

Levine E.M.B. Agar (con Eosina y Azul de Metileno)

IVD

USO

Medio adecuado para la búsqueda y diferenciación de bacilos entéricos, a partir de muestras clínicas, alimentos y otros materiales de importancia sanitaria.

FUNDAMENTO

La fórmula original de este medio de cultivo fue modificada por Levine, quien eliminó la sacarosa e incrementó la concentración de lactosa, logrando así una mejor diferenciación de cepas de *Escherichia coli*.

Es un medio selectivo y diferencial, adecuado para el crecimiento de enterobacterias.

En el medio de cultivo, la peptona es la fuente nutritiva y la lactosa es el hidrato de carbono fermentable. La combinación utilizada de eosina y azul de metileno inhibe el desarrollo de microorganismos Gram positivos y de bacterias Gram negativas fastidiosas, y también, permite diferenciar bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa. El agar es el agente solidificante.

Los microorganismos fermentadores de lactosa originan colonias de color azulado-negro, con brillo metálico o mucosas. Las colonias producidas por microorganismos no fermentadores de lactosa son incoloras.

También, pueden crecer especies de *Candida* y se observan como colonias rosadas y puntiformes; la siembra en profundidad permite el desarrollo de clamidosporas en *C. albicans*. *Enterococcus* spp. crece en este medio como colonias puntiformes y transparentes, mientras que *Acinetobacter* spp. y otras bacterias oxidativas se observan como colonias de color azul lavanda; esto puede ocurrir aunque las cepas no sean capaces de acidificar a partir de lactosa al 0.5% y ello se debe a la incorporación de azul de metileno a sus membranas. En este medio se obtiene además un buen desarrollo de especies de *Salmonella* y *Shigella*.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B2310431: envase x 10 placas.

FÓRMULA

PEPTONA.....	10.0 g
LACTOSA.....	10.0 g
FOSFATO DIPOTÁSICO.....	2.0 g
EOSINA.....	0.4 g
AZUL DE METILENO.....	0.065 g
AGAR.....	15.0 g
AGUA PURIFICADA.....	1000 ml
pH FINAL: 7,1 ± 0,2	

INSTRUCCIONES

Medio de cultivo listo para usar en frascos

Colocar los frascos cerrados en baño maría y llevar a ebullición para fundir el medio de cultivo sólido contenido en los mismos.

Una vez que se ha fundido el medio de cultivo, retirar cuidadosamente los frascos del baño maría y dejar enfriar.

Cuando alcanzan temperatura 45-50 °C, abrirlos y distribuir aproximadamente 15 ml en placas de Petri estériles.

Placas listas para usar.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo color púrpura vinoso.

Nota: en el caso del medio de cultivo listo para usar en frascos, durante la esterilización se reduce el azul de metileno al color naranja. El color púrpura se restaura por agitación. La presencia de un precipitado en el medio esterilizado es normal y no debe ser removido, ya que es parte esencial del mismo.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo listo para usar en placas a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Previo al uso, eliminar la humedad que pudiera existir en la superficie del medio de cultivo, ya sea mediante secado a 33-37 °C o bajo flujo laminar durante 10 - 30 minutos.

Siembra

Directa, estriando la superficie del medio de cultivo.

En profundidad, para favorecer el desarrollo de clamidosporas.

Incubación

En aerobiosis, a 33-37 °C durante 18-24 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Microorganismos fermentadores de lactosa: colonias de color negro azulado o amarronado. Pueden tener centro oscuro y brillo metálico.

Microorganismos no fermentadores de lactosa: colonias del color del medio, incoloras.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO	CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS
Escherichia coli ATCC 25922	Satisfactorio	Negro azuladas con brillo metálico
Escherichia coli ATCC 8739	Satisfactorio	Negro azuladas con brillo metálico
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	Satisfactorio	Mucosas confluentes, con centro oscuro
Proteus mirabilis ATCC 43071	Satisfactorio	Incoloras
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Satisfactorio	Incoloras
Shigella flexneri ATCC 12022	Satisfactorio	Incoloras
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Satisfactorio	Incoloras
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Inhibición parcial	Incoloras puntiformes
Candida albicans ATCC 10231	Inhibición parcial	Rosadas puntiformes
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inhibido	---

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

- Este medio de cultivo es moderadamente inhibitorio ya que las cepas de enterococo y candida pueden desarrollar en el mismo, observándose como colonias de tamaño puntiforme.
- Para la identificación de género o especie microbiana se deben realizar pruebas bioquímicas adicionales.
- Algunas cepas de Salmonella y Shigella no crecerán en Levine EMB Agar.
- Durante la esterilización el azul de metileno puede precipitar. Es importante resuspender el precipitado mientras se distribuye en placas de Petri estériles el medio preparado.
- Conservar el medio preparado en placas a 2-8 °C y protegido de

la luz ya que los indicadores presentes son fotosensibles y pueden inhibir el desarrollo de algunas especies de Proteus si no se conservan apropiadamente.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Holt-Harris and Teague. 1916. J. Infect. Dis. 18:596.
- Levine. 1918. J. Infect. Dis. 23:43.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, volume 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Farmacopea Nacional Argentina, Codex Medicamentarius Argentino, Séptima Edición, volumen 1. 2003. Control Microbiológico de Productos no Obligatoriamente Estériles.
- United States Pharmacopeia (USP 27). 2004. (61) Microbial Limit Test.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento. Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

AUTORIZACIÓN ANMAT

PM -1292 - 5
Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

SÍMBOLOS UTILIZADOS

								
DIAGNÓSTICO IN VITRO	CÓDIGO N°	ELABORADOR	ESTÉRIL	N° DE DETERMINACIONES	LOTE N°	FECHA DE VENCIMIENTO	LÍMITE DE TEMPERATURA	INSTRUCCIONES DE USO