

ÁGAR EMB (Levine)

USO

O Ágar EMB, originalmente recomendado por Levine, é usado para isolar e identificar *Escherichia coli* e *Enterobacter*, assim como bactérias intestinais Gram-negativas presentes em produtos farmacêuticos, laticínios e outros produtos alimentícios. Ele é também utilizado como um meio de isolamento e identificação em testes de qualidade da água, após cultura em meio líquido (testes presuntivos)

HISTÓRIA

Em 1916, Holt-Harris e Teague usaram a combinação da eosina e azul de metileno para diferenciar microrganismos como uma função de eles poderem ou não fermentar a lactose. Levine subsequentemente modificou a fórmula removendo a sacarose e aumentando a concentração de lactose, o que leva a uma diferenciação fácil entre *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes*.

PRINCÍPIOS

- A Eosina Y e o Azul de Metileno têm baixa capacidade seletiva, uma vez que eles inibem apenas parcialmente o desenvolvimento de bactérias Gram-negativas tais como enterococos.
- Os corantes permitem a diferenciação entre bactérias lactose-positivas e lactose-negativas. Cepas de coliformes formam colônias violeta a marrons, enquanto as salmonelas são incolores, transparentes ou âmbar.

PREPARAÇÃO

- Suspender 37,5 g do meio desidratado (BK056) em 1 litro de água destilada ou deionizada.
- Levar lentamente a ebulição, com agitação constante até dissolução completa.
- Dispensar em tubos ou frascos.
- Esterilizar em um autoclave a 121°C por 15 minutos.

NOTA:

A incompleta fusão do ágar durante a preparação poderá levar a uma significativa inconsistência na formação do gel do ágar solidificado, após esterilização e resfriamento.

INSTRUÇÕES PARA USO

- Resfriar e manter o meio entre 44-47°C.
- Misturar bem para oxidar o azul de metileno e garantir uma suspensão homogênea do preciptado.
- Despejar em placas de Petri estéreis.
- Deixar solidificar sobre uma superfície fria.
- Secar em uma incubadora com as tampas parcialmente removidas.
- Inocular por estrias.
- Incubar a 37°C por 18 a 24 horas.

RESULTADOS

As colônias apresentam a seguinte aparência:

Características	Microrganismos
Colônias violeta escuras, convexas, de baixa confluência, 2-3 mm de diâmetro com um centro atingindo mais que 3/4 do seu diâmetro e que exibe um brilho verde metálico à luz refletida	Escherichia coli
Colônias planas azuladas, relativamente confluentes, 4-6 mm de diâmetro com um centro marrom escuro, ocasionalmente com um brilho metálico.	Enterobacter aerogenes
Colônias violeta com ligeiro brilho metálico	Citrobacter
Colônias mucosas acastanhadas	Klebsiella
Colônias âmbar transparentes	Salmonella e Shigella

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(pode ser ajustada para se obter um melhor desempenho)

Para 1 litro de meio:

- Peptona pancreática de gelatina	10,0 g
- Lactose	
- Fosfato dipotássico	
- Eosina Y	
- Azul de Metileno	
- Ágar Bacteriológico	

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,0 ± 0,2.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Meio desidratado: pó violeta, de fluxo livre e homogêneo.
- Meio preparado: ágar cor de vinho, que pode conter um ligeiro preciptado após autoclavagem.
- Típica resposta da cultura após 24 horas de incubação a 37°C (método qualitativo de inoculação):

Microrganism	nos	Crescimento	Características
Escherichia coli	ATCC®25922	bom, valor 2	colônias violeta com brilho verde metálico
Enterobacter aerogenes Salmonella Typhimurium Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus	ATCC 13048 ATCC 14028 ATCC 27853 ATCC 25923	bom, valor 2 bom, valor 2 bom, valor 2 inibido, valor 0	colônias violeta a rosa colônias incolores colônias incolores

ESTOCAGEM / SHELF LIFE

Meio desidratado: 2-30°C.

- A data de validade está indicada na etiqueta.

Meio preparado (valor de referência*):

- Meio em frascos: 6 meses entre 2-8°C.
- Meio em placas: 1 mês entre 2-8°C.

EMBALAGEM Código

Meio desidratado:

- Frasco de 500 g BK056HA

BIBLIOGRAFIA

Holt-Harris, J.E., and Teague, O. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosa* from stools. J. Infect. Dis., <u>18</u>: 596.

Levine, M. 1918. Differentiation of *Escherichia coli* and *Aerobacter aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar. Jour. Inf. Dis., <u>23</u>: 43-47.

Levine, M. 1921. Bacteria fermenting lactose and the significance in water analysis. Bull Iowa State College. Eng. Exp. Station.

Weld, J.T. 1952. *Candida albicans*. Rapide identification in pure cultures with carbon dioxyde on modified eosin methylene blue medium. Arch. Dermat. Syph., <u>66</u>: 691-694.

Vogel, R.A., and Moses, M.R. 1957. Welds method for the rapid identification of *Candida albicans* in clinical materials. Am. J. Clin. Pathol., <u>28</u> (1): 103.

United States Pharmacopeia 26. 2003. Microbial Limit Tests, 2006-2011.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

FOTO ILUSTRATIVA

Referência do produto: BK056HA

Meio usado para: Isolamento e identificação de Escherichia coli e outras Gram-negativas.



Escherichia coli

ágar Eosina azul de metileno (EMB - Levine) Ref: **BK056HA** Incubação: 24 horas / 37°C

Características: Colônias violeta escuras com um intenso brilho verde metálico à luz refletida

As informações fornecidas na embalagem procedem de formulações ou instruções descritas neste documento. As informações e especificações contidas nesta ficha técnica datam de 16/02/2009. Elas estão sujeitas a alterações a qualquer momento, sem aviso prévio. Código do documento: BK056/A/2000-09: 6.

^{*}O valor de referência corresponde à vida de prateleira esperada quando preparados sob condições laboratoriais normais, seguindo as instruções do fabricante. É fornecido apenas como guia e sem garantia, expressa ou implícita associada com esta informação.