

Finalidade:

Meio diferencial seletivo utilizado no isolamento de bacilos entéricos patogênicos, especialmente os que pertencem ao gênero *Salmonella* spp., provenientes de amostras clínicas e não clínicas. Pode ser aplicado para o isolamento de cepas de *Shigella* spp. desde que pesquisado após incubação em caldo de enriquecimento.

Registro ANVISA:

10097010134

Apresentação:

540152 - SS-AGAR-SALMON.-SHIG.-20mL-PL90X15-PC10PL
540197 - BIPLACA-SS-AGAR-SALM.-SHIG.-2X10mL-10PL

LB 172068
Rev. 07 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

Ágar Salmonella Shigella (SS) é uma modificação do Ágar Desoxicolato-Citrato descrito por Leifson. É designado como um meio moderadamente seletivo com base no grau de inibição dos microrganismos gram-positivos e outras Enterobacteriaceae que não a Salmonella e a Shigella, este inibe devido ao seu teor de sais biliares, brilliant green e citratos. No meio Ágar SS Laborclin, a diferenciação de organismos entéricos consegue-se através da incorporação de lactose no meio. Os organismos que fermentam a lactose produzem ácido que, na presença do indicador vermelho neutro, resulta na formação de colônias vermelhas. Os organismos não fermentadores da lactose formam colônias incolores. Este último grupo contém a maioria dos elementos patogênicos intestinais, incluindo Salmonella e *Shigella*. O tiosulfato de sódio e o citrato férrico permitem a detecção da produção de sulfureto de hidrogênio como se pode verificar pelas colônias com centros pretos. Este meio é utilizado para o isolamento primário de *Salmonella* proveniente de amostras de fezes humanas. Uma vez que existem meios mais eficientes para o isolamento de *Shigella*, recomendamos a utilização de meios mais específicos para o isolamento deste organismo.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	g/L
Extrato bovino	5,0
Hidrolisado péptico de tecido animal	2,5
Hidrolisado pancreático de caseína	2,5
Lactose	10,0
Sais Biliares	8,5
Citrato férrico	8,5
Ágar Base	15,0
Vermelho neutro	0,025
Brilliant green	0,0033
H2O ultra purificada	1L
pH 7,2 ± 0,2 a 25°C	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

3. MATERIAL

a- Tipo de amostra

- Material proveniente de cultura de fezes inoculadas em meio de enriquecimento como o caldo GN, Tetrationato ou caldo selenito.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.
- Amostras transportadas no sistema de transporte (*swab*) com meio Clary-Blair garantem uma melhor manutenção das cepas alvo.

b- Critérios de rejeição

Rejeitar amostras que se apresentem secas ou sem o meio de transporte.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Reagentes

Placas, prontas para uso, contendo ágar SS.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório as placas devem ser armazenadas em temperatura de 2 a 8°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouca a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa ($\pm 37^\circ\text{C}$) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento, contaminação ou diminuição de espessura.

Devido à presença de corantes, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

c- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;

- Não utilizar placas com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para “Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI M29-A” para o manuseio seguro;
- Antes de descartar o material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Para acondicionamento do material usado, recomendamos o uso do produto DetriLab.
- Contate o serviço de vigilância sanitária de sua região para garantir o cumprimento correto da legislação de descarte de produtos potencialmente contaminantes.

5. MATERIAL NECESSÁRIO (porém não fornecido)

- Estufa bacteriológica;
- Alças bacteriológicas;
- Bico de Bunsen;
- Caldo GN ou Caldo SS.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Placas prontas para uso:

- a- Retirar o pacote da refrigeração e, em ambiente asséptico, separar as placas a serem usadas, devolvendo o restante ao refrigerador;
- b- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura, ou deixar estabilizar/secar em temperatura ambiente;
- c- Usando procedimentos adequados, proceder a inoculação do material diretamente na superfície do meio, transferindo parte da amostra para o caldo enriquecido (GN ou Selenito). Recomenda-se a semeadura simultânea em meio ágar Mac Conkey se houver intenção de isolamentos de cepas de *Escherichia coli*;
- d- Incubar o material em estufa bacteriológica entre 35-37°C por 18-24h;
- e- Após a incubação, avaliar o padrão de crescimento, aspectos morfológicos e a fermentação ou não da lactose;
- f- Devido a exigências especiais, alguns microrganismos podem necessitar de um período maior de incubação, se não ocorrer o crescimento nas primeiras 24 horas, ou caso o crescimento apresentado não seja o suficiente, incubar o material em estufa bacteriológica entre 35-37°C, por mais 18-24h;
- g- Após o total desenvolvimento das colônias, proceder com os processos de identificação conforme estabelecido em seu laboratório;
- h- Para pesquisa de *Shigella* spp., semeie uma nova placa de ágar SS a partir do caldo enriquecedor e repita os processos de incubação e leitura;
- i- Recomenda-se a aplicação das provas de identificação TSI e LIA para as colônias suspeitas e encaminhamento para sorotipagens quando necessário.

8. RESULTADOS

Relatório

- Não houve crescimento:
“Ausência de crescimento microbiano enteropatogênico na amostra analisada após 24/48h de incubação a 35°C”;
- Havendo crescimento:
“Nome do microrganismo (indicar bactéria identificada)”

Morfologias típicas das colônias em ágar SS:

Microrganismo	Características
<i>Escherichia coli</i>	Inibição parcial a completa para cepas não patogênicas; colônias cor-de-rosa a vermelhas com precipitado para colônias de cepas enteropatogênicas.
<i>Enterobacter</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp.	Inibição parcial a completa; Mucóide, colônias cor-de-rosa, dimensão grande
<i>Proteus</i> spp.	Inibição parcial; Colônias pretas com ou sem bordas incolores, a proliferação em torno de colônias isoladas é inibida (swarming), dimensão grande
<i>Salmonella</i> spp.	Crescimento bom a excelente; Colônias

	beges com centros pretos. Dimensão média a grande.
<i>Shigella</i> spp.	Crescimento razoável a bom; colônias cor-de-rosa claro a incolores. Dimensões média a grande.
<i>Pseudomonas</i> spp.	Colônias irregulares, incolores a cor-de-rosa, dimensão variável
Cocos Gram-positivos	Inibição completa.

9. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- A utilização de corantes na formulação pode acarretar leve foto sensibilidade, recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.
- Meios de cultura apresentam grande quantidade de água em sua formulação, deste modo, variações de temperatura devem ocasionar a condensação e, conseqüentemente, o acúmulo de água na placa. O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- Devido a concentração de sais biliares, utilizados na inibição de cepas de não interesse, podem acarretar na presença de cristais no interior do meio de cultura, variando seu tamanho de pequeno a grande. A presença destes cristais não interfere no desempenho do produto.
- Algumas variações de coloração na colônia, morfologia ou tamanho podem ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada.
- A presença de mais de uma variante genética intrínseca a cepa analisada, pode interferir nas características de crescimento. É possível que características únicas ou mutadas da cepa possam interferir no desempenho do meio de cultura afetando ou retardando o total desenvolvimento das colônias.
- Inóculos com excesso de carga bacteriana podem interferir na avaliação de resultados.
- A presença de mais de um microrganismo na amostra pode ocasionar sobreposição de colônias na superfície do meio de cultura, dificultando sua identificação, para estes casos, recomenda-se o reisolamento das colônias diferentes, mantendo a contagem da placa inicial.
- A qualidade dos resultados de análises microbiológicas é intimamente ligada à qualidade da amostra, as melhores práticas pré-analíticas, como cuidados extremos com a assepsia do processo ou paciente, garantem um melhor resultado.
- Embora as características das colônias sugiram a possibilidade de serem realizados alguns testes de diagnóstico diretamente neste meio de cultura, é indispensável a realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras. Consultar a bibliografia apropriada para mais informações.
- Cepas de *Shigella* spp., normalmente, necessitam de inoculação prévia em meio de enriquecimento (Caldo GN ou Caldo Selenito), a não utilização de caldos enriquecedores devem invalidar a liberação de cepas de *Shigella* spp.

- Os resultados falsos-negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Técnica de coleta inadequada
- Transporte de amostra sem meio de conservação (Cary-blair)
- Tempo excessivo entre a coleta e semeadura
- Incubação em temperatura inadequada
- Uso de antimicrobiano prévio
- Utilização de alça flambada não resfriada
- Tempo de incubação insuficiente
- Infecção crônica (infecção pouco ativa)
- Armazenamento ou transporte de amostra inadequado
- Agentes etiológicos exigentes com relação aos meios de cultura
- Necessidade de meios especiais para o crescimento de um agente infeccioso específico

10. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão (ATCC / CCUG ou derivadas)

- Controle de qualidade recomendado:

Cepas	Resultado esperado
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição parcial. Lactose positiva. Colônias rosas a vermelhas com precipitados.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibição completa
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Crescimento bom a ótimo; Colônias beges com centros pretos.
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crescimento razoável a bom. Colônias cor-de-rosa claro a incolores.

ATCC – American Type Culture Collection

- Periodicidade

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- Análise dos resultados

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

Este produto apresenta sensibilidade $\geq 90,5\%$ e especificidade $\geq 99,7\%$ frente aos principais microrganismos de interesse.

Microrganismo	Sensibilidade % (Intervalo de confiança de 95%)	Especificidade % (Intervalo de confiança de 95%)
<i>Salmonella</i> spp.	113/119 94,9% (93,8 – 99,9%)	134/134 100% (99,3 – 100%)
<i>Escherichia coli</i> enteropatogênica	127/131 96,9% (95,1 – 99,9%)	202/202 100% (99,5 – 100%)
<i>Shigella</i> spp.	82/103 79,6% (77,9 – 96,2%)	104/105 99,0% (97,9 – 99,2%)

11. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- Os materiais estejam sendo armazenados em condições adequadas;
- Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos junto ao site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou outras informações, contatar o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica. Módulo III. 45 p. Disponível em: . Acesso em: 26 abr. 2009.
2. Bopp, C. A., F. W. Brenner, P. I. Fields, J. G. Wells, and N. A. Stockbrine. 2003. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Difco Manual, 2nd ed., 2009.
5. Farmer III, J.J. 2003. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Koneman, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
7. Leifson, E. 1935. New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J. Pathol. and Bacteriol. 40:581-599.
8. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
9. Mahon, Connie, Manuselis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.
10. Murray, P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.
11. PEIRANO, G. et al. Occurrence of integrons and antimicrobial resistance genes among *Salmonella enterica* from Brazil. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, DC, v. 58, p. 305-309, 2006.
12. RODRIGUES, D. P.; LAZARO, N. S.; REIS, E. M. F. Manual de procedimentos para diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008. 48 p
13. Silva, de Neusely; et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 4° ed., 2010.
14. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
15. THRELFALL, E. J.; FROST, J. A. The identification, typing and fingerprinting of *Salmonella*: laboratory aspects and epidemiological applications. Journal of Applied Bacteriology, London, v. 68, p. 5-16, 1990.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone 041 36619000
www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)