

Eosin-Methylenblau-Lactose-Nährboden nach Levine

Art.-Nr. CM 69

Zur Isolierung und Differenzierung von *Enterobacteriaceae* und zur schnellen Identifizierung von *Candida albicans*.

Der Nährboden entspricht den Empfehlungen der American Society for Microbiology¹ sowie den Empfehlungen von Windle Taylor².

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Pepton	10,0
Lactose	10,0
Dikaliumhydrogenphosphat	2,0
Eosin G	0,4
Methylenblau	0,065
Agar	15,0
pH 6,8 ± 0,2	

Zubereitung

37,5 g Eosin-Methylenblau-Lactose-Agar nach Levine in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Auf 60°C abkühlen und den Nährboden zur Oxidation des Methylenblau schütteln - er bekommt dann wieder seine blaue Farbe. Das Präzipitat vor dem Plattengießen gut suspendieren; es ist ein wesentlicher Bestandteil des Nährbodens.

Beschreibung

Dieser von Levine^{3,4} modifizierte Nährboden ist vielseitig einsetzbar: zur Isolierung von *Escherichia coli* und *Enterobacter aerogenes*, zur schnellen Identifizierung von *Candida albicans* und zur Identifizierung Koagulase-positiver Staphylokokken.

Eosin und Methylenblau hemmen das Wachstum grampositiver und anspruchsvoller gramnegativer Bakterien. Die beiden Farbstoffe bilden bei saurem pH-Wert ein Präzipitat und wirken als pH-Indikatoren.

Weld^{5,6} empfahl Eosin-Methylenblau-Lactose-Nährboden nach Levine mit Zusatz von Tetracyclin zur schnellen Identifizierung von *Candida albicans* aus klinischem Material. Eine positive Identifizierung von *Candida albicans* ist nach 24-48 Stunden Bebrütung bei 36°C in 10% CO₂-Atmosphäre aus Faeces, Mund- und Vaginalsekreten sowie aus Nägeln und Hautschuppen möglich. Vogel und Moses⁷ bestätigten die Verlässlichkeit der Methode von Weld zur relativ schnellen Identifizierung von *C. albicans* aus Sputum. Sie fanden, daß die Verwendung von Eosin-Methylenblau-Lactose-Nährboden nach Levine genauso sicher war wie konventionelle Methoden zur Identifizierung von *C. albicans* aus Sputum. Zusätzlich bietet der Nährboden die Möglichkeit der Identifizierung einiger gramnegativer Gattungen. Doupagne⁸ untersuchte den Einsatz von Eosin-Methylenblau-Lactose-Nährboden nach Levine unter tropischen Bedingungen.

Haley und Stonerod⁹ stellten bei der Methode nach Weld Schwankungen fest, so daß Walker und Huppert¹⁰ Maismehl-Agar und einen schnellen Fermentationstest zusätzlich zum Eosin-Methylenblau-Lactose-Nährboden nach Levine befürworteten. Die Kombination beider Verfah-

Nährböden

ren lieferte Ergebnisse innerhalb von 48-72 Stunden. Den Ergebnissen von Vogel und Moses⁷ folgend, verwendeten Menolasino et al.¹¹ Eosin-Methylenblau-Lactose-Nährboden nach Levine zur Identifizierung Koagulase-positiver Staphylokokken, die in charakteristischen farblosen punktförmigen Kolonien wuchsen. Eosin-Methylenblau-Lactose-Nährboden nach Levine erwies sich im Vergleich zu Tellurit-Glycin-Agar als leistungsfähiger und zeigte eine gute Übereinstimmung mit dem Plasma-Koagulase-Test.

Koloniecharakteristika

Escherichia coli

Einzeln wachsende Kolonien mit leichter Tendenz zu konfluierendem Wachstum und grünlichem Metallglanz im reflektierenden Licht sowie dunkelvioletten bis schwarzen Zentren im Durchlicht, Ø 2-3 mm.

Enterobacter aerogenes

Erhabene, schleimige Kolonien mit Neigung zu Konfluenz, meist kein Metallglanz, graubraune Zentren im Durchlicht, Ø 4-6 mm.

Lactose-negative Keime (z.B. Salmonellen, Shigellen)

Durchscheinende, farblose bis bersteinfarbene Kolonien.

Koagulase-positive *Staphylococcus aureus*

Farblose, punktförmige ('pin-point') Kolonien.

Candida albicans

Nach 24-48 Stunden Bebrütung bei 36°C in 10% CO₂-Atmosphäre 'feder'- oder 'spinnwebartige' Kolonien.

Andere Candida-Arten und manchmal Nocardia bilden weiche, hefeartige Kolonien. Da diese Keime ein variables Erscheinungsbild besitzen, ist es ratsam, eine kombinierte Methode, z.B. nach Walker und Huppert¹⁰ zu verwenden.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Enterobacter aerogenes ATCC 13048

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Negativkontrolle

unbeimpfter Nährboden

Zusätzliche Hinweise

Zur Bestätigung sind mit den isolierten Keimen weitere Testungen durchzuführen.

Salmonella- und Shigella-Stämme wachsen nicht in Anwesenheit von Eosin und Methylenblau.

Gebrauchsfertiger Nährboden zum Schutz vor Photooxidation unbedingt lichtgeschützt lagern.

Literatur

1. American Society for Microbiology (1974) "Manual of clinical microbiology". 2nd. Edn., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Windle Taylor, E. (1958) "The Examination of waters and water supplies". 7th Ed., Churchill Ltd., London.
3. Levine, M. (1918) J. Infect. Dis. 23, 43-47.
4. Levine, M. (1921) "Bacteria fermenting lactose and the significant

ce in water analysis". Bull. 62, Iowa State College Engr. Exp. Station.

5. Weld, J.T. (1952) Arch. Dermat. Syph. 66, 691-694.
6. Weld, J.T. (1953) Arch. Dermat. Syph. 67(5), 473-478.
7. Vogel, R.A. und Moses, M.R. (1957) Am. J. Clin. Pathol. 28, 103-106.
8. Doupagne, P. (1960) Ann. Soc. Belge de Med. Trop. 40(6), 893-897.
9. Haley, L.D. und Stonerod, M.H. (1955) Am. J. Med. Tech. 21, 304-308.
10. Walker, Leila und Huppert, M (1959) Am. J. Clin. Pathol. 31, 551-558.
11. Menolasino, N.J., Grieves, Barbara und Payne, Pearl (1960) J. Lab. Clin. Med. 56, 908-910.