

**Sinonimia**

Tergitol 7 Agar; T7 Agar

**Especificación**

Medio recomendado para la colimetría de aguas por filtración, según la norma ISO 9308-1:2000.

**Fórmula \* en g/L**

Peptona de carne.....	10,000
Extracto de carne.....	5,000
Lactosa.....	20,000
Extracto de levadura.....	6,000
Azul de bromotimol.....	0,050
Tergitol® 7.....	0,100
Agar.....	15,000

pH final a 25 °C 7,2 ±0,1

\*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

**Reconstitución**

Suspender 56,2 g del polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C. Dejar enfriar hasta 45-50°C., añadir 2-3 mL/L de una solución estéril al 1% de cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) (Ref. DSHB3074) y verter en placas. No volver a recalentar el medio tras la adición del TTC.

**Descripción**

La formulación de este medio se ajusta a la norma ISO 9308-1:2000 para el control presuntivo de coliformes en aguas de consumo por la técnica de filtración a través de membrana.

La inestabilidad térmica del cloruro de trifeniltetrazolio obliga a presentarlo en envase aparte, a punto de uso, ya esterilizado por filtración (Ref. DSHB3074). Las placas preparadas se pueden mantener refrigeradas hasta 8 días sin que pierdan su eficacia pero no es recomendable usarlas si presentan signos de deshidratación.

**Técnica**

Al utilizar el método de filtración para el ensayo presuntivo de colimetría en agua, hay que tener en cuenta los volúmenes mínimos a filtrar según el tipo de agua y, si es preciso, diluirlos con tampón fosfato estéril para obtener números de colonias fáciles de contar sobre la membrana.

De cada muestra de agua deben filtrarse dos volúmenes sobre membranas diferentes e incubarlos sobre el medio Chapman TTC a 35°C y 44°C respectivamente.

A las 48 horas las colonias típicas presentan el siguiente aspecto:

- *E. coli* / *Citrobacter spp.*: Amarillas, con núcleo anaranjado en el medio, situado bajo la membrana.
- *Klebsiella spp.*: Rojo ladrillo o amarillas, pero sin núcleo. El medio bajo la membrana es amarillo.
- *Enterobacter spp.*: Amarillo oscuro o rojo ladrillo con núcleo anaranjado. El medio también queda amarillo.
- No fermentadoras de lactosa: Colonias violáceas o índigo. El medio queda azulado.

La mayoría de coliformes no pueden desarrollarse sobre éste medio cuando se incuba a 44°C, excepto *E. coli* que presenta un aspecto característico.

La expresión de resultados se refiere siempre a 100 mL de muestra, teniendo en cuenta las diluciones efectuadas. La estima se hace tomando las colonias típicas crecidas a 35°C. como coliformes fecales y las crecidas a 44°C. como *E. coli*. Sin embargo y a pesar de la buena selectividad del medio, de acuerdo a la normalización establecida, estos resultados sólo deben tomarse como presuntivos y deberán confirmarse todas las colonias de coliformes de acuerdo a los siguientes criterios:

Aspecto típico en EMB, o en medio A. Base Endo; reacciones características en medio Kligler y en definitiva para la confirmación de *E. coli* fecal, la verificación de ser un bacilo Gram negativo móvil, fermentador de la lactosa, con producción de ácido y gas que da negativas las pruebas de citrato y producción de indol.

**Control de calidad**

**Temperatura de incubación:** 36°C ±2,0

**Tiempo de incubación :** 21 ±3h

**Inóculo:** Rango práctico 100 ± 20 UFC ; Min. 50 UFC (Productividad) / 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC (Selectividad) / ≥ 10<sup>3</sup> UFC (especificidad) según UNE-EN ISO 11133:2014/Amd 1:2018 . Método MF.

**Microorganismo**
**Crecimiento**
**Observaciones**

<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739	Productividad > 0.50	Colonias amarillo anaranjadas
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC® 13048	Productividad > 0.50	Colonias amarillo anaranjadas
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Productividad > 0.50	Colonias amarillo anaranjadas
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 19433	Inhibición total	Selectividad
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC® 43864	Productividad > 0.50	Colonias amarillo anaranjadas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 9027	Bueno (especificidad)	Colonias rojo oscuro, con centro azul
<i>E. coli</i> NCTC® 13167	Productividad > 0.50	Colonias amarillo anaranjadas

---

**Bibliografía**

- ATLAS, R.M., L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- CHAPMAN G.H. (1951) A culture medium for detecting and confirming E. coli in ten hours. Am. J. Publ. Hlth 41:1381-1386.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd ed. APHA. Washington.
- GUINEA, SANCHO, PARES (1979) Análisis Microbiológico de Aguas. Ed. Omega. Barcelona.
- ISO 9308-1:2000 Standard. Water Quality - Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- SPECK, M (Ed.) (1982) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd ed. APHA. Washington.

**Almacenamiento**

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4°C y 30 °C).