



Mineral-Modified Glutamate Medium

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

DESCRIPTION

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

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

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-Cysteine	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 Septahydrate	0.2	0.1
Ammonium Iron(III) Citrate	0.02	0.01
Calcium Chloride Dihydrate	0.02	0.01
Dipotassium Hydrogen Phosphate	1.8	0.9
Bromocresol Purple	0.02	0.01
Ammonium Chloride	5.0	2.5
Final pH 6.7 \pm 0.1 at 25°C		

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.

TEST PROCEDURE

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 \pm 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. Incubate at 44 \pm 1°C for 20-24 hours.

INTERPRETING 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.

APPEARANCE

Clear, purple.

STORAGE

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

1 year.

QUALITY CONTROL

Tubes are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: ≤ 100 CFU.Inoculum for selectivity: $> 10^3$ CFU.Incubation conditions: $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 22-26 hours.**QC Table.**

Microorganism	Specification	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Growth, color change to yellow
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Growth, color change to yellow
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	No growth

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 intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE









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

BIBLIOGRAPHY

1. ISO 16649-3:2005. 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.

PRESENTATION		Contents	Ref.
Mineral-Modified Glutamate Medium	Tubes	20 x 10 ml tubes	24466
Mineral-Modified Glutamate Medium	Tubes	100 x 10 ml tubes	26466
Mineral-Modified Glutamate Medium (Double Concentration)	Tubes	20 x 10 ml tubes	24467
Mineral-Modified Glutamate Medium (Double Concentration)	Tubes	100 x 10 ml tubes	26467

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for $\langle n \rangle$ tests	 Caution, consult Instruction 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.net liofilchem@liofilchem.net



Mineral-Modified Glutamate Medium

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

DESCRIZIONE

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

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

FORMULA TIPICA (g/l)	Doppia Concentrazione	Concentrazione Semplice
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
Dipotasso Hidrogeno Fosfato	1.8	0.9
Bromocresolo Porpora	0.02	0.01
Ammonio Cloruro	5.0	2.5
pH Finale 6.7 \pm 0.1 a 25°C		

PRINCIPIO DEL METODO

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 cloruro di ammonio è incorporato per aumentare la produzione di gas.

PROCEDURA DEL TEST

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 doppia concentrazione;
 - Le provette di terreno a concentrazione semplice sono inoculate con 1 ml di campione;
 - Inoculare 1 ml di ciascuna delle diluizioni successive in provette di terreno a concentrazione semplice.
3. Incubare a 37 \pm 1°C per 22-26 ore.
4. Per ciascuna provetta diventata gialla effettuare la sub-coltura su una piastra di TBX Agar (ref. 10522). Strisciare per ottenere colonie isolate. Incubare a 44 \pm 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.

ASPETTO

Viola, chiaro.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

1 anno.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le provette vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: ≤ 100 UFC.Inoculo per selettività: $> 10^3$ UFC.Condizioni di incubazione: $37 \pm 1^\circ\text{C}$ per 22-26 ore.**Tabella CQ.**

Microrganismo	Specifiche	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Crescita, viraggio al giallo
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Crescita, viraggio al giallo
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Nessuna crescita

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico in ambito professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI









Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. ISO 16649-3:2005. 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.

PRESENTAZIONE	Contenuto		Ref.
Mineral-Modified Glutamate Medium	Provette	Provette 20 x 10 ml	24466
Mineral-Modified Glutamate Medium	Provette	Provette 100 x 10 ml	26466
Mineral-Modified Glutamate Medium (Double Concentration)	Provette	Provette 20 x 10 ml	24467
Mineral-Modified Glutamate Medium (Double Concentration)	Provette	Provette 100 x 10 ml	26467

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 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.net liofilchem@liofilchem.net