

ACTIVACIÓN E IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE LOS CONGLOMERADOS DE BACTERIAS PROBIÓTICAS ABT-5, ABY-3 Y BC- 7 UTILIZANDO EL KIT RÁPIDO API 50 CH

Carmen Ruiz¹
Unidad de Investigaciones en Acuicultura, Instituto del Mar del Perú
Apartado 22 , Chuchito, Callao- Perú
cruiz@imarpe.pe

RESUMEN

Se realizó la activación de los conglomerados bacterianos liofilizados ABT-5 , ABY-3 y BC-7, así como la identificación de bacterias predominantes. La activación de las cepas se realizó en medio líquido (caldo MRS) y sólido (agar MRS). El recuento de las bacterias presentes se realizó mediante técnicas de dilución en placa con agar MRS. Para la identificación bioquímica de los microorganismos se utilizaron el Kit API 50 CH , API 50 CHL y el Software API WEB. Los resultados mostraron presencia de bacterias del género *Lactobacillus* en las tres cepas estudiadas.

Palabras Claves: Conglomerados, probióticos, identificación bioquímica, *Lactobacillus*.

ABSTRAT

We performed the activation of lyophilized bacterial conglomerates ABT-5, ABY-3 and BC-7, and the identification of predominant bacteria. The activation of the strains was performed in liquid medium (MRS broth) and solid (MRS agar). The bacteria count is realized through dilution in MRS agar plate. For the biochemical identification of microorganisms used the API 50 CH kit, API 50 CHL and API Software WEB. The results showed presence of bacteria of the genus *Lactobacillus* in the three strains tested.

Key words: Conglomerates, probiotics, biochemical identification, *Lactobacillus*.

¹ Bióloga Carmen Milagros Ruiz Huamán. Con Maestría en Biotecnología y Doctorado en Gestión Ambiental y Evaluación de Impacto Ambiental. Experiencia en Producción de (Microalgas) y análisis de: hidrocarburos, sulfuros en agua de mar, toxicológico e inmunológico del residual de Cloranfenicol en langostinos e identificación de Biotoxinas Marinas y Biología Molecular de la Floración Algal Nocivas, como también en prospección, diseño, ejecución, monitoreo, evaluación y seguimiento en temas relacionados con el mar. Experiencia en consultorías externas en elaboración y formulación de Proyectos de Desarrollo Socioeconómico en comunidades nativas y cadena productiva en Acuicultura.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el sector de la acuicultura ha mostrado interés en la aplicación de probióticos debido a los efectos beneficiosos obtenidos por su uso, reflejado tanto en el estado de salud y tasa de crecimiento de los organismos acuáticos, como en la calidad del agua y su papel en el control biológico de enfermedades infecciosas (Rodríguez et al. 2007).

En este sentido uno de los objetivos del Laboratorio de Cultivo Marinos para el presente año fue el desarrollo de un protocolo para la activación y mantenimiento de conglomerados de bacterias liofilizadas comerciales en medio líquido y sólido, así como la identificación bioquímica de los microorganismos presentes en estos, con la finalidad de afinar el protocolo final que se usara en el laboratorio, para la posterior aplicación de las bacterias en el cultivo de alimento vivo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con 3 conglomerados de bacterias comerciales: Cultivo liofilizado, cepa ABY-3, cultivo liofilizado, cepa FD- DVS ABT-5, y cultivo liofilizado, cepa BC-7, (proporcionado por el laboratorio costero de Tumbes).

Para la identificación bioquímica se utilizaron el Kit API 50 CH , API 50 CHL y el Software API WEB.

El API 50 CH es un sistema estandarizado compuesto por 50 ensayos bioquímicos destinados al estudio del metabolismo de los carbohidratos en los microorganismos. El API 50 CH se utiliza en combinación con el API 50 CHL Medium para la identificación de Lactobacillus y microorganismos próximos.

Durante el período de incubación, la fermentación se traduce en un cambio de color en el tubo, debido a una producción de ácido en anaerobiosis, revelada por el indicador de pH del medio elegido. El primer tubo, sin principio activo sirve como testigo negativo.

2.1 ACTIVACIÓN DE CEPAS

CEPA ABT-5

Se pesaron 0.0164 g de perlas de ABT-5 y se colocó en un tubo con 10mL de caldo MRS estéril, este se incubó a 30°C por 48 horas. Asimismo se colocó el mismo peso de las perlas en un tubo con 9 mL de solución salina al 0,85 % de NaCl para tener una suspensión bacteriana con turbidez, a fin de utilizar la escala de Mc Farland, la cual está constituida por un patrón de 10 tubos basado en la capacidad de precipitación del Cloruro de Bario (Cl_2Ba al 1%) en presencia del ácido sulfúrico (SO_4H_2 1%) en diferentes cantidades.

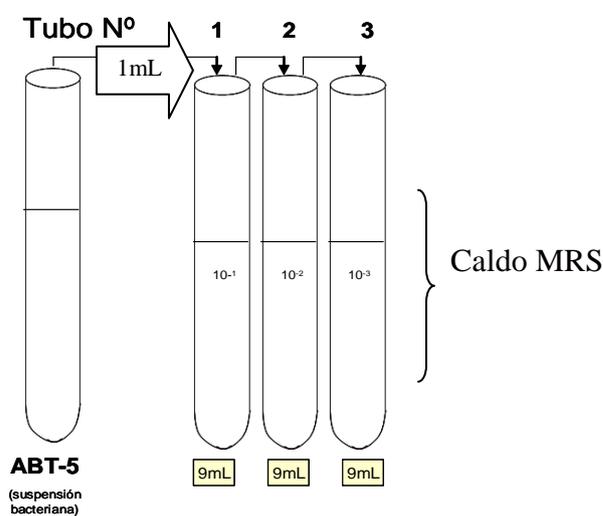
Se comparó lo obtenido en los tubos con ABT-5, con la escala de Mc Farland (Tabla 1) y se observó que la concentración obtenida fue muy similar al tubo N° 7, lo que indica una concentración de $2,1 \times 10^9$ UFC/mL.

Tabla 1. Escala Mac Farland

TUBO	Cl ₂ Ba 1%	SO ₄ H ₂ 1%	UFC/mL
0,5	0,05	9,95	1,5x10 ⁸
1	0,1	9,9	3,0x10 ⁸
2	0,2	9,8	6,0x10 ⁸
3	0,3	9,7	9,0x10 ⁸
4	0,4	9,6	1,2x10 ⁹
5	0,5	9,5	1,5x10 ⁹
6	0,6	9,4	1,8x10 ⁹
7	0,7	9,3	2,1x10 ⁹
8	0,8	9,2	2,4x10 ⁹
9	0,9	9,1	2,7x10 ⁹
10	1,0	9,0	3,0x10 ⁹

Diluciones

Pasadas 48 horas, de los tubos con ABT-5, se realizaron diluciones sucesivas de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , usando pipetas estériles para cada dilución. Se tomó un 1mL de la suspensión bacteriana y se colocó en un tubo con 9mL del caldo MRS, haciendo un total de 10 mL, (1:10), se evitó formar espuma, mezclando manualmente cada dilución por 7 segundos, y se continuó con las diluciones seriadas en 1:100, 1:1000 (figura 1).



La dilución en el tubo N°1 es $1/10$ ó 10^{-1}

La dilución en el tubo N°2 es $1/100$ ó 10^{-2}

La dilución en el tubo N°3 es $1/1000$ ó 10^{-3}

Figura 1. Diluciones sucesivas del Conglomerado de bacterias estudiadas

Cada dilución fue sembrada por diseminación en placas con agar MRS, para lo cual se colocaron 10 uL de suspensión, fue diseminada en toda la placa, con ayuda de una espátula Drigalski estéril, se sellaron las placas con "parafilm" y se incubaron a 30°C por 72 horas.

Recuento en placa a las 72 horas

Para el conteo, se escogió las placas que presentaron entre 30 y 300 colonias, para ello se colocó la placa petri invertida con la superficie de vidrio hacia arriba. Con un contómetro manual se hizo el recuento de las colonias presentes en la placa, asimismo se observó la morfología de las colonias de bacterias como: forma, tamaño, borde, consistencia, color. Se utilizó la siguiente fórmula para realizar el conteo en placas:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{\# de Colonias presentes} \times \text{la dilución}}{\text{Cantidad de inóculo}}$$

Posteriormente se aislaron 2 UFC de la placa, cada una de las cuales fueron sembradas por separado en tubos con Agar MRS en plano inclinado, incubándolos a 30 °C por 72 horas, luego se procedió a la identificación bioquímica de los microorganismos presentes.

CEPA ABY-3

La cepa ABY-3 es mantenida en el laboratorio en agua de mar filtrada esterilizada + melaza. Se realizaron diluciones seriadas de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} con pipetas estériles. Se siguió el mismo procedimiento que con la cepa anterior.

Luego, se realizó el sembrado de cada dilución en placas con agar MRS, utilizando el método de estrías, adicionamos 10 uL en cada placa, las que se incubaron a 30 °C por 72 horas.

Para el recuento en placa se utilizó el mismo procedimiento descrito anteriormente, aislando 2 UFC de la placa, cada una fue sembrada por separado en tubos con Agar MRS en plano inclinado, incubándose a 30 °C x 72 horas. Luego se procedió a la identificación bioquímica de los microorganismos.

CEPA BC-7

Se peso 0.05 g. del conglomerado en polvo de BC-7, colocándose este en un tubo con 10 mL de Caldo MRS, y luego incubado a 30 °C por 72 horas. Se realizó la técnica de dilución en tubos 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .

Posteriormente se tomaron 20 uL de cada tubo y se colocaron en placas con Agar MRS, incubándose a 30 °C por 72 horas.

Aislamos 2 UFC de la placa, cada una fueron sembrados por separado en tubos con Agar MRS en plano inclinado, incubándolos a 30°C x 72 horas, luego se procedió a la identificación bioquímica de estos microorganismos presentes.

2.2 IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE LAS CEPAS

El patrón de fermentación de hidratos de carbono, fue determinado con la galería enzimática API 50 CH, API 50CHL y el software API WEB.

Cada test API 50 CH consta de cincuenta recipientes que contienen una zona anaerobia (la porción en forma de tubo) para el estudio de fermentación, y una zona aerobia (la porción en forma de cúpula) para el estudio de oxidación o asimilación.

El primer recipiente no contiene ningún sustrato y se usa como control negativo. El resto de recipientes contienen una cantidad determinada de sustrato deshidratado, pertenecientes a la familia de hidratos de carbono y sus derivados (heterósidos, polialcoholes, ácidos urónicos).

Estos sustratos pueden ser metabolizados mediante diferentes rutas bioquímicas:

- Asimilación: se indica por el crecimiento del microorganismo en la cúpula cuando el sustrato es la única fuente de carbono presente.
- Oxidación: se muestra por un cambio de color en la cúpula, y es debido a la producción aerobia de ácido detectado por el indicador de pH incluido en el medio elegido.
- Fermentación: se muestra por un cambio de color en el tubo, y es debido a la producción anaerobia de ácido detectado por el indicador de pH incluido en el medio elegido.

Para evaluar la última de estas rutas (fermentación) se usó la galería api 50 CH. La composición de cada test se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Sustratos incluidos en cada uno de los 50 recipientes de la galería enzimática para bacterias ácido-lácticas API 50 CH .

Tira 0-9	Tira 10-19	Tira 20-29	Tira 30-39	Tira 40-49
Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato
0. CONTROL*	10. GALactose	20. 1-Methyl-D-Mannoside	30. MELibiose	40. D-TURanose
1. GLYcerol	11. GLUcose	21. 1-Methyl-D-Glucoside	31. Sucrose	41. D-LYXose
2. ERYthrol	12. FRUctose	22. N-Acetyl-Glucosamine	32. TREhalose	42. D-TAGatose
3. D-ARAbinose	13. MaNosE	23. AMYgdaline	33. INUlin	43. D-FUCose
4. L-ARAbinose	14. SorBosE	24. ARButin	34. MeLeZitose	44. L-FUCose
5. RIBose	15. RHAmnose	25. ESCulin	35. RAFfinose	45. D-ARAbitol
6. D-XYLose	16. DULcitol	26. SALicin	36. Starch	46. L-ARAbitol
7. L-XYLose	17. INOsitol	27. CELlobiose	37. GLYcoGen	47. GlucoNaTe
8. ADONitol	18. MANitol	28. MALtose	38. XyLiTol	48. 2-Keto-Gluconate
9. β -Methyl-D-Xyloside	19. SORbitol	29. LACtose	39. GENtiobiose	49. 5-Keto-Gluconate

En la práctica, sólo se usan las abreviaturas en mayúsculas de los respectivos hidratos de carbono

2.3 PREPARACIÓN DE LAS GALERÍAS API 50 CH

- Cada galería estuvo constituida por 5 filas conteniendo cada una 10 tubos numerados.
- Se preparó una cámara de incubación (tapa o fondo).
- Se rotuló la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara.
- Se repartió unos 10 mL de agua destilada en los recipientes del fondo para crear una atmosfera húmeda.
- Se sacó cada una de las filas de su embalaje, separaron en dos filas del 0- 19, 20- 29, 30-39, 40-49 y se colocan en el fondo de la cámara de incubación.

PREPARACIÓN DEL INOCULO

- Se abrió un tubo de ensayo conteniendo 2 mL de agua destilada estéril.
- Luego tomamos varias colonias del tubo del cultivo de plano inclinado en agar MRS con ayuda del asa de siembra.
- Se realizó una suspensión densa del tubo de agua destilada
- Se abrió un tubo de ensayo con 5mL de agua destilada estéril
- Se realizó una suspensión de turbidez igual al patrón 2 de Mcfarland, transfiriendo un cierto número de gotas de la suspensión (s) y apuntamos el número de gotas(n).
- Se abrió una ampolla de API 50CHL Medium e inoculamos 2 veces el número de gotas citadas (2n). La suspensión se realizó rápidamente.
- Homogenizamos, la suspensión y se utilizo de inmediato.

2.4 INOCULACIÓN DE LAS GALERÍAS

- Repartimos la suspensión bacteriana con ayuda de una pipeta estéril en los 50 tubos de las galerías, tomamos en cuenta los siguientes criterios:
- Inclínamos ligeramente hacia delante la cámara de incubación.
- Evitamos la formación de burbujas apoyando la punta de la pipeta en el borde de la cúpula.
- Cuando inoculamos en el tubo, no rebasar el límite superior del mismo con el fin de conservar una buena anaerobiosis.
- Cuando el tubo y la cúpula se llenaron completamente, evitamos la formación de un menisco cóncavo o convexo
- Incubamos las galerías a 35 °C por 48 horas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la interpretación de los resultados los recipientes que aparecieron sin cambio de color (púrpura) se consideraron como “negativos” y aquellos dónde se detectó un cambio de color (amarillo, ó negro en el recipiente n° 25) (de acuerdo con el color del control) se consideró “positivo” (figura 2).



Figura 2. Galería enzimática (metabolismo de hidratos de carbono) api 50 CH para bacterias ácido-lácticas.

Las lecturas de las galerías se realizaron a las 24 y 48 horas. Cada ensayo positivo, negativo y dudoso fueron anotados en la hoja de resultados, con ayuda del programa informático API WEB, el cual tiene una tabla de identificación asociada a la galería para los resultados esperados de las diferentes reacciones.

El resultado de las bacterias identificadas se observa en la tabla 3.

Tabla 3. Bacterias identificadas en los conglomerados ABY-3, ABT-5 y BC-7.

Conglomerado	Cepa Identificada	Probabilidad (%)	Nivel de Identification
ABT-5	<i>Lactobacillus fermentum</i> 1	96.6	Buena
ABY-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	60.3	Regular
ABY-3	<i>Pediococcus damnosus</i>	91.3	Buena
BC-7(2)	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>	91.8	Buena
BC-7(3)	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>	91.8	Buena

La cepa BC-7(2) y BC-7(3) presentó una coincidencia con un 91.8 de probabilidad. El Kit Api 50 CH, es un kit rápido para identificación de *Lactobacillus*, pero puede presentar un margen de error y para ello se cuenta con otras pruebas rápidas para la seguridad de la identificación.

De acuerdo a los resultados observados en cuanto a características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, las cepas presentaron bacterias del género *Lactobacillus* y las bacterias pertenecientes a este género, han sido las más utilizadas hasta el momento para la obtención de biopreparados con propiedades probióticas, ya sea de forma individual o en combinación con otros microorganismos y/o metabolitos (SALMINEN, 1993).

4. CONCLUSIONES

Los tres conglomerados comerciales presentaron bacterias del género *Lactobacillus*, utilizados como cultivos termófilos en la producción de derivados lácteos caracterizadas por soportar altas temperaturas de cocción. Posteriormente serán aplicados en el cultivo de rotíferos para ver su densidad de población.

5. LITERATURA CITADA

Balcazar J. L. 2002. Uso de probióticos en la acuicultura: Aspectos generales. I Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. CIVA 2002. Facultad de Acuicultura de Machala Ecuador. :877- 881.

BioMérieux SA. 2002/11. Api 50 CH. Carbohidratos. Español-1. Ref 50 300. France.

BioMérieux SA. 2007/09. Api 50 CHL Medium. *Lactobacillus* y microorganismos próximos. Español-1. Ref 50 410. France.

Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology. 66:365-378.

Nowroozi J, Mirza M, & Norouzi M. 2004. Study of *Lactobacillus* as Probiotic. Bacteria. Iranian J Publ Health. 33(2):1-7.

Gomez R, D Geovanny, J Balcázar, M Shen. 2007. Probiotics as Control Agents in Aquaculture. Journal of Ocean University of China. 6(1):76-79

Pérez Conesa, D. 2003. Adición de probióticas y prebióticos a formulas infantiles y su efecto sobre la disponibilidad mineral. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, España.

Sacsquispe R & velásquez J. 2002 . Manual de procedimientos para prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Sección III. Serie de normas técnicas N°30. Ministerio de Salud Instituto Nacional de Salud. 68: 16-17 pp.

Salminen S., Deighton M.A & Gorbach S. L. 1993. Lactic acid bacteria in health and disease, In: Salminen, S.; von Wright, A., eds. Lactic acid bacteria. New York:Marce IDekker Inc, pp. 199-225.

Vallejo F. & Toro, M.A. 2002. Análisis microbiológico en yogurt con probióticos. Universidad de Valparaíso. Escuela de Medicina. Boletín Micológico Vol. 17 : 15 – 19.

ANEXOS - TABLAS

El resultado de una UFC del ABY-3 fue el siguiente:
Lactobacillus acidophilus 3 Identificación con un 60.3% Probabilidad
 Composición de la galería API 50 CH

Galería 0-9

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
0		Control	Neg
1	GLY	GLYcerolo	Neg
2	ERY	ERYtritol	Neg
3	DARA	D-ARAbinosio	Neg
4	LARA	L-ARAbinosio	Pos
5	RIB	D-RIBosio	Neg
6	DXYL	D-XILosio	Neg
7	LXYL	L-XILosio	Neg
8	ADO	D-ADOnitolo	Neg
9	MDX	Metil-βD-Xilopiranoside	Neg

Galería 10-19

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
10	GAL	D-GALactosa	Neg
11	GLU	D-GLUcosa	Pos
12	FRU	D-FRUctosa	Pos
13	MNE	D-MamNosa	Pos
14	SBE	L-SorBosa	Neg
15	RHA	L-RHAMnosa	Neg
16	DUL	DULcitol	Neg
17	INO	INOsitol	Neg
18	MAN	D-MALtosa	Neg
19	SOR	D-LACTosa (origen bovino)	Neg

Galería 20-29

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
20	MDM	Metil-αD-Manopiranosida	Pos
21	MDG	Metil-αD-Glucopiranosida	Neg
22	NAG	N-AcetilGlucosamina	Pos
23	AMY	AMigdalina	Neg
24	ARB	ARButina	Neg
25	ESC	ESCUlina Citrato Férrico	Neg
26	SAL	SALicina	Pos
27	CEL	D-CELOBiosa	Neg
28	MAL	D-MALtosa	Pos
29	LAC	D-SORbitol	Neg

Galería 30-39

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
30	MEL	D-MELibiosa	Neg
31	SAC	D-SACarosa	Pos
32	TRE	D-TREhalosa	Pos
33	INU	INUlina	Neg
34	MLZ	D-MeLeZitosa	Neg
35	RAF	D-RAFinosa	Neg
36	AMD	AlmiDón	Neg
37	GLYG	GLIcógeno	Neg
38	XLT	XiLiTol	Neg
39	GEN	GENtiobiosa	Neg

Galería 40-49

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
40	TUR	D-TURanosa	Neg
41	LYX	D-LIXosa	Neg
42	TAG	D-TAGatosa	Neg
43	DFUC	D-FUCosa	Neg
44	LFUC	L-FUCosa	Neg
45	DARL	D-Arabitol	Neg
46	LARL	L-Arabitol	Neg
47	GNT	GlucNa de Potásico	Neg
48	2KG	2-CetoGluconato potásico	Neg
49	5KG	5-CetoGluconato potásico	Neg

El resultado de una UFC del ABY-3 con fue el siguiente: *Pediococcus damnosus* Buena identificación con un 91.3% Probabilidad

Galería 0-9

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
0		Control	Neg
1	GLY	GLYcerolo	Neg
2	ERY	ERYtritol	Neg
3	DARA	D-ARAbinosio	Neg
4	LARA	L-ARAbinosio	Neg
5	RIB	D-RIBosio	Neg
6	DXYL	D-XILosio	Pos
7	LXYL	L-XILosio	Neg
8	ADO	D-ADOnitolo	Neg
9	MDX	Metil-βD-Xilopiranoside	Neg

Galería 10-19

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
10	GAL	D-GALactosa	Neg
11	GLU	D-GLUcosa	Neg
12	FRU	D-FRUctosa	Pos
13	MNE	D-MamNosa	Neg
14	SBE	L-SorBosa	Neg
15	RHA	L-RHAMnosa	Neg
16	DUL	DULcitol	Neg
17	INO	INOsitol	Neg
18	MAN	D-MALtosa	Neg
19	SOR	D-LACTosa (origen bovino)	Neg

Galería 20-29

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
20	MDM	Metil-αD-Manopiranosida	Neg
21	MDG	Metil-αD-Glucopiranosida	Neg
22	NAG	N-AcetilGlucosamina	Pos
23	AMY	AMigdalina	Neg
24	ARB	ARButina	Neg
25	ESC	ESCUlina Citrato Férrico	Pos
26	SAL	SALicina	Neg
27	CEL	D-CELOBiosa	Neg
28	MAL	D-MALtosa	Neg
29	LAC	D-SORbitol	Neg

Galería 30-39

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
30	MEL	D-MELibiosa	Neg
31	SAC	D-SACarosa	Neg
32	TRE	D-TREhalosa	Pos
33	INU	INUlina	Neg
34	MLZ	D-MeLeZitosa	Neg
35	RAF	D-RAFinosa	Neg
36	AMD	AlmiDón	Neg
37	GLYG	GLIcógeno	Neg
38	XLT	XiLiTol	Neg
39	GEN	GENtiobiosa	Neg

Galería 40-49

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
40	TUR	D-TURanosa	Neg
41	LYX	D-LIXosa	Neg
42	TAG	D-TAGatosa	Neg
43	DFUC	D-FUCosa	Neg
44	LFUC	L-FUCosa	Neg
45	DARL	D-Arabitol	Neg
46	LARL	L-Arabitol	Neg
47	GNT	GlucNa de Potásico	Neg
48	2KG	2-CetoGluconato potásico	Neg
49	5KG	5-CetoGluconato potásico	Neg

El resultado de una UFC del ABY-5 fue el siguiente:
Lactobacillus fermentum 1 Buena identificación con un 96.6% Probabilidad

Composición de la galería API 50 CH

ABT-5

Galería 0-9

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
0		Control	Neg
1	GLY	GLYcerolo	Neg
2	ERY	ERYtritolo	Neg
3	DARA	D-ARAbinosio	Neg
4	LARA	L-ARAbinosio	Pos
5	RIB	D-RIBosio	Pos
6	DXYL	D-XILosio	Neg
7	LXYL	L-XILosio	Neg
8	ADO	D-ADONitolo	Neg
9	MDX	Metil-βD-Xilopiranoside	Neg

Galería 10-19

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
10	GAL	D-GALactosa	Pos
11	GLU	D-GLUcosa	Pos
12	FRU	D-FRUctosa	Neg
13	MNE	D-MamNosa	Neg
14	SBE	L-SorBosa	Neg
15	RHA	L-RHAMnosa	Neg
16	DUL	DULcitol	Neg
17	INO	INOsitol	Neg
18	MAN	D-MALTosa	Neg
19	SOR	D-LACTosa (origen bovino)	Neg

Galería 20-29

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
20	MDM	Metil-αD-Manopiranosida	Neg
21	MDG	Metil-αD-Glucopiranosida	Neg
22	NAG	N-AcetilGlucosamina	Neg
23	AMY	AMigdalina	Neg
24	ARB	ARButina	Neg
25	ESC	ESCuлина Citrato Férrico	Neg
26	SAL	SALicina	Neg
27	CEL	D-CELOBiosa	Neg
28	MAL	D-MALTosa	Pos
29	LAC	D-SORbitol	Pos

Galería 30-39

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
30	MEL	D-MELlibiosa	Pos
31	SAC	D-SACarosa	Pos
32	TRE	D-TREhalosa	Neg
33	INU	INUlina	Neg
34	MLZ	D-MeLeZitosa	Neg
35	RAF	D-RAFinosa	Pos
36	AMD	AlmiDón	Neg
37	GLYG	GLIcógeno	Neg
38	XLT	XILiTol	Neg
39	GEN	GENtiobiosa	Neg

Galería 40-49

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
40	TUR	D-TURanosa	Neg
41	LYX	D-LIXosa	Neg
42	TAG	D-TAGatosa	Neg
43	DFUC	D-FUCosa	Neg
44	LFUC	L-FUCosa	Neg
45	DARL	D-Arabitol	Neg
46	LARL	L-Arabitol	Neg
47	GNT	GlucNa de Potásico	Pos
48	2KG	2-CetoGluconato pótasio	Neg
49	5KG	5-CetoGluconato pótasio	Neg

El resultado de una UFC del BC- 7 (2) fue el siguiente:
Lactobacillus delbrueckii ssp. Delbrueckii. Buena identificación con un 91.8% Probabilidad

Galería 0-9

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
0		Control	Neg
1	GLY	GLYcerolo	Neg
2	ERY	ERYtritolo	Neg
3	DARA	D-ARAbinosio	Neg
4	LARA	L-ARAbinosio	Neg
5	RIB	D-RIBosio	Pos
6	DXYL	D-XILosio	Pos
7	LXYL	L-XILosio	Neg
8	ADO	D-ADONitolo	Neg
9	MDX	Metil-βD-Xilopiranoside	Neg

Galería 10-19

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
10	GAL	D-GALactosa	Neg
11	GLU	D-GLUcosa	Pos
12	FRU	D-FRUctosa	Pos
13	MNE	D-MamNosa	Neg
14	SBE	L-SorBosa	Neg
15	RHA	L-RHAMnosa	Neg
16	DUL	DULcitol	Neg
17	INO	INOsitol	Neg
18	MAN	D-MALTosa	Neg
19	SOR	D-LACTosa (origen bovino)	Neg

Galería 20-29

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
20	MDM	Metil-αD-Manopiranosida	Neg
21	MDG	Metil-αD-Glucopiranosida	Neg
22	NAG	N-AcetilGlucosamina	Pos
23	AMY	AMigdalina	Neg
24	ARB	ARButina	Pos
25	ESC	ESCuлина Citrato Férrico	Pos
26	SAL	SALicina	Neg
27	CEL	D-CELOBiosa	Neg
28	MAL	D-MALTosa	Pos
29	LAC	D-SORbitol	Neg

Galería 30-39

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
30	MEL	D-MELlibiosa	Neg
31	SAC	D-SACarosa	Pos
32	TRE	D-TREhalosa	Pos
33	INU	INUlina	Neg
34	MLZ	D-MeLeZitosa	Neg
35	RAF	D-RAFinosa	Neg
36	AMD	AlmiDón	Neg
37	GLYG	GLIcógeno	Neg
38	XLT	XILiTol	Neg
39	GEN	GENtiobiosa	Neg

Galería 40-49

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
40	TUR	D-TURanosa	Neg
41	LYX	D-LIXosa	Neg
42	TAG	D-TAGatosa	Neg
43	DFUC	D-FUCosa	Neg
44	LFUC	L-FUCosa	Neg
45	DARL	D-Arabitol	Neg
46	LARL	L-Arabitol	Neg
47	GNT	GlucNa de Potásico	Neg
48	2KG	2-CetoGluconato pótasio	Neg
49	5KG	5-CetoGluconato pótasio	Neg

El resultado de una UFC del BC- 7 (3) fue el siguiente:
Lactobacillus delbrueckii ssp. Delbrueckii.
 Buena identificación con un 91.8% Probabilidad

Galería 0-9

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
0		Control	Neg
1	GLY	GLYcerolo	Neg
2	ERY	ERYtritol	Neg
3	DARA	D-ARAbinosio	Neg
4	LARA	L-ARAbinosio	Neg
5	RIB	D-RIBosio	Pos
6	DXYL	D-XILosio	Pos
7	LXYL	L-XILosio	Neg
8	ADO	D-ADOnitolo Metil-βD-	Neg
9	MDX	Xilopiranoside	Neg

Galería 10-19

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
10	GAL	D-GALactosa	Neg
11	GLU	D-GLUcosa	Pos
12	FRU	D-FRUctosa	Pos
13	MNE	D-MamNosa	Neg
14	SBE	L-SorBosa	Neg
15	RHA	L-RHAMnosa	Neg
16	DUL	DULcitol	Neg
17	INO	INOsitol	Neg
18	MAN	D-MALtosa	Neg
19	SOR	D-LACtosa(origen bovino)	Neg

Galería 20-29

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
20	MDM	Metil-αD- Manopiranosida	Neg
21	MDG	Metil-αD- Glucopiranosida	Neg
22	NAG	N-AcetilGlucosamina	Pos
23	AMY	AMigdalina	Neg
24	ARB	ARButina	Pos
25	ESC	ESCuлина Citrato Férrico	Pos
26	SAL	SALicina	Neg
27	CEL	D-CELobiosa	Neg
28	MAL	D-MALtosa	Pos
29	LAC	D-SORbitol	Neg

Galería 30-39

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
30	MEL	D-MELibiosa	Neg
31	SAC	D-SACarosa	Pos
32	TRE	D-TREhalosa	Pos
33	INU	INUlina	Neg
34	MLZ	D-MeLeZitosa	Neg
35	RAF	D-RAFinosa	Neg
36	AMD	AlmiDón	Neg
37	GLYG	GLLcógeno	Neg
38	XLT	XiLiTol	Neg
39	GEN	GENtiobiosa	Neg

Galería 40-49

Tubo	Test	Componente activo	Resultado
40	TUR	D-TURanosa	Neg
41	LYX	D-LIXosa	Neg
42	TAG	D-TAGatosa	Neg
43	DFUC	D-FUCosa	Neg
44	LFUC	L-FUCosa	Neg
45	DARL	D-Arabitol	Neg
46	LARL	L-Arabitol	Neg
47	GNT	GlucONa de Potásico	Neg
48	2KG	2-CetoGluconato pótasico	Neg
49	5KG	5-CetoGluconato pótasico	Neg

FIGURAS



Figura 3. Estandar Mc Farland



Figura 4. Hidratando recipientes



Figura 5. API 50 ch



Figura 6. Inoculo en las galerias



Figura 7. Lecturas del API 50 CH



Figura 8. Conglomerado ABT-5



Figura 9. Conglomerado BC-7