

ÁGAR SALMONELLA SHIGELLA (SS)

1. MODELOS APLICÁVEIS

REFERÊNCIA MODELO	TESTES	DESCRIÇÃO
300M22021	10	Placa de 90x15mm - Lisa
300M22021B	10	Placa de 90x15mm - Bipartida

2. FINALIDADE

O Ágar Salmonella Shigella (SS Ágar) é um meio seletivo e diferencial amplamente utilizado em bacteriologia sanitária para isolar Salmonella e Shigella de fezes, urina e alimentos.

- **Aplicação:** Isolamento seletivo de microrganismos.
- **Microrganismo:** *Salmonella sp* e *Shigella sp*.
- **Área:** Análises Clínicas.
- **Uso:** Diagnóstico *in vitro*, restrito a profissionais habilitados.

3. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Devido ao seu elevado poder seletivo, o Ágar SS pode receber um inóculo mais concentrado sem comprometer a leitura dos resultados. Recomenda-se, contudo, realizar a semeadura em paralelo em meios menos seletivos, como Ágar MacConkey, Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), Ágar XLD ou Ágar Enteric Hektoen, a fim de aumentar a sensibilidade da detecção quando a população de microrganismos é reduzida.

O extrato de carne bovina e a mistura de peptona fornecem nitrogênio, vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais ao crescimento bacteriano. A lactose atua como fonte de carbono e energia, sendo o carboidrato fermentável do meio. A combinação de sais biliares, citrato de sódio e verde brilhante exercem ação inibitória sobre bactérias Gram-positivas, a maioria dos coliformes e o crescimento de *Proteus spp.*, favorecendo o crescimento seletivo de *Salmonella spp.* O vermelho neutro é o indicador de pH do meio. O tiosulfato de sódio e o citrato férrico permitem a detecção de microrganismos produtores de sulfeto de hidrogênio (H₂S), evidenciado pela formação de centros escurecidos nas colônias.

Bactérias não fermentadoras de lactose como *Shigella* e a maioria das Salmonella formam colônias claras, transparentes ou incolores. Coliformes como *Escherichia coli* são geralmente inibidos, e quando presentes, produzem pequenas colônias de coloração rosa a vermelha. Espécies de *Enterobacter* e *Klebsiella* originam colônias maiores que as de *E. coli*, com aspecto mucóide, coloração creme pálido a rosada e aparência opaca. Colônias de *Proteus* e algumas cepas de Salmonella podem apresentar centros negros, rodeados por halo claro, em decorrência da produção de H₂S.

Por ser altamente seletiva, sta formulação não é recomendada para o isolamento primário de *Shigella*, uma vez que algumas cepas podem ser parcialmente inibidas.

4. DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O Ágar é comercializado em embalagens contendo 10 unidades de placas descartáveis estéreis, no formato padrão de 90x15mm - Lisa (20 ml de meio) e placa 90x15 - Bipartida (10 ml de meio cada lado), garantindo espessura uniforme e condições ideais para o crescimento seletivo e diferencial.

As placas são prontas para uso, acondicionadas em embalagens apropriadas para manter a esterilidade e integridade do meio até o momento da utilização.

4.1 COMPOSIÇÃO

FORMULAÇÃO em g/L	
Ágar base SS	63,02
pH 7,0 ± 0,2 a 25 °C	

5. AMOSTRA

5.1 TIPOS

Amostras provenientes de fezes e swab retal.

5.2 CONDIÇÕES DE COLETA

A coleta das amostras deve ser realizada seguindo critérios técnicos, com o objetivo de garantir a representatividade do agente infeccioso, preservar a viabilidade dos microrganismos e assegurar a confiabilidade dos resultados.

É fundamental que o procedimento de coleta siga as seguintes recomendações:

- Realizar a coleta com técnica asséptica, para evitar contaminações externas, utilizando materiais estéreis e adequados para o tipo de amostra;
- Sempre que possível, coletar preferencialmente antes do início da antibioticoterapia ou respeitando o intervalo apropriado para evitar interferências por medicamentos;
- Garantir que a amostra seja representativa da área suspeita de infecção;
- Seguir protocolos que garantam a adequada conservação e transporte até o momento do cultivo.

A não realização dessas condições pode comprometer o isolamento e a identificação dos microrganismos presentes.

5.3 MANUSEIO E PRESERVAÇÃO

Recomenda-se, imediatamente após a coleta, a transferência de parte da amostra para um meio de transporte adequado, como swab contendo meio Cary-Blair ou similar.

Não é aconselhado o armazenamento da amostra. Em casos extremos, em que não se pode realizar a inoculação imediata, deve ser conservada sob refrigeração, entre 2 °C e 8 °C, por até 2 horas.

6 ARMAZENAMENTO

O meio de cultura deve ser mantido sob refrigeração, entre 2 e 8°C, bem selado, de forma a se evitar a oxidação e condensação do produto. Quando obedecidas essas condições de armazenamento, o meio de cultura se mantém adequado para uso até a data de validade expressa no rótulo.

É importante destacar que meios de cultura não devem ser armazenados em refrigeradores do tipo *frost-free*, pois o mecanismo de degelo automático pode causar desidratação progressiva do meio.

Devido à sua natureza gelatinosa e ao elevado teor de água (aproximadamente 80%), o meio pode apresentar formação de condensação quando submetido a variações de temperatura, por exemplo, ao ser retirado da refrigeração e exposto à temperatura ambiente. Essa condensação pode resultar no acúmulo de líquido na tampa ou sobre a superfície do meio. Para minimizar esse efeito, recomenda-se armazenar as placas com o lado do meio voltado para cima e permitir que o ágar atinja a temperatura ambiente antes do uso, favorecendo a evaporação da umidade superficial e a estabilização térmica.

Não é recomendada a repetição frequente do ciclo refrigeração e aquecimento, pois isso pode levar ao ressecamento do meio, alterações físicas ou risco de contaminação devido à condensação excessiva.

ÁGAR SALMONELLA SHIGELLA (SS)

7 MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO INCLuíDOS

- Alças de inoculação (platina ou descartáveis).
- Bico de Bunsen ou cabine de segurança biológica.
- Estufa bacteriológica.
- EPIs para uso em laboratório microbiológico (jaleco, luvas descartáveis, óculos etc).

8 PRECAUÇÕES DE USO

- Não use após a data de validade.
- Este produto é estéril. Não utilize a placa caso a embalagem esteja danificada.
- Não coma, beba ou fume na área onde as amostras ou placas são manuseadas.
- Use roupas de proteção, como jalecos de laboratório, luvas descartáveis e proteção para os olhos quando as amostras estiverem sendo testadas. Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para “Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M 29-A” para o manuseio seguro de amostras biológicas e outros materiais potencialmente infectantes.
- A manipulação das placas dentro de cabine só deve ser realizada próxima à chama ou com fluxo laminar ativo, de forma a se evitar a contaminação do meio de cultura, evidenciada pelo crescimento espúrio de microrganismos. Observe as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos durante os testes e siga os procedimentos padrão para o descarte adequado das amostras. O procedimento de descarte do produto deve ser baseado na RDC 222, de 28 de março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde e dá outras providências.
- A umidade e a temperatura podem afetar adversamente os resultados.
- Uso único. Descarte após o primeiro uso.

9 MODO DE USO

1. Verificar, antes da inoculação, o aspecto e as características do meio de cultura. O meio deve estar límpido, homogêneo e com volume adequado. Retirar o pacote da refrigeração e, em ambiente asséptico, separar as placas a serem utilizadas, retornando imediatamente o restante ao armazenamento recomendado. Caso necessário, permita que as placas atinjam a temperatura ambiente ou, se preferir, coloque-as em estufa bacteriológica entre 35 °C e 37 °C até estabilizarem a temperatura.
2. Inocular a amostra diretamente na superfície do meio, realizando estrias com alça bacteriológica ou swab, utilizando técnica asséptica.
3. Incubar em condições aeróbias a 35-37°C por 18 a 24 horas.
4. Inocular a amostra em paralelo, em meios menos seletivos, como Ágar Deoxicolato, Ágar MacConkey, Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), Ágar XLD ou Ágar Enteric Hektoen. Conforme literatura técnica, recomenda-se a semeadura primária em ágar SS, ágar MacConkey e em um caldo de enriquecimento (caldo Selenito, Tetrionato, Rappaport), executando uma segunda semeadura em ágar SS e ágar MacConkey, a partir do caldo enriquecedor de escolha, após 24 horas de incubação do caldo.
5. Após incubação, avaliar o crescimento, observando a morfologia e coloração das colônias e, se aplicável,

realizar os testes de identificação conforme os protocolos do laboratório.

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Após o período de incubação, deve-se verificar a ocorrência de crescimento bacteriano e observar o aspecto das colônias formadas:

Microrganismo	Especificação
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crescimento bom - colônia incolor
<i>Klebsiella aerogenes</i> ATCC 13048	Inibição parcial a total - colônia creme-rosa
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Crescimento ótimo - colônia incolor com centro negro
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Crescimento ótimo - colônia incolor com centro negro
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inibição parcial a total - colônia incolor
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição parcial a total - colônia rosa
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 6539	Crescimento ótimo - colônia incolor com centro negro
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 25923	Inibição total
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Crescimento bom - colônia incolor a creme com centro negro

11. CONTROLE DE QUALIDADE

- Cor do meio preparado: Rosa alaranjado.
- pH (25°C): 7,0 ± 0,2.
- Para controle interno de qualidade, recomendamos utilizar cepas ATCC (*American Type Culture Collection*) ou outra de referência.
- A verificação da performance do produto, deve ser avaliada a cada novo recebimento/lote ou de acordo com o protocolo estabelecido pelo laboratório.
- O laboratório deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC. Para controle interno de qualidade, recomendamos utilizar cepas ATCC.

12. TESTE MICROBIOLÓGICO

Controle de qualidade recomendado.

Microrganismo	Inóculo (UFC/ml)	Especificação
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	≥10 ⁴	Crescimento bom - colônias incolores
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	≥10 ⁴	Crescimento bom - colônia com centro negro
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	≥10 ⁴	Crescimento bom - colônia com centro negro
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	≥10 ⁴	Crescimento inibido
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≥10 ⁴	Crescimento inibido ou escasso - colônia rosa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	≥10 ⁴	Crescimento escasso a bom - colônia com centro negro

ÁGAR SALMONELLA SHIGELLA (SS)

O desempenho esperado do meio é avaliado através da inoculação de cepas padrão (ATCC). Para leveduras, utiliza-se um inóculo com baixa carga (50-100 UFC), a fim de verificar a capacidade do meio em permitir o crescimento seletivo e diferenciar visualmente as espécies. Já para bactérias, aplica-se um inóculo com alta carga ($\geq 10^4$ UFC), com o objetivo de testar a eficácia do meio na inibição do crescimento de microrganismos não alvo.

- Condições de incubação: 35 \pm 2 °C.
- Leitura e interpretação: 24-48-72 h.

13. SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES

- Este meio de cultura pode apresentar precipitados ou micro cristais em seu interior, devido a sua formulação que contém corantes, no entanto esta característica não afeta o desempenho do produto;

- A exposição a luz (direta ou indireta), assim como trocas constantes de temperatura, pode alterar a coloração do meio de cultura e afetar a caracterização dos microrganismos, devido a degradação de corantes utilizados em sua formulação, recomenda-se manter o produto protegido de incidência prolongada a luz e manter sob refrigeração até o momento da utilização, assegurando o melhor desempenho;

- Devido à baixa concentração dos microrganismos alvo, em especial cepas de *Shigella* sp., em relação a flora intestinal, recomenda-se enriquecimento seletivo da amostra antes da conclusão do teste;

- Tratando-se de amostras normalmente polimicrobianas, pode ocorrer sobreposição de colônias, inclusive de microrganismos diferentes, sugerindo maior atenção na avaliação e possível necessidade de reisolamento;

- Incubações prolongadas podem difundir o sulfeto de ferro devido a ação do oxigênio, o que acaba alterando o pH, diminuindo a coloração negra nas colônias. A redução da produção de gás sulfídrico, na fase de declínio, também interrompe o escurecimento das colônias;

- Este produto é um meio parcialmente seletivo para cultivo, isolamento e caracterização de cepas de *Salmonella* sp. e *Shigella* sp., isoladamente, este produto não é capaz de realizar a diferenciação ou identificação de microrganismos, sendo necessários testes adicionais para conclusão do resultado.

14. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

14.1 SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

Não aplicável.

14.2 RISCOS RESIDUAIS

Não aplicável.

15. GARANTIA DA QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os produtos da ADVAGEN são testados pelo Laboratório de Controle de Qualidade. A performance adequada do meio de cultura é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

16. INFORMAÇÃO DA EMPRESA

Fabricado por:

Advagen Biotech Ltda. Endereço: Rua Douro Oscavo de Paula e Silva, 92 - Jardim Novo Centro; CEP 13301-320; Itu/SP; Brasil

Regularizado por:

Advagen Biotech Ltda.

Endereço: Rua Gabriel Leite de Carvalho, NO. 508; CEP 13.311-360; Itu/SP; Brasil
CNPJ: 22.565.307/0001-72
SAC.: (11) 40131476
Site: <https://advagen.com.br/>

17. REGISTRO ANVISA

81472060002

18. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pub. Health Reports. 65:1075. 1950. Paper Read at Microbiological Congress, 1950. Proc. 22nd Ann. Meet. Northeastern Conf. Lab.
2. Workers in Pullorum Disease Control Burlington, Vermont, June 20-21. 1950.
3. Lennette and others (Eds.), 1985, Manual of Clinical Microbiology, 4th ed., ASM, Washington, D.C.
4. Lipps WC, Braun-Howland EB, Baxter TE, eds. Standard methods for the Examination of Water and Wastewater, 24th ed. Washington DC:APHA Press; 2023.
5. Salfinger Y., and Tortorello M.L. Fifth (Ed.), 2015, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th Ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Wehr H. M. and Frank J. H., 2004, Standard Methods for the Microbiological Examination of Dairy Products, 17th Ed., APHA Inc., Washington, D.C.
7. Williams S., (Ed.), 2005, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 19th Ed., AOAC, Washington, D.C.
8. MacFaddin J., 1985, Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria, Vol. I, Williams and Wilkins, Baltimore.
9. Isenberg, H.D. Clinical Microbiology Procedures Handbook 2nd Edition.
10. Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A., Carroll, K.C., Funke, G., Landry, M.L., Richter, S.S and Warnock, D.W. (2015) Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition. Vol. 1.