



EMB Levine Agar

Selective medium for detection and isolation of Enterobacteriaceae.

INTENDED PURPOSE

Selective medium for isolation of enteric Gram-negative bacteria from clinical specimens. This medium is intended as an aid in diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Eosin Methylene Blue (EMB) Levine Agar allows to distinguish enteric pathogens from accompanying flora on the basis of the ability of bacteria to ferment the sugars in the medium.

TYPICAL FORMULA*

(g/litre)

Peptone	10.0
Lactose	10.0
Potassium phosphate bibasic	2.0
Eosine Y	0.4
Methylene blue	0.066
Agar	15.0
Final pH 7.1 ± 0.2	

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

Peptone is the nitrogen source, lactose is the fermentable carbohydrate, and dipotassium phosphate is the buffer. Eosin Y and methylene blue are the indicators. These dyes also play a role in differentiating between lactose fermenters and lactose non fermenters due to the presence or absence of dye uptake in the bacterial colonies. Methylene blue works also as selective agent inhibiting gram- positive bacteria to a limited degree.

PREPARATION

Dehydrated medium.

Suspend 37.5 g of powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat until dissolved completely. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

Medium in bottles

Melt the content of the bottle in a boiling water-bath at 100°C (loosing the caps partially unscrewed) until completely dissolved. Cool to 45-50°C, mix well avoiding the formation of bubbles and aseptically distribute into Petri dishes. Allow the medium to solidify. Store the plates in tightly closed containers.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: autoclave, sterile Petri plates, test tubes, inoculating loops, swabs, incubator, quality control organisms.

SPECIMENS

Clinical specimens should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection. Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied. Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

TEST PROCEDURE

Inoculate a plate with the sample and streak for isolation.

Incubate plates, protected from light, at 35 ± 2°C for 18-24 hours. If negative after 24 hours, reincubate an additional 24 hours.

INTERPRETING RESULTS

At the end of the incubation period evaluate colonies characteristics as follows:

Lactose-fermenting microorganisms, such as coliforms, are visualized as blue-black colonies, whereas lactose non fermenters, such as *Salmonella* spp and *Shigella* spp, appear colorless, transparent or amber. Some gram-positive bacteria, such as fecal streptococci, staphylococci and yeast, will grow in this medium and usually form pinpoint colonies. A number of non-pathogenic lactose non fermenting gram-negative bacteria will grow in this medium and must be distinguished from pathogenic strains by additional biochemical tests.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. 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.

Store bottles and prepared plates at 10-25°C away from light, until the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.

Ready-to-use plates: 6 months

Medium in bottles: 2 years.

QUALITY CONTROL

Appearance of Dehydrated Medium: Fine, homogeneous, may contain dark red purple particles, reddish.

Appearance of Prepared Medium: Slightly opalescent, Green orange brown.

Expected Cultural Response:

Control strain		Inoculum	Incubation	Criteria	Specification
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	10-100 CFU	18-24 h / 35 ± 2°C	Good growth (P _R ≥ 0.5)	Blue-black colonies with green metallic sheen
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC® 14028				Colourless to amber
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022				Colourless to amber
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	10 ⁴ -10 ⁶ CFU	18-24 h / 35 ± 2°C	Partial to complete inhibition	---

A productivity ratio (P_R) of 0.5 is equivalent to a recovery rate of 50%.

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of EMB Levine Agar was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor specimen quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.

Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium.

As the medium is moderately inhibitory some staphylococci, enterococci and yeast may grow. Also some Gram-negative non-fermenting bacilli may appear as non-lactose fermenters.

Some strains of *E. coli* may fail to produce a characteristic green metallic sheen; For that reason, the green metallic sheen is not diagnostic for *E. coli*.

WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) For in vitro diagnostic use (IVD).
- 2) For laboratory professional use only.

- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.
- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled.
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

DISPOSAL OF WASTE

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

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

ORDER INFORMATION

Product	Format	Packaging	Ref.
EMB Levine Agar	Dehydrated media	500 g	610019
		100 g	620019
	Bottles	6 x 100 ml	402350
	Plates	2 x 10 plates	10048

There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit [liofilchem.com](https://www.liofilchem.com)

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
0	2025-08-29	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746, version reset to revision 0

In case of malfunctions or defects, contact immediately Liofilchem (*) or the local representative.

In case of incident associated with the device, notify immediately Liofilchem (*) or its local representative and the National Competent Authority.

*Please login to <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID and password required) and click on Complaint.

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

[liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)



EMB Levine Agar

Terreno selettivo per il rilevamento e l'isolamento di Enterobacteriaceae.

USO PREVISTO

Terreno selettivo per l'isolamento di batteri enterici Gram negativi da campioni clinici. Il terreno è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Eosin Methylene Blue (EMB) Levine Agar consente di distinguere i patogeni enterici dalla flora concomitante in base alla capacità dei batteri di fermentare gli zuccheri presenti nel terreno.

FORMULA TIPICA*

	(g/litro)
Peptone	10.0
Lattosio	10.0
Fosfato di potassio bibasico	2.0
Eosine Y	0.4
Methylene blue	0.066
Agar	15.0
Final pH 7.1 ± 0.2	

*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

PRINCIPIO DEL METODO

Il peptone è la fonte di azoto, il lattosio è il carboidrato fermentabile e il fosfato dipotassico è il tampone. L'eosina Y e il blu di metilene sono gli indicatori. Questi coloranti svolgono anche un ruolo nella differenziazione tra batteri fermentanti e non fermentanti il lattosio, grazie alla presenza o assenza di assorbimento del colorante nelle colonie batteriche. Il blu di metilene agisce anche come agente selettivo, inibendo in misura limitata i batteri Gram-positivi.

PREPARAZIONE

Terreno disidratato.

Sospendere 37,5 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata. Mescolare bene. Riscaldare fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50 °C, mescolare bene evitando la formazione di schiuma e distribuire asetticamente nelle piastre Petri.

Terreno in flaconi

Sciogliere il contenuto del flacone a bagnomaria a 100 °C (svitando parzialmente i tappi) fino a completa dissoluzione. Raffreddare a 45-50 °C, mescolare bene evitando la formazione di bolle e distribuire asetticamente nelle piastre Petri. Lasciare solidificare il terreno. Conservare le piastre in contenitori ben chiusi.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e attrezzature microbiologiche standard quali: autoclave, piastre di Petri sterili, provette, anse di inoculazione, tamponi, incubatore, organismi di controllo qualità.

CAMPIONI CLINICI

I campioni clinici devono essere prelevati nella fase acuta, prima della terapia antimicrobica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo la raccolta. È necessario applicare le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici. Per ulteriori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni, fare riferimento alle linee guida specifiche.

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare una piastra con il campione e strisciare per l'isolamento.

Incubare le piastre, protette dalla luce, a 35 ± 2 °C per 18-24 ore. Se il risultato è negativo dopo 24 ore, reincubare per altre 24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine del periodo di incubazione, valutare le caratteristiche delle colonie come segue:

I microrganismi fermentanti il lattosio, come i coliformi, sono visualizzati come colonie blu-nere, mentre i batteri non fermentanti il lattosio, come *Salmonella* spp e *Shigella* spp, appaiono incolori, trasparenti o ambrati. Alcuni batteri Gram-positivi, come streptococchi fecali, stafilococchi e lieviti, crescono in questo terreno e solitamente formano colonie puntiformi. Diversi batteri Gram-negativi non patogeni non fermentanti il lattosio crescono in questo terreno e devono essere distinti dai ceppi patogeni mediante ulteriori test biochimici.

CONSERVAZIONE

La polvere è molto igroscopica; conservarla a una temperatura compresa tra 10 e 30 °C, in un ambiente asciutto, nel suo contenitore originale ben chiuso. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta o se presenta segni di contaminazione o deterioramento.

Conservare le bottiglie e le piastre preparate a 10-25°C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta o finché non siano evidenti segni di deterioramento o contaminazione.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in piastre: 6 mesi.

Terreno in flaconi: 2 anni.

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto del Terreno Disidratato: Fine, omogeneo, può contenere particelle rosso-violacee scure, rossastro.

Aspetto del Terreno Preparato: Leggermente opalescente, verde arancio marrone.

Risultati Attesi dei Test Culturali:

Ceppi di controllo		Inoculo	Incubazione	Criteri	Specifiche
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	10-100 CFU	18-24 h / 35 ± 2°C	Buona crescita (P _R ≥ 0.5)	Colonie blu-nere con lucentezza metallica verde
<i>Salmonella Typhimurium</i>	ATCC® 14028				Da incolore ad ambrato
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022				Da incolore ad ambrato
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	10 ⁴ -10 ⁶ CFU	18-24 h / 35 ± 2°C	Inibizione parziale o completa	---

Un rapporto di produttività (P_R) di 0.5 è equivalente ad un tasso di recupero del 50%.

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I test di performance dell'EMB Levine Agar sono stati effettuati utilizzando i ceppi di controllo qualità sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da scarsa qualità del campione, raccolta impropria del campione, trasporto improprio, procedure di laboratorio non idonee o limitazioni della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, inclusi i limiti delle prestazioni, prima dell'uso per evitare potenziali errori.

A causa della variabilità nutrizionale, alcuni ceppi potrebbero presentare una crescita scarsa o non crescere su questo terreno.

Poiché il terreno è moderatamente inibitorio, alcuni stafilococchi, enterococchi e lieviti potrebbero crescere.

Anche alcuni bacilli Gram-negativi non fermentanti potrebbero apparire come non fermentanti il lattosio.

Alcuni ceppi di *E. coli* potrebbero non produrre la caratteristica patina verde metallizzata; per questo motivo, la patina verde metallizzata non è diagnostica per *E. coli*.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) **Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- 4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- 5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- 6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- 7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

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

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Per le configurazioni disponibili di questo prodotto vedere l'elenco nella lingua inglese.

In caso di malfunzionamenti o difetti, contattare immediatamente Liofilchem (*) o il rappresentante locale.

In caso di incidente associato al dispositivo, avvisare immediatamente Liofilchem (*) o il suo rappresentante locale e l'Autorità Nazionale Competente.

*Si prega di effettuare il login su <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID e password richiesti) e cliccare su "Complaint".

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online: [liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)

References / Riferimenti

1. Archana Lal, Naowarat Cheeptham. Eosin-Methylene Blue Agar Plates Protocol. American Society of Microbiology © 2016.
2. Holt-Harris, J.E. and Teague, O.A. (1916). A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosus* from stools. J. Infect. Dis. 18: 596-600.
3. Murray, P. R., Baron E.J., Tenover F.C. and Tenover R.H. (eds.) (1995). Manual of clinical microbiology, 6th edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Pezzlo, M. (1992). Aerobic bacteriology, p. 1.0.1 – 1.20.47. In H. D. Isenberg (ed.). Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. American Public Health Association. Diagnostic Procedures and Reagents. 2nd Ed. APHA, Inc. New York, 1950
6. A.P.H.A Examination of dairy products. 10th Ed. APHA, Inc. New York, 1953. Society of American Bacteriologists. Manual of Microbiological Methods MacGraw-Hill New York, 1957.
7. Anderson, N.L., et al. Cumitech 3B; Quality Systems in the Clinical Microbiology Laboratory, Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Tille, P.M., et al. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, C.V. Mosby Company, St. Louis, MO.
9. Holt-Harris, J.E. and O. Teague. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosa* from stools. J. Infect. Dis.; 18:596.
10. Isenberg, H.D. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Vol. I, II & III. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Koneman, E.W., et al. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, PA.
12. MacConkey, A.T. 1905. Lactose-fermenting bacteria in feces. J. Hyg.; 5:333-379.
13. MacFaddin, J.F. 1985. Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Bacteria, Vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
14. Versalovic, J., et al. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
15. Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media, M22. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI - formerly NCCLS), Wayne, PA.
16. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. AOAC, Arlington, VA. www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare



Liofilchem® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

