



**SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**COMPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO  
COMERCIALES CON UN MEDIO DE CULTIVO  
HECHO A BASE DE ESPIRULINA MEDIANTE EL  
CRECIMIENTO DE *Staphylococcus aureus* CEPA  
ATCC N° 25923 Y DE *Escherichia coli* CEPA ATCC  
N°25922 EN LOS LABORATORIOS DE LA  
UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS 2016.**

**PRESENTADA POR LA BACHILLER  
PORTOCARRERO VALDIVIA, SINDY ESTHER**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AREQUIPA-PERÚ**

**2016**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de investigación principalmente a Dios que gracias a Él todo se ha realizado.

A mis padres a quienes debo mi vida entera, la que no me va alcanzar para retribuirles todo lo que se merecen.

A mis hermanos que me ayudaron a sobrellevar mi vida y hacerla más alegre.

A mi pareja que con altas y bajas siempre estuvo a mi lado.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por bendecirme y guiarme siempre por el buen camino, por darle salud a mis seres queridos.

A mis padres por darme la educación, valores, formación y por estar para mí cuando los necesito.

A la Dra. Alexandra Fernández Gambarini, a quien fue difícil entender su forma de educar y complicado comprender su forma de orientarnos hacia la carrera de Químico Farmacéutico.

A mi asesora Blga. Lourdes Villamarín Poblete que a pesar de su trabajo y no tener tiempo se sacrifica para que podamos dar ese último gran paso en nuestras vidas.

A mis profesores que supieron tenerme paciencia y guiarme con sus conocimientos.

A mis compañeros y amigos los que nos dimos la mano en todo el tiempo que convivimos.

A mis hermanos por estar a mi lado siempre, por sus consejos y su cariño incondicional.

A mi pareja que cuando me sentí derrotada me daba un soplo de aliento para seguir adelante.

**TABLA DE CONTENIDOS**

Dedicatoria.....	i
Agradecimiento.....	ii
Tabla de contenido.....	iii
Índice de anexos.....	vii
Índice de figuras.....	xv
Índice de tablas.....	xvi
Resumen.....	xix
Abstract.....	xxi
Introducción.....	xxiii

Capítulo I.....	1
Planteamiento metodológico.....	1
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	1
1.2. Delimitaciones y definición del problema.....	2
1.2.1. Delimitaciones.....	2
A. Delimitación espacial.....	2
B. Delimitación temporal.....	2
C. Delimitación social.....	2
D. Delimitación conceptual.....	2
1. Área.....	2
2. Campo.....	2
3. Línea.....	2
4. Tema general.....	2
5. Tema específico.....	2
1.2.2. Definición del problema.....	2
1.3. Formulación del problema a investigar.....	3
1.3.1. Subproblemas.....	3
1.4. Objetivos de la investigación.....	3
1.4.1. Objetivo general.....	3
1.4.2. Objetivos específicos.....	3
1.5. Hipótesis de la investigación.....	4
1.6. Variables e indicadores.....	4
1.7. Justificación e importancia de la investigación.....	4
1.8. Tipo y Nivel de investigación.....	6
1.8.1. Tipo de investigación.....	6
1.8.2. Nivel de investigación.....	6
1.9. Método y Diseño de la investigación.....	6
1.9.1. Método de la investigación.....	6

1.9.2. Diseño de la investigación.....	19
1.10. Técnicas e Instrumentos de recolección de información.....	19
1.10.1. Técnicas.....	19
1.10.2. Instrumentos.....	19
1.11. Cobertura del estudio.....	19
1.11.1. Universo.....	19
1.11.2. Muestra.....	19
Capítulo II.....	20
Marco Teórico.....	20
2.1. Antecedentes investigativos.....	20
2.2. Marco conceptual.....	22
2.2.1. Medios de Cultivo.....	22
2.2.2. La Espirulina.....	29
Capítulo III.....	36
Análisis e Interpretación de los resultados.....	36
3.1. Población y Muestra.....	36
3.2. Nivel de confianza y grado de significancia (P).....	37
3.3. Tamaño de la Muestra representativa.....	45
3.4. Análisis e Interpretación de resultados.....	46
Capítulo IV.....	58
Conclusiones.....	58
Recomendaciones.....	60
Referencias Bibliográficas.....	61
Bibliografía.....	63

Anexos.....67

## ÍNDICE DE ANEXOS

Equipos utilizados.....	68
Anexo N°1	
Autoclave (Greetmed).....	68
Anexo N°2	
Balanza analítica (Henkel).....	68
Cepas ATCC	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923.....	69
Anexo N°3	
Código de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923.....	69
Anexo N°4	
Material de trabajo para cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923.....	69
Anexo N°5	
Crecimiento bacteriano de cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
Agar Manitol.....	70



<i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922.....	70
Anexo N°6	
Código de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922.....	70
Anexo N°7	
Material de trabajo para cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922.....	71
Anexo N°8	
Crecimiento bacteriano de cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922 en	
Agar EMB Levine.....	71
Preparación de medios de cultivo o agares	
Pesado de agares.....	72
Anexo N°9	
Pesado Agar Manitol.....	72
Anexo N°10	
Pesado Agar eosina azul de metileno (EMB Levine).....	72
Anexo N°11	
Pesado de polvo de Espirulina.....	73
Anexo N°12	
Pesado Agar Agar.....	73
Anexo N°13	
Pesado Agar Nutritivo.....	74
Realización de agares.....	74
Anexo N°14	
Material para preparar agar Nutritivo.....	74
Anexo N°15	
Material para preparar agar Manitol.....	75

Anexo N°16	
Material para preparar agar eosina azul de metileno (EMB Levine).....	75
Anexo N°17	
Material para preparar agar de Espirulina.....	76
Anexo N°18	
Plaqueado listo para sembrar <i>Staphylococcus aureus</i> ATC N° 25923 en agares (Manitol-Nutritivo-Espirulina).....	76
Anexo N°19	
Plaqueado listo para sembrar <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922 en agares (Eosina Azul De Metileno (EMB Levine)- Nutritivo-Espirulina).....	77
Anexo N°20	
PLaqueado de agar Espirulina-M.....	77
Anexo N° 21	
Plaqueado de agar Espirulina-E.....	77
Anexo N°22	
Escala de Ph.....	78
Anexo N°23	
Ph agar de Espirulina antes de esterilizar.....	78
Anexo N°24	
Ph de agar Espirulina después de esterilizado.....	79
Anexo N°25	
Ph de agar Manitol.....	79
Anexo N°26	
Ph de agar eosina azul de metileno (EMB Levine).....	80

Anexo N°27	
Ph agar Nutritivo.....	80
Anexo N°28	
Ph agar Espirulina-M.....	81
Anexo N°29	
Ph agar Espirulina-E.....	81
Reactivo de Biuret.....	82
Anexo N°30	
Agar de Espirulina antes de esterilizar.....	82
Anexo N°31	
Agar de Espirulina después de esterilizar.....	82
Anexo N°32	
Pesado de crecimiento bacteriano <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, con ayuda de la Asa de Henle.....	83
Anexo N°33	
Pesado de crecimiento bacteriano <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922, con ayuda del asa de Henle.....	83
Anexo N°34	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en A. Nutritivo a Las 24 horas.....	84
Anexo N°35	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25922 en A. Nutritivo a las 48 horas.....	84

Anexo N°36	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. de Nutritivo a las 72 horas.....	85
Anexo N°37	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. Espirulina a las 24 horas.....	85
Anexo N°38	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. Espirulina a las 48 horas.....	86
Anexo N°39	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. de Espirulina a las 72 horas.....	86
Anexo N°40	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. Manitol a las 24 horas.....	87
Anexo N°41	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. Manitol a las 48 Horas.....	88
Anexo N°42	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. de Manitol a las 72 horas.....	89
Anexo N°43	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. de Espirulina-M a las 24 horas.....	90

Anexo N°44	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923 en	
A. Espirulina-M a las 48 horas.....	90
Anexo N°45	
Crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923	
A. Espirulina-M a las 72 horas.....	91
Anexo N°46	
Crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922	
A. Nutritivo a las 24 horas.....	92
Anexo N°47	
Crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922	
A. Nutritivo a las 48 horas.....	92
Anexo N°48	
Crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922 en	
A. Nutritivo a las 72 horas.....	93
Anexo N°49	
Crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922 en	
A. de Espirulina a Las 24 horas.....	93
Anexo N°50	
Crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922 en	
A. de Espirulina a las 48 horas.....	94
Anexo N°51	
Crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922 en	
A. de Espirulina a las 72 horas.....	94

## Anexo N°52

Crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en

A. eosina azul de metileno (EMB Levine) a las 24 horas.....95

## Anexo N°53

Crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en

A. eosina azul de metileno (EMB Levine) a las 48 horas.....95

## Anexo N°54

Crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en

A. eosina azul de metileno (EMB Levine) a las 72 horas.....96

## Anexo N°55

Crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en

A. de Espirulina-E a las 24 horas.....97

## Anexo N°56

Crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en

A. de Espirulina-E a las 48 horas.....97

## Anexo N°57

Crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en

A. de Espirulina-E a las 72 horas.....98

## Anexo N°58

Ficha de recolección de datos 1A .....99

## Anexo N°59

Ficha de recolección de datos 1B.....100

## Anexo N°60

Ficha de recolección de datos 1C.....101

Anexo N°61	
Ficha de recolección de datos 1AM.....	102
Anexo N°62	
Ficha de recolección de datos 1BM.....	103
Anexo N°63	
Ficha de recolección de datos 1CM.....	104
Anexo N°64	
Ficha de recolección de datos 2A.....	105
Anexo N°65	
Ficha de recolección de datos 2B.....	106
Anexo N°66	
Ficha de recolección de datos 2C.....	107
Anexo N°67	
Ficha de recolección de datos 2AE.....	108
Anexo N°68	
Ficha de recolección de datos 2BE.....	109
Anexo N°69	
Ficha de recolección de datos 2CE.....	110
Certificado de cepa ATCC de <i>Escherichia coli</i> ATCC N° 25922.....	111
Certificado de cepa ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923.....	112

## INDICE DE FIGURAS

Figura 01	
<i>Spirulina Maxima L.</i> (NATURGEN).....	7
Figura 02	
(A) fotografía con flash, (B) fotografía sin flash.....	9
Figura 03	
Técnica de sembrado.....	18



## INDICE DE TABLAS

Tabla 01	
Definición operacional de variables e indicadores.....	4
Tabla 02	
Composición Agar de Espirulina.....	7
Tabla 03	
Composición Agar Nutritivo.....	10
Tabla 04	
Composición agar Espirulina-M.....	11
Tabla 05	
Composición de Agar Manitol.....	13
Tabla 06	
Composicion de Agar Espirulina-E.....	14
Tabla 07	
Composicion agar eosina de metileno (EMB Levine).....	16

Tabla 08	
Comparación de proteínas en porcentaje.....	34
Tabla 09	
Ficha de recolección de datos 1C.....	37
Tabla 10	
Resultado estadístico de ficha de recolección de datos 1C.....	38
Tabla 11	
Ficha de recolección de datos 1CM.....	39
Tabla 12	
Resultado estadístico de ficha de recolección de datos 1CM.....	40
Tabla 13	
Ficha de recolección de datos 2C.....	41
Tabla 14	
Resultado estadístico de ficha de recolección de datos 2C.....	42
Tabla 15	
Ficha de recolección de datos 2CE.....	43
Tabla 16	
Resultado estadístico de ficha de recolección de datos 2CE.....	44
Tabla 17	
Comparación Agar Espirulina – Agar Nutritivo 1A.....	46
Tabla 18	
Comparación Agar Espirulina – Agar Nutritivo 1B.....	47
Tabla 19	
Comparación Agar Espirulina – Agar Nutritivo 1C.....	48

Tabla 20	
Comparación Agar Espirulina-M – Agar Manitol 1AM.....	49
Tabla 21	
Comparación Agar Espirulina-M – Agar Manitol 1BM.....	50
Tabla 22	
Comparación Agar Espirulina-M – Agar Manitol 1CM.....	51
Tabla 23	
Comparación Agar Espirulina – Agar Nutritivo 2A.....	52
Tabla 24	
Comparación Agar Espirulina – Agar Nutritivo 2B.....	53
Tabla 25	
Comparación Agar Espirulina – Agar Nutritivo 2C.....	54
Tabla 26	
Comparación Agar Espirulina-E – Agar EMB Levine 2AE.....	55
Tabla 27	
Comparación Agar Espirulina-E – Agar EMB Levine 2BE.....	56
Tabla 28	
Comparación Agar Espirulina-E – Agar EMB Levine 2CE.....	57

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación, se realizó para comparar el crecimiento bacteriano de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y de *Escherichia coli* ATCC N° 25922; en agares comerciales y uno elaborado a base de Espirulina el que fue desarrollado en la Universidad Alas Peruanas en el año 2016.

Se formuló 3 agares a base de Espirulina, que se compararon con agares comerciales el primero agar a base de Espirulina con el agar Nutritivo, el segundo agar Espirulina-M con el agar Manitol, y el tercero agar Espirulina-E con el agar eosina azul de metileno (EMB Levine); la Espirulina que se utilizó, es de Laboratorios Naturales y Genéricos S.A.C. (*Spirulina máxima* L).

Para ello, se utilizó la técnica de sembrado por superficie, haciendo diluciones decimales de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y de *Escherichia coli* ATCC N° 25922; de las cuales se tomó 0,1ml para la siembra en 10 placas de agares comerciales (Agar Nutritivo, Agar eosina azul de metileno – EMB Levine, Agar Manitol) y en 10 placas de agares hecho a base de Espirulina respectivamente; a los que se evaluó mediante el conteo de colonias a las 24, 48 y 72 horas.

Luego, de haber evaluado el crecimiento bacteriano, se observó que el mayor crecimiento de colonias se presentó en las placas sembradas en Agar a base de Espirulina con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 y en el agar Espirulina-E con *Escherichia coli* ATCC N° 25922 dentro de un periodo de tiempo de 72 horas, lapso de tiempo contemplado para la mayoría de lecturas en los laboratorios clínicos.

## ABSTRACT

The present study was conducted to compare the bacterial growth of strains of *Staphylococcus aureus* ATCC No. 25923 and of *Escherichia coli* ATCC No. 25922; In commercial agars and one made based on *Spirulina* that was developed at the University Alas Peruanas in the years 2016.

Three *Spirulina*-based agar were formulated, and the first *Spirulina*-based agar was compared with the Nutritive agar, the second *Spirulina*-M agar with the Mannitol agar, and the third *Spirulina*-E agar with the blue eosin agar Methylene chloride (EMB Levine); The *Spirulina* that was used, is from Natural and Generic Laboratories S.A.C. (*Spirulina maximum* L).

For this, the technique of surface seeding was used, making decimals dilutions of strains of *Staphylococcus aureus* ATCC N ° 25923 and of *Escherichia coli* ATCC N ° 25922; Of which 0.1 ml was taken for sowing in 10 commercial agar plates (Nutrient Agar, Methylene Blue Eosin Agar - EMB Levine, Manitol Agar) and in 10 agar plates made with *Spirulina* respectively; Which were evaluated by counting colonies at 24, 48 and 72 hours.

Then, having evaluated the bacterial growth, it was observed that the highest growth of colonies was present in the plates seeded in Spirulina-based Agar with strains of *Staphylococcus aureus* ATCC No. 25923 and of *Escherichia coli* ATCC No. 25922 and in the agar Spirulina-E with *Escherichia coli* ATCC No. 25922 within a time period of 72 hours, the time span contemplated for most readings in clinical laboratories.

## INTRODUCCIÓN

Los medios de cultivo son utilizados en los laboratorios universitarios y en el laboratorio clínico de hospitales, postas, los medios de cultivo comerciales están hechos a base de extractos de carne o de viseras de diferentes animales, teniendo una fuente de proteínas que sirven para la nutrición y alimento de una gran variedad de microorganismos.

En su composición los agares tienen, extractos de fluidos u órganos similares a los del organismo o sustancias sintéticas que se asemejen; los estudiantes de universidades e institutos tienen dificultad para adquirirlos.

La espirulina es un alga diminuta generadora del oxígeno que en su constitución presenta *Phycocyanin* un pigmento azulado, importante para un funcionamiento sano del hígado y la digestión de aminoácidos además, de poseer innumerables efectos positivos en nuestra salud.

La espirulina es bastante económica en su producción por lo tanto su compra es accesible, además de contener más del 65% de proteínas a diferencia de la carne de res, lo cual favorecería el crecimiento de bacterias en un medio de cultivo y podría



reducir el tiempo de espera y efectividad para la entrega de resultados en exámenes de laboratorio.

El alga espirulina contiene 65% de proteína vegetal altamente digerible que proporciona los ocho aminoácidos esenciales en las proporciones apropiadas y en una forma cinco veces más fácil de digerir que la proteína de carnes rojas o soja. Es una excelente fuente de minerales (potasio, de calcio, zinc, magnesio, manganeso, selenio, hierro y fósforo) al igual que vitaminas (del complejo entero de vitamina B, y de la vitamina E).

La espirulina es un almacén de clorofila, que favorece la acción peristáltica aliviando el estreñimiento, y normalizando la secreción de ácidos digestivos apaciguando el tracto digestivo, fortalece el sistema inmunológico, además parece favorecer la regeneración de las células del hígado y dilata los vasos sanguíneos para aumentar la circulación de todos los órganos.

La espirulina posee ácidos grasos esenciales importantes para la salud y también para el pelo, uñas, piel y buen funcionamiento de las reacciones en el organismo. Es baja en grasas saturadas, a diferencia de otros alimentos con alto valor nutricional, como los lácteos y las carnes.

La espirulina es especialmente eficaz en casos de anemia, desmineralización y agotamiento. Ayuda a recuperar la forma física, la energía, la vitalidad y a desintoxicar el organismo. Regenerador potente de la flora intestinal y es un poderoso activador de los mecanismos celulares de desintoxicación.

Por ello en el presente trabajo, considerando los componentes nutricionales se realizará un análisis del crecimiento bacteriano, en agares comerciales como Manitol, Eosina azul de metileno (EMB Levine), Nutritivo, comparándolo con el agar a base de espirulina en el crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* con el fin de obtener un agar más económico y eficaz para el cultivo de estos microorganismos.

El trabajo de investigación realizado es de nivel descriptivo, comparativo y de tipo observacional, prospectivo, longitudinal; en el capítulo I se encuentra la definición del problema, objetivos, método de la investigación, en el capítulo II se observa el marco teórico y conceptual, en el capítulo III el análisis e interpretación de los resultados, en el capítulo IV conclusiones y recomendaciones y finalmente los anexos donde se observará las fotos del procedimiento de la realización del trabajo de investigación.

## **CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO**

### **1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA**

Los medios de cultivo son de uso general en los laboratorios universitarios, en las cátedras de microbiología y en el laboratorio clínico de hospitales, postas, etc. Los medios de cultivo comerciales están hechos a base de extractos de carne o de viseras de diferentes animales, teniendo una proporción de proteínas que sirven para la nutrición y alimento de una gran variedad de microorganismos.

Los medios de cultivo son caros en su mayoría por su composición, extractos de fluidos u órganos similares del organismo o sustancias sintéticas que se asemejen; los estudiantes de universidades e institutos tienen dificultad para adquirirlos. La espirulina es bastante económica en su producción por lo tanto su venta es económica, además de contener más del 65% de proteínas en comparación con la carne de res, lo cual favorecería el crecimiento de bacterias en un medio de cultivo y podría reducir el tiempo de espera y efectividad para la entrega de resultados en exámenes de laboratorio.

## 1.2. DELIMITACIONES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

### 1.2.1. DELIMITACIONES

- A. **Delimitación espacial:** Departamento de Arequipa, Provincia de Arequipa en los laboratorios de la UAP.
- B. **Delimitación temporal:** La investigación tendrá una duración de 11 meses entre enero y noviembre del presente año.
- C. **Delimitación social:** La población universitaria y profesionales de la salud.
- D. **Delimitación conceptual:**
  - 1. **Área:** Ciencias de la salud.
  - 2. **Campo:** Farmacia y bioquímica.
  - 3. **Línea:** Microbiología.
  - 4. **Tema general:** Medios de cultivo.
  - 5. **Tema específico:** Comparación de los medios de cultivo comerciales con un medio de cultivo hecho a base de espirulina mediante el crecimiento de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 y de *Echerichia coli* cepa ATCC N° 25922.

### 1.2.2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Los medios de cultivo comerciales, contienen diferentes nutrientes para favorecer el crecimiento de diferentes tipos de bacterias u hongos para tener un crecimiento óptimo y poder hacer los diferentes estudios tanto en Universidades en los cursos de Microbiología como en los laboratorios de hospitales y postas para dar solución a diferentes problemas de salud.

Estos medios de cultivo utilizan extractos de bilis, corazón, cerebro, otros requieren de sangre, como también soya, proteínas vegetales lo cual hace que estos medios de cultivo sean caros para el bolsillo de estudiantes como para el presupuesto de hospitales, postas de salud, etc.

La espirulina contiene 65% más proteínas que los alimentos vegetales (soya) y animales (corazón, cerebro, etc.), además que su producción es muy económica ya que se pueden reproducir de manera industrial o artesanal, pudiendo ser un componente efectivo para adicionarlo en un medio de cultivo base, dándole los aportes necesarios para que este sea rico para el crecimiento de bacterias, además de ser económico para la adquisición de las universidades y estudiantes de microbiología así como, laboratorios de hospitales, postas de salud, etc.

### 1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA A INVESTIGAR

¿Cuál será el resultado de comparar los medios de cultivo comerciales con un medio de cultivo hecho a base de espirulina, mediante el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 y de *Escherichia coli* cepa ATCC N° 25922?

#### 1.3.1. SUBPROBLEMAS:

- ¿Cuál será el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 en agar Nutritivo y en un agar a base de espirulina al transcurrir 24, 48 y 72 horas de incubación?
- ¿Cuál será el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 en agar Manitol y en un agar a base de espirulina al transcurrir 24, 48 y 72 horas de incubación?
- ¿Cuál será el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* cepa ATCC N° 25922 en agar Nutritivo y en un agar a base de espirulina al transcurrir 24, 48 y 72 horas de incubación?
- ¿Cuál será el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* cepa ATCC N° 25922 en agar EMB Levine y en un agar a base de espirulina al transcurrir 24, 48 y 72 horas de incubación?

### 1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

#### 1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Comparar los medios de cultivo comerciales con un medio de cultivo hecho a base de espirulina mediante el crecimiento bacteriano de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y de *Escherichia coli* ATCC N° 25922, en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas 2016.

#### 1.4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Relacionar el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 en agar nutritivo y en un agar a base de espirulina a las 24, 48 y 72 horas.
- Observar el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 en agar manitol y en un agar a base de espirulina a las 24, 48 y 72 horas.

- Analizar el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* cepa ATCC N° 25922 en agar Nutritivo y en un agar a base de espirulina a las 24, 48 y 72 horas.
- Comparar el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* cepa ATCC N° 25922 en agar EMB Levine y en un agar a base de espirulina a las 24, 48 y 72 horas.

### 1.5. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

Dado que las bacterias necesitan de proteínas para poder crecer en medios de cultivo para ser estudiadas, es probable que la espirulina por su mayor contenido de proteínas pueda favorecer el mayor crecimiento bacteriano, en comparación de los diferentes medios de cultivo comerciales.

### 1.6. VARIABLES E INDICADORES

**TABLA 01**  
**DEFINICION OPERACIONAL DE VARIABLES E INDICADORES**

DEFINICION OPERACIONAL					
VARIABLE	DIMENSION	INDICADOR	ITEM	ESCALA	CATEGORIA
COMPARACIÓN ENTRE MEDIOS DE CULTIVO	CRECIMIENTO BACTERIANO	CONTEO DE COLONIAS (U.F.C.)	1	NUMERAL	CUANTITATIVA (DISCRETA)

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

### 1.7. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

La espirulina es un producto natural, una alga verde azul de forma espiral microscópica que se desarrolla en aguas estancadas con pH generalmente alcalinos; estudios indican que contienen varios nutrientes entre el que destaca, la mayor cantidad de proteínas a diferencia de otros alimentos, tanto vegetales como animales, tiene un porcentaje mayor al 65%, también hay presencia de vitaminas, minerales, oligoelementos, es una alga rica en nutrientes.

Los mayas en épocas pasadas consumían la espirulina como su alimento principal en forma de galletas secadas a la luz del sol, esta alga la obtenían de los lagos cercanos; numerosos estudios indican que es el alimento más completo por sus componentes. La NASA lo ha nombrado como el alimento del futuro, un

superalimento porque además de ser nutritivo serviría para obtener oxígeno en los vuelos espaciales, muchos científicos indican que con esta alga, se podría combatir la desnutrición o mal nutrición en diferentes continentes del mundo por ser bastante nutritiva y económica.

El cultivo de esta alga puede ser a nivel artesanal (lagos, estanques, etc.) o a nivel industrial (sistema de tubos, bioespirales, etc.) la replicación de esta alga suele ser muy económica porque no usa más agua de la que se encuentra depositada en la piscina o estanque ya que el agua, no se bota se reutiliza además, de no usar mayor área para su cultivo, estas características hacen que tenga una buena productividad a costos bajos, por lo tanto la comercialización de ésta no suele ser tan costosa a diferencia de la gran cantidad de beneficios que puede favorecer a nuestro organismo.

Estos últimos años, se ha dado mayor importancia a los productos naturales tanto a nivel de salud como de alimentación, por lo que empresas farmacéuticas la están usando como un suplemento nutricional, además, de servir como fortalecedor del sistema inmunológico ante alergias, anemias, problemas visuales, rendimiento escolar por sus aminoácidos, también para la prevención del cáncer y muchos males que en la actualidad se están dando a conocer con mayor continuidad.

Desde el punto de vista metodológico, esta investigación serviría como base para generar nuevos medio de cultivo gracias a la presencia de la gran cantidad de proteínas a diferencia de otros medios de cultivo habiendo una reproductibilidad y beneficios expresados en la optimización del crecimiento de bacterias, como en el costo y accesibilidad a estudiantes y profesionales de salud en el área de microbiología, además de poder crear nuevos medios de cultivo con selectividad con el aumento de uno o más componentes.

Este trabajo servirá como base experimental a estudiantes, profesionales de la salud, para el desarrollo de otros medios de cultivo, como base teórica para otros estudios científicos, aplicación y recolección de datos para profesionales de salud de diferentes áreas

## **1.8. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

### **1.8.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

La investigación realizada es de tipo:

Observacional, porque refleja la evolución natural del fenómeno sin intervención del investigador.

Prospectivo, porque los datos se tomaron a propósito de la investigación, el investigador controla la toma de datos.

Longitudinal, porque la lectura de datos se tomaron más de una vez.

### **1.8.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

La investigación realizada es de nivel:

Descriptiva; estudia, analiza, describe las características fundamentales de un fenómeno determinado, de una realidad tal como se presenta.

Comparativa, por evaluar dos poblaciones en su totalidad en la cual no se requiere de inferencias estadísticas, las diferencias numéricas en este nivel sugiere la comparación a nivel de hipótesis.

Es univariable y aplicada; compara los indicadores en el que se determina cuál de estos predice mejor los resultados.

## **1.9. MÉTODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.9.1. MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN**

Se explica brevemente como se realizó la parte experimental del trabajo de investigación.

#### **MATERIA PRIMA**

La espirulina se obtuvo del Laboratorios Naturales y Genéricos S.A.C. (Naturgen) "Spirulina" (*Spirulina Máxima L.*).



FIGURA 01

**Spirulina maxima L. (NATURGEN)****FORMULACIÓN DEL AGAR DE ESPIRULINA**

Se tomó de referencia la base de la fórmula del agar nutritivo.

**AGAR DE ESPIRULINA**

El medio de cultivo que se preparó, fue reemplazando los nutrientes del agar nutritivo por la espirulina.

TABLA 02

**COMPOSICIÓN AGAR DE ESPIRULINA**

FÓRMULA EN GRAMOS POR LITRO		INSTRUCCIONES
Espirulina	8 gr	Suspender 23gr. del agar de espirulina por 1 litro de agua destilada. Mezclar frecuentemente que hierva durante 1 minuto para disolver completamente el polvo. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.
Agar	15 gr	

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Se prepararon 60 placas de agar de espirulina

1 placa ----- 15 ml

60 placas ----- X

X = 900 ml agua destilada

Cálculos para la preparación de 60 placas.

En la fórmula del agar nutritivo contiene 15 gr de agar para 1 L de agua destilada.

15 gr ----- 1000 ml

X ----- 900 ml

X = 13.5 gr de agar agar

En la fórmula del agar nutritivo contiene 8 gr de peptona y extracto de carne de res para 1 L de agua destilada.

8 gr ----- 1000 ml

X ----- 900 ml

X = 7.2 gr de espirulina

Se tomó la 13.5 gr de agar agar y 7.2 gr de espirulina para la preparación de 60 placas para sembrado.

Se tomó el pH antes y después de ser esterilizado.

<b>AGARES</b>	<b>Ph</b>
ESPIRULINA ENTES DE ESTERILIZAR	6
ESPIRULINA DESPUES DE ESTERILIZAR	6

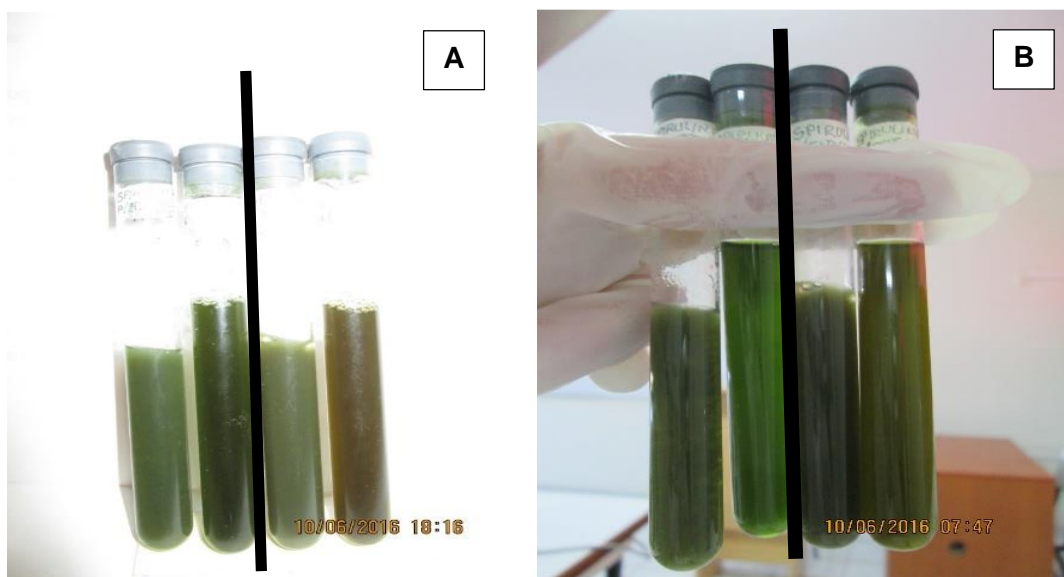
## DETERMINACIÓN DE PROTEINAS

### FUNDAMENTO:

El reactivo de Biuret contiene sulfato de cobre e hidróxido de sodio, cuando el cobre está en un medio alcalino fuerte, se une a los enlaces peptídicos formando un complejo violeta llamado Biuret.

FIGURA 02

(A) FOTOGRAFIA CON FLASH, (B) FOTOGRAFIA SIN FLASH



Se determinó las proteínas por colorimetría con el reactivo de Biuret, antes (izquierda de la línea negra) y después (derecha de la línea negra) de esterilizar, para identificar si las proteínas de la espirulina se degeneran al momento de exponerlas al calor.

Se observó coloración en los dos agares de agar espirulina, tanto en el que contenía agar de espirulina antes y después de esterilizar pero con mayor intensidad en el tubo que contenía agar de espirulina después de ser esterilizados.

### AGAR NUTRITIVO

Es un medio de cultivo utilizado para propósitos generales, aislamiento de microorganismos poco exigentes en lo que se refiere a requerimientos nutritivos.

Su uso está descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria.<sup>(1)</sup>

**TABLA 03**  
**COMPOSICIÓN AGAR NUTRITIVO**

Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Peptona	5.0	Suspender 23 g de polvo por 1 litro de agua purificada. Mezcle bien. Caliente agitando frecuentemente y hierva durante 1 minuto para disolver completamente el polvo. Autoclavar 121°C durante 15 minutos.
Extracto de carne de res	3.0	
Agar	15.0	
		pH final: 7.3 ± 0.2

**FUENTE:** Difco™ nutrient agar (Becton Dickinson and Company).

Se prepararon 60 placas de agar Nutritivo.

1 placa ----- 15 ml

60 placas ----- X

X = 900 ml agua destilada

Cálculos para la preparación de 60 placas.

23 gr ----- 1000 ml

X ----- 900 ml

X = 20.7 gr de agar Nutritivo

Se tomó el Ph del medio de cultivo.

AGAR	Ph
NUTRITIVO	7

<sup>(1)</sup> Britania, Buenos Aires, Agar Nutritivo, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/>, acceso, enero, 2016.

**AGAR ESPIRULINA-M**

Este medio de cultivo se preparó en base al agar Manitol reemplazando la parte nutricional por la espirulina.

**TABLA 04**  
**COMPOSICIÓN AGAR DE ESPIRULINA-M**

FORMULA EN GRAMOS POR LITRO		INSTRUCCIONES
Espirulina	11 gr	Disolver 111 gr de agar en polvo por un litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y calentar a ebullición durante 1 o 2 minutos. Esterilizar a 118 - 121 °C durante 15 minutos.
Manitol	10 gr	
Cloruro de sodio	75 gr	
Agar	15 gr	
Rojo fenol	0.025 gr	

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA

Se prepararon 30 placas de agar de Espirulina-M

1 placa ----- 15 ml

30 placas ----- X

X = 450 ml agua destilada

Cálculos para la preparación de 30 placas.

En la fórmula del agar Manitol contiene 15 gr de agar para 1 L de agua destilada.

15 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 6.75 gr de agar agar

En la fórmula del agar Manitol contiene 11 gr de pluripeptona y extracto de carne para 1 L de agua destilada.

11 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 4.95 gr de espirulina

En la fórmula del agar Manitol contiene 10 gr de manitol para 1 L de agua destilada.

10 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 4.5 gr de manitol

En la fórmula del agar Manitol contiene 75 gr de cloruro de sodio para 1 L de agua destilada.

75 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 33.75 gr de cloruro de sodio

En la fórmula del agar Manitol contiene 0.025 gr de rojo fenol para 1 L de agua destilada.

0.025 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 0.0113 gr de rojo fenol

Se tomó el Ph del medio de cultivo.

<b>AGAR</b>	<b>Ph</b>
ESPIRULINA-M	6.5

### AGAR MANITOL SALADO

Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos.

Es recomendado para el aislamiento de estafilococos patogénicos a partir de muestras clínicas, alimentos, productos cosméticos y otros materiales de importancia sanitaria.

También, este medio puede utilizarse para el cultivo de especies halófilas de Vibrio, si no se dispone de medios apropiados (TCBS Medio, Medio Marino, etc.), aunque algunas especies pueden no desarrollar.<sup>(2)</sup>

**TABLA 05**  
**COMPOSICIÓN DE AGAR MANITOL**

Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Extracto de carne	1.0	Suspender 111 g de polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar calentando a ebullición durante 1 o 2 minutos. Distribuir y esterilizar en autoclave a 118-121°C durante 15 minutos.
Pluripeptona	10.0	
d-Manitol	10.0	
Cloruro de sodio	75.0	
Agar	15.0	
Rojo de fenol	0.025	
pH final: 7.4 ± 0.2		

**FUENTE:** <http://www.britanialab.com.ar/>

Se prepararon 30 placas de agar Manitol.

1 placa ----- 15 ml

30 placas ----- X

X = 450 ml agua destilada

Cálculos para la preparación de 30 placas.

111 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 49.95 gr de agar Manitol

<sup>(2)</sup> Britania, Buenos Aires, Agar Manitol, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/>, acceso, enero, 2016.

Se tomó el Ph del medio de cultivo.

AGAR	Ph
MANITOL	7

### AGAR ESPIRULINA-E

Este medio de cultivo se preparó en base al agar EMB Levine (eosina azul de metileno) reemplazando la parte nutricional por la espirulina.

**TABLA 06**  
**COMPOSICIÓN AGAR DE ESPIRULINA-E**

FORMULA EN GRAMOS POR LITRO		INSTRUCCIONES
Espirulina	10 gr	Disolver 36 gr de polvo por un litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y calendar a ebullición durante 1 o 2 minutos. Esterilizar a 118 - 121 °C durante 15 minutos.
Lactosa	5 gr	
Sacarosa	5 gr	
Agar	13.5 gr	
Eosina	0.4 gr	
Azul de metileno	0.065 gr	

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA

Se prepararon 30 placas de agar de Espirulina-E

1 placa ----- 15 ml

30 placas ----- X

X = 450 ml agua destilada

Cálculos para la preparación de 30 placas.

En la fórmula del agar EMB Levine contiene 13.5gr de agar para 1L de agua destilada.

13.5 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 6.075 gr de agar agar



En la fórmula del agar EMB Levine contiene 10 gr de peptona para 1 L de agua destilada.

10 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 4.5 gr de espirulina

En la fórmula del agar EMB Levine contiene 5 gr de Lactosa para 1 L de agua destilada.

5 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 2.25 gr de lactosa

En la fórmula del agar EMB Levine contiene 5 gr de sacarosa para 1 L de agua destilada.

5 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 2.25 gr de sacarosa

En la fórmula del agar EMB Levine contiene 0.4 gr de eosina para 1 L de agua destilada.

0.4 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 0.18 gr de eosina

En la fórmula del agar EMB Levine contiene 0.065 gr de azul de metileno para 1 L de agua destilada.

0.065 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 0.0293 gr de azul de metileno

Se tomó el Ph del medio de cultivo.

AGAR	Ph
ESPIRULINA-E	7

**AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine)**

Este medio (también denominado E.A.M.) es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae.<sup>(3)</sup>

**TABLA 07****COMPOSICIÓN AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine)**

Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Peptona	10.0	Suspender 36 g del polvo en un litro de agua destilada. Reposar 5 minutos; mezclar, calentando a ebullición durante 1 o 2 minutos hasta su disolución.
Lactosa	5.0	
Sacarosa	5.0	
Fosfato dipotásico	2.0	
Agar	13.5	Esterilizar en autoclave a no más de 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45°C y distribuir agitando suavemente.
Eosina	0.4	
Azul de metileno	0.065	
		pH final: 7.2 ± 0.2

**FUENTE:** <http://www.britanialab.com.ar/>

Se prepararon 30 placas de agar EMB Levine.

1 placa ----- 15 ml

30 placas ----- X

X = 450 ml agua destilada

Cálculos para la preparación de 30 placas.

36 gr ----- 1000 ml

X ----- 450 ml

X = 16.2 gr de agar EMB Levine

Se tomó el Ph del medio de cultivo.

<b>AGAR</b>	<b>Ph</b>
EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine)	7

<sup>(3)</sup> Britania, Buenos Aires, Agar EMB, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/>, acceso, enero, 2016.

## PREPARACIÓN DE DILUCIONES

Se usaron cepas Gram positivas *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y Gram negativas *Escherichia coli* ATCC N° 25922.

Se pesó 0.2 gr de colonias de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 el cual se diluyó en 1.8 ml de suero fisiológico que fue la solución madre que pertenece a  $10^{-1}$  para poder realizar las siguientes diluciones decimales.

$$\text{Dilución } \frac{1}{10} = \frac{1 \text{ ml de muestras}}{1 \text{ ml de muestra} + 9 \text{ ml de diluyente}} = 10 \text{ ml de dilución } \frac{1}{10} \text{ ó } 10^{-1}$$

Para preparar la diluciones se tomó 0.2 gr de cepas de de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y *Escherichia coli* ATCC N° 25922, por lo tanto, se tuvo que hacer las diluciones en 1.8 ml de suero fisiológico para que estas diluciones sean decimales ( $10^{-1}$ ).

$$\text{Dilución } \frac{1}{10} = \frac{0.2 \text{ gr de muestras}}{0.2 \text{ gr de muestra} + 1.8 \text{ ml de diluyente}} = 0.1 \text{ ó } 10^{-1}$$

Se puso 1.8 ml en los tubos donde se realizó las diluciones decimales, en el primer tubo se puso 1.8 ml de suero fisiológico y 0.2 gr que se pesó de las colonias de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y *Escherichia coli* ATCC N° 25922, luego se tomó de esa dilución 0.2 ml para el siguiente tubo y sucesivamente igual hasta conseguir los 10 tubos de diluciones decimales.<sup>(4)</sup>

## SEMBRADO DE LAS DILUCIONES

Se sembró 0.1 ml en cada placa con la técnica de sembrado en superficie.

Las diluciones de las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, se sembró en 30 placas de Manitol Salado, 30 placas de agar Nutritivo y 30 placas de agar de Espirulina-M.

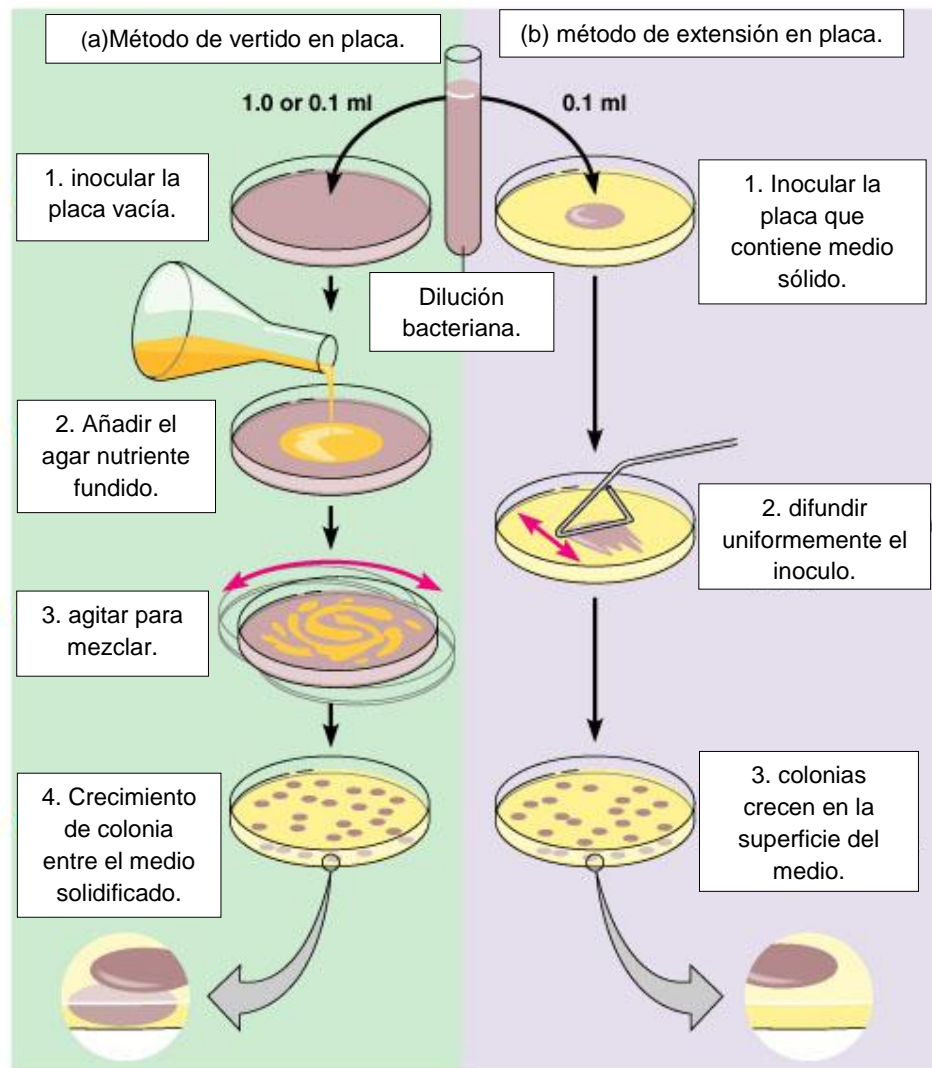
---

<sup>(4)</sup> By Marcia Spear, How to work, Microbiology dilution problems, disponible en: [www.ehow.com/how\\_7251879\\_work-microbiology-dilution-problems.html](http://www.ehow.com/how_7251879_work-microbiology-dilution-problems.html), acceso, marzo, 2016.

Las diluciones de las cepas de *Escherichia coli* ATCC N° 25922, se sembró en 30 placas de agar EMB Levine, 30 placas de agar Nutritivo y 30 placas de agar de Espirulina-E.

**FIGURA 03**  
**TÉCNICA DE SEMBRADO**

**SEMBRADO (TECNICA: En superficie o por la técnica de spread plate)**



**Fuente:** <http://classes.midlandstech.edu/>

Todas las placas sembradas se incubaron a 37°C y se tomó lectura del crecimiento de colonias a las 24 horas, 48 horas y 72 horas respectivamente.

## **1.9.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

No experimental.

## **1.10. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN**

### **1.10.1. TÉCNICAS**

Observación directa (crecimiento y conteo de colonias).

### **1.10.2. INSTRUMENTOS**

Ficha de registro y tablas de datos.

## **1.11. COBERTURA DEL ESTUDIO**

### **1.11.1. UNIVERSO**

Crecimiento bacteriano de colonias, de la cepas *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 en 10 placas de Agar Nutritivo, Agar Manitol y Agar de Espirulina-M respectivamente.

Crecimiento bacteriano de colonias, de la cepa de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en 10 placas de Agar Nutritivo, Agar EMB Levine y Agar de Espirulina-E respectivamente.

### **1.11.2. MUESTRA**

Placas con mayor crecimiento bacteriano, de colonias de cepas *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 en Agar a base de Espirulina, Espirulina-M y Agar Espirulina-E en comparación a las placas de Agar Nutritivo, Agar Manitol, Agar EMB Levine.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

- Superalimento para un mundo en crisis: “*Spirulina platensis* a bajo costo”.

Ernesto Ponce López.

Resumen: El presente trabajo se realizó en Tarapacá, Arica (Chile) Enero -Abril 2013, en la Escuela Universitaria de Ingeniería Mecánica, publicado en la revista IDESIA (Vol. 31 N° 1).

Este trabajo de investigación se realizó con la *Spirulina platensis*, estudian la producción de esta alga en mejores condiciones, para que tenga mayor reproductibilidad, con menores cantidades de uso de agua y menores costos, indicando que contiene mayor cantidad de proteínas, vitaminas, etc. en comparación con otros alimentos vegetales y animales, dando como conclusión que sería muy económico y un superalimento.<sup>(5)</sup>

- Cultivo del nematodo *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945) en un medio de avena enriquecida con *Spirulina sp.*

Revista de Biología Marina y Oceanografía: Ramón de Lara, Thalía Castro, Jorge Castro y Germán Castro. Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. Departamento El Hombre y su Ambiente. Laboratorio de Alimento Vivo Calzada del Hueso N° 1100. Col. Villa Quietud. México, D.F., Abril 2007

---

<sup>(5)</sup> Ponce L.E., Súper Alimento para un Mundo de Crisis: *Spirulina platensis* a bajo costo, disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=s0718-34292013000100016](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0718-34292013000100016), acceso, enero 2016.

En el presente trabajo de investigación se cultivó en dos medios, el nematodo *Panagrellus redivivus*, un medio con hojuelas de avenas y otro con hojuelas de avena enriquecido con *Spirulina sp.* (200gr de hojuelas, 300ml de agua purificada, 5gr *Spirulina sp.*).

Se utilizó el programa systat versión 10.2 para el análisis estadístico; para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos, se usó análisis de varianza unidireccional (ANDEVA) con una confiabilidad  $\alpha=0,05$ .

Los resultados obtenidos muestran, que el crecimiento de las poblaciones de nematodos en el medio enriquecido con espirulina presentó la mayor abundancia de individuos a la segunda semana del cultivo, mientras que la población decreció en el medio de avena, presentando su mayor registro a la quinta semana del cultivo y no alcanzó el número de organismos que tuvo la población cultivada en el medio de *Spirulina sp.*<sup>(6)</sup>

---

<sup>(6)</sup> Lara R., Castro T., Castro J., Castro G., Cultivo del nematodo *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945) en un medio de avena enriquecida con *Spirulina sp.* disponible en:  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-19572007000100004](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-19572007000100004), acceso, enero 2016.

## **2.2. MARCO CONCEPTUAL**

### **2.2.1. MEDIOS DE CULTIVO**

Los medios de cultivo son sustrato (polvo) o soluciones (preparados) de nutrientes que permiten el desarrollo de microorganismos. En las condiciones de laboratorio para realizar un cultivo, se debe sembrar sobre el medio de cultivo elegido las muestras en las que los microorganismos van a crecer y multiplicarse para dar colonias.

Los medios de cultivos sirven para el estudio de diferentes bacterias y hongos es una de las prácticas más importantes para la identificación de microorganismos, observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio.

Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones como son: temperatura, grado de humedad y presión de oxígeno adecuado, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. Un medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante.

La mayoría de las bacterias patógenas requieren nutrientes complejos similares en composición a los líquidos orgánicos del cuerpo humano. Por eso, la base de muchos medios de cultivo es una infusión de extractos de carne y Peptona a la que se añadirán otros ingredientes.

En los diferentes medios de cultivo se encuentran numerosos materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc. Los hidratos de Carbono se adicionan por dos motivos fundamentales: para incrementar el valor nutritivo del medio y para detectar reacciones de fermentación de los microorganismos que ayuden a identificarlos. El suero y la sangre completa se añaden para promover el crecimiento de los microorganismos menos resistentes.

También se añaden colorantes que actúan como indicadores para detectar, por ejemplo, la formación de ácido o como inhibidores del crecimiento de unas bacterias y no de otras (el Rojo Fenol se usa como indicador ya que es rojo en pH básico y



amarillo en pH ácido. La Violeta de Genciana se usa como inhibidor ya que impide el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram-positivas).

## CLASIFICACIÓN

### SEGÚN SU ESTADO FÍSICO (CONSISTENCIA).

**1) Medios líquidos:** Llamados medios líquido (caldos), el más utilizado es el llamado caldo nutritivo, compuesto principalmente de extracto de carne, peptona y agua. Se utiliza fundamentalmente cuando se pretende la obtención de una suspensión bacteriana de una determinada concentración.

**2) Medios sólidos:** Se preparan a partir de los medios líquidos, agregándoles un agente gelificante (gelatina, agar).

**Gelatina:** Es una proteína animal obtenida de los huesos. Tiene el inconveniente de que es hidrolizada por muchas bacterias, y además su uso está muy limitado porque su punto de fusión es bajo (licúa a temperatura ambiente) razón por la que no puede utilizarse para cultivos a 37°C, que es la temperatura óptima de crecimiento para muchos microorganismos.

**Agar-agar:** Es un polímero de azúcares obtenido de algas marinas. Se trata de una molécula insoluble en agua pero soluble en agua caliente; una solución al 1,5% p/v forma un gel firme entre 32 y 39°C y no se funde por debajo de 85°C. Funde a 90°C y solidifica una vez fundido alrededor de los 45°C. Tiene el inconveniente de que introduce compuestos orgánicos indefinidos que pueden falsear los resultados de las necesidades nutritivas de un microorganismo. El agar puede utilizarse para diferentes fines, aunque los más importantes son: agar comercial para la industria alimenticia, agar bacteriológico, agares purificados y agarosa, utilizada para electroforesis en gel. Aproximadamente la mitad de todo el agar que se produce, se utiliza en trabajo microbiológico, por lo que es importante la ausencia de metales tóxicos.

**3) Medios semisólidos:** Se preparan a partir de los medios líquidos, agregando a éstos un agente solidificante en una proporción menor que para preparar medios sólidos. Uno de sus usos es la investigación de la movilidad de las bacterias.<sup>(7,8)</sup>

### SEGÚN SU UTILIZACIÓN.

**1) Medios comunes:** Son los que poseen componentes mínimos para que pueda producirse el crecimiento de bacterias y no es necesario requerimientos especiales. El medio más conocido es el agar nutritivo o agar común, que resulta de la adición de agar al caldo nutritivo. Otros representantes de este grupo son el agar tripticase de soja, el agar Columbia, etc.

**2) Medios de enriquecimiento:** Son los que además de las sustancias nutritivas normales, incorporan una serie de factores para el crecimiento de microorganismos exigentes. Por adición de sangre u otros productos biológicos (sangre, suero, leche, huevo, bilis, etc.) además de suplementos artificiales para producir un enriquecimiento del mismo. El gonococo, necesita cistina y cisteína para su crecimiento, aportadas por la sangre calentada adicionada al medio de cultivo (agar chocolate).

**3) Medios selectivos:** Son medios utilizados para favorecer el crecimiento de ciertas bacterias contenidas en una población polimicrobiana. El fundamento de estos medios consiste en facilitar nutricionalmente el crecimiento de una población microbiana específica. El caldo selenito se utiliza para favorecer el crecimiento de salmonellas y frenar el del resto de enterobacterias.

**4) Medios inhibidores:** Son los que contienen sustancias selectivas que impiden totalmente el crecimiento de una población microbiana. Se consiguen habitualmente por adición de sustancias antimicrobianas o de cualquier otra que inhiba completamente el desarrollo de una población determinada. Un medio

---

<sup>(7)</sup> Montoya Villafañe h., Microbiología Básica para el Área de la Salud y a fines, 2<sup>da</sup> Edición, Ed. Universidad de Antioquia, Colombia Medellín, 2008.

<sup>(8)</sup> Casado G.C., Torracó C. G., Medina A. M., Medios de Cultivo en un Laboratorio de Microbiología, 2012, disponible en: <http://LibrosLaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf> acceso, enero 2016.

inhibidor es el MacConkey que permite el crecimiento de los gérmenes Gram negativos e impide el crecimiento de los Gram positivos.

**5) Medios diferenciales:** Se utilizan para poner en evidencia características bioquímicas que ayuden a diferenciar géneros o especies. La adición de un azúcar fermentable o un sustrato metabolizable se utilizan para este fin. El medio MacConkey es un medio diferencial porque permite distinguir los gérmenes que fermentan la lactosa de aquellos que no lo hacen. También lo son el C.L.E.D. (lactosa +/lactosa -), el agar sangre (tipo de hemólisis), el SS (que es doblemente diferencial), etc.

**6) Medios de identificación:** Son los que comprueban alguna cualidad específica que puede servirnos para reconocer la identidad de un microorganismo. Estos medios poseen elementos para asegurar el crecimiento de los microorganismos, el sustrato específico va a ser metabolizado y el indicador que nos muestre el resultado. El agar Kligler, el medio de Simmons y en general, cualquier medio al que se le haya añadido un elemento diferencial de un microorganismo, son medios utilizados en identificación. Los medios CPS ID3 o Uriline ID (Biomérieux), utilizados para identificar los gérmenes urinarios más importantes a partir de la placa de cultivo por la utilización de sustratos cromogénicos específicos.

**7) Medios de multiplicación:** Sirven para obtener una gran cantidad de células a partir de un microorganismo ya aislado. Se emplean en la obtención de vacunas, en la investigación y en la industria. Generalmente son líquidos el caldo-infusión cerebro-corazón (BHI), es un ejemplo típico de estos medios.

**8) Medios de conservación:** Para conservar una cepa que, por diversas razones nos interese mantener. Fundamentalmente se utilizan como controles de calidad de las pruebas y reactivos utilizados en el Laboratorio de Microbiología. En el laboratorio se pueden conservar las cepas de tres formas:

- a) Haciendo pases periódicos de placa a placa,
- b) Mediante liofilización de una suspensión bacteriana, y
- c) Congelando las cepas en leche descremada estéril al 0,1%.

**9) Medios de transporte:** Para el transporte de muestras clínicas que no pueden sembrarse inmediatamente. Su utilización debe hacerse introduciendo la torunda con la que se obtuvo la muestra en el interior del medio (generalmente en un tubo). Son ejemplos típicos de este grupo los medios de Stuart-Amies, Cary-Blair, etc.<sup>(6)</sup>

### **SEGÚN SU COMPOSICIÓN.**

**1) Medios complejos:** Fueron los primeros utilizados, y los más empleados se preparan a partir de tejidos animales, y raramente de vegetales. Su composición no es exactamente definida, y por consiguiente no es rigurosamente constante. Esto puede tener ciertos inconvenientes en condiciones experimentales, donde la reproductibilidad no podrá ser exacta. En la práctica estos medios dan excelentes resultados y son los más empleados.

**2) Medios sintéticos:** Son aquellos que contienen en su composición exclusivamente sustancias químicas conocidas y disueltas en agua destilada en proporciones determinadas, resultando un medio de composición perfectamente definida.

**3) Medios semi-sintéticos:** El gran número de factores de crecimiento exigidos para ciertos gérmenes hace que la fabricación de un medio sintético para estos gérmenes sea imposible o demasiado cara. En este caso se aportan los factores de crecimiento bajo la forma de un extracto orgánico complejo (extracto de levadura, extracto de tejidos, etc.). Ciertos gérmenes no crecen en ningún medio por muy enriquecido que esté éste, haciéndolo exclusivamente en células vivas con unas características determinadas. De este tipo son, aparte de los virus, las Chlamydias, Rickettsias, etc.<sup>(7, 8)</sup>

### **MEDIOS DE CULTIVO BASE**

#### **AGAR NUTRITIVO**

Es un medio de cultivo utilizado para propósitos generales, aislamiento de microorganismos poco exigentes en lo que se refiere a requerimientos nutritivos. Su uso está descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria.

No contiene inhibidores del desarrollo bacteriano. La pluripeptona es la fuente de carbono y nitrógeno para el desarrollo bacteriano. El agregado de cloruro de sodio permite el enriquecimiento con sangre de carnero u otras sustancias para facilitar el cultivo de microorganismos exigentes.

Se siembra en superficie o por la técnica de pour plate, según el uso a que se destine. La incubación es en aerobiosis, a 35-37 °C durante 24 horas. Medio preparado: ámbar claro a medio ligeramente opalescente.<sup>(1)</sup>

### **AGAR SALINO MANITOL (SM, MS “MANNITOL SALINE”, MEDIO DE CHAPMAN)**

Es un medio selectivo para estafilococos debido a la alta concentración de cloruro sódico (75 g/L). La mayoría de los microorganismos no crecen a esta concentración de sal, mientras que los estafilococos, entre los que se encuentran los del género *Staphylococcus*, sí lo hacen. Incorpora manitol como fuente de carbono y rojo fenol como indicador, lo que permite aprovechar la correlación que existe entre la patogenia y la capacidad fermentadora del manitol de los estafilococos para establecer un diagnóstico presuntivo y sirve, por lo tanto, como indicativo de la presencia de *Staphylococcus aureus*. Los estafilococos patógenos fermentan el manitol y producen colonias amarillas. Los estafilococos no patógenos no lo fermentan y producen colonias de color rosa.<sup>(9)</sup>

### **AGAR EMB (EOSINA, AZUL DE METILENO, “EOSIN-METHYLEN BLUE”, AGAR DE LEVINE)**

Es un medio diferencial y selectivo para aislar y detectar enterobacterias en muestras mixtas. Los colorantes de anilina (eosina y azul de metileno) inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas y a las Gram negativas exigentes. También se combinan precipitando a pH ácido, actuando como indicadores de producción de ácidos. El medio incluye lactosa, lo que permite la diferenciación de los fermentadores de lactosa de los no fermentadores. Los fermentadores fuertes de lactosa, sobre todo *Escherichia coli*, producen colonias de color negro verdoso con

---

<sup>(9)</sup> Microbiología Clínica, Medios de Cultivo, Curso 2012-2013, disponible en: [asignaturas.us.es/mbclinica/docs/recursos/12/medios-de-cultivo.pdf](http://asignaturas.us.es/mbclinica/docs/recursos/12/medios-de-cultivo.pdf), acceso (enero, 2016).

brillo metálico. Los productores más débiles de ácidos, forman colonias de color violeta. Los no fermentadores de lactosa forman colonias transparentes.<sup>(10)</sup>

---

<sup>(10)</sup> Henrikson R., Microalga Spirulina, Súper Alimento del Futuro, Ediciones Urano, Barcelona, 1994

### 2.2.2. LA ESPIRULINA

Es un alga color verde azul de forma espiral mide 250 micrones (un cuarto de milímetro), vive en ambientes con elevada concentración salina (2 a 250gr x litro) y bicarbonatadas con elevado Ph desde 7 hasta 10 y temperaturas templadas (25 - 35 °C), con buena disponibilidad de luz. Tiene una antigüedad de más de 3500 millones de años.

**Composición química de algas (expresada en % de masa seca)<sup>(11)</sup>**

Cepa	Proteína	Carbohidratos	Lípidos	Ácidos Nucleicos
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4—9	2-5
<b><i>Spirulina máxima</i></b>	60-71	13-16	6-7	3-4.5

La espirulina fue descubierta por primera vez por Hernán Cortés y sus conquistadores en 1519. En 1550 el fraile franciscano Bernardino de Sahagún escribió sobre el tema, en 1827 fue aislado por primera vez y vista al microscopio por Turpin. Los beneficios de la espirulina para la salud fueron descubiertas por primera vez por el explorador Pierre Dangeard que observó cómo los flamencos eran capaces de sobrevivir consumiendo estas algas. El botánico Jean Leonard apoyó los hallazgos de Dangeard (1940).

La gente empezó a comercializar espirulina para aprovechar sus beneficios. La primera planta de procesamiento de espirulina, fue en Sosa Texcoco creada en 1969 por los franceses.<sup>(10)</sup>

### DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPIRULINA

Es un organismo estructural procariota, algas azules verdosas que surgieron hace 3500 millones de años, siendo responsables de la atmósfera con oxígeno. La espirulina está conformada por el citoplasma que es coloreada por diferentes

<sup>(11)</sup> Becker, E.W., "Microalgae: biotechnology and microbiology" Ed. Baddiley, J. et al., 178 (1994) Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York. Disponible en: <http://spirulinamexico.blogspot.pe/2012/04/comparacion-entre-spirulina-platensis-y.html>, acceso julio 2016.

pigmentos (Cromatoplasma) y por la parte central nucleoplasma, dentro de las estructuras que forman están: capsula, pared celular, (pluriestratificada) cromatoplasma (sist. Fotosintético de tilacoides) ribosomas, fibrillas, ADN, inclusiones. La *Spirulina platensis* tiene una capsula irregular alrededor de los filamentos y la *S. máxima* la tiene de forma regular.

La espirulina es de forma espiral mide un cuarto de milímetro (250 micrones) perteneciente de la familia cianofíceas. Unicelulares de filamentos multicelulares, de forma de espirales como un tirabuzón de 3 a 7 vueltas, el modo de reproducción es asexual y por partición simple de tricomas (6 a 12 micras), son algas termófilas se proliferan a una temperatura de 21 a 35C° son capaces de soportar temperaturas bajas de congelación del agua y tan altas como 50C° viven en concentraciones de pH hasta de 9.5, 10.5, 11.

Su hábitat de la espirulina del resto de las cianobacterias en su nicho muy particular ya que estos microorganismos proliferan en aguas muy mineralizadas extremadamente alcalinas y en ocasiones calientes estas condiciones excluyen a la mayoría de seres vivos lo cual se debe a 3 fenómenos:

- Consumir carbonatos y bicarbonatos de su medio tiende a alcalinizar más el medio incluso a un medio de pH 11.5 (Whitton, 1992).
- A menudo son flotantes formando una pantalla y como son altamente pigmentadas forman una capa que priva de la luz solar a las raras algas que podrían acomodarse en su medio como es el caso de la *Chorella* spp. Una microalga comestible que se prolifera en los medios de cultivo de espirulina poco concentrados.
- Capaz de secretar moléculas proteicas como medio de defensa en su medio natural (Rheinheimer, 1987; Whintton, 1992).

Se ha consumido por muchos pueblos de muchos países, crecía en muchos lagos, mares y océanos en todo el mundo. Se halló la espirulina creciendo en el Lago Chad y el Lago Texcoco de México, las personas de esta región secaban y asaban (Dihepanes) para consumirla con sabor a queso ligeramente salado con el nombre de



"tecuitlatl" (*Arthrospira* máxima) que quiere decir "producto de piedra" pues habían observado que solo se formaba en aguas con alto contenido de sales minerales.<sup>(12)</sup>

## DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA

Dominio: Bacteria

Phylum: Cyanobacteria

Clase: Cyanophyceae

Orden: Nostocales

Familia: oscillatoriaceae

Género: *Spirulina*

Especie: (*Arthrospira*) *S. máxima*, *S. platensis*, *S. lonar*, *S. geltieri*, etc.<sup>(13)</sup>

Nombre común o vulgar: Espirulina.

La espirulina se desarrolla en forma natural en numerosos lugares, como en África en los lagos Bodou y Rombou de Chad, los lagos Nakuru y Elementeita de Kenia, los lagos Aranguadi y Kilotes de Etiopía, también en Egipto, Sudán, Argelia, Congo, Zaire y Zambia, además en Asia tropical y subtropical: India, Myanmar, Pakistán, Sri Lanka, China, Tailandia y Rusia, en América: México (Lago Texcoco), Perú, Uruguay, California, Argentina y en Europa: España, Francia, Hungría y Azerbaijón.

En estos últimos años, hay muchos ejemplos de personas que ya producen su propia espirulina como el ejemplo de la Universidad de Harvard un joven llamado Andrew Harris produjo su propia espirulina para el consumo gratuito en su escuela.

En el Perú también hubo un proyecto financiado por FINCyT en la elaboración de espirulina de la marca BIONutrec, espirulina de Laboratorios Portugal, espirulina de Laboratorios Spirucqsa, etc.

---

<sup>(12)</sup> Arango Mejía M. C., Mág. en Microbiología, Plantas Medicinales, Botánica de Interés Médico, Pág. 315, disponible en: [https:// books.google.com.pe](https://books.google.com.pe), acceso, enero 2016.

<sup>(13)</sup> Espirulina, Vida, Salud y Nutricion, disponible en: <https://www.algaespirulina.mx/web/origen-y-taxonomia.html>, acceso, enero, 2016

Como también varios videos de como uno artesanalmente puede producir esta alga con poco dinero obteniendo varios beneficios.

### **PRINCIPIOS ACTIVOS**

Aminoácidos esenciales: Fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, metionina, treonina, triptófano, valina.

Aminoácidos no esenciales: Acido aspártico, acido glutámico, alanina, arginina, cistina, glicina, histidina, prolina, serina, tirosina.

Vitamina A, C, E, K, B1, B2, B3, B6, ácido fólico, B12, biotina, ácido pantoténico, inositol.

Calcio, hierro, fosforo, magnesio, zinc, selenio, cobre, manganeso, cromo, sodio, potasio, germanio.

El ser humano necesita ingerir una cantidad determinada de ácidos grasos poliinsaturados. Estos ácidos grasos esenciales, también llamados vitamina F, favorecen la normalización del colesterol y son precursores de los compuestos denominados prostaglandinas. No se trata de grasas insalubres, sino más bien, son sustancias esenciales para la salud.

La espirulina aporta cantidades interesantes de ácidos grasos Omega 3 y 6, linoleico y gamma linoléico (GLA). Además, este último es indispensable para lograr un buen parto y para el desarrollo de los recién nacidos. El GLA reduce en cierta medida la cantidad de colesterol en sangre por lo que representa una alternativa en el manejo de enfermedades cardiovasculares.

Los ácidos grasos que contiene la espirulina son: mirístico, palmitico, palmitoleico, heptadecanoico, esteárico, oleico, linoleico, gamma linoleico, etc.

Clorofila: este pigmento que da el color verde a las plantas es un potente depurador y desinfectante a nivel intestinal, hepato biliar y pulmonar. Además, se considera que por su similitud con la hemoglobina, la clorofila puede ayudar (si hay buen aporte de hierro) a combatir la anemia.

Carotenoides: la espirulina contiene betacaroteno, xantofilinas, criptoxantina, equinenoma, zeaxantina y luteína. Son de colores rojizos.

Ficocianina: es el pigmento principal y es de color azul. Además es un compuesto proteico. La ficocianina contiene iones de magnesio y de hierro, por lo cual pudo haber sido la precursora de la clorofila y de la hemoglobina.<sup>(8)</sup>

#### **PORCENTAJE DE PROTEÍNAS ÚTILES.**

Se debe multiplicar la cantidad de proteína por la utilización neta de proteínas. Según este criterio, la espirulina ocupa el segundo lugar después del huevo, está pues, por arriba de todos los demás alimentos.

**TABLA 08**  
**COMPARACIÓN DE PROTEÍNAS EN PORCENTAJE <sup>(14)</sup>**

<b>ALIMENTO</b>	<b>PROTEÍNA ÚTIL %</b>	<b>UTILIZACIÓN NETA DE PROTEÍNAS UNP %</b>	<b>PROTEÍNA% %</b>
* Huevo seco entero	44	94	47
* Spirulina	40	62	65
* Leche en polvo desnatada	30	82	36
* Queso parmesano	25	70	36
* Harina de soja integral	23	61	37
* Levadura de cerveza	23	50	45
* Germen de trigo	18	67	27
* Pescado	18	80	22
* Pollo	16	67	24
* Carne de buey	15	67	22
* Ajonjolí	11	60	19
* Cacahuates	10	38	26
* Harina de avena integral	10	66	15
* Harina de trigo integral	9	63	14
* Tofu húmedo	5	65	8
* Arroz integral	5	60	8

<sup>(14)</sup> Buttori D., Di Ruscio N., Microalga Spirulina (Arthrospira), 2009, disponible en: <http://documents.mx/documents/microalga-spirulina-arthrospira-microalga-spirulina-arthrospira-informe.html>, acceso, enero 2016.

## **USOS E IMPORTANCIA DE LA SPIRULINA**

Según Simpire, la espirulina tiene un alto contenido de antioxidantes. Algunos de los antioxidantes hallados en la espirulina incluyen al selenio, ácido fenólico, vitamina E y carotenoides. Los antioxidantes destruyen a los radicales libres en el cuerpo que dañan las células. Según los expertos de la Asociación Americana de Dietética, los antioxidantes también pueden proteger al cuerpo de cáncer, infecciones, diabetes y enfermedades del corazón.

La espirulina también tiene propiedades antimicrobianas que destruyen bacterias y virus tales como VIH-1, enterovirus, cytomegalovirus, sarampión, paperas, gripe A y herpes simplex. Hay estudios que también han confirmado que la espirulina también puede reforzar el sistema inmune haciendo que produzca más monocitos, células asesinas naturales y macrófagos. Los monocitos, células asesinas naturales y las macrófagos destruyen patógenos invasores del cuerpo. Según un estudio publicado en una revista científica de la India, la espirulina también puede destruir patógenos hongos tales como *Candida albicans* (infecciones de levaduras), *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*.

El estudio de Simpire sobre la espirulina también fue capaz de confirmar que las algas también son ricas en proteínas, valina, leucina, isoleucina, omega-6, omega-3, vitamina B1, zinc, vitamina B2, hierro, beta caroteno, manganeso, cobre y otros muchos nutrientes.<sup>(5)</sup>

## **CAPÍTULO III**

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

#### **3.1. POBLACIÓN Y MUESTRA**

Se utilizó un muestreo probabilístico en el que se asegura que todos los miembros de la población tengan la probabilidad de ser elegidos o seleccionados para el estudio, estratificado para el cual se dividió en grupos uniformes para poder medir el resultado de la muestra y realizar su comparación.

### 3.2. NIVEL DE CONFIANZA Y GRADO DE SIGNIFICANCIA (P)

Se utilizó la prueba estadística U de Mann – Whitney, usando el último conteo promedio a las 72 horas en cada caso respectivamente con un nivel de confianza del 95% y un error de significancia menor de 0.05 lo cual acepta la hipótesis como cierta.

**TABLA 09**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1C**

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-5</sup>	987	891	970	893	977	883	978	889
1x10 <sup>-6</sup>	641	611	649	622	657	615	649	616
1x10 <sup>-7</sup>	592	584	598	589	604	588	598	587
1x10 <sup>-8</sup>	463	401	469	413	472	407	468	407
1x10 <sup>-9</sup>	365	334	370	350	372	339	369	341
1x10 <sup>-10</sup>	126	101	128	115	133	111	129	109
1 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

C: Lectura a las 72 horas.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

**TABLA 10**  
**RESULTADO ESTADÍSTICO DE FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1C**

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	CONCENTRACIONES
U de Mann-Whitney	24535831,000
W de Wilcoxon	48760111,000
Z	-2,028
Sig. asintótica (bilateral)	,043

a. Variable de agrupación: AGAR

P=0.043

P<0.05

- Existen diferencias significativa de crecimiento bacteriano de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 entre el Agar a base de Espirulina y el Agar Nutritivo.



TABLA 11

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1CM

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	809	1000	803	1000	794	1000	802	1000
1x10 <sup>-5</sup>	475	940	455	846	535	935	488	907
1x10 <sup>-6</sup>	326	425	339	637	425	645	363	569
1x10 <sup>-7</sup>	274	364	234	425	301	459	270	416
1x10 <sup>-8</sup>	268	228	227	304	225	328	240	287
1x10 <sup>-9</sup>	241	225	184	254	145	257	190	245
1x10 <sup>-10</sup>	78	93	67	89	76	90	74	91
1 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

C: Lectura a las 72 horas.

M: Agar de Espirulina-M.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

**TABLA 12**  
**RESULTADO ESTADÍSTICO DE FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1CM**

**Estadísticos de prueba**

	CONCENTRACIONES
U de Mann-Whitney	16717050,500
W de Wilcoxon	32540175,500
Z	-8,428
Sig. asintótica (bilateral)	,000

a. Variable de agrupación: AGAR

P=0.000

p>0.05

- Existen diferencias significativas de crecimiento bacteriano de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 entre Agar a base de Espirulina-M con el Agar Manitol.

**TABLA 13**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2C**

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	903	856	924	896	902	846	910	866
1x10 <sup>-5</sup>	404	327	478	457	427	459	436	414
1x10 <sup>-6</sup>	224	154	305	138	319	148	283	147
1x10 <sup>-7</sup>	132	75	195	109	125	113	151	99
1x10 <sup>-8</sup>	65	54	73	64	84	69	74	62
1x10 <sup>-9</sup>	17	24	42	29	49	37	36	30
1x10 <sup>-10</sup>	15	11	16	18	12	10	14	13
<b>1<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			<b>2<sup>da</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>3<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

**2:** Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.

**C:** Lectura a las 72 horas.

**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**TABLA 14**  
**RESULTADO ESTADÍSTICO DE FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2C**

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	CONCENTRACIONES
U de Mann-Whitney	11292725,000
W de Wilcoxon	22486271,000
Z	-3,830
Sig. asintótica (bilateral)	,000

a. Variable de agrupación: AGAR

P=0.00

P<0.05

- Existen diferencias significativas de crecimiento bacteriano de Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922 entre el agar de Espirulina con el Agar Nutritivo.

**TABLA 15**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2CE**

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	879	856	854	745	846	789	860	797
1x10 <sup>-5</sup>	404	388	544	397	578	400	509	395
1x10 <sup>-6</sup>	83	91	97	92	107	99	96	94
1x10 <sup>-7</sup>	65	49	67	50	78	44	70	48
1x10 <sup>-8</sup>	48	14	33	35	53	29	45	26
1x10 <sup>-9</sup>	11	8	17	13	21	18	16	13
1x10 <sup>-10</sup>	10	4	11	7	13	9	11	7
<b>1<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			<b>2<sup>da</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>3<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

**2:** Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**C:** Lectura a las 72 horas.  
**E:** Agar Eosina Azul de Metileno (EMB Levine).  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**TABLA 16**  
**RESULTADO ESTADÍSTICO DE FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2CE**

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	CONCENTRACIONES
U de Mann-Whitney	10548395,000
W de Wilcoxon	21052631,000
Z	-2,585
Sig. asintótica (bilateral)	,010

a. Variable de agrupación: AGAR

P=0.000

P<0.05

- Existen diferencias significativas de crecimiento bacteriano de cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922 entre el agar a base de Espirulina-E y el agar EMB Levine.

### **3.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA REPRESENTATIVA**

Se realizó un muestreo probabilístico estratificado, en el cual se dividieron grupos uniformes de 10 placas de cada agar comercial (EMB Levine, Manitol, Nutritivo) y comparar con 10 placas del agar a base de Espirulina, Espirulina-M y Espirulina-E, y poder realizar el sembrado de cada dilución y su posterior conteo, la comparación se realizó con ayuda de cuadros y gráficos estadísticos.

### 3.4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

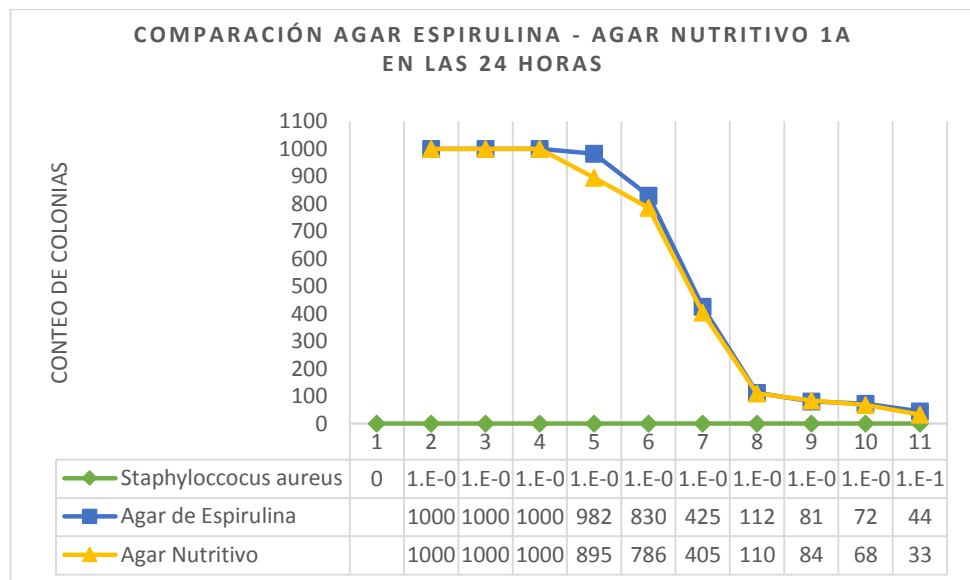
Se muestra el promedio de las tres lecturas que se realizó a cada conteo.

**TABLA 17**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA – AGAR NUTRITIVO 1A**

PROMEDIO 24 HORAS		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	1000	1000
$1 \times 10^{-4}$	982	895
$1 \times 10^{-5}$	830	786
$1 \times 10^{-6}$	425	405
$1 \times 10^{-7}$	112	110
$1 \times 10^{-8}$	81	84
$1 \times 10^{-9}$	72	68
$1 \times 10^{-10}$	44	33

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.  
A: Lectura a las 24 horas.  
**1000**: Crecimiento de colonias incontables.

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA



La tabla, expresa el crecimiento de las colonias bacterianas de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 a las 24 horas, del agar Nutritivo y el agar a base de Espirulina. En el cual solo en la concentración  $10^{-8}$  hay mayor crecimiento bacteriano en el agar Nutritivo a diferencia del agar a base de Espirulina.

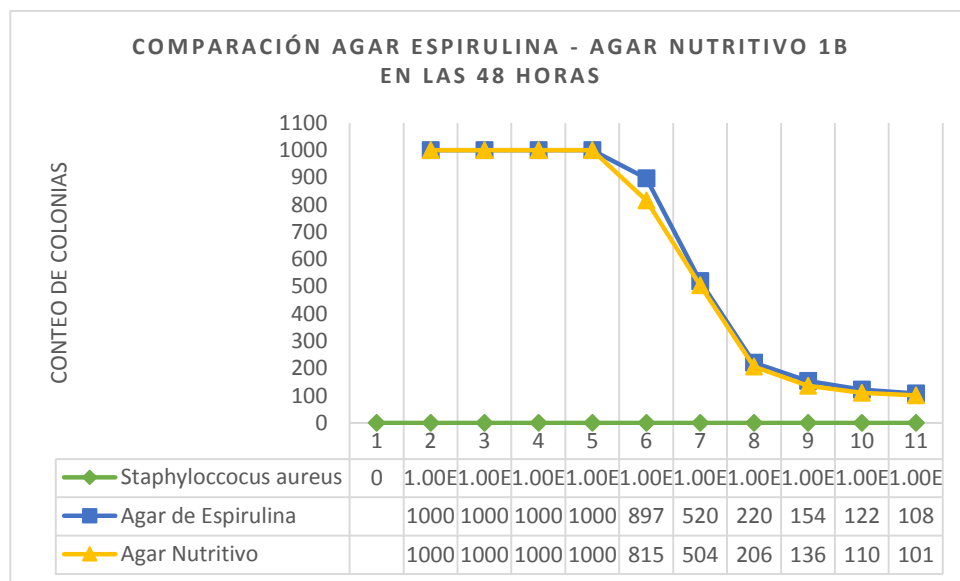


**TABLA 18**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA – AGAR NUTRITIVO 1B**

PROMEDIO 48 HORAS		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	1000	1000
$1 \times 10^{-4}$	1000	1000
$1 \times 10^{-5}$	897	815
$1 \times 10^{-6}$	520	504
$1 \times 10^{-7}$	220	206
$1 \times 10^{-8}$	154	136
$1 \times 10^{-9}$	122	110
$1 \times 10^{-10}$	108	101

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.  
**B:** Lectura a las 48 horas.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**



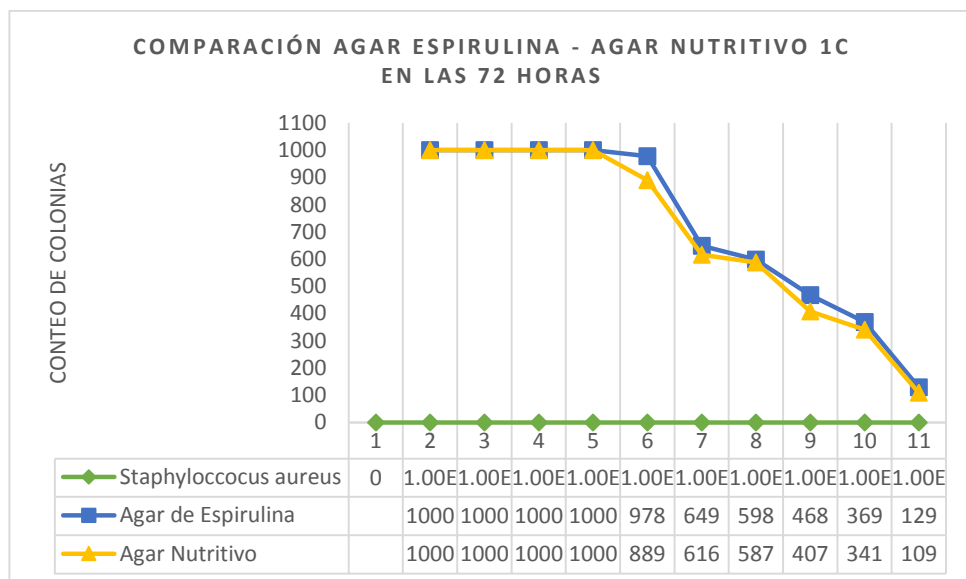
En la tabla 18 se cotejó la lectura de crecimiento de colonias bacterianas de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 a las 48 horas, del agar Nutritivo y el agar a base de Espirulina. En todas las concentraciones hay mayor crecimiento de colonias en el agar a base de Espirulina en comparación del agar Nutritivo.

**TABLA 19**  
**COMPARACIÓN ESPIRULINA – AGAR NUTRITIVO 1C**

PROMEDIO 72 HORAS		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales		
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	1000	1000
1x10 <sup>-5</sup>	978	889
1x10 <sup>-6</sup>	649	616
1x10 <sup>-7</sup>	598	587
1x10 <sup>-8</sup>	468	407
1x10 <sup>-9</sup>	369	341
1x10 <sup>-10</sup>	129	109

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.  
C: Lectura a las 72 horas.  
1000: Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**



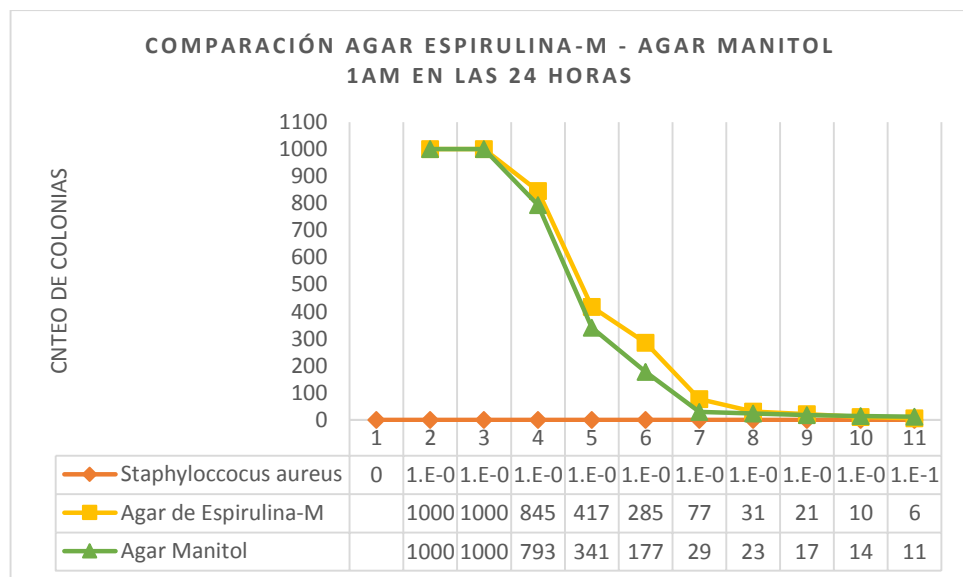
La tabla 19 se comparó la lectura de crecimiento bacteriano de colonias de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 a las 72 horas, del agar Nutritivo y el agar a base de Espirulina. Al igual que la lectura anterior hay mayor crecimiento bacteriano en el agar a base de Espirulina a diferencia del agar Nutritivo.

**TABLA 20**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA-M – AGAR MANITOL 1AM**

PROMEDIO 24 HORAS		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	845	793
$1 \times 10^{-4}$	417	341
$1 \times 10^{-5}$	285	177
$1 \times 10^{-6}$	77	29
$1 \times 10^{-7}$	31	23
$1 \times 10^{-8}$	21	17
$1 \times 10^{-9}$	10	14
$1 \times 10^{-10}$	6	11

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.  
**A:** Lectura a las 24 horas.  
**M:** Agar de Espirulina-M.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA



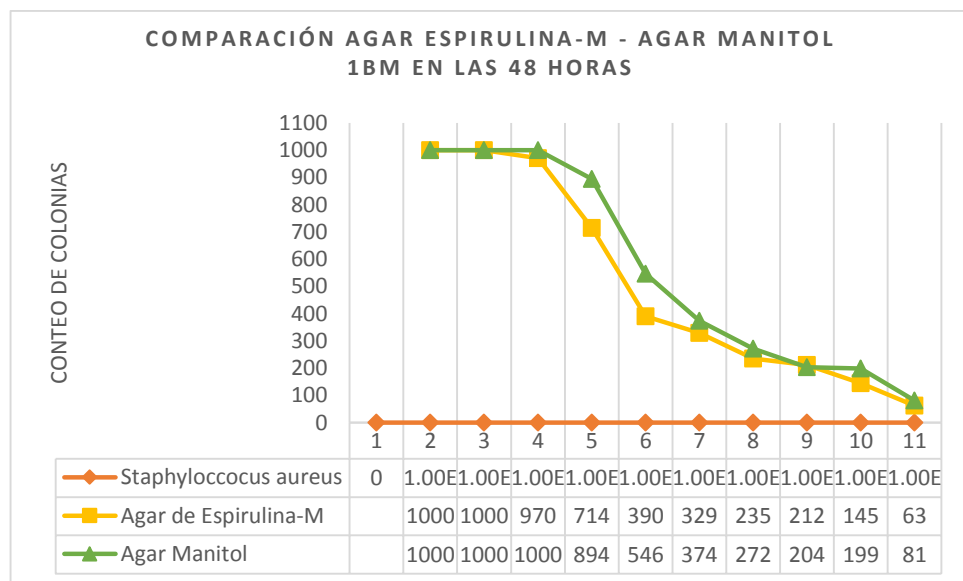
Se observó en la tabla 20 la lectura de crecimiento de colonias bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 a las 24 horas, en el agar Manitol y el agar de Espirulina-M. En las concentraciones  $10^{-3}$  hasta  $10^{-8}$  hay mayor crecimiento bacteriano en el agar Espirulina-M, a diferencia de las concentraciones  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$  en la que se observó mayor crecimiento de colonias bacterianas en el agar Manitol.

**TABLA 21**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA-M – AGAR MANITOL 1BM**

PROMEDIO 48 HORAS		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	970	1000
$1 \times 10^{-4}$	714	894
$1 \times 10^{-5}$	390	546
$1 \times 10^{-6}$	329	374
$1 \times 10^{-7}$	235	272
$1 \times 10^{-8}$	212	204
$1 \times 10^{-9}$	145	199
$1 \times 10^{-10}$	63	81

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.  
**B:** Lectura a las 48 horas.  
**M:** Agar de Espirulina-M.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**



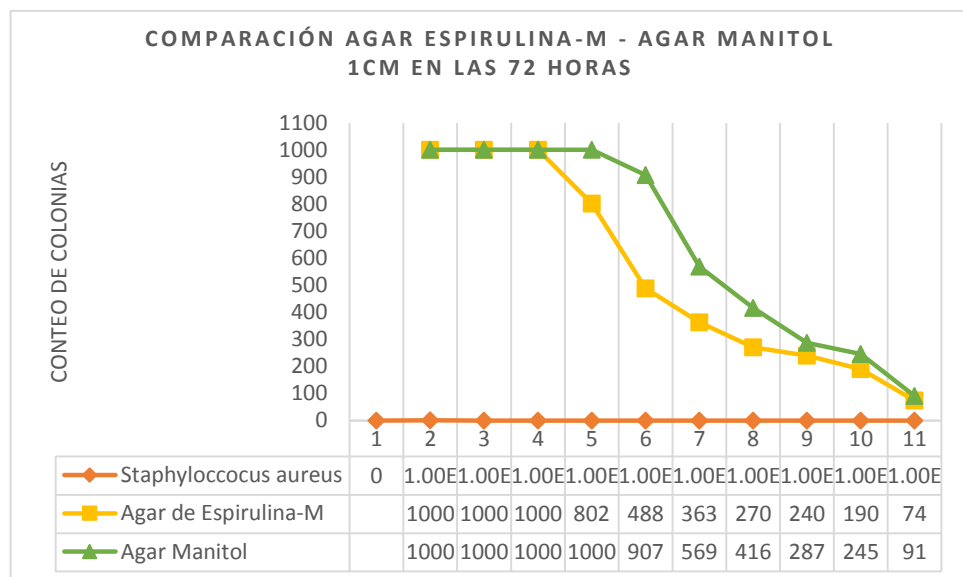
En la tabla 21 se analizó el crecimiento de colonias de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 a las 48 horas, del agar Manitol y el agar de Espirulina-M. En la cual se observa que solo en la concentración  $10^{-8}$  hay mayor crecimiento bacteriano en el agar Espirulina-M en comparación del agar Manitol.

**TABLA 22**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA-M – AGAR MANITOL 1CM**

PROMEDIO 72 HORAS		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	1000	1000
$1 \times 10^{-4}$	802	1000
$1 \times 10^{-5}$	488	907
$1 \times 10^{-6}$	363	569
$1 \times 10^{-7}$	270	416
$1 \times 10^{-8}$	240	287
$1 \times 10^{-9}$	190	245
$1 \times 10^{-10}$	74	91

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.  
**C:** Lectura a las 72 horas.  
**M:** Agar de Espirulina-M.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA



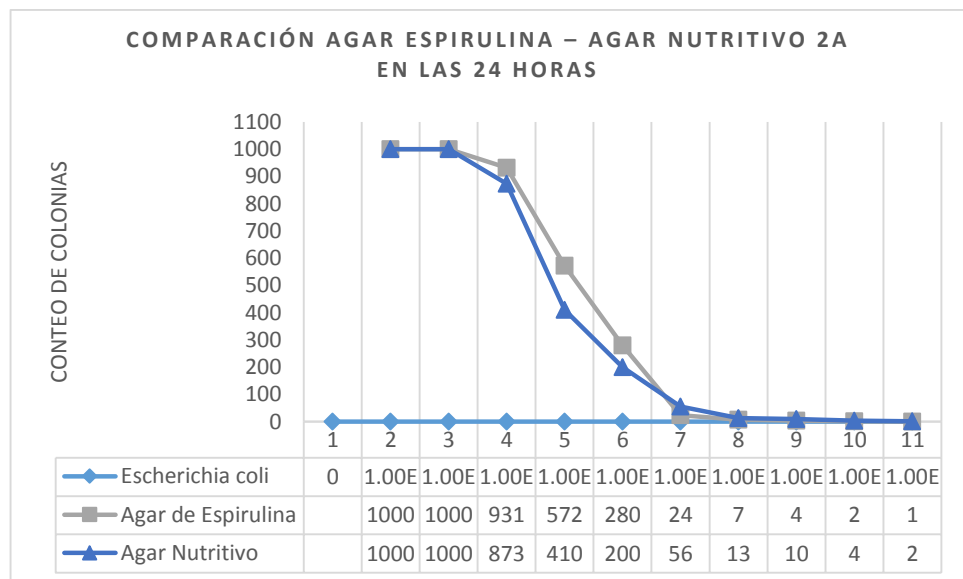
La tabla 22 reveló la lectura de crecimiento de colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 a las 72 horas, del agar Manitol y el agar de Espirulina-M. En todas las concentraciones hay mayor crecimiento bacteriano en el agar Manitol a diferencia del agar Espirulina-M.

**TABLA 23**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA – AGAR NUTRITIVO 2A**

PROMEDIO 24 HORAS		
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	931	873
$1 \times 10^{-4}$	572	410
$1 \times 10^{-5}$	280	200
$1 \times 10^{-6}$	24	56
$1 \times 10^{-7}$	7	13
$1 \times 10^{-8}$	4	10
$1 \times 10^{-9}$	2	4
$1 \times 10^{-10}$	1	2

**2:** Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**A:** Lectura a las 24 horas.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA



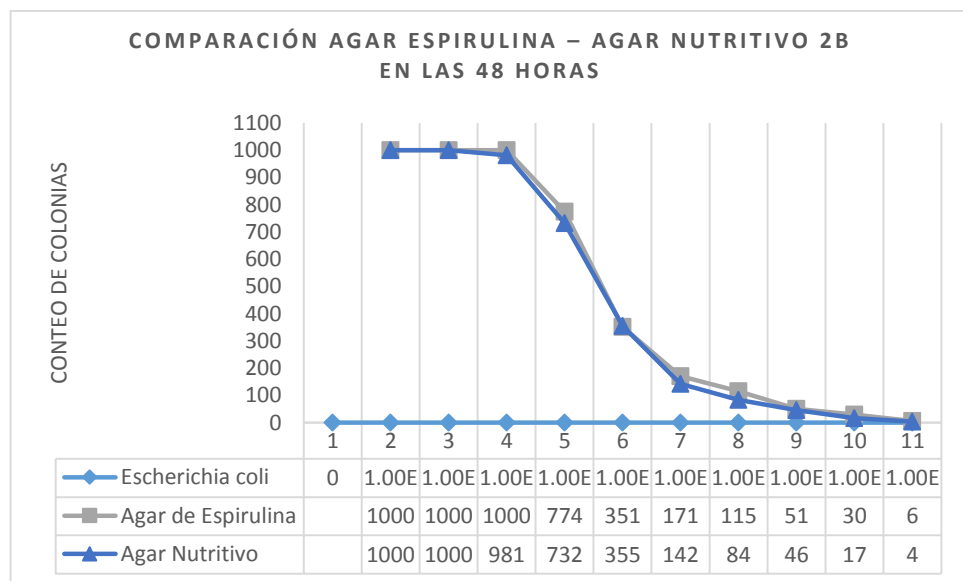
La tabla 23 expresa el crecimiento bacteriano de colonias de *Escherichia coli* cepa ATCC N°25922 a las 24 horas, del agar Nutritivo y el agar a base de Espirulina. En las concentraciones  $10^{-3}$  y  $10^{-5}$  hay mayor crecimiento bacteriano en el agar Espirulina y en las concentraciones  $10^{-6}$  hasta  $10^{-10}$  hay mayor crecimiento en el agar Nutritivo.

**TABLA 24**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA – AGAR NUTRITIVO 2B**

PROMEDIO 48 HORAS		
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	1000	981
$1 \times 10^{-4}$	774	732
$1 \times 10^{-5}$	351	355
$1 \times 10^{-6}$	171	142
$1 \times 10^{-7}$	115	84
$1 \times 10^{-8}$	51	46
$1 \times 10^{-9}$	30	17
$1 \times 10^{-10}$	6	4

**2:** Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**B:** Lectura a las 48 horas.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA



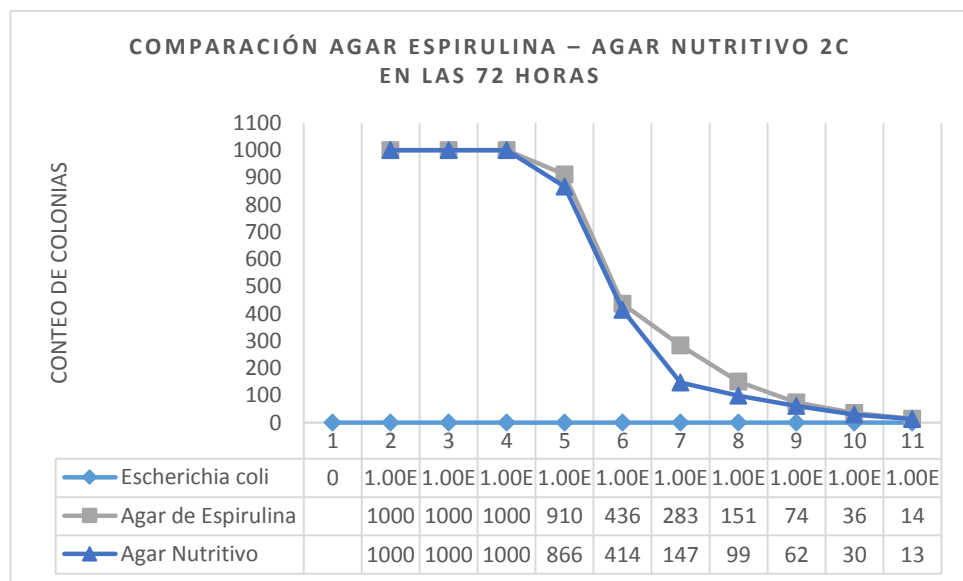
Se analizó la tabla 24, la lectura de crecimiento de colonias de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 a las 48 horas, den el agar Nutritivo y el agar a base de Espirulina. En la concentración  $10^{-5}$  es la única lectura en la cual hay mayor crecimiento bacteriano en el agar Nutritivo a diferencia de las demás concentraciones, en las que hay mayor crecimiento bacteriano en el agar a base de Espirulina.

**TABLA 25**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA – AGAR NUTRITIVO 2C**

PROMEDIO 72 HORAS		
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	1000	1000
$1 \times 10^{-4}$	910	866
$1 \times 10^{-5}$	436	414
$1 \times 10^{-6}$	283	147
$1 \times 10^{-7}$	151	99
$1 \times 10^{-8}$	74	62
$1 \times 10^{-9}$	36	30
$1 \times 10^{-10}$	14	13

**2:** Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**C:** Lectura a las 72 horas.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA



La tabla 25 relacionó el conteo de crecimiento de colonias de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 a las 72 horas, del agar Nutritivo y el agar a base de Espirulina. En todas las concentraciones hay mayor crecimiento bacteriano en el agar a base de Espirulina a diferencia del agar Nutritivo.

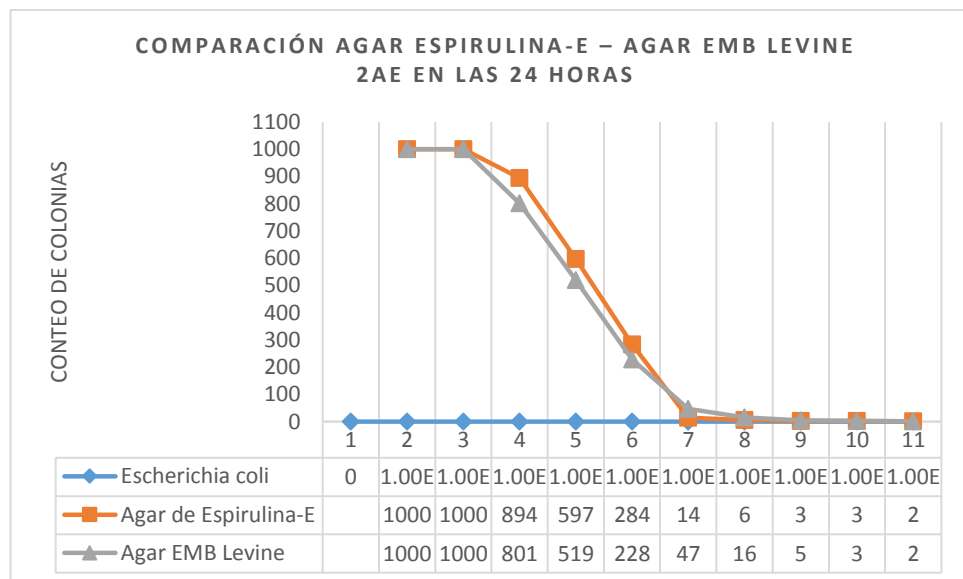


**TABLA 26**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA-E – AGAR EMB LEVINE 2AE**

PROMEDIO 24 HORAS		
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	894	801
$1 \times 10^{-4}$	597	519
$1 \times 10^{-5}$	284	228
$1 \times 10^{-6}$	14	47
$1 \times 10^{-7}$	6	16
$1 \times 10^{-8}$	3	5
$1 \times 10^{-9}$	3	3
$1 \times 10^{-10}$	2	2

2: Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**A:** Lectura a las 24 horas.  
**E:** Agar de Espirulina-E.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE:** ELABORACIÓN PROPIA



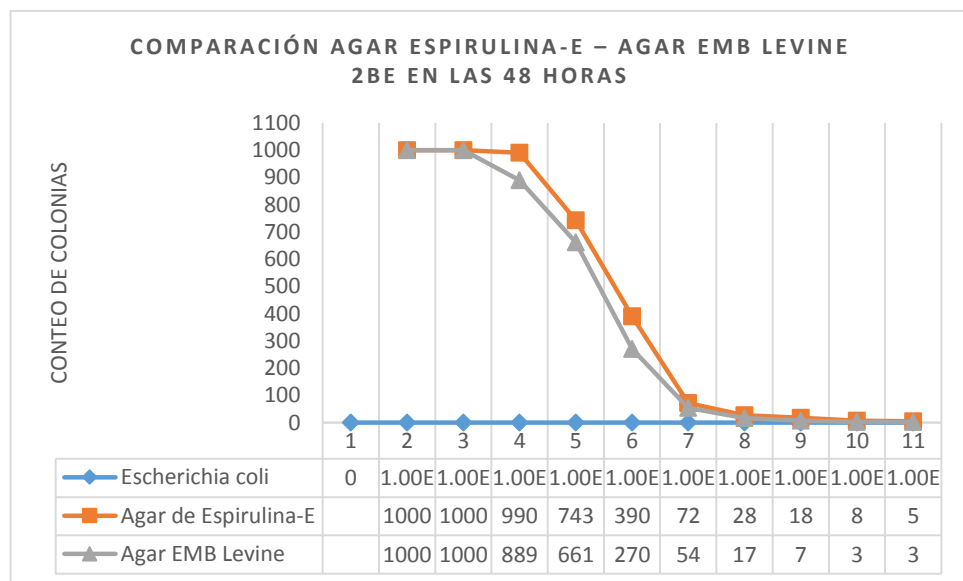
En la tabla 26 se verificó la lectura de crecimiento de colonias de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 a las 24 horas, del agar EMB Levine y el agar de Espirulina-E. En las concentraciones  $10^{-3}$  y  $10^{-5}$  hubo mayor crecimiento en el agar Espirulina-E, en las concentraciones  $10^{-6}$  hasta la  $10^{-8}$  hay mayor crecimiento en el agar EMB Levine, observando que en las concentraciones  $10^{-9}$  y  $10^{-10}$  hay igual cantidad de colonias en ambos agares.

**TABLA 27**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA-E – AGAR EMB LEVINE 2BE**

PROMEDIO 48 HORAS		
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	990	889
$1 \times 10^{-4}$	743	661
$1 \times 10^{-5}$	390	270
$1 \times 10^{-6}$	72	54
$1 \times 10^{-7}$	28	17
$1 \times 10^{-8}$	18	7
$1 \times 10^{-9}$	8	3
$1 \times 10^{-10}$	5	3

2: Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
 B: Lectura a las 48 horas.  
 E: Agar de Espirulina-E.  
 1000: Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**



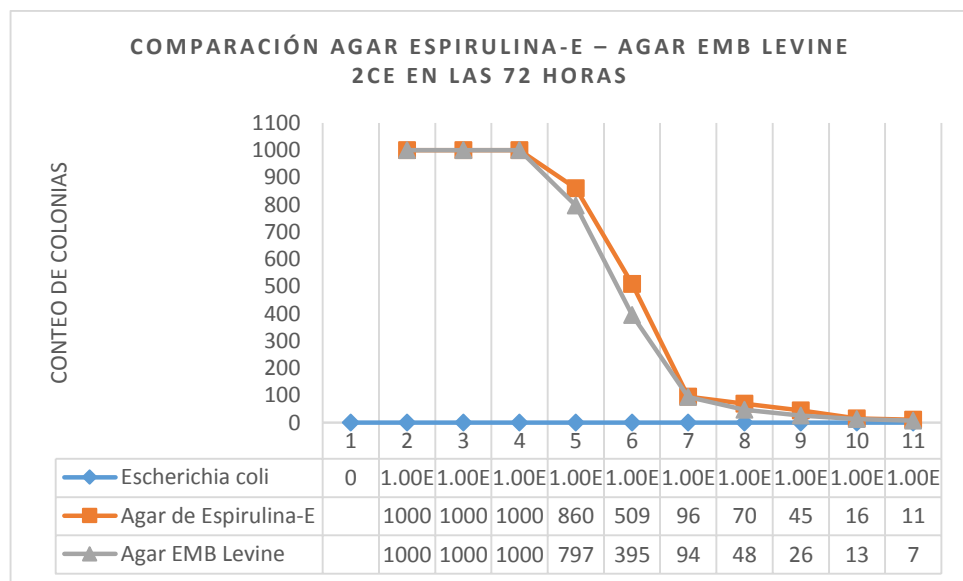
En la tabla 27 se observó la lectura de crecimiento de colonias de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 a las 48 horas, del agar EMB Levine y el agar de Espirulina-E. Del cual en todas las concentraciones hay mayor crecimiento bacteriano en el agar de Espirulina-E a diferencia del agar EMB Levine.

**TABLA 28**  
**COMPARACIÓN AGAR ESPIRULINA-E – AGAR EMB LEVINE 2CE**

PROMEDIO 72 HORAS		
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine
Concentraciones decimales		
$1 \times 10^{-1}$	1000	1000
$1 \times 10^{-2}$	1000	1000
$1 \times 10^{-3}$	1000	1000
$1 \times 10^{-4}$	860	797
$1 \times 10^{-5}$	509	395
$1 \times 10^{-6}$	96	94
$1 \times 10^{-7}$	70	48
$1 \times 10^{-8}$	45	26
$1 \times 10^{-9}$	16	13
$1 \times 10^{-10}$	11	7

2: Cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
 C: Lectura a las 72 horas.  
 E: Agar de Espirulina-E.  
 1000: Crecimiento de colonias incontables.

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**



La tabla 28 exhibe la lectura de crecimiento de colonias de *Escherichia coli* ATCC N° 25922 a las 72 horas, del agar EMB Levine y el agar de Espirulina-E. Al igual que la lectura anterior en todas las concentraciones se obtuvo mayor crecimiento bacteriano en el agar Espirulina-E en comparación del agar EMB Levine.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### CONCLUSIONES

**Primera:** Se comparó los medios de cultivo comerciales y los medios de cultivo a base de Espirulina mediante el crecimiento bacteriano de cepas *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 y cepas *Escherichia coli* ATCC N° 25922, evidenciando mayor crecimiento bacteriano en los medios de cultivo a base de Espirulina en comparación a los medios comerciales.

**Segunda:** Se relacionó el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 en agar a base de Espirulina y agar Nutritivo a las 24, 48 y 72 horas, obteniendo como resultado el mayor crecimiento de colonias bacterianas en el agar a base de Espirulina en comparación con el agar Nutritivo.

**Tercera:** Se observó el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC N° 25923 en agar Manitol y en el agar Espirulina-M a las 24, 48 y 72 horas, teniendo como resultado el mayor crecimiento bacteriano en el agar Manitol a diferencia del agar Espirulina-M.

**Cuarta:** Se analizó el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* cepa ATCC N°25922 en agar Nutritivo y en un agar a base de Espirulina a las 24, 48 y 72 horas, obteniendo como resultado el mayor crecimiento bacteriano en el agar a base de Espirulina en comparación del agar Nutritivo.

**Quinta:** Se comparó el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* cepa ATCC N°25922 en agar EMB Levine y en agar Espirulina-E a las 24, 48 y 72 horas, teniendo como resultado el mayor crecimiento bacteriano en agar Espirulina-E a diferencia de agar EMB Levine.

## RECOMENDACIONES

1. Hacer estudios de comparación de crecimiento bacteriano con otras bacterias.
2. Reformular e investigar el agar Espirulina-M con otros componentes específicos para *Staphylococcus aureus*.
3. Realizar posteriores trabajos de investigación en el que se trabaje con bacterias hospitalarias para estudiar y comparar la efectividad entre cepas ATCC y cepas hospitalarias.
4. Ejecutar un caldo nutritivo de espirulina y compararlo con otro tipo de caldos para encontrar su efectividad.
5. Observar si la espirulina sería más efectiva como caldo o como agar sólido.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Britania, Buenos Aires, Agar Nutritivo, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/>, acceso, enero, 2016.
2. Britania, Buenos Aires, Agar Manitol, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/>, acceso, enero, 2016.
3. Britania, Buenos Aires, Agar EMB, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/>, acceso, enero, 2016.
4. Spear M., How to work, Microbiology dilution problems, disponible en: [www.ehow.com/how\\_7251879\\_work-microbiology-dilution-problems.html](http://www.ehow.com/how_7251879_work-microbiology-dilution-problems.html), acceso, marzo, 2016.
5. Ponce L., Súper Alimento para un Mundo de Crisis: Spirulina platensis a bajo costo, disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=s0718-34292013000100016](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0718-34292013000100016), acceso, enero 2016.
6. Lara R., Castro T., Castro J., Castro G., Cultivo del nematodo Panagrellus redivivus (Goodey, 1945) en un medio de avena enriquecida con Spirulina sp. disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-19572007000100004](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-19572007000100004), acceso, enero 2016.
7. Montoya V., Microbiología Básica para el Área de la Salud y a fines, 2<sup>da</sup> Edición, Ed. Universidad de Antioquia, Colombia Medellín, 2008.
8. Casado G., Torracó C., Medina A., Medios de Cultivo en un Laboratorio de Microbiología, 2012, disponible en: <http://Libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf> acceso, enero 2016.
9. Microbiología Clínica, Medios de Cultivo, Curso 2012-2013, disponible en: [asignaturas.us.es/mbclínica/docs/recursos/12/medios-de-cultivo.pdf](http://asignaturas.us.es/mbclínica/docs/recursos/12/medios-de-cultivo.pdf), acceso (enero, 2016).

10. Henrikson R., *Microalga Spirulina, Súper Alimento del Futuro*, Ediciones Urano, Barcelona, 1994
11. Becker E., "Microalgae: biotechnology and microbiology" Ed. Baddiley, J. et al., 178 (1994) Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York. Disponible en: <http://spirulinamexico.blogspot.pe/2012/04/comparacion-entre-spirulina-platensis-y.html>, acceso julio 2016.
12. Arango M., *Plantas Medicinales, Botánica de Interés Médico*, Pág. 315, disponible en: [https:// books.google.com.pe](https://books.google.com.pe), acceso, enero 2016.
13. *Espirulina, Vida Salud y Nutricion*, disponible en: <https://www.algaespirulina.mx/web/origen-y-taxonomia.html>, acceso, enero, 2016
14. Buttori D., Di Ruscio N., *Microalga Spirulina (Arthrospira)*, 2009, disponible en: <http://documents.mx/documents/microalga-spirulina-arthrospira-microalga-spirulina-arthrospira-informe.html>, acceso, enero 2016.



## BIBLIOGRAFIA

1. Arango M., Plantas Medicinales, Botánica de Interés Médico, Pág. 315, disponible en: [https:// books.google.com.pe](https://books.google.com.pe), acceso, enero 2016.
2. Britania, Buenos Aires, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/>, acceso, enero, 2016.
3. Buttori D., Di Ruscio N., Microalga Spirulina (Arthrospira), 2009, disponible en: <http://documents.mx/documents/microalga-spirulina-arthrospira-microalga-spirulina-arthrospira-informe.html>, acceso, enero 2016.
4. Spear M., How to work, Microbiology dilution problems, disponible en: [www.ehow.com/how\\_7251879\\_work-microbiology-dilution-problems.html](http://www.ehow.com/how_7251879_work-microbiology-dilution-problems.html), acceso, marzo, 2016.
5. Cárdenas J., Díaz M., Vizcanio M., Industrialización del alga *Spirulina*, Edición Reciteia 2010, Cali, Colombia, 2010.
6. Casado G., Torracó C., Medina A., Medios de Cultivo en un Laboratorio de Microbiología, 2012, disponible en: <http://Libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf> acceso, enero 2016.
7. Del Rosario A., Calderón V., Microbiología Alimentaria, Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas, 2da. Edición, Ed. Días de Santos S.A., Madrid, España, 2000.
8. Deltalab, Uso de Productos o Materiales de Laboratorio, disponible en: [www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos-y-documentos/82755/Capitulo01-014-045Microbiologia-ES.pdf](http://www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos-y-documentos/82755/Capitulo01-014-045Microbiologia-ES.pdf)
9. Deza J., Muñoz S., Metodología de la investigación científica, Ed. Universidad Alas Peruanas, Lima-Perú, 2008.
10. Díaz R., Gamazo C., Goñi I., Manual Práctico de Microbiología, 2º Edición, Editorial Masson, 2006.

11. Coimbra E., Formulación de hipótesis de investigación, In SlideShare, disponible en: [es.slideshare.net/edisoncoimbra/126-formulacin-de-hipotesis-de-investigacion](https://es.slideshare.net/edisoncoimbra/126-formulacin-de-hipotesis-de-investigacion)
12. Soto L., Investigación y tipos de investigación, In SlideShare, disponible en: [es.slideshare.net/lili369/investigación-y-tipos-de-investigacin](https://es.slideshare.net/lili369/investigación-y-tipos-de-investigacin)
13. Espirulina, Vida Salud y Nutrición, disponible en: <https://www.algaespirulina.mx/web/origen-y-taxonomia.html>, acceso, enero, 2016.
14. Fernandez A., Garcia C., Saenz J., Velarde S., Procedimiento en Microbiología Clínica, Método de Identificación Bacteriana en el Laboratorio de Microbiología, Ed. Seimc, Cercenado G., Cartón R., 2010
15. Food News, Noticias de la Industria de Alimentos para América Latina; [www.foodnewslatam.com/inocuidad/s-control-calidad/2499-¿que-son-los-aerobios-mesofilos.html](http://www.foodnewslatam.com/inocuidad/s-control-calidad/2499-¿que-son-los-aerobios-mesofilos.html)
16. Gamazo C., López I., Díaz R., Manual Práctico de Microbiología, 3ra. Edición, Ed. Masson S.A., Barcelona, España, 2005.
17. DUOCUC, Escuela de Salud (Pontífice Universidad de Chile), Guia de Equipamiento Básico en Bacteriología, disponible en: [biblioteca.duoc.cl/bdigital/Documentos\\_Dgitaales/600/610/39586.pdf](http://biblioteca.duoc.cl/bdigital/Documentos_Dgitaales/600/610/39586.pdf)
18. Henrikson R., Microalga Spirulina, Súper Alimento del Futuro, Ediciones Urano, Barcelona, 1994
19. Hernández A., Alfaro I., Arrieta R., Microbiología Industrial, Ed. EUNED
20. Hernández S., Fernández C., Baptista L., Metodología de la Investigación, 5<sup>ta</sup> Edición, Editorial Mc Graww Hill, México D.F., 2010.
21. Hernández R., Fernández C., Baptista P., Metodología de la Investigación, 4<sup>ta</sup> Edición, Ed. Mc Graw Hill, 2005.
22. Biovea, disponible en: <http://www.biovea.com/pe/productlist/results?KW=spirulina>
23. Spirulina Nutricell, vida para tu vida, 2013, disponible en: <http://www.nutricellperu.com/spirulins.html>
24. Bionutrec, Espirulina – Bionutrec, Lima – Perú, 2016, disponible en: <http://www.spirulina.com.pe/bionutrec/>
25. Universidad de Salamanca, Departamento de microbiología y genética, Investigación y recuento de Staphylococcus aureus, Método de recuento en placa, disponible en: [http://virus.usal.es/web/demo\\_microali/Saureus/SaureusPlaca.html](http://virus.usal.es/web/demo_microali/Saureus/SaureusPlaca.html)
26. Kenneth R., George R., Microbiología, Prescott, Harley Y Klein. Mc Graw-Hill. Interamerican. 2005

27. Lara R., Castro T., Castro J., Castro G., Cultivo del nematodo *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945) en un medio de avena enriquecida con *Spirulina* sp. disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-19572007000100004](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-19572007000100004), acceso, enero 2016.
28. Marcano D., Hasegawa M., Fitoquímica Orgánica, 2da Edición, Universidad Central de Venezuela, Venezuela, Pág. 237-238, 2002.
29. Martínez M., Cuéllar A., Farmacognosia y productos naturales. 1° Ed. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela.
30. Meztanza G., Contribución al desarrollo de la fitoterapia en el Centro de Medicina Complementaria EsSalud La Libertad- Trujillo. Bach. Fac. Farmacia Universidad Nacional de Trujillo-Perú; Pág.25.
31. Microbiología Clínica, Medios de Cultivo, Curso 2012-2013, disponible en: [asignaturas.us.es/mbclínica/docs/recursos/12/medios-de-cultivo.pdf](http://asignaturas.us.es/mbclínica/docs/recursos/12/medios-de-cultivo.pdf), acceso (enero, 2016).
32. Montoya H., Microbiología Básica para el Área de la Salud y a fines, 2<sup>da</sup> Edición, Ed. Universidad de Antioquia, Colombia Medellín, 2008.
33. Archivosociologico, Objetivo comparativo | Metodología de la investigación científica 22 may. 2017, disponible en: [https://www.youtube.com/watch?v=DqSRIP\\_qWfQ](https://www.youtube.com/watch?v=DqSRIP_qWfQ)
34. Olivas E., Roberto L., Manual de Microbiología Básica y Microbiología de los Alimentos, Juárez, México, 2004.
35. Ponce L., Súper Alimento para un Mundo de Crisis: *Spirulina platensis* a bajo costo, disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=s0718-34292013000100016](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0718-34292013000100016), acceso, enero 2016.
36. Sanz S., Prácticas de Microbiología, Universidad de Rioja, Material de Cultivo Agricultura y Alimentación N°1,2011, disponible en: [dialnet.unirioja.es/descarga/libro/100835.pdf](http://dialnet.unirioja.es/descarga/libro/100835.pdf)
37. Stanier R., Ingraham J., Wheelis M., Painter P., Microbiología, 2da. Edición, Editorial Reverté, España, 2005.
38. López A., Spirulnka, disponible en: <http://www.fashioneverywhere.pe/spiruinka-un-gran-alimento-natural-con-beneficios-multiples/>.
39. Tamayo M., El Proceso de la Investigación, 4<sup>ta</sup> Edición, Editorial Limusa S.A., México, 2003.
40. Totorá G., Funke B., Case C., Introducción a la Microbiología 9<sup>a</sup> EDICION, Editorial Panamericana, 2007, Buenos Aires, Argentina.

41. Vandevenne C., Ribes M., Métodos de Análisis Microbiológicos de los Alimentos, Ediciones Díaz de Santos S.A. España, 2002.

# ANEXOS

**EQUIPOS UTILIZADOS**  
**ANEXO N°1**  
**AUTOCLAVE (GREETMED)**



**ANEXO N°2**  
**BALANZA ANALITICA (HENKEL)**



**CEPAS ATCC**  
***Staphylococcus aureus* ATCC N°25923**  
**ANEXO N°3**  
**CODIGO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923**



**ANEXO N°4**  
**MATERIAL DE TRABAJO PARA CEPA DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923**



**ANEXO N°5**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE CEPA *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923**  
**EN AGAR MANITOL**



***Escherichia coli* ATCC N°25922**  
**ANEXO N°6**  
**CODIGO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922**





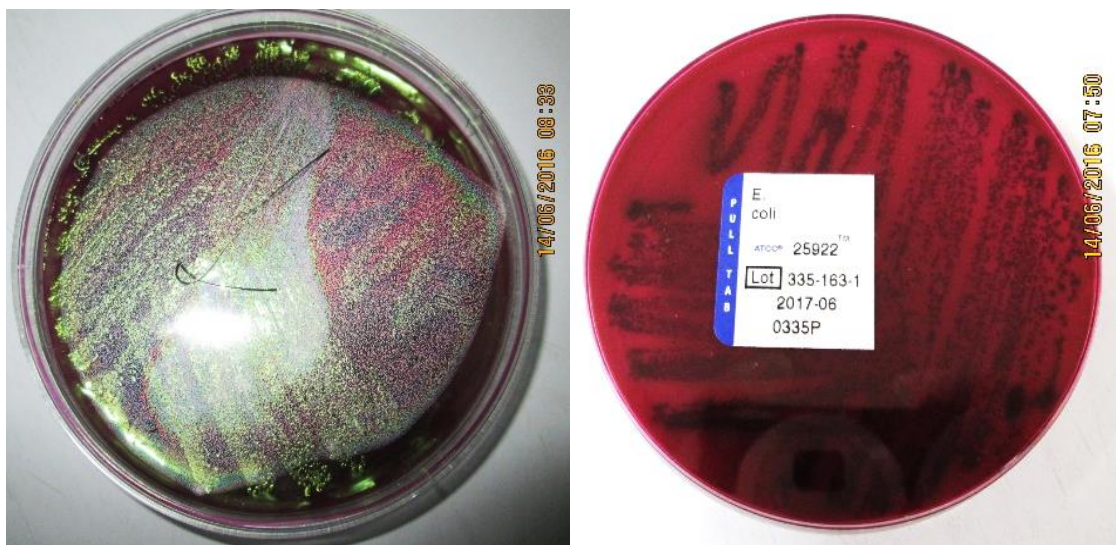
**ANEXO N°7**

**MATERIAL DE TRABAJO PARA CEPA DE *Escherichia coli* ATCC N°25922**



**ANEXO N°8**

**CRECIMIENTO BACTERIANO DE CEPA *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR EMB Levine.**



**PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO O AGARES**  
**PESADO DE AGARES**  
**ANEXO N°9**  
**PESADO AGAR MANITOL**



**ANEXO N°10**  
**PESADO AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine)**



**ANEXO N°11**  
**PESADO DE POLVO DE ESPIRULINA**



**ANEXO N°12**  
**PESADO AGAR AGAR**



**ANEXO N°13**  
**PESADO AGAR NUTRITIVO**



**REALIZACIÓN DE AGARES**  
**ANEXO N°14**  
**MATERIAL PARA PREPARAR AGAR NUTRITIVO**



900 ml de agua destilada

20.7 gr de Agar Nutritivo

**ANEXO N°15**  
**MATERIAL PARA PREPARAR AGAR MANITOL**



450 ml de agua destilada

49.95 gr de Agar Manitol

**ANEXO N°16**  
**MATERIAL PARA PREPARAR AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine)**



450 ml de agua destilada

16.2 gr de Agar EMB Levine

**ANEXO N°17**  
**MATERIAL PARA PREPARAR AGAR DE ESPIRULINA**



900 ml de agua destilada

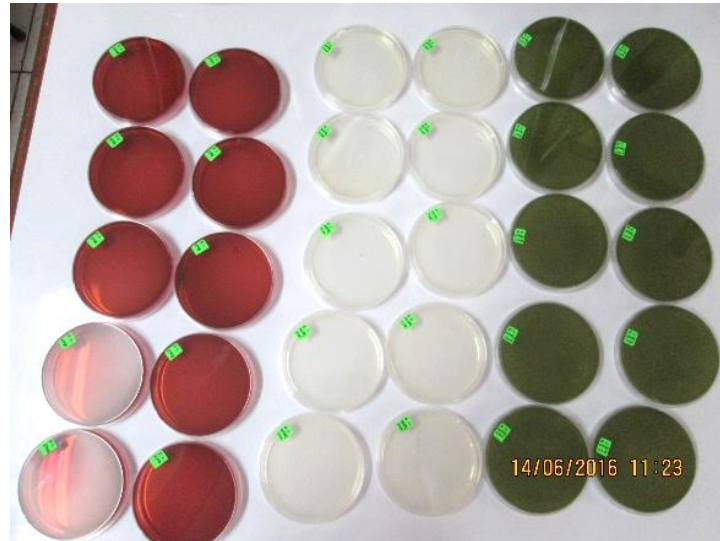
13.5 gr de Agar agar

7.2 gr polvo de espirulina

**ANEXO N°18**  
**PLAQUEADO LISTO PARA SEMBRAR *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGARES (MANITOL-NUTRITIVO-ESPIRULINA)**



**ANEXO N°19**  
**PLAQUEADO LISTO PARA SEMBRAR *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN**  
**AGARES (EMB Levine- NUTRITIVO-ESPIRULINA)**

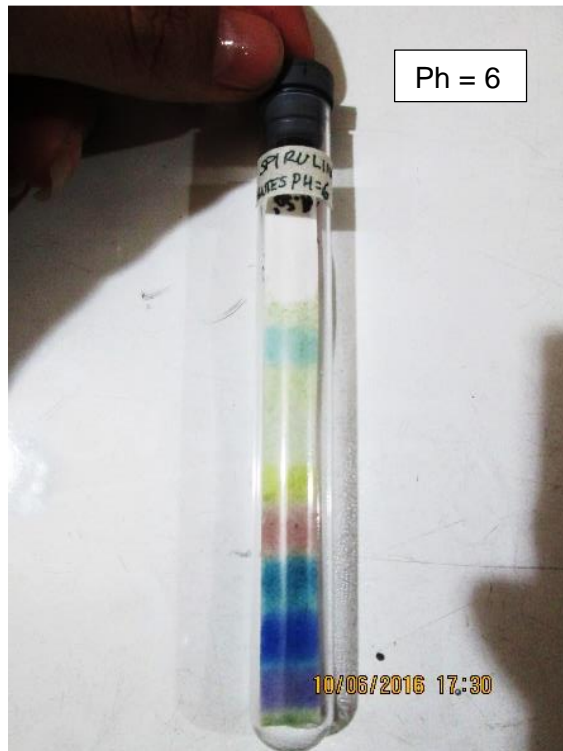


<b>ANEXO N°20</b> <b>PLAQUEADO DE AGAR ESPIRULINA-M</b>	<b>ANEXO N°21</b> <b>PLAQUEADO DE AGAR ESPIRULINA-E</b>

**ANEXO N°22**  
**PAPEL INDICADOR DE Ph ESCALA UNIVERSAL (PANPEHA)**



**ANEXO N°23**  
**Ph AGAR DE ESPIRULINA ANTES DE ESTERILIZAR**

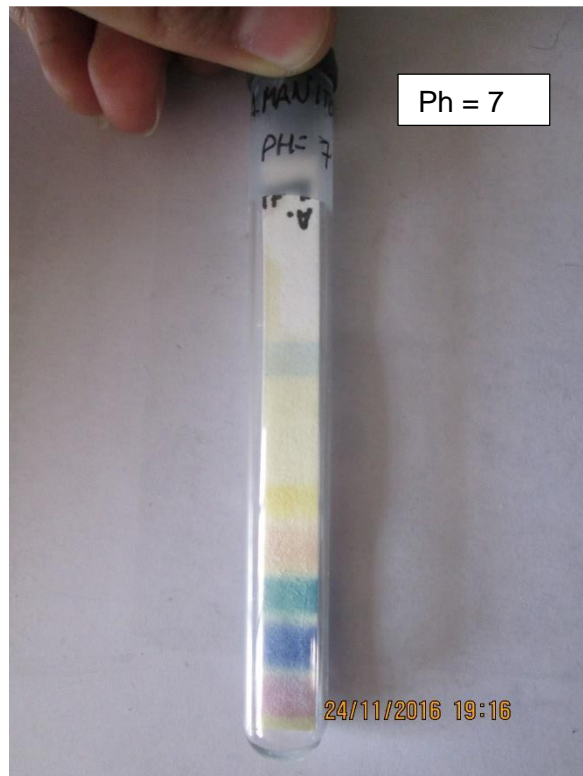




**ANEXO N°24**  
**Ph DE AGAR ESPIRULINA DESPUES DE ESTERILIZADO**



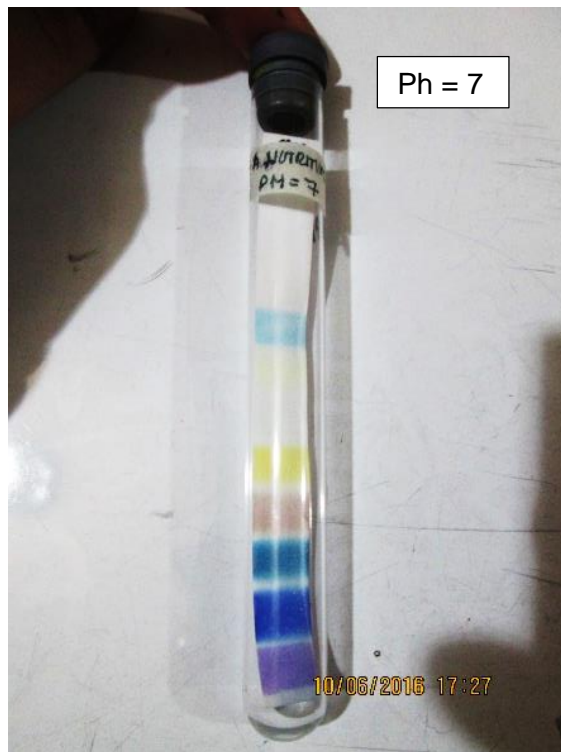
**ANEXO N°25**  
**Ph DE AGAR MANITOL**



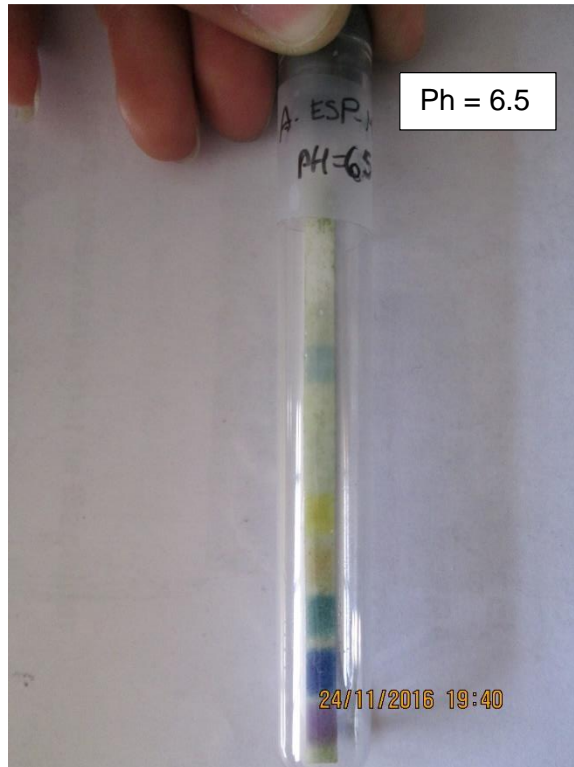
**ANEXO N°26**  
**Ph DE AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine)**



**ANEXO N°27**  
**Ph AGAR NUTRITIVO**



**ANEXO N°28**  
**Ph AGAR ESPIRULINA-M**



**ANEXO N°29**  
**Ph AGAR ESPIRULINA-E**



## REACTIVO DE BIURET

### ANEXO N°30

#### AGAR DE ESPIRULINA ANTES DE ESTERILIZAR



En la fotografía se aprecia al lado izquierdo el agar de espirulina sin el reactivo de biuret, al lado derecho se observa el agar de espirulina con reactivo de biuret, ambos tubos de ensayo son agar de espirulina antes de ser esterilizados.

### ANEXO N°31

#### AGAR DE ESPIRULINA DESPUES DE ESTERILIZAR



En la fotografía se aprecia al lado izquierdo el agar de espirulina sin el reactivo de biuret, al lado derecho se observa el agar de espirulina con reactivo de biuret, ambos tubos de ensayo son agar de espirulina despues de ser esterilizados.

**ANEXO N°32**

**PESADO DE CRECIMIENTO BACTERIANO *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923,  
CON AYUDA DE LA ASA DE HENLE.**



Se tomó colonias de *Staphylococcus aureus* N°25923 en una asa de Henle, con ayuda de un vasito descartable y plastilina para poder clavar la asa de Henle.

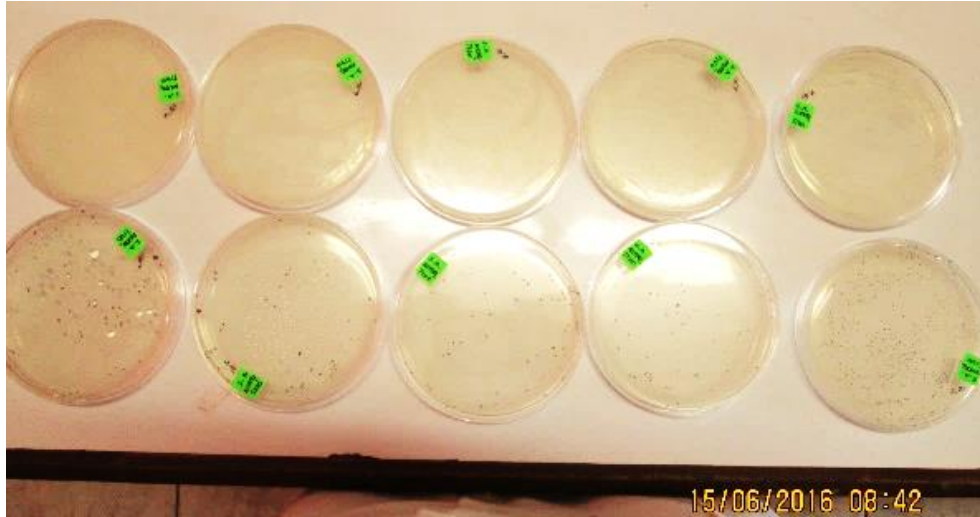
**ANEXO N°33**

**PESADO DE CRECIMIENTO BACTERIANO *Escherichia coli* ATCC N°25922, CON  
AYUDA DE LA ASA DE HENLE.**



Se tomó colonias de *Escherichia coli* N°25922 en una asa de Henle, con ayuda de un vasito descartable y plastilina para poder clavar la asa de Henle.

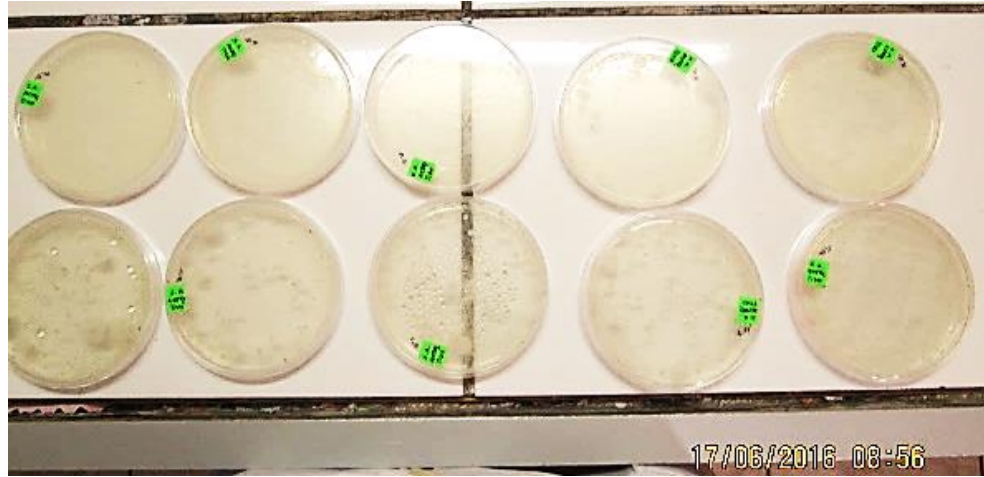
**ANEXO N°34**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN**  
**AGAR NUTRITIVO A LAS 24 HORAS**



**ANEXO N°35**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN**  
**AGAR NUTRITIVO A LAS 48 HORAS**



**ANEXO N°36**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN**  
**AGAR NUTRITIVO A LAS 72 HORAS**



**ANEXO N°37**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR**  
**DE ESPIRULINA A LAS 24 HORAS**



**ANEXO N°38**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR DE ESPIRULINA A LAS 48 HORAS**



**ANEXO N°39**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR DE ESPIRULINA A LAS 72 HORAS**

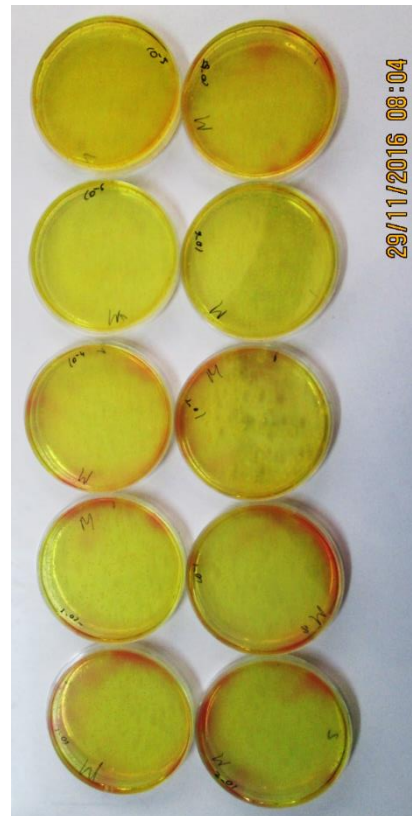
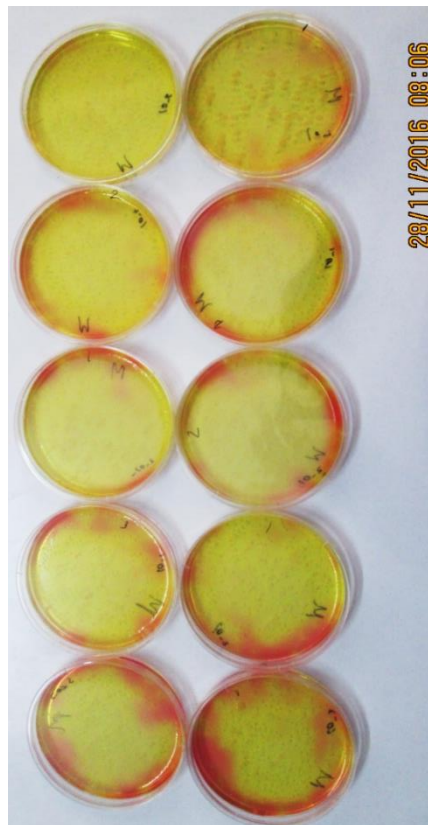
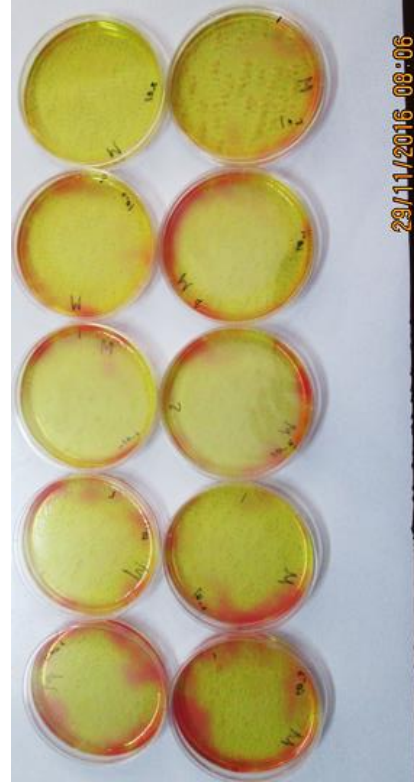




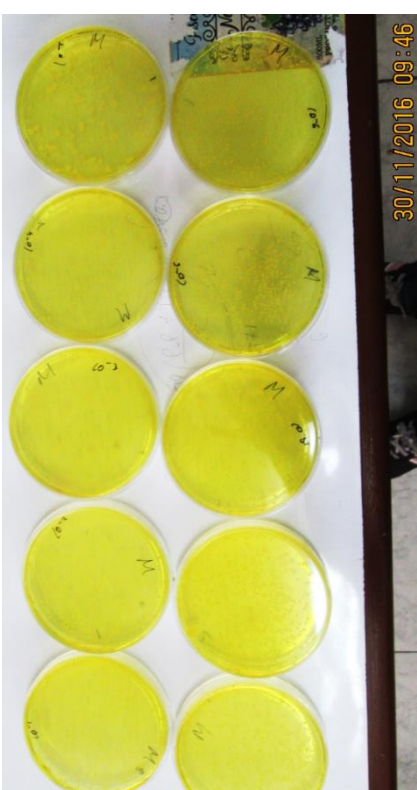
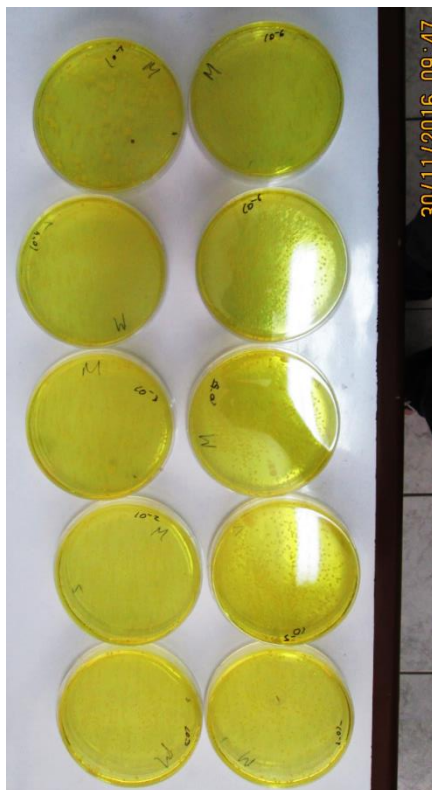
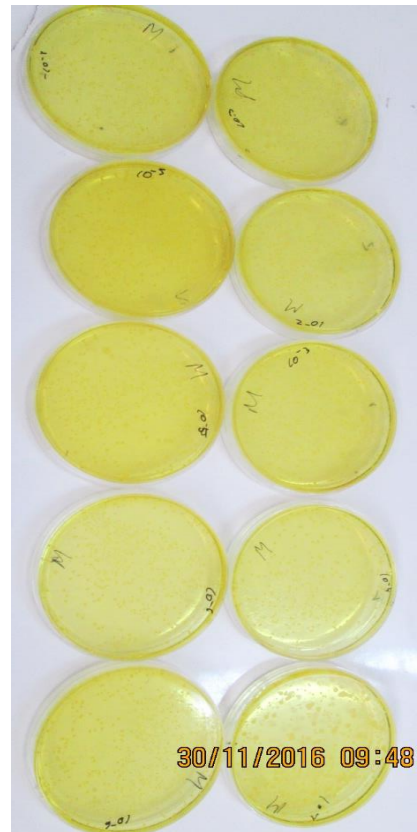
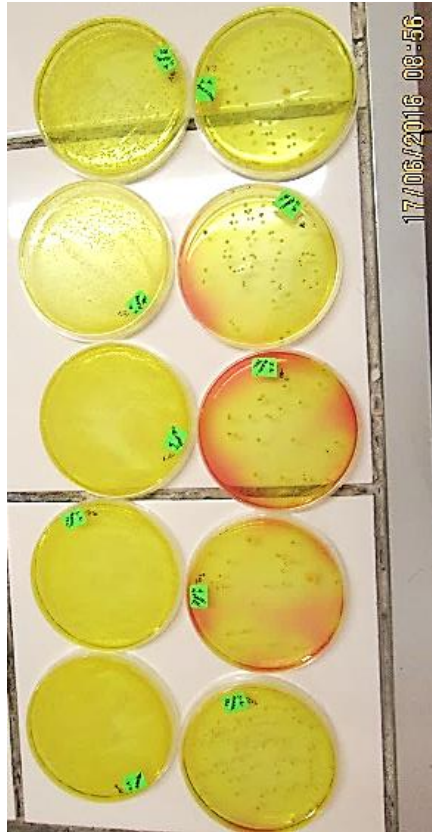
**ANEXO N° 40**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR**  
**MANITOL A LAS 24 HORAS**



**ANEXO N°41**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR**  
**MANITOL A LAS 48 HORAS**



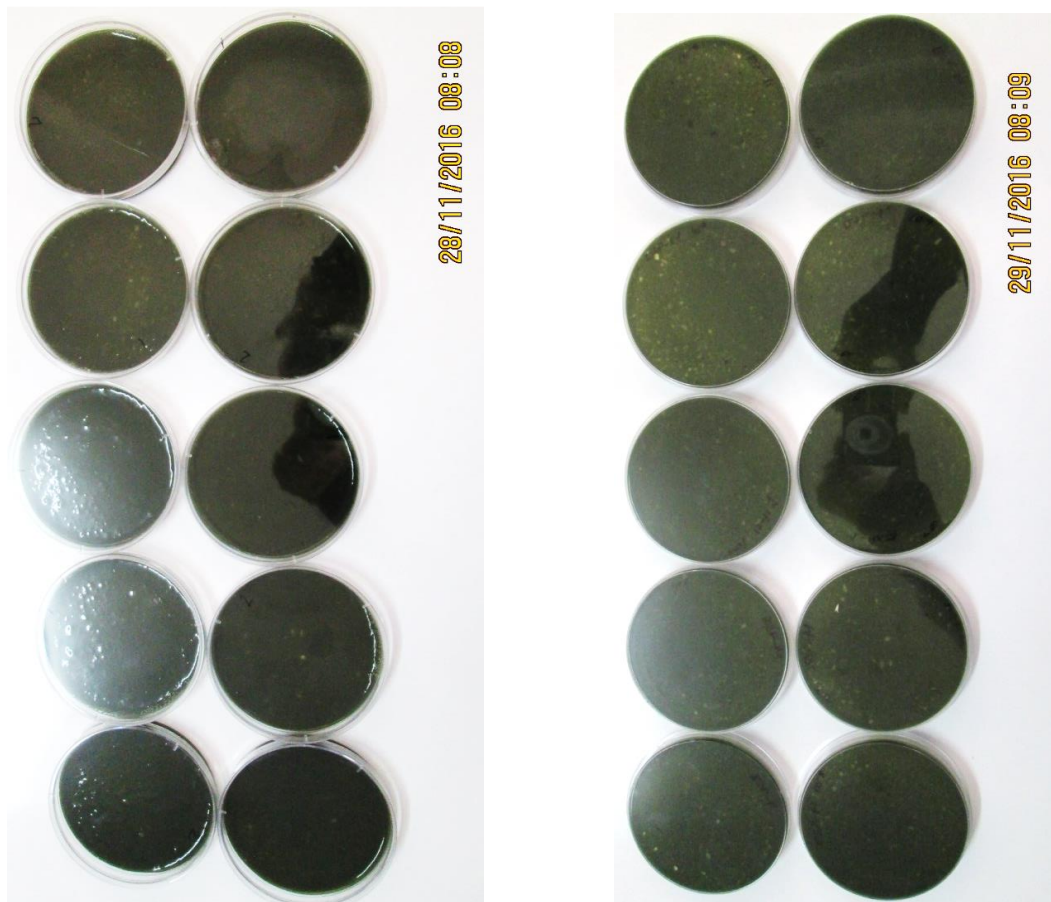
**ANEXO N°42**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR**  
**MANITOL A LAS 72 HORAS**



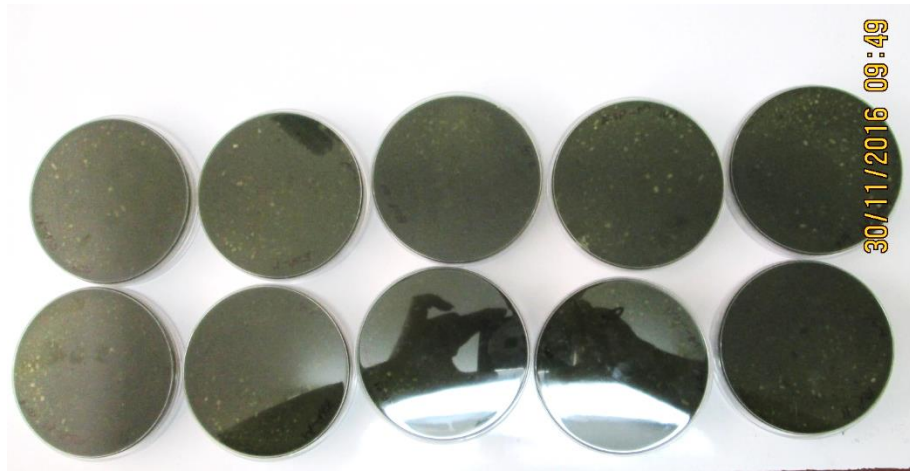
**ANEXO N°43**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR**  
**ESPIRULINA-M A LAS 24 HORAS**



**ANEXO N°44**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR**  
**ESPIRULINA-M A LAS 48 HORAS**

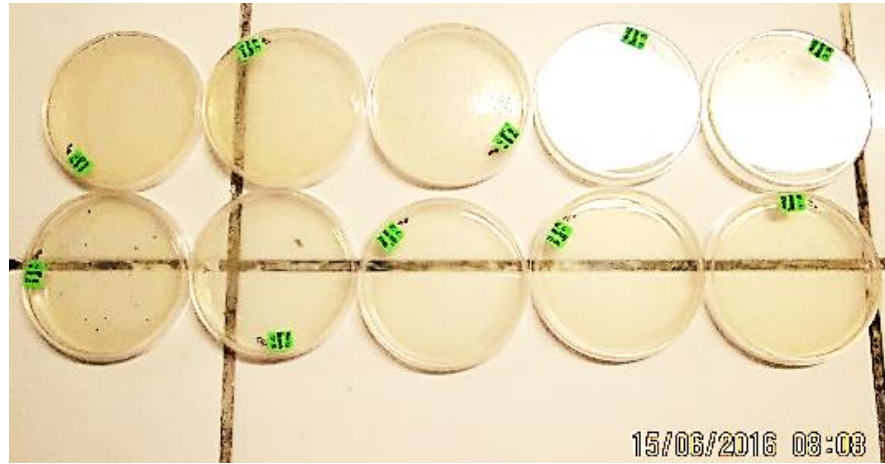


**ANEXO N°45**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 EN AGAR**  
**ESPIRULINA-M A LAS 72 HORAS**



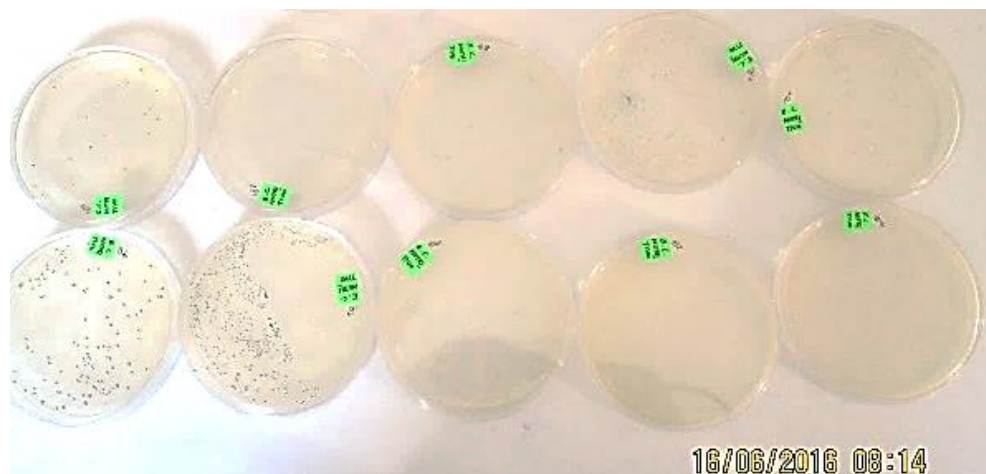
**ANEXO N°46**

**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR NUTRITIVO A LAS 24 HORAS**



**ANEXO N°47**

**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 AGAR NUTRITIVO A LAS 48 HORAS**



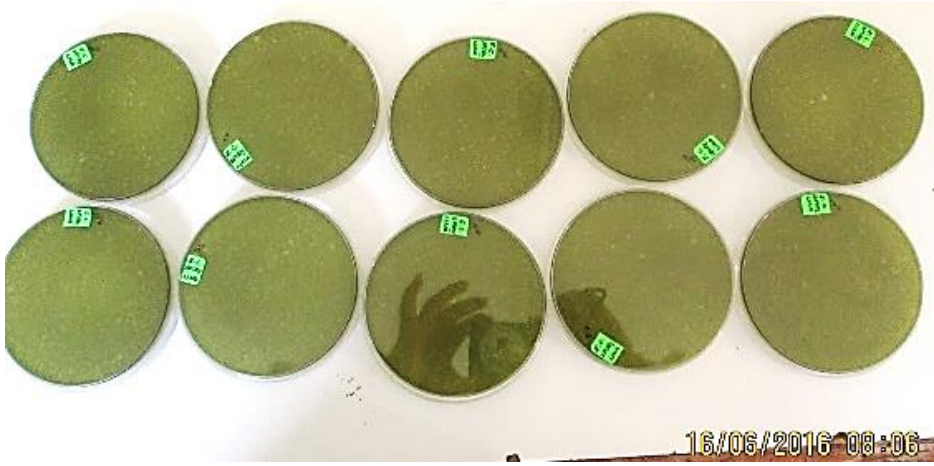
**ANEXO N°48**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR**  
**NUTRITIVO A LAS 72 HORAS**



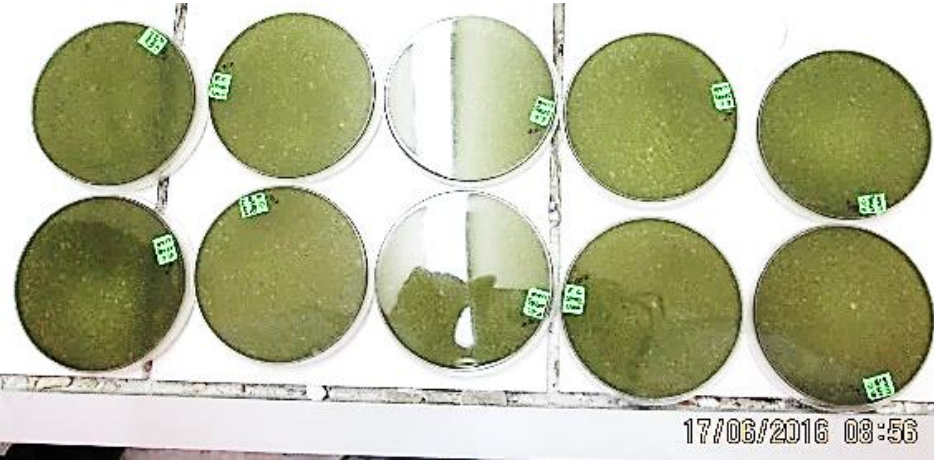
**ANEXO N°49**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR DE**  
**ESPIRULINA A LAS 24 HORAS**



**ANEXO N°50**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR DE**  
**ESPIRULINA A LAS 48 HORAS**



**ANEXO N°51**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR DE**  
**ESPIRULINA A LAS 72 HORAS**





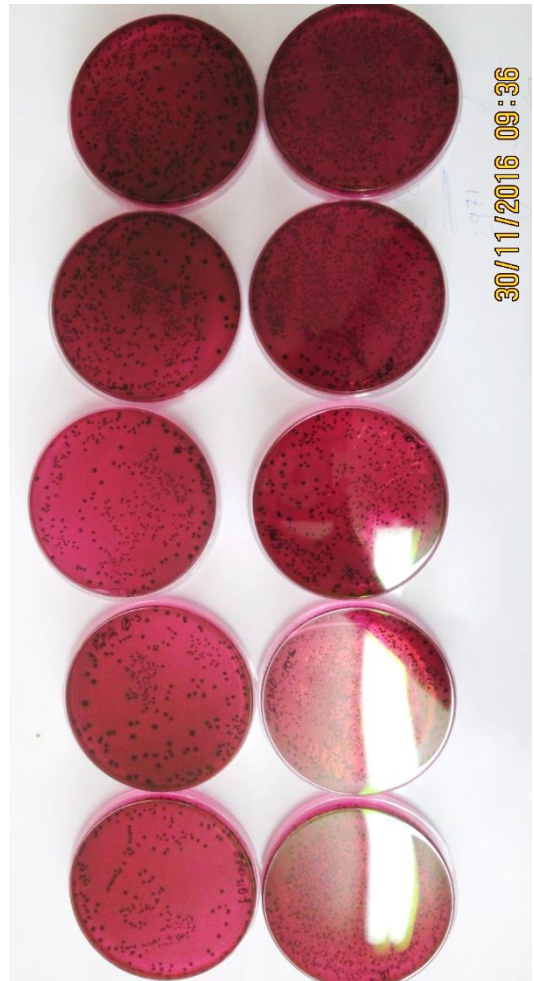
**ANEXO N°52**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR**  
**EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine) A LAS 24 HORAS**



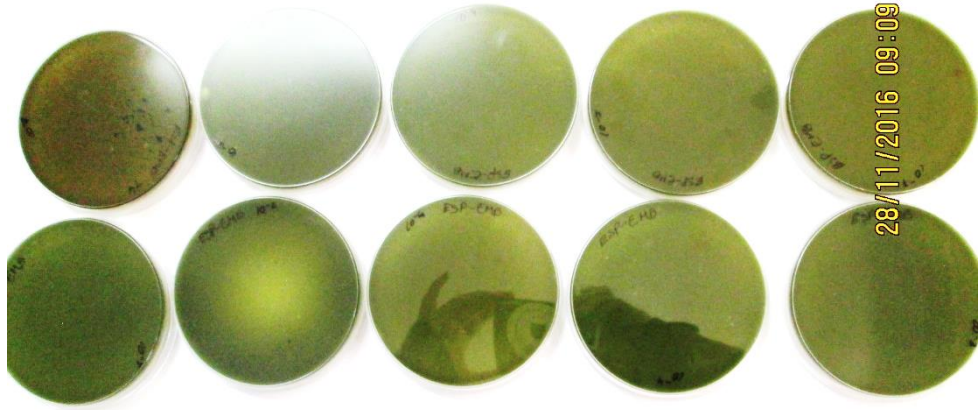
**ANEXO N°53**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR**  
**EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine) A LAS 48 HORAS**



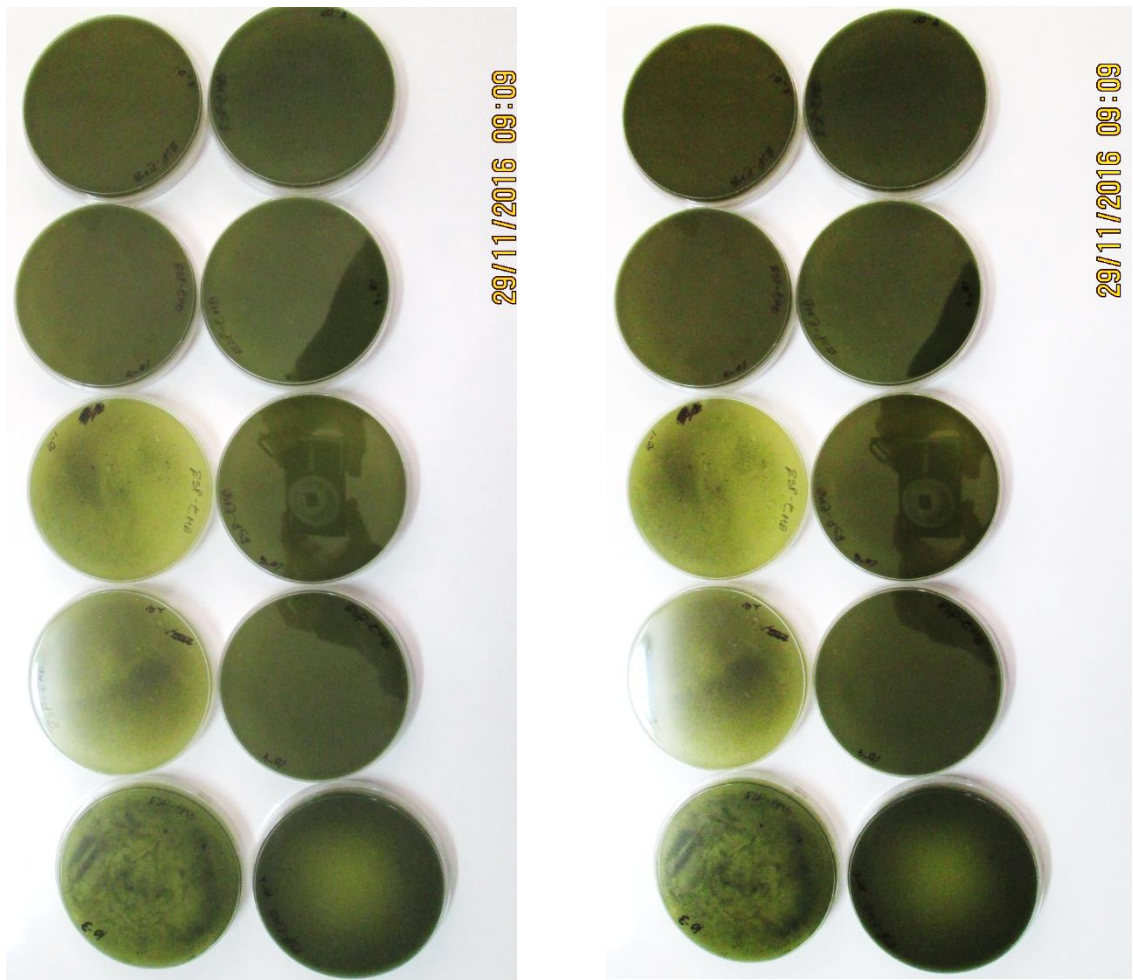
**ANEXO N°54**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N°25922 EN AGAR**  
**EOSINA AZUL DE METILENO (EMB Levine) A LAS 72 HORAS**



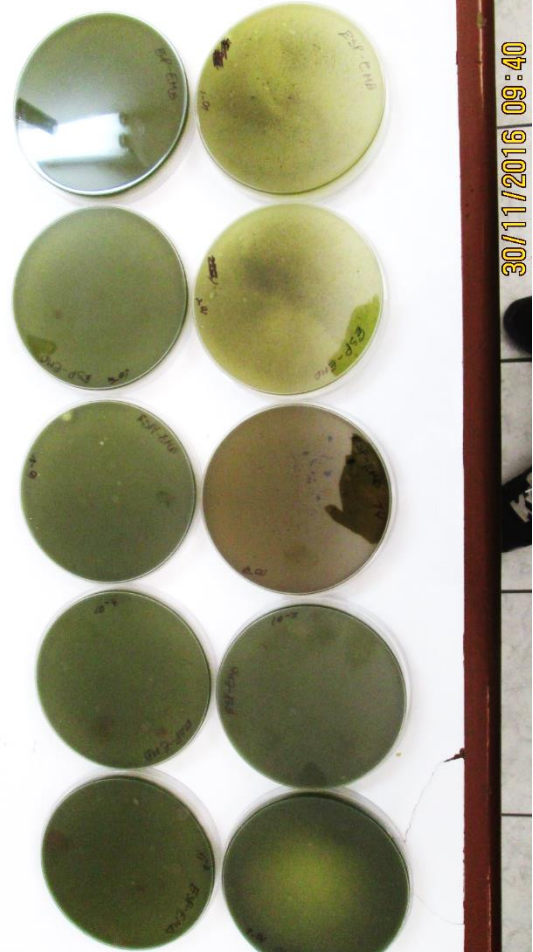
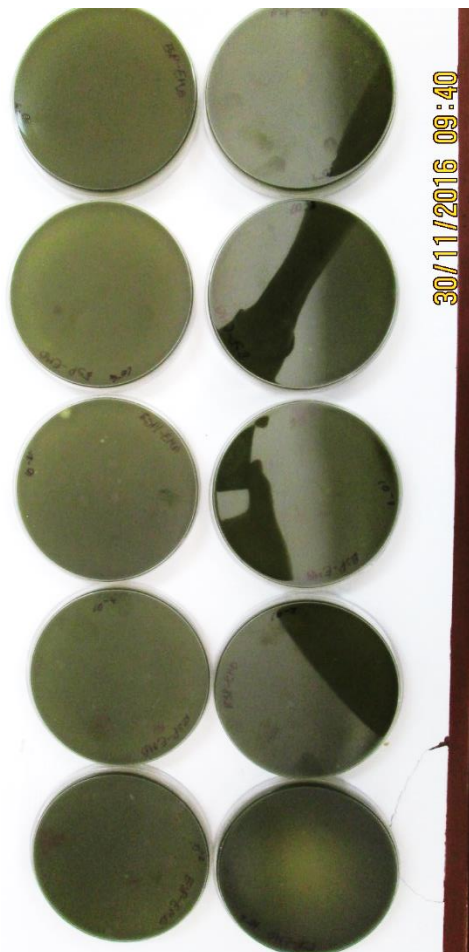
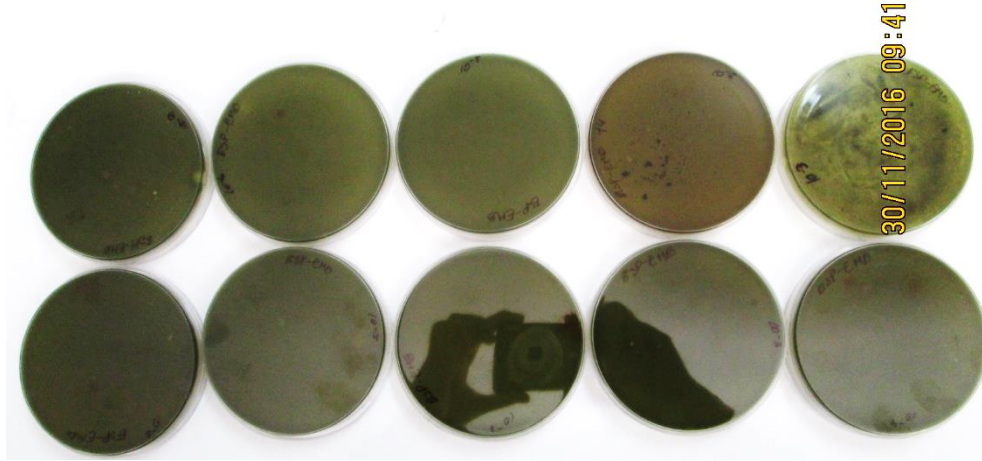
**ANEXO N°55**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N° 25922 EN AGAR**  
**ESPIRULINA-E A LAS 24 HORAS**



**ANEXO N°56**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N° 25922 EN AGAR**  
**ESPIRULINA-E A LAS 48 HORAS**



**ANEXO N°57**  
**CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Escherichia coli* ATCC N° 25922 EN AGAR**  
**ESPIRULINA-E A LAS 72 HORAS**



ANEXO N°58

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1A

28/11/2016 24 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	986	896	980	893	981	896	982	895
1x10 <sup>-5</sup>	897	794	789	798	804	765	830	786
1x10 <sup>-6</sup>	430	401	427	398	418	415	425	405
1x10 <sup>-7</sup>	111	109	107	108	117	113	112	110
1x10 <sup>-8</sup>	81	75	74	94	87	83	81	84
1x10 <sup>-9</sup>	74	60	69	71	74	73	72	68
1x10 <sup>-10</sup>	45	37	49	27	39	35	44	33
	1 <sup>re</sup> COMPARACIÓN		2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

A: Lectura a las 24 horas.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

**ANEXO N°59  
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1B**

29/11/2016 48 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-5</sup>	898	805	894	833	899	806	897	815
1x10 <sup>-6</sup>	537	495	525	495	499	521	520	504
1x10 <sup>-7</sup>	245	237	203	147	213	235	220	206
1x10 <sup>-8</sup>	193	129	146	145	123	135	154	136
1x10 <sup>-9</sup>	119	97	111	107	137	125	122	110
1x10 <sup>-10</sup>	105	94	103	103	116	107	108	101
	1 <sup>re</sup> COMPARACIÓN		2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

**1:** Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

**B:** Lectura a las 48 horas.

**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

ANEXO N°60

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1C

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-5</sup>	987	891	970	893	977	883	978	889
1x10 <sup>-6</sup>	641	611	649	622	657	615	649	616
1x10 <sup>-7</sup>	592	584	598	589	604	588	598	587
1x10 <sup>-8</sup>	463	401	469	413	472	407	468	407
1x10 <sup>-9</sup>	365	334	370	350	372	339	369	341
1x10 <sup>-10</sup>	126	101	128	115	133	111	129	109
1 <sup>º</sup> COMPARACIÓN			2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>º</sup> COMPARACIÓN			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

C: Lectura a las 72 horas.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

**ANEXO N°61**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1AM**

28/11/2016 24 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	843	801	850	787	841	791	845	793
1x10 <sup>-4</sup>	417	331	410	338	423	355	417	341
1x10 <sup>-5</sup>	306	200	302	179	247	153	285	177
1x10 <sup>-6</sup>	25	23	109	35	97	30	77	29
1x10 <sup>-7</sup>	19	20	23	21	51	29	31	23
1x10 <sup>-8</sup>	11	14	15	19	37	17	21	17
1x10 <sup>-9</sup>	9	13	7	15	13	13	10	14
1x10 <sup>-10</sup>	6	10	6	13	7	9	6	11
<b>1<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			<b>2<sup>da</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>3<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

**1:** Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

**A:** Lectura a las 24 horas.

**M:** Agar de Espirulina-M.

**1000:** Crecimiento de colonias incontables.



ANEXO N°62

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1BM

29/11/2016 48 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	970	1000	976	1000	965	1000	970	1000
1x10 <sup>-4</sup>	721	896	712	891	710	895	714	894
1x10 <sup>-5</sup>	306	640	432	505	432	492	390	546
1x10 <sup>-6</sup>	325	422	326	370	336	330	329	374
1x10 <sup>-7</sup>	232	358	228	250	245	208	235	272
1x10 <sup>-8</sup>	207	208	224	196	204	208	212	204
1x10 <sup>-9</sup>	140	205	162	186	132	207	145	199
1x10 <sup>-10</sup>	62	79	54	75	73	89	63	81
	1 <sup>re</sup> COMPARACIÓN		2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

B: Lectura a las 48 horas.

M: Agar de Espirulina-M.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

ANEXO N°63

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 1CM

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol	Agar de Espirulina-M	Agar Manitol
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	809	1000	803	1000	794	1000	802	1000
1x10 <sup>-5</sup>	475	940	455	846	535	935	488	907
1x10 <sup>-6</sup>	326	425	339	637	425	645	363	569
1x10 <sup>-7</sup>	274	364	234	425	301	459	270	416
1x10 <sup>-8</sup>	268	228	227	304	225	328	240	287
1x10 <sup>-9</sup>	241	225	184	254	145	257	190	245
1x10 <sup>-10</sup>	78	93	67	89	76	90	74	91
1 <sup>re</sup> COMPARACIÓN		2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>re</sup> COMPARACIÓN				

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

1: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

C: Lectura a las 72 horas.

M: Agar de Espirulina-M.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

ANEXO N°64

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2A

28/11/2016 24 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	924	881	941	876	927	863	931	873
1x10 <sup>-4</sup>	574	421	569	391	573	417	572	410
1x10 <sup>-5</sup>	260	106	314	169	267	324	280	200
1x10 <sup>-6</sup>	8	22	20	35	45	112	24	56
1x10 <sup>-7</sup>	5	5	10	13	7	22	7	13
1x10 <sup>-8</sup>	3	1	5	12	4	16	4	10
1x10 <sup>-9</sup>	2	1	3	3	2	9	2	4
1x10 <sup>-10</sup>	1	1	2	1	1	4	1	2
1 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>re</sup> COMPARACIÓN			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2: cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.

A: Lectura a las 24 horas.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

ANEXO N°65

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2B

29/11/2016 48 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	965	1000	991	1000	987	1000	981
1x10 <sup>-4</sup>	783	741	771	738	768	717	774	732
1x10 <sup>-5</sup>	370	325	378	309	305	432	351	355
1x10 <sup>-6</sup>	189	145	209	127	115	154	171	142
1x10 <sup>-7</sup>	59	56	187	98	98	97	115	84
1x10 <sup>-8</sup>	35	24	65	46	54	67	51	46
1x10 <sup>-9</sup>	15	7	39	13	37	31	30	17
1x10 <sup>-10</sup>	4	3	6	4	7	5	6	4
1 <sup>er</sup> COMPARACIÓN			2 <sup>da</sup> COMPARACIÓN		3 <sup>er</sup> COMPARACIÓN			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2: cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.

B: Lectura a las 48 horas.

1000: Crecimiento de colonias incontables.

**ANEXO N°66**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2C**

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo	Agar de Espirulina	Agar Nutritivo
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	903	856	924	896	902	846	910	866
1x10 <sup>-5</sup>	404	327	478	457	427	459	436	414
1x10 <sup>-6</sup>	224	154	305	138	319	148	283	147
1x10 <sup>-7</sup>	132	75	195	109	125	113	151	99
1x10 <sup>-8</sup>	65	54	73	64	84	69	74	62
1x10 <sup>-9</sup>	17	24	42	29	49	37	36	30
1x10 <sup>-10</sup>	15	11	16	18	12	10	14	13
<b>1<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			<b>2<sup>da</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>3<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

**2:** cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**C:** Lectura a las 72 horas.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**ANEXO N°67**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2AE**

28/11/2016 24 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	896	795	914	811	873	797	894	801
1x10 <sup>-4</sup>	596	525	601	511	595	521	597	519
1x10 <sup>-5</sup>	260	186	314	294	278	203	284	228
1x10 <sup>-6</sup>	8	42	21	45	13	54	14	47
1x10 <sup>-7</sup>	5	11	7	15	6	21	6	16
1x10 <sup>-8</sup>	3	4	4	5	3	7	3	5
1x10 <sup>-9</sup>	2	2	3	3	3	4	3	3
1x10 <sup>-10</sup>	1	1	2	1	2	3	2	2
<b>1<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			<b>2<sup>da</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>3<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

- 2: cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
A: Lectura a las 24 horas.  
E: Agar de Espirulina-E.  
**1000**: Crecimiento de colonias incontables.

**ANEXO N°68**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2BE**

29/11/2016 48 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	983	895	996	878	991	894	990	889
1x10 <sup>-4</sup>	735	639	761	678	734	665	743	661
1x10 <sup>-5</sup>	370	215	414	307	387	289	390	270
1x10 <sup>-6</sup>	59	48	79	54	77	60	72	54
1x10 <sup>-7</sup>	25	14	31	16	29	21	28	17
1x10 <sup>-8</sup>	13	5	19	7	23	9	18	7
1x10 <sup>-9</sup>	6	2	7	4	10	4	8	3
1x10 <sup>-10</sup>	4	1	4	3	7	4	5	3
		<b>1<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>2<sup>da</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>3<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>		

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

**2:** cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**B:** Lectura a las 48 horas.  
**E:** Agar de Espirulina-E.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.

**ANEXO N°69**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 2CE**

30/11/2016 72 Horas							PROMEDIO	
<i>Escherichia coli</i>	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine	Agar de Espirulina-E	Agar EMB Levine
Concentraciones decimales								
1x10 <sup>-1</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-2</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-3</sup>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1x10 <sup>-4</sup>	879	856	854	745	846	789	860	797
1x10 <sup>-5</sup>	404	388	544	397	578	400	509	395
1x10 <sup>-6</sup>	83	91	97	92	107	99	96	94
1x10 <sup>-7</sup>	65	49	67	50	78	44	70	48
1x10 <sup>-8</sup>	48	14	33	35	53	29	45	26
1x10 <sup>-9</sup>	11	8	17	13	21	18	16	13
1x10 <sup>-10</sup>	10	4	11	7	13	9	11	7
<b>1<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			<b>2<sup>da</sup> COMPARACIÓN</b>		<b>3<sup>re</sup> COMPARACIÓN</b>			

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

- 2:** cepas de *Escherichia coli* ATCC N°25922.  
**C:** Lectura a las 72 horas.  
**E:** Agar de Espirulina-E.  
**1000:** Crecimiento de colonias incontables.






Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Escherichia coli  <b>Catalog Number:</b> 0335  <b>Lot Number:</b> 335-163  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™*  <b>Purity:</b> &lt; 0.1% Total Pellet CFU  <b>Recovery:</b> &gt; 1000 CFUs per Pellet  <b>Passage from Reference:</b> 4</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2017/6/30  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Tracy A Blenker  <b>Release Date:</b> 2015/7/16</p>
---	---

<b>Performance</b>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                  2 colony types, both are gray &amp; beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge &amp; smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge &amp; rough</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                  Gram negative straight rod</p>	<p><b>Medium:</b>                  SBAP</p> <p><b>Method:</b>                  Gram Stain (1)</p>

<p><b>ID System:</b> Vitek GN (1)                  See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>                  (1) Oxidase(Kovacs): negative                  Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive                  (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm                  (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm                  (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <div style="text-align: center;">                       Brad Goskowicz, President                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>
---	--

Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

ATCC Licensed Derivative (\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



TESTING CERT #2655.01



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

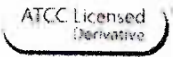
<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Staphylococcus aureus subsp. aureus  <b>Catalog Number:</b> 0360  <b>Lot Number:</b> 360-205  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25923™*  <b>Purity:</b> &lt; 0.1% Total Pellet CFU  <b>Recovery:</b> &gt; 1000 CFUs per Pellet  <b>Passage from Reference:</b> 4</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2016/8/31  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Carol J Stanoch  <b>Release Date:</b> 2014/9/29</p>
--	---

Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

TESTING CERT #2655.01