
- Elaboración del extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn*
- Ejecución del estudio laboratorial

2.1.5.2. Recursos

a) Recursos humanos

- Investigador: Diana Jimena Bravo Oviedo
- Asesor: Dra. Mónica Salas Rojas

b) Recursos físicos

- Disponibilidad de ambiente de la Clínica Odontológica de la UCSM.
- Disponibilidad de laboratorios de la UCSM.

- Disponibilidad de Biblioteca de la UCSM.

c) Recursos económicos

Propios de la investigadora.

d) Recursos institucionales

Universidad Católica de Santa María.

2.1.6. ESTRATEGIA PARA MANEJAR RESULTADOS

2.1.6.1. Plan de procesamiento de datos

a) Tipo de procesamiento

Los datos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS versión 23. Los resultados también fueron expresados en gráficos de barras realizados en Excel 2010.

b) Plan de operaciones

• **Clasificación**

Luego de haber obtenido las fichas de observación, se procede a ordenar los datos en una matriz de sistematización.

• **Recuento**

Los datos clasificados se contabilizaron por medio de fórmulas en el programa Excel.

• **Análisis de datos**

Los datos se procesaron considerando:

- Medida de tendencia central: promedio
- Medida de dispersión: Desviación estándar.

- Prueba de significación: ANOVA y post comparación Tukey.
- **Plan de tabulación**

Se utilizaron cuadros estadísticos de simple y doble entrada.

2.1.6.2. Ámbito de estudio de datos

- Jerarquización de datos.
- Apreciación crítica.

a) A nivel de conclusiones

Los resultados expresan los requerimientos de los objetivos e hipótesis.

Se realizó una discusión global de los datos obtenidos, así como la subsiguiente interpretación de cada cuadro y resultado obtenido.

b) A nivel de recomendaciones

Se establecieron sugerencias según los resultados y conclusiones obtenidas en el presente estudio, las cuales están orientadas a nivel profesional, investigativo y clínico.



CAPÍTULO III RESULTADOS

RESULTADOS

TABLA N°. 1

**MEDIDA DEL DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO
ALCOHÓLICO DE CÚRCUMA LONGA LINN AL 4, 8, 12 Y 16% SOBRE FLORA
SALIVAL MIXTA AREQUIPA 2018**

Estadísticos	Cúrcuma 4%	Cúrcuma 8%	Cúrcuma 12%	Cúrcuma 16%
Media	7,588	7,763	8,163	8,463
Desviación	0,495	0,413	0,514	0,489
Máximo	8.5	8.5	9.5	9.5
Mínimo	6.5	6.5	6.5	6.5
TAMAÑO	80	80	80	80

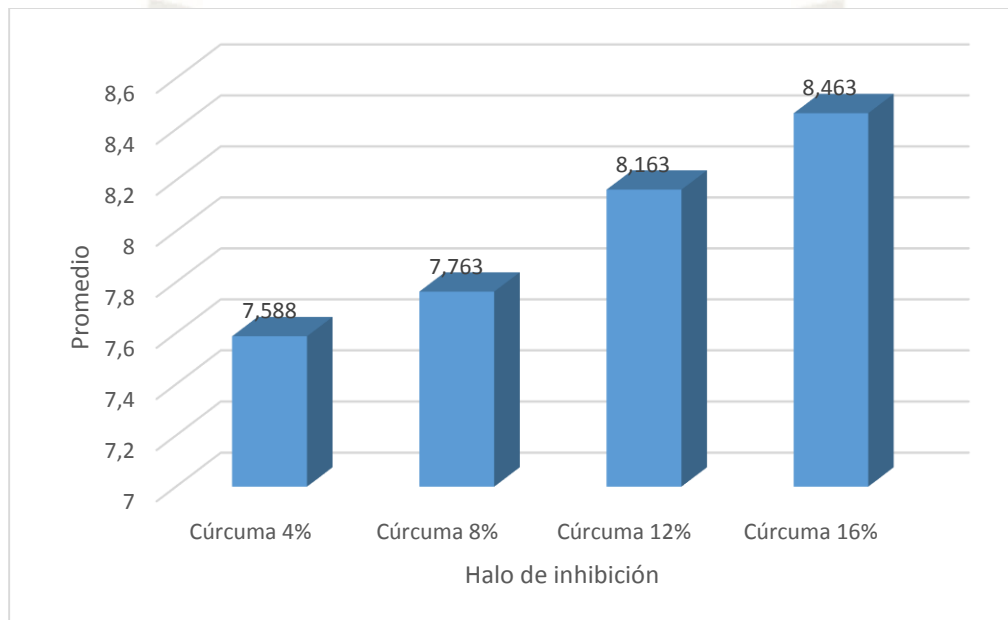
Fuente: Matriz de datos.

F=54.135 P<0.05 P=0.00

La Tabla N°. 1 según el análisis de la varianza (F=54.135) muestra que el diámetro del halo de inhibición del extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* al 4, 8, 12 y 16% presentan diferencia estadística significativa (P<0.05).

Asimismo se observa que el diámetro promedio del halo de inhibición al 4% fue de 7.588, el halo promedio al 8% fue de 7.763, el halo al 12% tuvo un diámetro de 8.163 mm, mientras que el halo de inhibición al 16% fue de 8.463 mm.

GRAFICO N°. 1
DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE
CÚRCUMA LONGA LINN AL 4, 8, 12 Y 16% SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA
AREQUIPA 2018



Fuente: Matriz de datos.

TABLA N°. 2
COMPARACIONES MULTIPLES POR GRUPO

Grupos	Media	Tukey
Cúrcuma 4%	7,588	a
Cúrcuma 8%	7,763	a
Cúrcuma 12%	8,163	b
Cúrcuma 16%	8,463	c

Fuente: Matriz de datos.

Según la prueba de Tukey se muestra que el halo de inhibición que presenta mayor diferencia en el resultado lo encontramos en la concentración de cúrcuma al 16%, seguido de la concentración al 12%; mientras que las concentraciones al 8% y 4% no presentaron diferencia significativa.

TABLA N° 3
MEDIDA DEL DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO
ALCOHÓLICO DE CÚRCUMA LONGA LINN AL 4, 8, 12, 16% Y
CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA AREQUIPA 2018

Estadísticos	Cúrcuma 4%	Cúrcuma 8%	Cúrcuma 12%	Cúrcuma 16%	Clorhexidina
Media	7,588	7,763	8,163	8,463	18,475
Desviación	0,495	0,413	0,514	0,489	2,127
Máximo	8.5	8.5	9.5	9.5	23.5
Mínimo	6.5	6.5	6.5	6.5	11.5
TAMAÑO	80	80	80	80	80

Fuente: Matriz de datos.

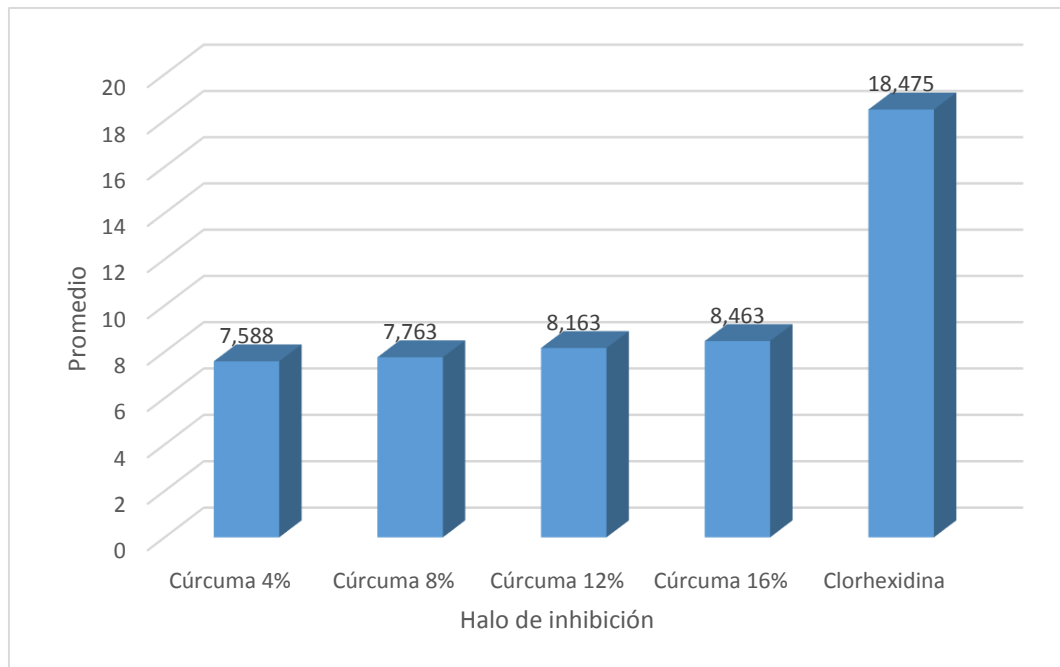
F=1622.834 P<0.05 P=0.00

La Tabla N° 3 según el análisis de la varianza (F=1622.834) muestra que el diámetro del halo de inhibición del extracto alcohólico de cúrcuma longa linn al 4, 8, 12, 16% y clorhexidina al 2% presentaron diferencia estadística significativa (P<0.05).

Asimismo se observa que el diámetro promedio del halo de inhibición al 4% fue de 7.588, el halo promedio al 8% fue de 7.763, el halo al 12% tuvo un diámetro de 8.163 mm, el halo de inhibición al 16% fue de 8.463 mm; mientras que el halo de inhibición de la clorhexidina al 2% presento una diferencia marcada con un promedio de 18,475 mm.

GRAFICO Nº. 2

HALO DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE CÚRCUMA LONGA LINN AL 4, 8, 12, 16% Y CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA AREQUIPA 2018



Fuente: Matriz de datos.

TABLA Nº. 4
COMPARACIONES MULTIPLES POR GRUPO

Grupos	Media	Tukey
Cúrcuma 4%	7,588	a
Cúrcuma 8%	7,763	a
Cúrcuma 12%	8,163	b
Cúrcuma 16%	8,463	c
Clorhexidina	18,47	d

Fuente: Matriz de datos.

Según la prueba de tukey se muestra que el halo de inhibición que presenta mayor diferencia en el resultado lo encontramos en la concentración de clorhexidina al 2% con una media de 18.47 mm, seguido de la cúrcuma al 16% con halo promedio de 8.463 mm y la concentración al 12% con promedio de 8.163 mm.

TABLA N°. 5
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE
CURCUMA LONGA LINN Y CLORHEXIDINA AL 2%

Sensibilidad	Concentración de Cúrcuma Longa Linn								Clorhexidina	
	4%		8%		12%		16%		2%	
	N°.	%	N°.	%	N°.	%	N°.	%	N°.	%
Nula	80	100,0	80	100,0	71	88,7	56	70,0	1	1,3
Limite	0	0,0	0	0,0	9	11,3	24	30,0	30	37,5
Media	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	48	60,0
Alta	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,3
TOTAL	80	100	80	100	80	100	80	100	80	100

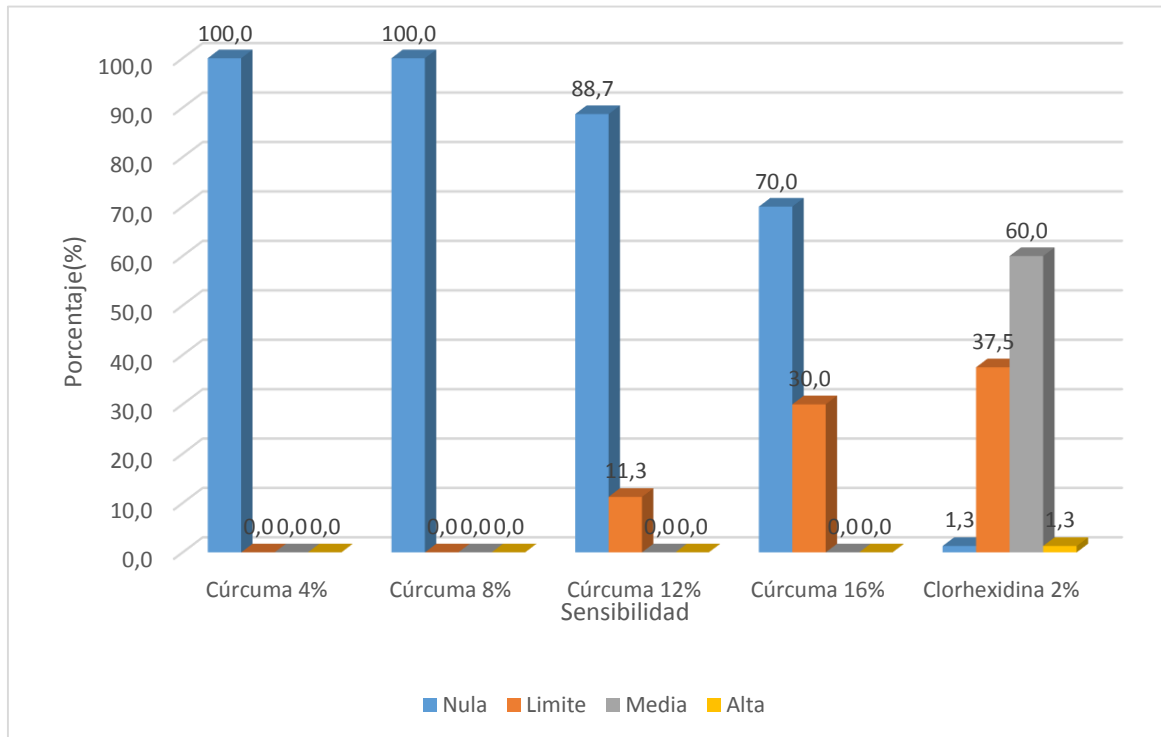
Fuente: Matriz de datos.

$$X^2=396.76 \quad P<0.05 \quad P=0.00$$

La Tabla N°. 5 según la prueba de chi cuadrado ($X^2=396.76$) muestra que actividad antibacteriana del extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* al 4, 8, 12, 16% y la clorhexidina al 2% presentaron diferencia estadística significativa ($P<0.05$).

Asimismo se observa que la actividad antibacteriana al 4, 8, 12 y 16% no poseen actividad antibacteriana frente a la flora salival mixta, mientras que el 1.3% de los casos de la clorhexidina al 2% presentaron sensibilidad nula, el 37.5% tuvieron sensibilidad limite, la mayoría equivalente al 60.0% presentaron sensibilidad media y solo el 1.3% presentaron sensibilidad alta, según la escala de Duraffourd.

GRAFICO Nº. 3
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE
CURCUMA LONGA LINN Y CLORHEXIDINA AL 2%



Fuente: Matriz de datos.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se determinó la actividad antibacteriana de la *Curcuma longa Linn* sobre flora salival mixta, obteniendo resultados de sensibilidad nula en los cultivos realizados. Sin embargo, cabe destacar que el extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* al 16% obtuvo la mayor media de comparación, siendo de 8.463 mm.

Según los estudios realizados por Coy y Acosta (2013), en donde obtienen resultados de inhibición en porcentajes de 70% frente a *Staphylococcus aureus* y 50% frente a *Enterococcus faecalis* del aceite esencial de *Curcuma longa Linn*. Ambas bacterias son grampositivas, ya que en el estudio realizado en bacterias gramnegativas no se presentó porcentaje de inhibición (*E. coli* y *S. tiphy*). De este modo, se puede concluir que es necesario el estudio por cepas específicas, tanto del aceite esencial como del extracto alcohólico y otras presentaciones de *Curcuma longa Linn*.

En “Estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa L.*”, realizado por Torres, Moreno Tamayo, Hermosilla y Guillén en 2014, la acción antibacteriana más promisoría fue la obtenida frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. De este modo se vuelve a reforzar la idea de que se necesitan estudios de la *Curcuma longa L.* diferenciado por cepas, tanto de bacterias grampositivas como gramnegativas, así como aerobias y anaerobias, para obtener resultados objetivos sobre su actividad antibacteriana en determinados microorganismos.

El estudio realizado por Majolo, Nascimento, Chagas y Chaves, titulado “Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de acafrao (*Curcuma longa L.*) e gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) frente a salmonelas entéricas aisladas de frango resfriado” (2014), demostró mayor actividad antibacteriana del jengibre en

comparación con la cúrcuma. Dichos resultados son similares a los obtenidos en el presente estudio.

Méndez, Angulo y Contreras, en su artículo titulado “Actividad antibacteriana in vitro de *Curcuma longa* (Zingiberaceae) frente a bacterias nosocomiales en Montería, Colombia” (2016), utilizaron tanto el extracto alcohólico como el aceite esencial de la *Curcuma longa* Linn frente a diferentes bacterias nosocomiales, entre ellas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otros. Las concentraciones del extracto alcohólico a 1000 ppm obtuvieron porcentajes significativos de reducción frente a *K. pneumoniae* (+50%), *E. coli* (50%) y los otros microorganismos (17 a 42%). Dichos resultados del extracto alcohólico fueron mayores a los obtenidos por el aceite esencial. Si se compara dicho estudio con el presentado, se concluye que el extracto alcohólico en el primer caso sí posee efectividad antibacteriana, mientras que en el segundo caso la sensibilidad mostrada es nula.

En el estudio realizado por Velasco y Navarro, titulado “Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de *Curcuma longa* (Guisador), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*” (2013), se obtuvieron resultados de inactivo frente a *E. coli* y poco activo frente a *S. aureus*. Dicho estudio posee resultados similares a los obtenidos en la presente investigación.

A partir de la discusión presentada, se puede afirmar que la *Curcuma longa* Linn podría poseer actividad antibacteriana frente a diversos microorganismos, pero su estudio debe ser realizado por separado en diferentes cepas, para así poder distinguir claramente frente a qué microorganismos posee dicho efecto, y no obtener resultados negativos que pueden ser falsos por haber incluido varias cepas en un mismo estudio.

CONCLUSIONES

PRIMERA

El extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* en concentración de 4% no posee actividad antibacteriana frente a la flora salival mixta.

SEGUNDA

El extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* en concentración de 8% no posee actividad antibacteriana frente a la flora salival mixta.

TERCERA

El extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* en concentración de 12% no posee actividad antibacteriana frente a la flora salival mixta.

CUARTA

El extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn* en concentración de 16% no posee actividad antibacteriana frente a la flora salival mixta.

QUINTA

Existe diferencia altamente significativa entre clorhexidina al 2% y las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *Curcuma longa Linn*, siendo el control positivo el que mostró mayor sensibilidad ante flora salival mixta (60% de los casos).

RECOMENDACIONES

PRIMERA

Se recomienda realizar mayores estudios en base a *Curcuma longa* Linn, modificando el método de extracción de sus componentes activos.

SEGUNDA

Se recomienda evaluar la actividad antibacteriana del extracto de la *Curcuma longa* Linn frente a cepas certificadas a cepas ATCC.

TERCERA

Se recomienda no sólo abarcar el estudio del extracto alcohólico de la *Curcuma longa* Linn, si no ampliar la investigación hacia otros derivados de dicha planta, como es el aceite esencial, para obtener sus principios activos.

BIBLIOGRAFÍA

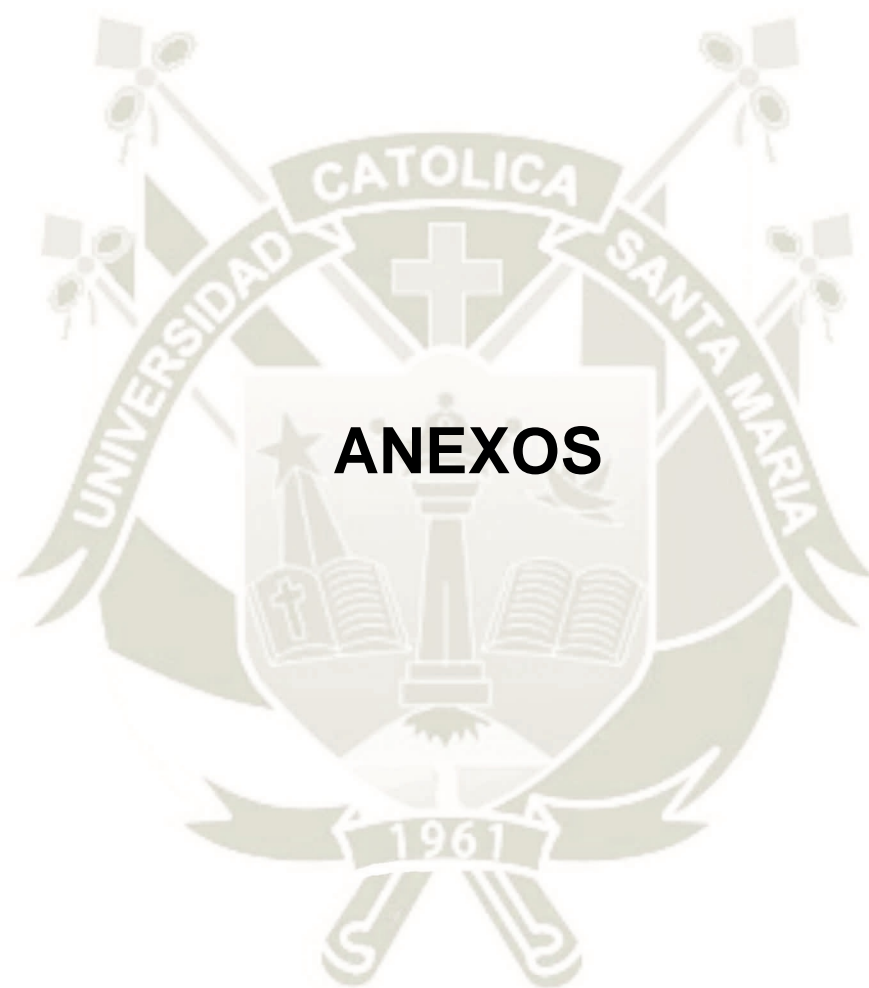
26. **Liébana Ureña, J.** *Microbiología Oral*. España : McGraw - Hill, 2002.
28. **Lamont, R.J., Hajishengallis, G.N. y Jenkinson, H.F.** *Microbiología e Inmunología Oral*. México D.F. : Manual Moderno, 2015.
32. **Moromi, H.** *Manual de prácticas de microbiología general y estomatológica*. Lima : s.n., 2002.
34. **Perez, A, y otros.** *Caries dental en dientes deciduos y permanentes jóvenes. Diagnóstico y tratamiento conservador*. s.l. : Facultad de Estomatología Cayetano Heredia, 2004.
38. **Duraffourd, C, D´hervocourt, L y Lapraz, JC.** *Cuadernos de Fitoterapia Clínica*. Madrid : Masson SA, 1986.

INFOGRAFÍA


1. **Espinoza Gómez, A.V. y La Fuente Ríos, K.K.** Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Curcuma longa* L. (palillo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Arequipa : UCSM, 2017.
2. **Velasco Chong, J.R. y Navarro Navarro, P.A.** Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de *Curcuma longa* (Guisador), mediante el método de macrodilución frente *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Iquitos - Perú : UNAP, 2013.
3. **Mego Terrones, W.** Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, comparada con oxacilina, estudio in vitro. Trujillo - Perú : UCV, 2019.
4. **Puente Contreras, E.E. y Torres Casanova, S.J.** Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale* roscoe (kion) y *Cúrcuma longa* L. (Palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. Lima - Perú : UIGV, 2018.
5. *Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (Rosmarinus officinalis), tomillo (Thymus vulgaris) y cúrcuma (Curcuma longa) de Colombia.* **Coy Barrera, CA y Acosta, GE.** 2, s.l. : Rev Cub Plan Med, 2013, Vol. 18, págs. 237-246.
6. **Vera Castro, J.M.** Evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de jengibre (*Zingiber officinale*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 12600. Cuenca - Ecuador : s.n., 2018.
7. *Estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de Curcuma longa L.* **Torres R., E., y otros.** 13, Cuba : QuimicaViva, 2014, Vol. 2.

8. *Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de cúrcuma longa L. y de los curcuminoides.* **Mesa y col.** s.l. : 41, 2000, Vol. 3, págs. 307-321.
9. *Microwave assisted extraction of curcumin by sample-solvent dual heating mechanism using Taguchi L9 orthogonal design.* **Mandal, V, Mohan, Y y Hemalatha, S.** 2, s.l. : Journal of Pharmaceutical and Biochemical Analysis, 2008, Vol. 46, págs. 322-327.
10. *Biological activities of Curcuma longa L.* **Aráujo, CAC y León, LL.** 5, s.l. : Mem Inst Oswaldo Cruz, 2001, Vol. 96, págs. 723-728.
11. *Separation and determination of the physicochemical characteristics of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin.* **Péret-Almeida, L, y otros.** 8, s.l. : Food Research International, 2005, Vol. 38, págs. 1029-1044.
12. *Use of liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry to identify diarylheptanoids in turmeric (Curcuma longa L) rhizome.* **Jiang, H, Timmermann, B y Gang, D.** 1, s.l. : Journal of Chromatography, 2006, Vol. 1111, págs. 21-31.
13. *Column chromatographic extraction and preparation of cordycepin from Cordyceps militaris waster medium.* **Ni, H, y otros.** s.l. : Jpurnal of Chromatography, 2009, Vol. 877, págs. 2135-41.
14. *Turmeric the genus Curcuma.* **Ravindran, P, Nirmal, K y Sivaraman, K.** New York : Taylor & Francis Group, 2007, págs. 47-453.
15. *Plant delivered health - the effects of turmeric and curcuminoids.* **Bengmark, S., Mesa, M.D. y Gil, A.** s.l. : Nutr Hosp., 2009.
16. *Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais.* **Cecilio Filho, A.B., y otros.** 1, s.l. : Ciencia Rural, 2000, Vol. 30.
17. *Avances en la caracterización farmacotoxicológica de la planta medicinal Curcuma longa Linn.* **Clapé Laffita, O y Castillo, AA.** 1, s.l. : Medisan, 2011, Vol. 16, págs. 97-114.
18. *Curcumina, o pó dourado do acafrao.da.terra: introspeccoes sobre química e atividades biológicas.* **Sueth-Santiago, V., y otros.** 4, s.l. : Quim.Nova., 2015, Vol. 38.
19. *A simple and efficient separation of the curcumins, the antiprotozoal constituents of Curcuma longa.* **Ramussen, HB, y otros.** s.l. : Planta Med, 2000, Vol. 66, págs. 396-398.
20. *Actividad biológica de tres Curcuminoides de Curcuma longa L. (Cúrcuma) cultivada en el Quindío - Colombia.* **García Ariza, L., y otros.** 1, Colombia : Rev Cub Plant Med, 2017, Vol. 22.
21. *Immunostimulatory activities of polysaccharide extract isolated from Curcuma longa.* **Yue, GG, y otros.** 3, s.l. : Int J Biol Macromol, 2010, Vol. 47, págs. 342-347.
22. *Chemopreventive effect of Curcuma longa Linn on liver pathology in HBx transgenic mice.* **Kim, J, y otros.** 2, s.l. : Integ Cancer Ther, 2011, Vol. 10, págs. 168-177.

23. *Synergistic effect of curcumin and insulin on muscle cell glucose metabolism.* **Kang, C y Kim, E.** 8, s.l. : Food Chem Toxicol, 2010, Vol. 48, págs. 2366-2373.
24. *Oral administration of extract Curcuma longa lowers Blood glucose and attenuates alloxan-induced Hyperlipidemia diabetic rabbits.* **Nwoso, S, Adaramoye, O y Ajaiyeoba, E.** 5, s.l. : Journal of Nutrition, 2009, Vol. 8, págs. 625-628.
25. *The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF- α and free fatty acids.* **El-Moselhy, MA, y otros.** 5, s.l. : Food Chem TOxicol, 2011, Vol. 49, págs. 1129-1140.
27. **Borrovic Ramos, FY.** *Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de Erythroxylum Novogranatense var Truxillense (coca) sobre flora mixta salival.* Lima : UNMSM, 2006.
29. **Huarino Acho, M.** *Efecto antibacteriano de Caesalpinia spinose (tara) sobre flora salival mixta.* Lima : UNMSM, 2011.
30. **Mamani, BI.** *Actividad antibacteriana de aceite esencial de Mentha spicata L. sobre flora mixta salival.* Lima : UNMSM, 2013.
31. **Paredes Sampen, NA.** *Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de Camelia sinensis y Minthostachys mollis sobre flora salival mixta.* 2009.
33. *Associations between periodontal disease and risk for nosocomial bacterial pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease. A systematic review.* **Scannapieco, FA, Bush, RB y Paju, S.** s.l. : Annals of Periodontology, 2003, Vol. 8, págs. 54-69.
35. **Negroni, M.** *Microbiología estomatológica.* Buenos Aires : Médica panamericana, 2009. págs. 225-245.
36. *Actividad cariogénica y su relación con el flujo salival y la capacidad amortiguadora de la saliva.* **Loyo, K.** 3, s.l. : Acta Odontológica Venezolana, 1999, Vol. 37.
37. *Antimicrobial agents in saliva-protection for the whole body.* **Tenovuo, J.** 12, s.l. : Journal of Dental Research, 2002, Vol. 81.



ANEXO N° 1
AUTORIZACIÓN PARA EL USO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE
LA UCSM


Universidad Católica de Santa María
AREQUIPA - PERU ☎ (51 54) 382038 Fax: (51 54) 251213 ✉ ucsm@ucsm.edu.pe @http://www.ucsm.edu.pe Apartado: 1356

EXPEDIENTE 201800023247

UCSM-COORD.LAB - 017-2018

BRAVO OVIEDO DIANA JIMENA

Arequipa, 2018 mayo 14

Pase a los Asistentes de Laboratorio:

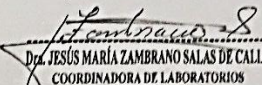
Sra Rocío Rodríguez y Andrea Cepeda

Se autoriza el uso del Laboratorio, *H-402*.....
A la señorita indicada, a fin de desarrollar su proyecto de Tesis "EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA INVITRO DE LA CURCUMA LONGA L. SOBRE LA FLORA SALIVAL MIXTA DE PACIENTES DE LA CLINICA ODONTOLOGICA DE LA UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA AREQUIPA 2018", previa coordinación de horario. *caso suceso de corte*

Desde *01-06-2018*.....Hasta *02-06-2018*.....
Horario: *Viernes 7:00 - 17:00*.....
Sábado 7:00 - 12:00.....

Atentamente,

JMZS/CLyG
Rtr


Dra. JESÚS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE
COORDINADORA DE LABORATORIOS
Y GABINETES
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO N° 2
AUTORIZACIÓN PARA LA TOMA DE MUESTRAS EN LA CLÍNICA
ODONTOLÓGICA DE LA UCSM

UNIVERSIDAD CATOLICA DE "SANTA MARIA"
Vice Rectorado Administrativo

Formato N° 004

Formato obligatorio para trámites

UCSM 2018430905395
SANTA MARIA
TES
1
OR

SOLICITO: PERMISO PARA UTILIZAR LA
CLINICA ODONTÓGICA

**SEÑOR DIRECTOR DE LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD CATOLICA
DE SANTA MARIA**

Yo, DIANA JIMENA BRAVO OVIEDO,
identificada con el código 201223002,
Alumna de la Escuela Profesional de
Odontología, me presento ante usted y
expongo:

Que, por motivos de desarrollar el Proyecto
de Tesis titulado: "EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA INVITRO DE LA CURCUMA
LONGA L. SOBRE LA FLORA SALIVAL MIXTA DE PACIENTES DE LA CLÍNICA
ODONTOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA. AREQUIPA -
2018" solicito Permiso a su despacho para poder utilizar las instalaciones de la
Clínica para realizar la toma de muestras.

POR LO EXPUESTO:

Ruego a usted acceder a mi solicitud.

Arequipa 11 de Mayo de 2018

2018/05/11
3:33 pm

DIANA JIMENA BRAVO OVIEDO
Código 201223002

ANEXO N° 3

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El que suscribe _____

hace contar que otorga su consentimiento expreso para ser unidad de estudio en la investigación que presenta DIANA JIMENA BRAVO OVIEDO, de la Facultad de Odontología, titulada “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA CÚRCUMA LONGA LINN SOBRE LA FLORA SALIVAL MIXTA AL 4, 8, 12 Y 16% EN ALUMNOS DEL X SEMESTRE DEL CENTRO ODONTOLÓGICO DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA. AREQUIPA – 2018.” Con fines de obtención del Título Profesional de Cirujano Dentista.

Declaro que he sido informado exhaustivamente sobre la naturaleza, los objetivos y fines de dicho estudio.



Huella digital

Firma

DNI _____

ANEXO N° 4
TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDIDA DE LOS HALOS
DE INHIBICIÓN

	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO DE CURCUM LONGA LINN					
FLORA SALIVAL MIXTA	Control negativo	4%	8%	12%	16%	Control positivo
Muestra N° 1						
Muestra N° 2						
Muestra N° 3						
Muestra N° 4						
Muestra N° 5						
Muestra N° 6						
Muestra N° 7						
Muestra N° 8						
Muestra N° 9						
Muestra N° 10						

ANEXO N° 5
NORMA NBR 13624 DE LA ASOCIACIÓN BRASILEIRA DE NORMAS
TÉCNICAS (1996)



**ABNT-Associação
Brasileira de
Normas Técnicas**

Sede:
Rio de Janeiro
Av. Treze de Maio, 13 - 28º andar
CEP 20003-900 - Caixa Postal 1680
Rio de Janeiro - RJ
Tel.: PABX (021) 210-3122
Telex: (021) 34333 ABNT - BR
Endereço Telegráfico:
NORMATECNICA

Copyright © 1996,
ABNT-Associação Brasileira
de Normas Técnicas
Printed in Brazil
Impresso no Brasil
Todos os direitos reservados

MAIO 1996 | NBR 13624

Cúrcuma - Determinação do teor de curcumina

Método de ensaio

Origem: Projeto 13:005.01-044/1994
CB-13 - Comitê Brasileiro de Alimentos e Bebidas
CE-13:005.01 - Comissão de Estudo de Conservadores
NBR 13624 - Turmeric - Curcumin content determination - Method of test
Descriptors: Dye. Food
Válida a partir de 01.07.1996

Palavras-chave: Corante. Alimento

1 página

1 Objetivo

Esta Norma prescreve o método para a determinação do teor de curcumina em cúrcuma.

2 Aparelhagem

A aparelhagem necessária à execução do ensaio é a seguinte:

- a) balança analítica;
- b) espectrofotômetro;
- c) balão de extração de 100 mL com fundo chato e

3.2 Ensaio

- 3.2.1 Pesar, com exatidão em miligramas, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para o balão de extração, com o auxílio do álcool.
- 3.2.2 Adicionar cerca de 30 mL do álcool e aquecer em refluxo por 2 h 30 min.
- 3.2.3 Esfriar e filtrar para um balão volumétrico de 100 mL.
- 3.2.4 Completar o volume com álcool e pipetar 20 mL para o balão volumétrico de 250 mL, completando o volume com álcool.

ANEXO N° 6
POLVO DE CÚRCUMA UTILIZADO PARA LA ELABORACIÓN DEL
EXTRACTO ALCOHÓLICO





FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO EN LABORATORIO

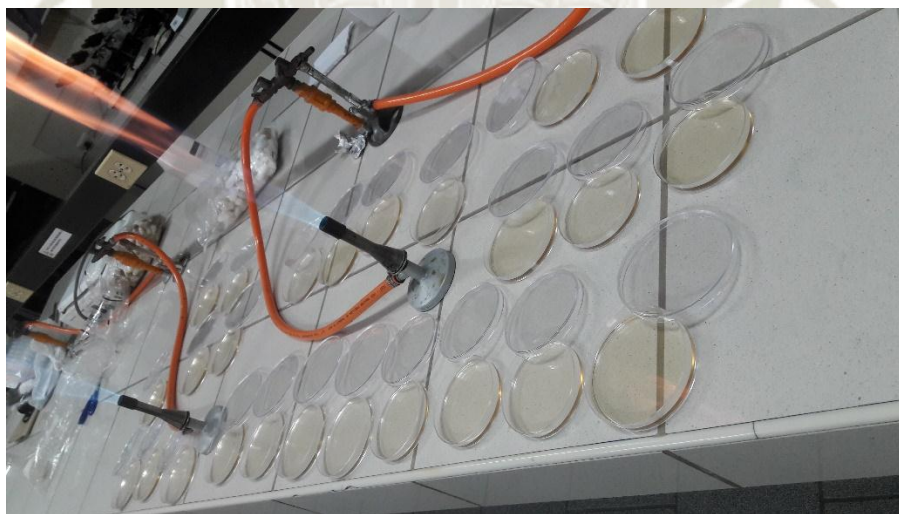
Fotografía N° 1

Materiales, equipos y reactivos utilizados para el estudio en Laboratorio



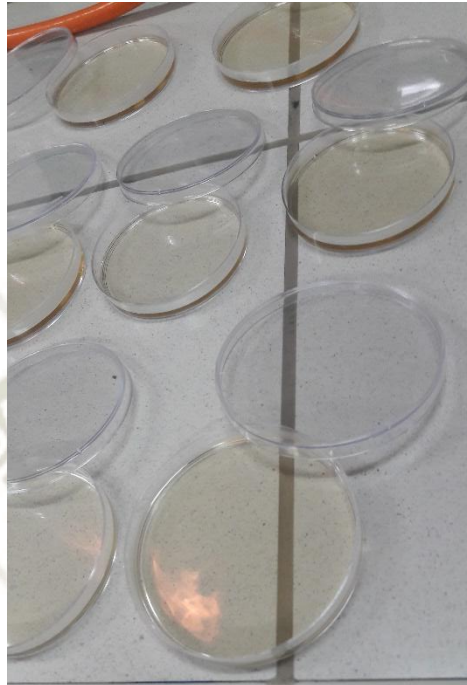
Fotografía N° 2

Placas Petri con agar Mueller Hinton



Fotografía N° 3

Placa Petri abierta para gelificación y posterior siembra



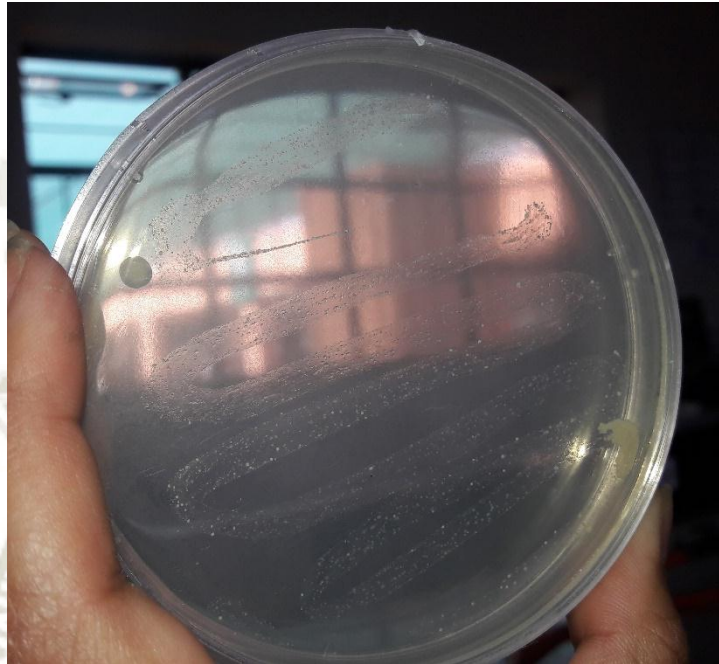
Fotografía N° 4

Siembra de muestra de flora salival mixta



Fotografía N° 5

Cepas obtenidas después de 24 horas de incubación

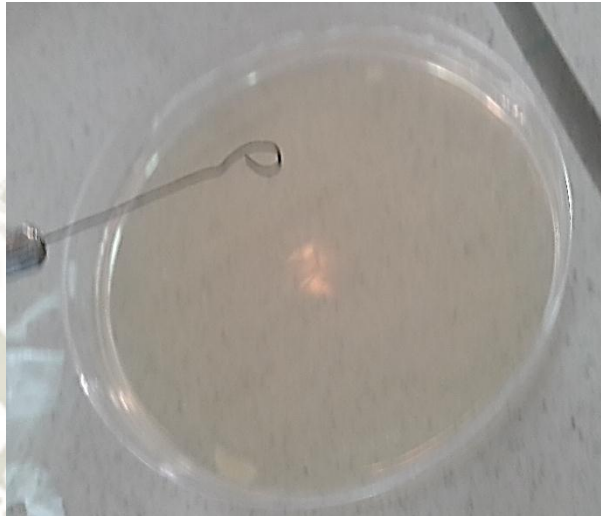


Fotografía N° 6

Asa de Kole para recolección de colonias



Fotografía N° 7
Recolección de colonias



Fotografía N° 8
Caldos Tripticasa Soja listos para ser inoculados



Fotografía N° 9

Caldo Tripticasa Soja inoculado con colonias recolectadas del agar Mueller Hinton



Fotografía N° 10

Escala de McFarland



Fotografía N° 11

Escala de medición de McFarland con turbidez obtenida en una muestra de estudio.



Fotografía N° 12

Obtención de colonias en caldo Tripticasa Soja



Fotografía N° 13

Caldos Tripticasa Soja previos a siembra en placas con agar Mueller Hinton



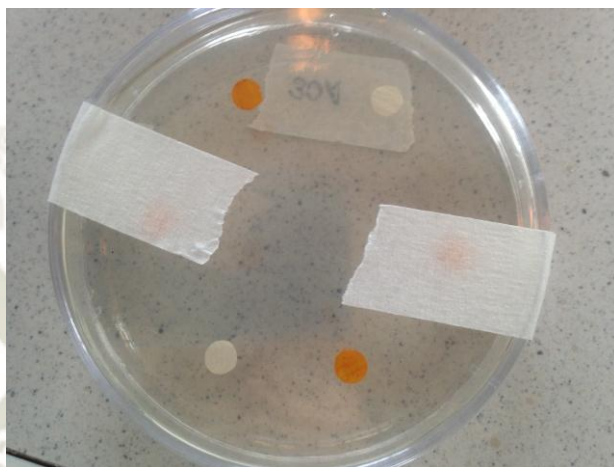
Fotografía N° 14

Micropipeta para incluir el extracto en discos de sensibilidad



Fotografía N° 15

**Discos con extracto de cúrcuma y controles positivo y negativo colocados
en placas Petri con siembra de colonias de flora salival mixta.**



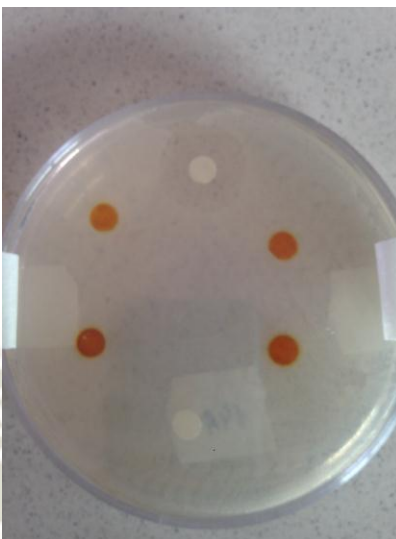
Fotografía N° 16

Regla Vernier para medida de halos de inhibición



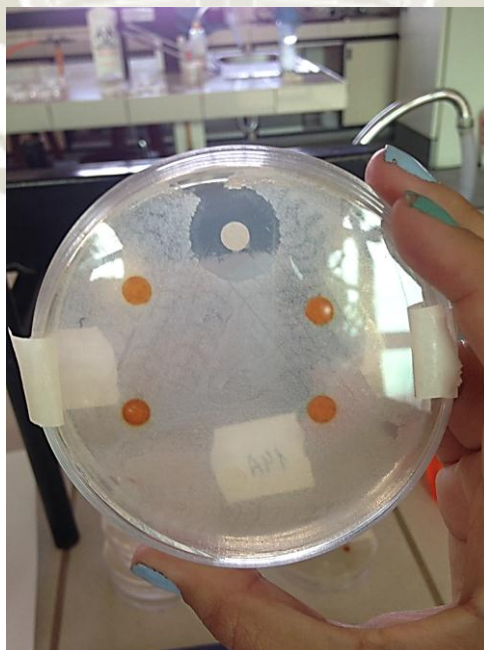
Fotografía N° 17

Placa Petri después de 24 h de incubación



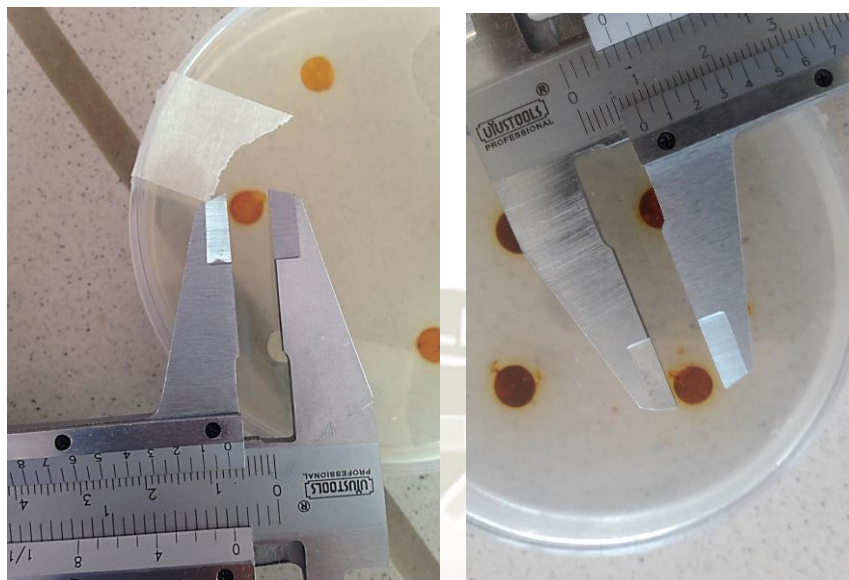
Fotografía N° 18

Halos de inhibición



Fotografía N° 19

Medición de halo de inhibición de extracto al 16%





RESULTADOS



MEDIDA DE HALOS DE INHIBICIÓN

MUESTRA	CONTROL					CONTROL POSITIVO
	NEGATIVO	CURCUMA 4%	CURCUMA 8%	CURCUMA 12%	CURCUMA 16%	
1	6	7.5	7.5	7.5	8.5	21.5
2	6	7.5	7.5	7.5	7.5	20
3	6	7.5	7.5	7.5	8.5	17.5
4	6	7.5	7.5	7.5	8.5	19
5	6	7.5	7.5	7.5	9	17
6	6	8	7.5	8.5	9	16
7	6	7.5	7.5	8.5	8.5	17
8	6	7.5	7.5	8.5	8.5	20.5
9	6	7.5	7.5	7.5	8.5	19
10	6	7.5	7.5	8	7.5	18
11	6	7.5	7.5	7.5	9	19
12	6	7.5	8	8.5	8	17.5
13	6	7.5	7.5	7.5	8.5	20
14	6	7.5	8.5	8.5	8	18.5
15	6	7.5	7.5	7.5	7.5	11.5
16	6	7.5	7.5	7.5	8	15.5
17	6	6.5	7.5	6.5	7.5	12.5
18	6	6.5	7.5	7.5	8.5	14.5
19	6	7.5	6.5	8	8	17.5
20	6	7.5	7.5	7.5	8.5	17.5
21	6	7.5	8	8.5	9	19.5
22	6	7.5	8.5	8.5	8.5	14.5
23	6	8	8.5	9	8.5	15.5
24	6	7.5	7.5	8	9	22.5
25	6	7.5	7.5	8.5	8.5	21.5

26	6	8	8	9	9	23
27	6	7.5	7.5	9	9	19.5
28	6	8.5	8.5	9	9	19
29	6	7.5	8.5	8.5	9	21
30	6	8.5	8	8.5	9	21
31	6	7.5	8	8	8	17
32	6	8	8	8.5	8.5	17.5
33	6	7	7.5	8	9	17.5
34	6	8	7.5	7.5	8.5	16.5
35	6	7.5	7.5	8	9	19.5
36	6	8.5	8	8.5	8.5	19
37	6	8	7.5	7.5	8	18
38	6	7.5	7.5	8	8.5	20.5
39	6	8.5	8.5	8.5	8.5	20
40	6	7.5	8.5	9	9	19
41	6	7	7	8	8	15
42	6	7.5	7.5	7.5	8	17.5
43	6	6.5	7.5	8	8.5	19.5
44	6	7	7.5	8.5	8.5	21
45	6	8	7.5	8.5	8.5	17.5
46	6	7	8	8	8.5	17
47	6	7.5	7.5	8	9	20
48	6	7.5	8	8.5	9	18.5
49	6	8.5	8	9	9	19
50	6	7.5	8	8.5	8.5	17.5
51	6	7	7.5	8	8.5	16.5
52	6	7.5	7.5	7.5	8.5	16.5
53	6	8	7.5	8	8	19.5

54	6	8	8	8	8	20
55	6	7.5	8	8.5	8	18.5
56	6	7.5	7.5	8.5	9	17.5
57	6	7	8	8	9	19
58	6	6.5	7.5	8	8.5	21
59	6	7	7.5	8.5	8.5	19.5
60	6	7.5	8	8.5	8	16
61	6	7.5	7.5	8	8	19.5
62	6	6.5	7.5	7.5	8	21
63	6	8	8	8.5	9	18.5
64	6	8	7.5	8.5	8.5	17.5
65	6	8.5	8	8.5	9	20.5
66	6	7.5	7.5	8	8.5	22
67	6	8	8.5	8.5	9	19.5
68	6	8	8	9	8.5	18
69	6	8.5	8.5	9	8.5	16
70	6	7.5	7	8	8	16.5
71	6	8	7.5	8	8.5	19.5
72	6	7.5	8	8.5	8.5	19
73	6	8	8.5	9	9	16
74	6	7.5	7.5	8	9	17.5
75	6	7.5	8	8.5	8	19.5
76	6	8.5	8	8.5	8.5	21
77	6	8	8	7.5	8.5	19.5
78	6	6.5	7.5	8	7.5	19.5
79	6	7.5	8.5	8	9	18.5
80	6	8	8.5	8.5	8	20.5