



ENDO AGAR

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per la rilevazione e la differenziazione di coliformi e altri batteri enterici Gram-negativi.

2 – COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Triptone	10,0 g
Lattosio	10,0 g
Potassio fosfato bibasico	3,5 g
Sodio solfito	2,5 g
Fucsina basica	0,4 g
Agar	11,0 g

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Endo Agar è stato originariamente ideato da Endo¹ per l'isolamento del bacillo del tifo. Molte modifiche sono state apportate a questo terreno nel corso degli anni. Endo Agar è stato raccomandato come terreno leggermente selettivo per la conferma del test presuntivo per i membri del gruppo dei coliformi ed è stato un terreno di coltura importante per l'esame microbiologico di acque e acque reflue, latticini e alimenti;²⁻⁴ tuttavia, attualmente gli Standard per l'esame di questi materiali ora consigliamo formulazioni alternative.

Endo Agar è oggi utilizzato per la differenziazione di microrganismi intestinali fermentanti e non fermentanti il lattosio, in particolare durante la conferma del test presuntivo per i coliformi e, in alcune aree, per l'isolamento e la differenziazione delle *Enterobacteriaceae*.

I fattori di crescita essenziali sono forniti dal triptone che è una fonte di azoto, carbonio e minerali. Il fosfato dipotassico viene utilizzato come agente tampone per controllare il pH del terreno. Si ottiene una parziale inibizione dei batteri Gram-positivi senza l'uso tradizionale di sali biliari ma con l'inclusione della combinazione solfito di sodio/fucsina acida. Il solfito di sodio ha anche la funzione di decolorare la fucsina acida come avviene nel reattivo di Schiff. I batteri fermentanti il lattosio producono acetaldeide dal lattosio che libera la fucsina dal composto incolore fucsina-solfito e colora le colonie di rosso; quando la reazione è rapida e molto intensa (ad esempio nel caso di *E. coli*), la fucsina cristallizza e dona una lucentezza metallica alle colonie. I microrganismi che non fermentano il lattosio producono colonie incolori sullo sfondo rosa del terreno.

4 - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 40 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Portare ad ebollizione con agitazione frequente per sciogliere completamente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C, mescolare bene per risospendere il precipitato e distribuire in piastre Petri sterili.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, viola con piccoli granelli neri
Aspetto del terreno in flacone e in piastra	rosa-arancio, opalescente con piccoli granelli neri
pH finale (20-25 °C)	7,5 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Endo Agar	Terreno di coltura in polvere	4014602	500 g (12,1 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, beute, piastre di Petri, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Acqua, acque reflue, alimenti, campioni ambientali. Consultare i riferimenti appropriati per la raccolta, la conservazione e la preparazione dei campioni.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Strisciare la sospensione del campione o la crescita ottenuta in un brodo selettivo (ad es. Brilliant Green Bile Broth) sulla piastra di Endo Agar. Incubare le piastre, al riparo dalla luce, a 35 ± 2°C per 18-24 ore.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le specifiche caratteristiche morfologiche e cromatiche delle colonie.

Le tipiche colonie di *E. coli* vanno dal rosa al rosso con riflessi metallici dorati

Le colonie dei coliformi tipici diversi da *E. coli* vanno dal rosa al rosso.

Le tipiche colonie non fermentanti il lattosio sono incolori sullo sfondo rosa del terreno

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto sono messi in vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, l'utente finale può eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	37°C/24H-A	buona crescita, colonie rosa-rosso con riflessi metallici
<i>S. Enteritidis</i> ATCC 13076	37°C/24H-A	buona crescita, colonie incolori

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection



Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Endo Agar disidratato e pronto all'uso viene sottoposto a test di produttività, specificità e selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato. Le caratteristiche di produttività e specificità sono testate mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con ceppi fermentanti il lattosio (*E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736) e ceppi non fermentanti il lattosio (*P. vulgaris* ATCC 13315, *S. Enteritidis* NCTC 5188, *P. aeruginosa* ATCC 14207). Dopo incubazione a 37°C per 24 ore, vengono valutate la quantità di crescita e le caratteristiche della colonia: i ceppi fermentanti il lattosio mostrano una buona crescita con colonie rosse mentre i ceppi non fermentanti il lattosio crescono con colonie incolori. Inoltre, le colonie di *E. coli* mostrano una lucentezza metallica dorata. La selettività è valutata con metodo Miles-Misra modificato in superficie inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione McFarland 0,5 di *E. faecalis* ATCC 19433 e *S. aureus* ATCC 25923. La crescita dei ceppi non target è parzialmente inibita.

13 – LIMITEI DEL METODO

- Endo Agar non è un terreno altamente selettivo e possono crescere alcuni lieviti e batteri Gram-positivi come enterococchi o stafilococchi.
- Su Endo Agar, la sciamatura di *Proteus* non è inibita.
- Evitare l'esposizione del terreno alla luce, in quanto potrebbe portare a fotossidazione e diminuire la produttività del terreno.
- Il surriscaldamento del terreno deve essere evitato, in quanto potrebbe distruggerne la produttività.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi). L'utente è responsabile dei processi di produzione e di controllo della qualità dei terreni di coltura preparati e della convalida della loro durata di conservazione, in base al tipo e alle condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento). Con l'esposizione all'ossigeno, l'Endo Agar in piastra diventa gradualmente rosso a causa dell'ossidazione del solfito e non può quindi più essere utilizzato.

16 - BIBLIOGRAFIA

1. Endo S. Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhus bacillen. Centr f Bakt 1904; 35:109-110.
2. ICMSF. Microorganisms in Foods: their significance and Methods of Enumeration, 2nd ed 1978
3. APHA. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 13th ed 1972
4. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed 1998

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o REF	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura		 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	01/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

