

Mineral Modified Glutamate Medium

Liquid selective enrichment medium for the enumeration of *Escherichia coli*, according to ISO 16649.

TYPICAL FORMULA (g/l)	Double-strength	Single-strength
Sodium Glutamate	12.7	6.35
Lactose	20.0	10.0
Sodium Formate	0.5	0.25
L-Cystine	0.04	0.02
L(-)-Aspartic Acid	0.048	0.024
L(+)-Arginine	0.04	0.02
Thiamine	0.002	0.001
Nicotinic Acid	0.002	0.001
Pantothenic Acid	0.002	0.001
Magnesium Sulfate 7H ₂ O	0.2	0.1
Ammonium Iron(III) Citrate	0.02	0.01
Calcium Chloride 2H ₂ O	0.02	0.01
Dipotassium Hydrogen Phosphate	1.8	0.9
Bromocresol Purple	0.02	0.01
Final pH 6.7 ± 0.1 at 25°C		

DESCRIPTION

Mineral-Modified Glutamate Medium (MMGM) is a liquid medium used for the selective enrichment of *Escherichia coli* β-glucuronidase positive from food, water and environmental samples.

MMGM is recommended by ISO 16649-3 for the enumeration of cells of *E. coli* even stressed or damaged by using the MPN method.

PRINCIPLE

Glutamate and formate are base nutrients. Lactose is the fermentable carbohydrate and fermentation rate is increased by amino acids, vitamins and magnesium ions contained in the medium. Phosphate acts as a buffering agent. Bromocresol purple is the pH indicator. Ammonium chloride is incorporated to increase gas production.

The complete medium needs supplementation with ammonium chloride which is incorporated to enhance gas production.

PREPARATION

Double-strength

Suspend 35.5 g of powder in 1 liter of deionized or distilled water. Add 5 g of ammonium chloride. Heat and shake until completely dissolved. Distribute 10 ml into tubes* (16 mm x 160 mm). Sterilize at 115°C for 10 minutes.

Single-strength

Suspend 17.7 g of powder in 1 liter of deionized or distilled water. Add 2.5 g of ammonium chloride. Heat and shake until completely dissolved. Distribute 10 ml into tubes* (18 mm x 180 mm or 20 mm x 220 mm). Sterilize at 115°C for 10 minutes.

*Use of Durham tubes may facilitate detection of gas produced by lactose-fermenting bacteria.

TECHNIQUE

Most Probable Number (MPN) Technique

1. Prepare a sufficient number of dilutions to ensure that all the tubes for the final dilution will yield a negative result.
2. Inoculate a series of 3 or 5 tubes per dilutions depending on the nature of the sample: - Transfer 10 ml of the test sample if liquid or 10 ml of its initial suspension into the double-strength tubes;
- Single-strength tubes are inoculated with 1 ml sample;
- Inoculate 1 ml of each of the further dilutions into single-strength tubes.
3. Incubate at 37 ± 1°C for 22-26 hours.
4. Subculture any tube turning yellow to a TBX Agar plate (ref. 10522) and streak to obtain isolated colonies.
5. Incubate at 44 ± 1°C for 20-24 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

Consider as positive each tube of double-strength or single-strength selective enrichment medium that has given rise to the presence of blue or blue-green colonies on the plate of selective medium.

STORAGE CONDITIONS

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed and use it before the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident. Store prepared tubes at 2-8°C away from light.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is designed for professional use only and must be used by properly trained operators.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to the national and local regulations in force.

REFERENCES

1. ISO 16649-3:2015. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D glucuronide.
2. Joint Committee of PHLS and the Standing Committee of Analysis (1980) A comparison between Minerals Modified Glutamate Medium and Lauryl Tryptose Lactose Broth for the enumeration of *E. coli* and coliform organisms in water by the multiple tube method. *J. Hyg. Camb.* 85:35-48.
3. Gray R.D. (1964) An improved formate-lactose-glutamate medium for the detection of *Escherichia coli* and other coliform organisms in water. *J. Hyg. Camb.* 62:495-508.



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Mineral-Modified Glutamate Medium

PRESENTATION

Dehydrated medium

STORAGE

10-30°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
610396	500 g	500 g of powder in plastic bottle
620396	100 g	100 g of powder in plastic bottle

pH OF THE MEDIUM

6.7 ± 0.1

USE

Liquid selective enrichment medium used for the enumeration of *Escherichia coli* from food, water and environmental samples (formula according to ISO 16649-3 after ammonium chloride supplementation)

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Powder medium

Appearance: free-flowing, homogeneous

Colour: beige

Ready-to-use medium

Appearance: clear

Colour: purple

SHELF LIFE











4 years

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Microbiological control
Inoculum for productivity: ≤100 CFU
Inoculum for selectivity: >10³ CFU
Incubation Conditions: 37 ± 1°C for 24 ± 2 h

Microorganism		Growth	Specification
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Good	Positive acid reaction (+), yellow medium
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Good	Positive acid reaction (+), yellow medium
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Inhibited	---

TABLE OF SYMBOLS

 Batch code	 Keep away from Sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
 Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult instructions for use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

Mineral Modified Glutamate Medium

Terreno liquido di arricchimento selettivo per il conteggio di *Escherichia coli*, secondo ISO 16649.

FORMULA TIPICA (g/l)	Concentrazione Doppia	Concentrazione Singola
Sodio Glutammato	12.7	6.35
Lattosio	20.0	10.0
Sodio Formiato	0.5	0.25
L-Cistina	0.04	0.02
L(-)-Acido Aspartico	0.048	0.024
L(+)-Arginina	0.04	0.02
Tiamina	0.002	0.001
Acido Nicotinico	0.002	0.001
Acido Pantotenico	0.002	0.001
Magnesio Solfato 7H ₂ O	0.2	0.1
Ferro III Ammonio Citrato	0.02	0.01
Calcio Cloruro 2H ₂ O	0.02	0.01
Dipotassio Idrogeno Fosfato	1.8	0.9
Bromocresolo Porpora	0.02	0.01
pH Finale 6.7 ± 0.1 a 25°C		

DESCRIZIONE

Mineral-Modified Glutamate Medium (MMGM) è un terreno liquido utilizzato per l'arricchimento selettivo di *Escherichia coli* β-glucuronidasi positivo da alimenti, campioni d'acqua ed ambientali.

MMGM è raccomandato dalla ISO 16649-3 per il conteggio di cellule di *E. coli* anche stressate o danneggiate utilizzando il metodo MPN.

PRINCIPIO

Glutammato e formiato sono nutrienti base. Il lattosio è il carboidrato fermentabile ed il tasso di fermentazione è aumentato da aminoacidi, vitamine e ioni magnesio contenuti nel terreno. Il fosfato agisce come agente tamponante. Il porpora di bromocresolo è l'indicatore di pH.

Il terreno completo necessita dell'aggiunta di cloruro di ammonio che viene incorporato per aumentare la produzione di gas.

PREPARAZIONE

Concentrazione Doppia

Sospendere 35.5 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Aggiungere 5 g di ammonio cloruro. Riscaldare agitando di frequente fino a completa dissoluzione. Distribuire 10 ml di terreno in provette* (16 mm x 160 mm). Sterilizzare in autoclave a 115°C per 10 minuti.

Concentrazione Singola

Sospendere 17.7 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Aggiungere 2.5 g di ammonio cloruro. Riscaldare agitando di frequente fino a completa dissoluzione. Distribuire 10 ml di terreno in provette* (18 mm x 180 mm o 20 mm x 220 mm). Sterilizzare in autoclave a 115°C per 10 minuti.

*L'utilizzo di provette con campanella di Durham può facilitare l'individuazione di gas prodotto a seguito del metabolismo batterico del lattosio.

TECNICA

Tecnica del numero più probabile (MPN)

1. Preparare un numero sufficiente di diluizioni affinché il risultato sia negativo in tutte le provette contenenti la diluizione finale.
2. Inoculare una serie di 3 o 5 provette per diluizione in base alla natura del campione:
 - Trasferire 10 ml di campione se liquido o 10 ml della sua sospensione madre nelle provette di terreno a concentrazione doppia;
 - Le provette di terreno a concentrazione singola sono inoculate con 1 ml di campione;
 - Inoculare 1 ml di ciascuna delle diluizioni successive in provette di terreno a concentrazione singola.
3. Incubare a 37 ± 1°C per 22-26 ore.
4. Per ciascuna provetta diventata gialla effettuare la sub-coltura su una piastra di TBX Agar (ref. 10522).
5. Strisciare per ottenere colonie isolate. Incubare a 44 ± 1°C per 20-24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Considerare come positiva ciascuna provetta di terreno di arricchimento selettivo a semplice o doppia concentrazione che ha dato origine a colonie blu o blu-verdi sulla piastra di terreno selettivo.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente.. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento. Conservare le provette a 2-8°C al riparo dalla luce.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso in ambito professionale e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- ISO 16649-3:2015. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive Escherichia coli – Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D glucuronide.
- Joint Committee of PHLS and the Standing Committee of Analysis (1980) A comparison between Minerals Modified Glutamate Medium and Lauryl Tryptose Lactose Broth for the enumeration of E. coli and coliform organisms in water by the multiple tube method. J. Hyg. Camb. 85:35-48.
- Gray R.D. (1964) An improved formate-lactose-glutamate medium for the detection of Escherichia coli and other coliform organisms in water. J. Hyg. Camb. 62:495-508.



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Mineral-Modified Glutamate Medium

PRESENTAZIONE

Terreno disidratato

CONSERVAZIONE

10-30°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
610396	500 g	500 g in flacone di plastica
620396	100 g	100 g in flacone di plastica

pH DEL TERRENO

6.7 ± 0.1

IMPIEGO

Terreno liquido di arricchimento selettivo per il conteggio di *Escherichia coli* in alimenti, acque e campioni ambientali (formulazione secondo ISO 16649-3 dopo l'aggiunta di cloruro di ammonio)

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Terreno in polvere

Aspetto: omogeneo, fine granulometria

Colore: beige

Terreno pronto all'uso

Aspetto: chiaro

Colore: viola

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE

4 anni

CONTROLLO DI QUALITÀ

- Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
- Controllo microbiologico
 Dimensione dell'inoculo per produttività: ≤100 UFC
 Dimensione dell'inoculo per selettività: >10³ UFC
 Condizioni di incubazione: 37 ± 1°C per 24 ± 2 h

Microrganismo

Escherichia coli WDCM 00012
Escherichia coli WDCM 00013
Enterococcus faecalis WDCM 00009











Crescita

Buona
 Buona
 Inibita

Specifiche

Produzione di acido, terreno giallo
 Produzione di acido, terreno giallo

TABELLA DEI SIMBOLI

 Numero di lotto	 Evitare l'esposizione alla luce del sole	 Fabbricante	 Data di scadenza	 Fragile, maneggiare con cura
 Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
 Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com