



Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Anvisa

PERGUNTAS & RESPOSTAS

Padrões Microbiológicos

GERÊNCIA-GERAL DE ALIMENTOS

Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia
de Alimentos

2ª edição

Brasília, julho de 2020

ELABORAÇÃO

Gerência-Geral de Alimentos (GGALI)

Thalita Antony de Souza Lima

Angela Karinne Fagundes de Castro

Gerência de Regularização de Alimentos (GEREG)

Patrícia Ferrari Andreotti

Andressa Gomes de Oliveira

Adriana Moufarrege

Nice Gabriela Alves Bauchspiess

Simone Coulaud Cunha

Stefani Faro de Novaes

Rejane Rocha França

Gerência de Padrões e Regulação de Alimentos (GEPAR)

Tiago Lanius Rauber

Camila Miranda Moura

Rodrigo Martins de Vargas

Ana Paula Rezende Peretti

Gerência de Avaliação de Riscos e Eficácia (GEARE)

Ligia Lindner Schreiner

Ana Cláudia Marquim Firmo de Araújo

Carolina Araújo Vieira

Diego Botelho Gaino

Fátima Machado Braga

Larissa Bertollo Gomes Pôrto

Marina Ferreira Gonçalves

Rebeca Almeida Silva

Luciana Cristina Averbeck Pelles

Luana de Castro Oliveira

Patrícia Mandali de Figueiredo

SUMÁRIO

I – INTRODUÇÃO.....	7
II – LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
III – PERGUNTAS E RESPOSTAS.....	11
ESCLARECIMENTOS SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS.....	11
1. O que é um padrão microbiológico?.....	11
2. Qual o objetivo do estabelecimento de padrões microbiológicos para alimentos?.....	11
3. Quais são os componentes do padrão microbiológico?.....	11
4. Como foram definidas as categorias de alimentos presentes na Instrução Normativa n. 60/2019?.....	12
5. Como foram estabelecidos os padrões microbiológicos?.....	12
6. Como interpretar os padrões estabelecidos nos Anexos da Instrução Normativa n. 60/2019?	13
7. Como proceder quando não há padrão estabelecido para determinado alimento?.....	14
8. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para coliformes a 45°C?.....	15
9. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para Clostrídios Sulfito Redutores?.....	16
10. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para todos os indicadores higiênico-sanitários (por exemplo, mesófilos, bolores e leveduras, Enterobacteriaceae, psicrófilos, etc.)?	16
ESCLARECIMENTOS SOBRE O ÂMBITO DE APLICAÇÃO DOS ATOS NORMATIVOS.....	17
11. Qual o âmbito de aplicação dos atos normativos?.....	17
12. Os padrões microbiológicos se aplicam aos ingredientes, incluindo os aditivos e as matérias primas?.....	18
13. Por que a ANVISA não regulamenta padrões microbiológicos para aditivos com fins industriais?.....	18
14. A Instrução Normativa nº 60/2019 deve ser utilizada na elucidação de surtos de DTA?....	18
15. Os limites da Instrução Normativa nº 60/2019 devem ser utilizados na interpretação de resultados de amostras de surtos de DTA?.....	19
16. Podem ser realizadas determinações analíticas de outros micro-organismos, suas toxinas ou metabólitos, não previstos na Instrução Normativa nº 60/2019?.....	19
17. Os produtos comercializados entre empresas devem atender aos padrões estabelecidos na IN?.....	20
ESCLARECIMENTOS SOBRE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E MÉTODOS ANALÍTICOS.....	20
18. Quais métodos analíticos podem ser utilizados na avaliação microbiológica de alimentos?	20

19. Métodos alternativos podem ser utilizados na avaliação microbiológica de alimentos? ...	21
20. Em quais situações pode ser realizada a composição (agrupamento) de amostras, para fins de análise?.....	21
21. Qual o limite de detecção do método para determinação de toxinas estafilocócicas?.....	21
22. Como os alimentos comercialmente estéreis devem ser analisados?	22
23. Qual deve ser a periodicidade das análises microbiológicas?	22
24. Em algumas categorias de alimentos são estabelecidos critérios para Salmonella e Enterobactérias, não se trata de duplicidade?	23
25. Qual a referência utilizada para estabelecimento do limite de detecção de toxina estafilocócica?.....	24
26. Como deve ser realizado o ensaio de histamina para pescados?.....	24
27. Sobre o padrão microbiológico de “suplementos em cápsulas, drágeas e comprimidos” deve-se aplicar os parâmetros de produtos não-estéreis, conforme estabelecido na Farmacopeia Brasileira. Os métodos empregados devem ser aqueles constantes da Farmacopeia Brasileira VI edição ou pode-se utilizar outras referências bibliográficas de alimentos?.....	24
28. Como deve ser interpretado o resultado de Salmonella para carne de suínos, em uma coleta de amostra representativa? E em uma coleta de amostra indicativa?	25
29. Para carne crua de aves, caso o resultado de Salmonella genérica (Salmonella spp.) seja negativo, deve-se realizar ensaio para Salmonella Typhimurium e Salmonella Enteritidis?.....	26
30. Para as categorias específicas 5a e 5b, Anexo I da Instrução Normativa, quando houver identificação de salmonela monofásica, Salmonella (1,4[5],12:-:1,2) ou Salmonella (1,4[5],12:i:-), como o resultado deve ser interpretado?	26
31. Para as categorias específicas 5a e 5b, Anexo I da Instrução Normativa, no relatório de ensaio devemos expressar Salmonella Enteritidis e Salmonella Typhimurium, ou somente Salmonella spp ?.....	27
32. Caso o resultado de Salmonella genérica seja positivo e o LACEN não realize a tipificação de Salmonella?.....	27
ESCLARECIMENTOS SOBRE PLANOS DE AMOSTRAGEM	27
33. O que é um plano de amostragem?.....	27
34. Qual a finalidade de um plano de amostragem?.....	28
35. Quais os componentes de um plano de amostragem?	28
36. Como foram definidos os planos de amostragem da Instrução Normativa n. 60/2019?....	28
37. Como são classificados os planos de amostragem?	31
38. Como foram definidas as classes dos planos de amostragem representativos, constantes da Instrução Normativa n.60/2019?.....	31
39. De quem é a responsabilidade de definir a aplicação do tipo de plano, se de duas ou de três classes? Do fabricante?.....	32

40. Podem ser utilizados planos de amostragem alternativos?	32
41. Como são classificadas as amostras coletadas, para fins de análise?.....	33
42. Por que foi estabelecido, para Salmonella em carne de suínos, o plano de amostragem $n=5$ e $c=1$?.....	33
ESCLARECIMENTOS SOBRE O ESTABELECIMENTO DE LIMITES	34
43. Como foram estabelecidos os limites m e M ?.....	34
44. Quando a empresa encaminha uma única amostra de seu produto para um laboratório externo, qual padrão deve ser considerado para o produto em questão? O limite estabelecido como " M " ou o limite estabelecido como " m "?	35
45. Por que foi estabelecido o limite de 100 UFC/g para Listeria monocytogenes em alimentos prontos para o consumo?.....	36
46. Qual a referência utilizada para estabelecimento dos limites de Cronobacter spp?.....	37
47. Qual a referência utilizada para estabelecimento do limite para histamina?.....	38
48. Por que foi estabelecido Ausência de Salmonella Enteritidis e Salmonella Typhimurium em carnes cruas de aves?.....	39
ESCLARECIMENTOS SOBRE AS DEFINIÇÕES.....	45
49. No que consiste uma amostragem indicativa?	45
50. No que consiste uma amostragem representativa?	45
51. Qual a diferença entre unidade amostral e unidade analítica?.....	45
52. O que significa alimento pronto para oferta ao consumidor?	46
53. O que é esterilidade comercial?	46
54. Como identificar um alimento comercialmente estéril, para fins de aplicação do Anexo III? 46	
55. O que é considerado tratamento térmico efetivo?	49
56. O que é alimento preparado pronto para consumo?.....	49
57. Qual a diferença entre alimento preparado pronto para consumo e alimento pronto para consumo?	50
58. Qual a diferença entre alimento semielaborado e alimento pronto para consumo?.....	50
ESCLARECIMENTOS SOBRE A INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS E AÇÕES EM CASO DE DESCUMPRIMENTO DOS PADRÕES.....	51
59. Como interpretar os resultados, considerando os valores de " c ", " m " e " M " atribuídos no padrão microbiológico?.....	51
60. Qual o limite permitido para amostra indicativa, tendo em vista que a IN n. 60/2019 não possui a coluna "Tolerância para Amostra Indicativa"? Ou seja, qual limite (m ou M) devemos considerar para amostra indicativa?	52
61. Qual a responsabilidade da cadeia produtiva de alimentos?	54

62. Quando a cadeia produtiva de alimentos deve investigar as causas de resultados não conformes?.....	55
63. Quando as medidas previstas na Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 24, de 8 de junho de 2015, devem ser adotadas?	55
64. Quando a cadeia produtiva de alimentos deve investigar a segurança de outros lotes? ...	56
65. Qual é o prazo para que os produtos se adequem ao novo marco regulatório?.....	56
ESCLARECIMENTOS SOBRE ENQUADRAMENTO DE ALIMENTOS.....	56
66. Quais alimentos devem ser pesquisados quanto à presença de <i>Listeria monocytogenes</i> ?.	56
67. Em qual categoria se enquadra os produtos que contém mais de um tipo de carne?.....	57
68. No caso dos suplementos em cápsulas, cujo conteúdo é líquido, em qual categoria ele deve ser enquadrado?.....	57
69. Serão considerados alimentos prontos para consumo apenas aqueles cuja subcategoria traz o termo "prontos para consumo"?.....	57
70. Houve harmonização dessa legislação com as legislações do MAPA? Por que são identificados critérios diferentes entre os órgãos reguladores?.....	58
71. Caso uma análise fiscal resulte em "qualidade intermediária aceitável" será gerado processo administrativo para a empresa?.....	58
72. As empresas devem realizar análises de toxina estafilocócica?	58
73. Para suplementos em pó, categoria 15a, a análise de enterotoxinas estafilocócicas está prevista somente para produtos de base proteica. Para suplementos em pó que possuem em maior quantidade proteína isolada de soja, seria necessário realizar essa análise?	58
74. Por que não foram estabelecidos padrões microbiológicos para óleos vegetais na IN 60/2019?	59
75. Por que foi incluída a categoria específica "Fritos ou assados com ou sem adição de outros ingredientes" na "Categoria 2 - Hortaliças, Raízes, Tubérculos, Fungos Comestíveis e Derivados"? Por que o limite máximo ($M = 10^2$), para <i>Escherichia coli</i> não foi aceito?	60
76. O que significa o termo <i>perecível</i> , tal como consta na "Categoria 20 - cacau, chocolates, confeitos, produtos para confeitaria, pastas e doces"?.....	61
ESCLARECIMENTOS SOBRE A VIGÊNCIA DOS ATOS NORMATIVOS.....	61
77. Qual o procedimento necessário para incluir ou atualizar os padrões microbiológicos de alimentos?.....	61
78. Deve-se aguardar a data de vigência da Instrução Normativa para aplicar os padrões estabelecidos na IN 60/2019?	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

I – INTRODUÇÃO

O presente documento é um instrumento informativo, não-regulatório, de caráter não-vinculante, destinado unicamente a esclarecer dúvidas de modo a auxiliar na implementação dos atos normativos relacionados aos padrões microbiológicos de alimentos. O objetivo deste documento é fornecer esclarecimentos sobre os requisitos microbiológicos aplicáveis aos alimentos, estabelecidos por meio das seguintes Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) e Instrução Normativa (IN):

I - RDC nº 331/2019, que dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação; e

II - IN nº 60/2019, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos.

Espera-se que as orientações possam auxiliar as empresas fabricantes de alimentos e os órgãos do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) na correta aplicação dos regulamentos técnicos vigentes.

A 2ª Edição possui 78 perguntas e respostas com orientações atualizadas sobre a aplicação do novo marco regulatório de padrões microbiológicos. Basicamente, foram inseridos ou alterados os seguintes questionamentos em relação à última edição: a) Pergunta nº 27, sobre os métodos analíticos aplicáveis à cápsulas, drágeas e comprimidos; b) Pergunta nº 60, sobre os limites aplicáveis à amostra indicativa; c) Pergunta nº 74, sobre a ausência de padrões microbiológicos para óleos vegetais; d) Pergunta nº 75, com esclarecimentos sobre a categoria 2g; e) Pergunta nº 76, com esclarecimentos sobre o termo 'pericível'; f) Pergunta nº 78, sobre a aplicação e prazo de adequação da IN n. 60/2019.

Ademais, foi necessária a renumeração das perguntas a fim de garantir sua organização quanto aos respectivos temas, após a inclusão dos novos questionamentos. Pequenas correções gramaticais ou visando maior clareza das respostas também foram efetuadas em todo o documento.

Detalhes sobre o processo de construção da proposta regulatória e relatórios sobre a análise das contribuições recebidas durante as consultas públicas

podem ser encontrados no portal da Anvisa, disponíveis em:
<http://portal.Anvisa.gov.br/alimentos/processos-regulatorios>

Para esclarecimento de dúvidas adicionais, entre em contato com a Central de Atendimento da Anvisa: <http://portal.Anvisa.gov.br/central-de-atendimento>

II – LISTA DE ABREVIATURAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa)

Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC)

Bacteriological Analytical Manual (BAM/FDA).

Boas Práticas de Fabricação (BPF)

Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA)

Comunidade Europeia (CE)

Doença Transmitida por Alimento (DTA)

European Food Safety Authority (EFSA)

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)

Food Chemical Codex (FCC)

Gerência Geral de Alimentos (GGALI)

Health Protection Agency (HPA)

Instrução Normativa (IN)

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)

International Organization for Standardization (ISO)

Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN)

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA)

Ministério da Saúde (MS)

Official Methods of Analysis of AOAC International (AOAC)

Resolução de Diretoria Colegiada (RDC)

Serviço de Inspeção Federal (SIF)

Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS)

Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA)

Standard Methods for the Examination of Dairy Products (APHA)

The Food Safety Authority of Ireland (FSAI)

The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)

World Health Organization (WHO)

III – PERGUNTAS E RESPOSTAS

ESCLARECIMENTOS SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS

1. O que é um padrão microbiológico?

Padrão microbiológico é um critério que define a aceitabilidade de um lote ou processo de alimento, baseado na ausência/presença ou na concentração de micro-organismos, suas toxinas e metabólitos por unidade de massa, volume, área ou lote.

2. Qual o objetivo do estabelecimento de padrões microbiológicos para alimentos?

O objetivo da Resolução - RDC n. 331/2019 e da Instrução Normativa n. 60/2019 é proteger a saúde dos consumidores fornecendo padrões microbiológicos a serem adotados pela cadeia produtiva de alimentos.

Padrões microbiológicos são estabelecidos para apoiar a tomada de decisão sobre um alimento baseado em testes microbiológicos, ou seja, são parâmetros usados para verificar se o alimento à venda é seguro e adequado, e se os controles de manuseio e as práticas de higiene de uma empresa de alimentos são adequados.

Ressaltamos, entretanto, que a segurança dos alimentos é garantida pela adoção conjunta de uma abordagem preventiva, ou seja, o emprego de Boas Práticas e, quando necessário, o uso de princípios de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

3. Quais são os componentes do padrão microbiológico?

São componentes do padrão microbiológico: o alimento, o ponto específico da cadeia em que este padrão é aplicável, o micro-organismo, os limites microbiológicos (m, M) e o plano de amostragem. Este último compreende o número de unidades amostrais a serem coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente (n), o tamanho da unidade analítica ou alíquota da amostra a ser analisada (1g, 25g, 10g) e a indicação do número de amostras aceitáveis (c) entre os limites m e M.

4. Como foram definidas as categorias de alimentos presentes na Instrução Normativa n. 60/2019?

Para a elaboração da nova categorização de alimentos foram consideradas as categorias de alimentos constantes do livro da *International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)*, assim como outras categorias apontadas pelo setor produtivo.

As categorias gerais foram separadas em categorias específicas, quando justificasse a adoção de critérios microbiológicos distintos entre os alimentos da mesma categoria geral, em função de diferenças de processamento, forma de consumo, população a que se destina, entre outros. As categorias específicas foram nomeadas de modo a abarcar o maior número possível de alimentos relacionados.

Como os avanços tecnológicos na área de alimentos são inúmeros e a velocidade de atualização dos atos normativos não acompanham estes avanços, assim, a minuta de Instrução Normativa prevê, em seu art. 5º, o enquadramento do alimento em categoria com natureza e processamento similares.

Ainda, há uma categoria denominada "Alimento pronto para o consumo" que engloba, de forma geral, os alimentos destinados ao consumo direto, ou seja, sem a necessidade de tratamento térmico efetivo ou outro processo para a eliminação ou redução de micro-organismos a níveis seguros antes do consumo. Portanto, qualquer alimento pronto para consumo, que não possua uma categoria específica expressamente listada, deve ser enquadrado nessa categoria.

5. Como foram estabelecidos os padrões microbiológicos?

O padrão microbiológico foi estabelecido apenas onde há uma necessidade definida e quando a sua aplicação é prática. Essa necessidade é demonstrada, por exemplo, por evidências epidemiológicas de que o alimento em questão pode representar um risco para a saúde pública e que o estabelecimento de um critério é significativo para a proteção dos

consumidores, ou ainda, como indicação de uma avaliação de risco. Para estabelecimento dos padrões microbiológicos, foram considerados:

- Presença de micro-organismos patogênicos, suas toxinas ou metabólitos de relevância no alimento;
- Níveis quantitativos de micro-organismos de interesse para verificação de higiene e viabilidade de sua aplicação considerando as Boas Práticas;
- Características intrínsecas e extrínsecas do alimento e sua forma de preparo e consumo;
- Evidências epidemiológicas de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e probabilidade de ocorrência do micro-organismos no alimento;
- População a que se destina o alimento;
- Severidade da doença associada ao micro-organismo;
- Aplicabilidade de métodos de análise para a determinação dos micro-organismos ou suas toxinas e metabólitos;
- Normas e padrões internacionalmente reconhecidos, tais como, *Codex Alimentarius*, *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF).

Os micro-organismos incluídos nos padrões são amplamente aceitos como relevantes em alimentos, ou seja, como patógenos, indicadores ou deteriorantes. Micro-organismos cuja relevância na pesquisa de rotina em alimentos é duvidosa não foram incluídos.

6. Como interpretar os padrões estabelecidos nos Anexos da Instrução Normativa n. 60/2019?

Para ajudar na compreensão dos padrões microbiológicos e os tipos de planos possíveis, na tabela abaixo, ilustramos algumas possibilidades de padrões e explicamos como interpretá-los

Categorias Específicas	Micro-organismo	n	c	m	M
Alimento A	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
Alimento B	<i>Listeria monocytogenes</i> /g	10	0	10 ²	-
Alimento C	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	10 ²

Para o alimento A, o padrão estabelece que devem ser coletadas 5 unidades amostrais do alimento (n=5), a alíquota a ser analisada de cada unidade amostral é de 25g (unidade analítica), sendo que nenhuma unidade amostral (c=0) pode apresentar resultado positivo para *Salmonella* (m=Aus). O resultado pode ser classificado apenas em duas categorias: qualidade aceitável ou qualidade inaceitável, portanto, trata-se de um plano de duas classes baseado na Presença ou Ausência de um micro-organismo.

Para o alimento B, o padrão estabelece que devem ser coletadas 10 unidades amostrais do alimento (n=10) sendo que nenhuma unidade amostral (c=0) pode apresentar resultado maior que 10² UFC por grama (m). Também é um plano de duas classes, pois o resultado pode ser classificado em qualidade aceitável ou inaceitável, baseado na concentração de um micro-organismo.

Para o alimento C, o padrão estabelece que devem ser coletadas 5 unidades amostrais do alimento (n=5); duas unidades amostrais (c=2) podem apresentar resultado intermediário, ou seja, entre 10 UFC por grama (m) e 10² UFC por grama (M); e nenhuma unidade amostral pode apresentar resultado maior que 10² UFC por grama (M). O alimento pode ser classificado em três categorias: qualidade aceitável, qualidade intermediária ou qualidade inaceitável, portanto, trata-se de um plano de três classes baseado na concentração de um micro-organismo.

7. Como proceder quando não há padrão estabelecido para determinado alimento?

Para diversos "alimentos" não foram incluídos critérios microbiológicos nesta Resolução, pois estes se enquadram exclusivamente como ingredientes, não sendo ofertados diretamente ao consumidor, ou possuem características

intrínsecas (atividade de água, pH) que não permitem a multiplicação de micro-organismos (Ex.: mel, bebidas alcólicas, arroz e feijão crus, etc).

Para os alimentos prontos para o consumo que não possuem uma categoria especificamente listada, aplicam-se os padrões da categoria "Alimento pronto para o consumo", que compreende, de forma geral, os alimentos destinados ao consumo direto sem a necessidade de tratamento térmico efetivo ou outro processo para a eliminação ou redução de micro-organismos a níveis seguros.

Caso não seja um alimento pronto para o consumo, a Instrução Normativa traz um dispositivo que prevê o enquadramento do alimento em categoria com natureza e processamento similar.

8. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para coliformes a 45°C?

A pesquisa de coliformes foi substituída pela pesquisa de *Escherichia coli* ou Enterobacteriaceae, pelos seguintes motivos:

- os termos "Coliformes a 35°C" e "Coliformes a 45°C", como citado na Resolução RDC 12/2001, não são mais usados internacionalmente, uma vez que no teste de coliformes os micro-organismos que não fermentam a lactose não aparecem na determinação, mas podem ter importância sanitária e predominar no alimento, por exemplo, *Cronobacter*, *Shigella*, *Yersinia*, *E. coli* O157.
- o grupo dos coliformes não é um grupo taxonômico definido; pode incluir algumas espécies que fermentam lentamente lactose e que não são reconhecidamente coliformes, tais como, *Erwinia* e *Serratia*; ou deixar de acusar algumas linhagens que podem perder sua capacidade fermentativa como *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia*.
- os métodos de referência na análise microbiológica de alimentos não se limitam exatamente às temperaturas de incubação de 35°C e 45°C. As metodologias da *International Organization for Standardization*, por exemplo, preconizam incubação a 37±1°C para alimentos (ISO 7251:2005) e 36±2°C (ISO 9308-1:2014), para água de consumo humano.

- as análises com base no grupo de Enterobacteriaceae fornecem mais informações de segurança sobre a qualidade microbiológica do produto.

9. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para Clostrídios Sulfito Redutores?

Houve substituição do parâmetro de Clostrídios Sulfito Redutores à 46°C por *Clostridium perfringens* para atualização frente às metodologias internacionalmente reconhecidas. Nos ensaios de contagem de colônias em placas, a temperatura preliminarmente recomendada para *Clostridium perfringens* requer incubação de 35 a 37°C e, não de 46°C, como era realizado para a determinação de Clostrídios Sulfito Redutores à 46°C. Embora *Clostridium perfringens* cresça rapidamente entre 44-46°C, não é recomendado incubá-lo diretamente à temperatura de 46°C quando são utilizadas técnicas de plaqueamento ou contagem de colônias. Além disso, os ensaios quantitativos para a espécie *Clostridium perfringens* são tecnicamente simples para aplicação na rotina dos laboratórios e não requerem equipamentos e materiais demasiadamente sofisticados.

10. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para todos os indicadores higiênico-sanitários (por exemplo, mesófilos, bolores e leveduras, Enterobacteriaceae, psicrófilos, etc.)?

Porque o foco da ANVISA é a saúde pública. Sendo assim, a Instrução Normativa teve como objetivo estabelecer limites, principalmente, para micro-organismos patogênicos ou para micro-organismos indicadores de contaminação ou falhas de processamento (Ex.: *Escherichia coli* e Enterobacteriaceae).

Os micro-organismos relacionados a deteriorações ou perda de qualidade foram considerados somente em alimentos para os quais não há probabilidade de crescimento de outros indicadores, pela natureza do alimento (Ex.: alimentos com baixa atividade de água devido à secagem ou alta concentração de açúcares, gorduras ou sais) ou para aqueles alimentos cuja avaliação da qualidade têm grande importância, devido ao seu limitado tempo de prateleira (Ex.: carnes).

Entretanto, os fabricantes de alimentos são responsáveis por promover estudos e garantir a qualidade de seus produtos até o último dia do prazo de validade estipulado. Também são responsáveis por determinar as condições para conservação do produto no ponto de venda e na residência.

Alimentos com sinais visíveis de deterioração não são próprios para o consumo, sua qualidade é inaceitável, independente de atender ou não ao padrão microbiológico estabelecido, pois o padrão é estabelecido para indicar a qualidade do que está aparentemente conforme.

ESCLARECIMENTOS SOBRE O ÂMBITO DE APLICAÇÃO DOS ATOS NORMATIVOS

11. Qual o âmbito de aplicação dos atos normativos?

Como a concentração de um micro-organismo pode variar durante a sua produção, distribuição, comercialização e preparação, um padrão é estabelecido para um ponto específico da cadeia produtiva de alimentos, podendo não ser pertinente ou aplicável em outros pontos.

Os padrões microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa nº 60/2019 são aplicáveis ao alimento pronto para oferta ao consumidor, ou seja, aos alimentos acabados até o último dia do prazo de validade, considerando as condições de conservação estabelecidas pelo fabricante. Se o alimento reúne características que permitem a multiplicação de micro-organismos durante a distribuição e na casa do consumidor, o fabricante deverá adotar padrões mais restritos para o produto que sai da indústria de forma que o limite não seja ultrapassado até o último dia do prazo de validade.

Ressaltamos que a presente Resolução não estabelece “padrões” para ingredientes, incluindo matérias primas e aditivos, pois estes não são, geralmente, entregues à venda direta ao consumidor final e possuem especificação mínima definida em compêndios oficiais. Caso não exista essa especificação, o fabricante do alimento (produto acabado) deve avaliar seus fornecedores, considerar o seu processo de produção e escolher o ingrediente com especificação compatível ao padrão microbiológico do alimento.

12. Os padrões microbiológicos se aplicam aos ingredientes, incluindo os aditivos e as matérias primas?

Não. Os aditivos devem atender à especificação estabelecida no JECFA ou *Food Chemical Codex* (FCC), incluindo os limites microbiológicos, quando presente, conforme Portaria n. 540/1998.

Para os outros ingredientes devem ser observados os limites estabelecidos em especificações publicadas em monografias de referência, como FCC, Farmacopeias Oficiais, JECFA/FAO/WHO e *Codex Alimentarius*.

Na ausência de uma monografia de referência para o ingrediente ou de um limite microbiológico definido na monografia, ou ainda, caso seja desejável o cumprimento de limites menores que aqueles especificados em monografias, a especificação do ingrediente deve ser acordada entre o fornecedor e a empresa fabricante do alimento.

Uma especificação microbiológica é um critério aplicado como parte dos acordos de compra e determina a aceitabilidade de ingredientes, conforme necessário, de forma a garantir a segurança e qualidade do alimento. A especificação de um ingrediente deve ser definida de forma que os limites microbiológicos estabelecidos na IN para o alimento/produto acabado não sejam ultrapassados.

13. Por que a ANVISA não regulamenta padrões microbiológicos para aditivos com fins industriais?

Os aditivos já possuem especificações a serem seguidas estabelecidas em referências internacionais. Assim, o aditivo de uso comercial deve atender à especificação estabelecida no JECFA ou FCC, incluindo os limites microbiológicos, quando presente, conforme Portaria n. 540/1998.

14. A Instrução Normativa nº 60/2019 deve ser utilizada na elucidação de surtos de DTA?

Não. A investigação de surtos de DTA deve ser realizada conforme orientações e procedimentos estabelecidos no Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos do Ministério da Saúde. Os

padrões microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa não contemplam todos os patógenos possíveis de causar DTA, portanto, a determinação de quais micro-organismos devem ser pesquisados não deve ser orientada somente pelo Anexo da Instrução Normativa, mas principalmente, pelos dados clínicos e epidemiológicos do surto, pela tecnologia empregada na produção do alimento, inspeção das BPF e APPCC.

15. Os limites da Instrução Normativa nº 60/2019 devem ser utilizados na interpretação de resultados de amostras de surtos de DTA?

Não. Os limites (m e M) são estabelecidos de acordo com o processamento, forma de consumo, acondicionamento e público, considerando que são adotadas, pelas empresas fabricantes, as melhores práticas possíveis. Com exceção dos planos de duas classes, na maioria dos casos, estes limites são estabelecidos com concentrações de micro-organismos muito inferiores àqueles capazes de causar DTA, ou seja, abaixo da dose infectante. Logo estes limites não devem ser utilizados para concluir sobre a causa de um surto. A elucidação de surtos de DTA deve considerar os sinais, sintomas, período de incubação dos acometidos, micro-organismos isolados de amostras clínicas e bromatológicas e dose infectante, tal como estabelece o Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos do Ministério da Saúde.

16. Podem ser realizadas determinações analíticas de outros micro-organismos, suas toxinas ou metabólitos, não previstos na Instrução Normativa nº 60/2019?

Sim. De acordo com o art. 5º da Resolução – RDC n. 331/2018, os alimentos não podem conter micro-organismo patogênico, toxina ou metabólito que possa causar dano para a saúde humana. Assim, nos Anexos da Instrução Normativa nº 60/2019, foram estabelecidos limites para aqueles micro-organismos com maior probabilidade de ocorrência nas respectivas categorias de alimentos e que dispunham de teste microbiológico oficial capaz de identificá-los ou enumerá-los. No entanto, alterações na tecnologia de alimentos e emergências de micro-organismos patogênicos podem acarretar a introdução

de outros perigos (micro-organismos, toxinas ou metabólitos) não previstos na IN. Sendo assim, a cadeia produtiva de alimentos, como conhecedora de seus produtos e processos, deve implementar a realização de outras análises, quando necessário.

17. Os produtos comercializados entre empresas devem atender aos padrões estabelecidos na IN?

A Resolução-RDC se aplica aos alimentos prontos para oferta ao consumidor, ou seja, aos alimentos acabados. Os requisitos para aceitação de um ingrediente devem ser estabelecidos entre o fabricante do alimento e seu fornecedor, pois vão variar de acordo com o processamento do alimento (Ex.: pasteurização, esterilização). Portanto, as empresas que produzem ou fornecem ingredientes de uso exclusivamente industrial não precisam atender aos padrões estabelecidos nesta normativa, mas sim a especificação solicitada pelo seu comprador, exceto quando este mesmo ingrediente é também ofertado diretamente ao consumidor. Nesse caso, deve atender aos padrões microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa.

ESCLARECIMENTOS SOBRE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E MÉTODOS ANALÍTICOS

18. Quais métodos analíticos podem ser utilizados na avaliação microbiológica de alimentos?

Levando em consideração que existem diversos organismos internacionais que dispõem de métodos analíticos validados, com critérios de desempenho equivalentes, estabelecer um único método no padrão poderia ocasionar prejuízo para os laboratórios que já possuem outro método analítico implementado, sem que resulte em ganho de desempenho analítico.

Portanto, estabeleceu-se que os laboratórios devem utilizar métodos que constem de compêndios ou referências oficiais, tais como, *International Organization for Standardization (ISO)* e *Official Methods of Analysis of AOAC International, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA)*, *Standard Methods for the Examination of Dairy Products (APHA)*,

*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA),
Bacteriological Analytical Manual (BAM/FDA).*

19. Métodos alternativos podem ser utilizados na avaliação microbiológica de alimentos?

Sim. Métodos alternativos podem ser utilizados desde que validados por estudos comparativos intra e inter laboratoriais, que certifiquem que os resultados obtidos com o seu uso sejam equivalentes aos das metodologias descritas nos compêndios ou referências oficiais. Ou ainda, desde que os métodos alternativos sejam certificados por organismos independentes, de acordo com o protocolo estabelecido na norma ISO 16140 ou outros protocolos similares aceitos internacionalmente.

20. Em quais situações pode ser realizada a composição (agrupamento) de amostras, para fins de análise?

A composição (agrupamento) de amostras pode ser considerada no caso de testes de Presença/Ausência. No entanto, como os resultados do teste podem ser impactados pela composição, este procedimento só pode ser realizado caso esteja previsto e cumpra com as condições estabelecidas na referência oficial do método. Portanto, o método adotado deve prever a composição de amostras. A composição não deve ser utilizada para métodos de enumeração (quantificação) de micro-organismos.

21. Qual o limite de detecção do método para determinação de toxinas estafilocócicas?

Conforme estabelecido no § 3º do art. 3º da Instrução Normativa n. 60/2019, o limite de detecção do método para enterotoxinas estafilocócicas deve ser menor ou igual a 1 ng/g.

22. Como os alimentos comercialmente estéreis devem ser analisados?

O alimento comercialmente estéril deve ser microbiologicamente estável à temperatura ambiente, logo, não pode apresentar sinais de deterioração microbiológica, tais como, estufamento, vazamento, perda de vácuo ou deformação da embalagem, assim como, qualquer modificação na aparência, odor ou alteração significativa de pH.

Como nos demais parâmetros da Instrução Normativa, na esterilidade comercial não serão incluídos procedimentos relativos à metodologia, tais como, temperatura e tempo de incubação. Caso apresente qualquer alteração, ensaios específicos para determinação da causa da deterioração devem ser realizados, entretanto, a amostra já deve ser considerada de QUALIDADE INACEITÁVEL

Para determinação da causa da deterioração deve-se aplicar todos os procedimentos constantes em métodos internacionais para determinação da causa da deterioração do produto (ou esterilidade comercial). A interpretação dos resultados, quanto à causa da deterioração (subprocessamento, resfriamento inadequado, contaminação pós processamento) também deve ser realizada conforme o método.

23. Qual deve ser a periodicidade das análises microbiológicas?

É de responsabilidade da empresa determinar a frequência das análises, de forma a garantir que todos os seus produtos cumpram com os padrões microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa. A empresa deve definir, de acordo com as características específicas de seus produtos e seu processo (APPCC, BPF), o programa de controle de qualidade do alimento (produto final). O estabelecimento industrial deve conhecer todo o seu fluxo produtivo, estabelecer controles de processo e executar o plano de amostragem representativo, conforme estabelecido na Instrução Normativa. No entanto, a frequência de realização desta amostragem (Ex: a cada lote produzido) deve ser determinada pela empresa fabricante.

24. Em algumas categorias de alimentos são estabelecidos critérios para *Salmonella* e Enterobactérias, não se trata de duplicidade?

Não. Membros da família Enterobacteriaceae incluem as bactérias Gram negativas na forma de bastonetes retos, não esporogênicas, anaeróbias facultativas e oxidase negativas. *Escherichia* é o gênero tipo desta família, que inclui diversos outros gêneros de importância em alimentos, como *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* e *Yersinia*. As Enterobacteriaceae são utilizadas como indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação, porque são facilmente inativadas pelos sanitizantes e são capazes de colonizar vários nichos das plantas de processamento, quando a sanitização é falha. Além disso, são também indicadores de falha de processo ou de contaminação pós processo em alimentos pasteurizados, porque são facilmente destruídas pelo calor e não devem sobreviver ao tratamento térmico.

Enterobacteriaceae são indicadores úteis de higiene e de contaminação pós-processamento de alimentos processados. Sua presença em números elevados ($> 10^4$ por grama) em alimentos prontos para consumo indica que um nível inaceitável de contaminação ocorreu ou houve subprocessamento (por exemplo, cozimento inadequado). Teste para Enterobacteriaceae não é aplicável a frutas e vegetais frescos ou produtos contendo estes alimentos. Apesar de a bactéria *Salmonella* fazer parte desta família, o método utilizado para determinação de Enterobacteriaceae é generalista, não sendo específico para a *Salmonella*. Sendo assim, linhagens de *Salmonella* podem estar presentes em um alimento e não crescerem em meio de cultivo para determinação de Enterobacteriaceae. Por esta razão, a *Salmonella* é determinada por metodologia específica que envolve etapa de enriquecimento em meio líquido e incubação em meios de cultura que melhor permitem a sua multiplicação.

25. Qual a referência utilizada para estabelecimento do limite de detecção de toxina estafilocócica?

O limite, menos de 1ng/g, foi estabelecido em consonância com os critérios de segurança adotados pela Comunidade Europeia (*Comission Regulation (EC) n. 2073/ 2005*).

26. Como deve ser realizado o ensaio de histamina para pescados?

Deve ser realizada análise de uma amostra composta de 9 unidades amostrais, caso o resultado seja maior que 100mg/Kg, deve-se analisar as unidades amostrais individualmente para verificar se alguma apresenta resultado maior que 200mg/Kg.

27. Sobre o padrão microbiológico de “suplementos em cápsulas, drágeas e comprimidos” deve-se aplicar os parâmetros de produtos não-estéreis, conforme estabelecido na Farmacopeia Brasileira. Os métodos empregados devem ser aqueles constantes da Farmacopeia Brasileira VI edição ou pode-se utilizar outras referências bibliográficas de alimentos?

Em atenção a sua consulta esclarecemos que, para verificação dos padrões microbiológicos, deve-se utilizar métodos que constem de compêndios ou referências oficiais, tais como, Codex Alimentarius, International Organization for Standardization (ISO) e Official Methods of Analysis of AOAC International, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA), Standard Methods for the Examination of Dairy Products (APHA), Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA), Bacteriological Analytical Manual (BAM/FDA), Farmacopeia Brasileira ou Farmacopeia Americana, de acordo com sua aplicação (art. 10 da Resolução RDC n. 331/2019). Assim, o método escolhido deve contemplar, obrigatoriamente, em seu escopo de aplicação, a matriz de alimento a ser analisada, no caso, cápsulas, drágeas e comprimidos. Os micro-organismos pesquisados e seus limites devem aqueles estabelecidos na Farmacopeia Brasileira, conforme IN n. 60/2019 (Anexo I, item 15c).

28. Como deve ser interpretado o resultado de *Salmonella* para carne de suínos, em uma coleta de amostra representativa? E em uma coleta de amostra indicativa?

A Instrução Normativa n. 60/2019 estabelece, para carne crua de suínos, um plano de amostragem $n=5$ e $c=1$ para *Salmonella* sp. Assim, aceita-se que uma única unidade amostral, das cinco coletadas, apresente resultado positivo para *Salmonella*. Não há diferença na interpretação do resultado de amostras representativa e indicativa. Quando coletada amostra indicativa, o valor de c continua sendo 1, ou seja, admite-se a presença de *Salmonella* em apenas uma unidade amostral dentre as coletadas. Assim, independentemente do número de unidades amostrais coletadas (n), a autoridade sanitária irá considerar o resultado INSATISFATÓRIO COM QUALIDADE INACEITÁVEL, somente quando o número de unidades amostrais com resultado reportado como "Presença de *Salmonella*" for maior que 1. Por exemplo, caso seja analisada uma única unidade amostral ($n=1$) e o resultado seja "Presença de *Salmonella*", o resultado deve ser reportado como SATISFATÓRIO COM QUALIDADE INTERMEDIÁRIA; caso sejam analisadas mais de uma unidade amostral e os resultados sejam "Presença de *Salmonella*" para duas ou mais unidades amostrais, o resultado deve ser reportado como INSATISFATÓRIO COM QUALIDADE INACEITÁVEL.

Somente a autoridade sanitária competente pode realizar amostragem indicativa, conforme a finalidade da coleta, podendo decidir sobre medidas adicionais, como coleta de amostra representativa e/ou verificar o cumprimento do Art 15. da RDC nº 331/19, o qual indica que a cadeia produtiva de alimentos deve investigar as possíveis causas dos resultados satisfatórios com qualidade intermediária e adotar as ações corretivas necessárias para evitar que os resultados satisfatórios com qualidade intermediária voltem a ocorrer.

29. Para carne crua de aves, caso o resultado de *Salmonella* genérica (*Salmonella* spp.) seja negativo, deve-se realizar ensaio para *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis?

Não. O ensaio de tipificação (ou sorotipagem) de *Salmonella* deve ser realizado somente nos casos de resultado positivo para *Salmonella* genérica. Em caso de resultado positivo, para os alimentos das categorias 5a e 5b, a bactéria deve ser isolada e submetida à sorotipagem.

30. Para as categorias específicas 5a e 5b, Anexo I da Instrução Normativa, quando houver identificação de salmonela monofásica, *Salmonella* (1,4[5],12:-:1,2) ou *Salmonella* (1,4[5],12:i:-), como o resultado deve ser interpretado?

Caso o resultado de *Salmonella* seja positivo para as categorias 5a e 5b, faz-se necessária a sorotipagem da *Salmonella* isolada.

O esquema utilizado na sorotipagem é o de White-Kauffmann, baseado nas diferenças encontradas em estruturas superficiais das células, que são antigênicas. Essas estruturas são o envelope celular ou cápsula (antígeno capsular "Vi"), a parede celular (antígenos somáticos "O") e os flagelos (antígenos flagelares "H").

Mais de 2500 sorotipos de *Salmonella* já foram identificados. O esquema de White-Kauffmann identifica os sorotipos de *Salmonella* através de uma fórmula composta de números e letras, que definem o(s) antígeno(s) "O", "Vi" e "H" presentes. A sequência é: 1º) os antígenos somáticos O; 2º) o antígeno capsular Vi, se presente e, entre colchetes, se a presença não for constante naquele sorotipo; 3º) os antígenos flagelares da fase 1; e 4º) os antígenos flagelares da fase 2, se presentes.

A *Salmonella* Typhimurium clássica possui duas fases do antígeno flagelar H, fórmula antigênica 1,4,[5],12:i:1,2. *Salmonella* Typhimurium variante monofásica apresenta somente a expressão de uma fase do antígeno, não apresentando a segunda fase do antígeno codificada pelo gene *fljB*, a fórmula antigênica nesse caso é 1,4,[5],12:i:-. É possível também encontrar variantes que não expressam a primeira fase do antígeno, fórmula 1,4,[5],12:-:1,2.

Assim caso a sorotipagem tenha como resultado *Salmonella* 1,4,[5],12:i:- ou *Salmonella* 1,4,[5],12:-:1,2, estes sorotipos devem ser identificados como *Salmonella* Typhimurium e o produto do qual estes sorotipos foram isolados deve ser considerado de QUALIDADE INACEITÁVEL, ou seja, em desacordo com o padrão estabelecido.

31. Para as categorias específicas 5a e 5b, Anexo I da Instrução Normativa, no relatório de ensaio devemos expressar *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, ou somente *Salmonella* spp ?

Caso o resultado para o ensaio de *Salmonella* genérica seja negativo, basta indicar este resultado no laudo de análise. Em caso de resultado positivo, a bactéria deve ser isolada e submetida à sorotipagem e os resultados para *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium também deverão constar do laudo analítico.

32. Caso o resultado de *Salmonella* genérica seja positivo e o LACEN não realize a tipificação de *Salmonella*?

A bactéria deve ser isolada (cultura pura) e enviada ao Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções (FIOCRUZ) que possui capacidade analítica para a realização de sorotipagem de isolados de *Salmonella*. Foi acordado com o Laboratório de Referência receber os isolados dos diferentes Laboratórios de Saúde Pública, e emitir, em no máximo cinco dias, o resultado analítico para o LACEN e para a Anvisa.

ESCLARECIMENTOS SOBRE PLANOS DE AMOSTRAGEM

33. O que é um plano de amostragem?

Um plano de amostragem é um esquema que define o número de unidades amostrais a serem coletadas (n) e o número de unidades amostrais não conformes (c) permitidos para determinar a adequação de um lote.

34. Qual a finalidade de um plano de amostragem?

O plano de amostragem é estabelecido para que os resultados da análise microbiológica de um alimento reflitam, de forma fiel, as condições microbiológicas do alimento analisado, ou seja, o plano de amostragem deve assegurar que as amostras analisadas representam o lote de alimento como um todo.

Considerando que a análise microbiológica do produto todo ou de um lote inteiro de alimento é impraticável, por razões de custo e pelo caráter destrutivo deste tipo de análise, são analisadas amostras retiradas do alimento ou do lote. A determinação do número de amostras a serem analisadas e os critérios de decisão compõem o que se denomina um plano de amostragem.

Assim, os planos de amostragem são desenvolvidos com a finalidade de avaliar as condições microbiológicas de lotes e permitir um julgamento sobre a sua aceitação ou rejeição.

35. Quais os componentes de um plano de amostragem?

O plano de amostragem é constituído por n , c e a unidade analítica a ser reportada no resultado (ex: 25g, 1g, 10g).

- n é o número de unidades retiradas de um lote que serão analisadas independentemente (unidades amostrais); e
- c é o número máximo aceitável de unidades amostrais com contagem de micro-organismos acima do limite mínimo (m) e abaixo do limite máximo (M) estabelecidos.

36. Como foram definidos os planos de amostragem da Instrução Normativa n. 60/2019?

Planos de amostragem foram inicialmente propostos pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF – *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*) em 1974, e vêm sendo revistos desde então.

Segundo a ICMSF, os diferentes planos de amostragem podem pertencer a quinze categorias distintas, de acordo com o grau de risco que os micro-organismos presentes nos alimentos oferecem ao consumidor. Este grau de risco é determinado pelo tipo de micro-organismo presente (deteriorante, indicador ou patógeno), pela sua quantidade no alimento e pela probabilidade de seu número aumentar, diminuir ou se manter estável no alimento até o momento de ser consumido, bem como da população a que ele se destina e a gravidade da doença relacionada ao micro-organismo. Alguns micro-organismos são importantes porque deterioram os produtos (casos 1, 2 e 3), outros são indicadores da possível presença de micro-organismos patogênicos (casos 4, 5 e 6), outros são patogênicos mas causam doenças brandas e de difusão restrita (casos 7, 8 e 9), outros são patogênicos mas causam doenças brandas de difusão extensa (casos 10, 11 e 12) e outros são patogênicos e causam doenças graves (casos 13, 14 e 15).

Na Tabela abaixo estão apresentados os diferentes planos de amostragem atribuídos aos casos ICMSF. Os planos de amostragem para as categorias 1 a 9 são de três classes, enquanto para as categorias 10 a 15 são de duas classes. Conforme pode ser visto, à medida que o risco aumenta, aumenta também o rigor do plano de amostragem, com aumento de n e diminuição de c , sendo o mais tolerante $n = 5$ e $c = 3$ (caso 1) e o mais rigoroso $n = 60$ e $c = 0$ (caso 15).

Para a Instrução Normativa n. 60/2019 os alimentos e seus micro-organismos foram classificados segundo os casos do ICMSF; assim, para alguns alimentos/micro-organismos que apresentam maior risco ao consumidor ou se destinem a populações sensíveis foram adotados $n >$

Condições em que o alimento poderá ser manipulado ou consumido após a amostragem				
Grau de risco	Exemplos	Risco diminui	Risco não se altera	Risco pode aumentar
Utilidade: contaminação geral, vida de prateleira reduzida, deterioração incipiente	Contagem total de aeróbios, leveduras e bolores	Caso 1 n = 5, c = 3	Caso 2 n = 5, c = 2	Caso 3 n = 5, c = 1
Indicador: perigo baixo, indireto	Enterobacteriaceae, <i>Escherichia coli</i> genérica	Caso 4 n = 5, c = 3	Caso 5 n = 5, c = 2	Caso 6 n = 5, c = 1
Perigo moderado: geralmente não fatal, sem sequelas, geralmente de curta duração, sintomas autolimitantes, pode causar desconforto grave	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>V. parahaemolyticus</i>	Caso 7 n = 5, c = 2	Caso 8 n = 5, c = 1	Caso 9 n = 10, c = 1
Perigo grave: Incapacitante, mas geralmente não fatal, raras sequelas, duração moderada	<i>Salmonella</i> , <i>L. monocytogenes</i>	Caso 10 n = 5, c = 0	Caso 11 n = 10, c = 0	Caso 12 n = 20, c = 0
Perigo severo: para a população em geral ou em alimentos destinados a populações suscetíveis, podendo ser letal ou causar sequelas crônicas ou enfermidade de longa duração	Para a população em geral: <i>E. coli</i> O157:H7, neurotoxina de <i>C. botulinum</i> ; Para populações suscetíveis: <i>Salmonella</i> , <i>Chronobacter</i> spp., <i>L. monocytogenes</i>	Caso 13 n = 15, c = 0	Caso 14 n = 30, c = 0	Caso 15 n = 60, c = 0

Fonte: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Micro-organismos em Alimentos 8. Utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação de produto. Tradução de FRANCO, B. D. G. M.; TANIWAKI, M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. São Paulo: Blucher, 2015.

37. Como são classificados os planos de amostragem?

Os planos de amostragem são classificados em planos de duas ou de três classes, de acordo com os resultados possíveis.

Em um plano de duas classes, o alimento analisado pode ser considerado de qualidade aceitável ou inaceitável, quando o resultado está abaixo ou acima de um limite estabelecido (m).

Já em um plano de três classes, há dois limites (m e M) e o alimento analisado pode pertencer a uma terceira categoria, a de qualidade intermediária, definida pelos resultados que se encontram entre os limites m e M (Figura).

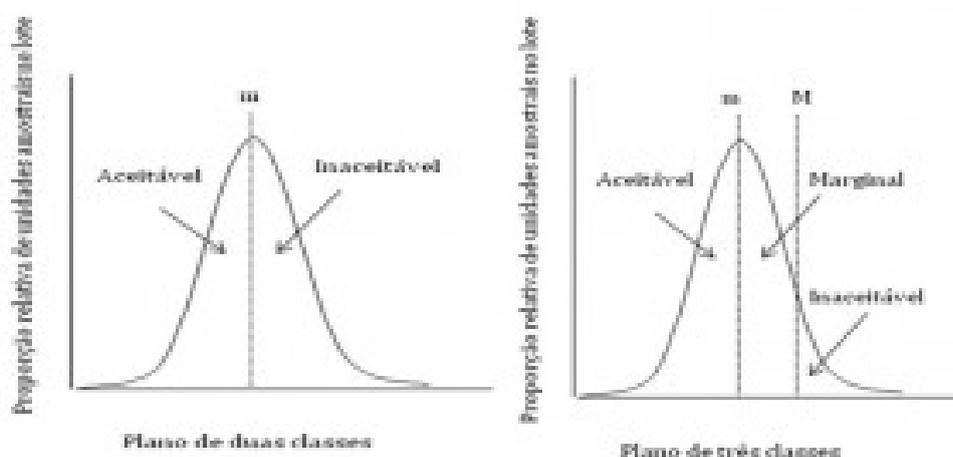


Figura. Representação dos resultados de um ensaio microbiológico, conforme plano de duas e três classes.

Fonte: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Micro-organismos em Alimentos 8. Utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação de produto. Tradução de FRANCO, B. D. G. M.; TANIWAKI, M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. São Paulo: Blucher, 2015.

38. Como foram definidas as classes dos planos de amostragem representativos, constantes da Instrução Normativa n.60/2019?

O Plano de duas classes (Presença/Ausência) foi utilizado para alimentos que podem apresentar micro-organismos em níveis tão baixos que a análise de uma pequena proporção de unidades amostrais não revelaria o micro-organismo. Este plano é aplicável para patógenos que causam doenças mesmo em contagens baixas ou para os quais existe um nível muito baixo de tolerância (m), *Salmonella*, por exemplo.

O Plano de duas classes baseado em concentração foi utilizado quando baixos níveis de contaminação do micro-organismo são aceitáveis (m). Este plano pode ser aplicável para patógenos que são improváveis de causar doença em níveis baixos, como *L. monocytogenes*.

O Plano de três classes foi utilizado para organismos indicadores de higiene ou para patógenos que não causam doença quando presentes em níveis baixos (m). Este tipo de plano é aplicável onde existe um limite superior claro que define concentrações inaceitáveis que não devem ser excedidas (M), tais como *Escherichia coli*, estafilococos coagulase positiva.

O plano de amostragem, se de duas ou três classes, foi estipulado na Instrução Normativa, de acordo com as premissas acima descritas. Na Instrução Normativa n. 60/2019, os padrões que possuem $c \geq 1$ são planos de três classes; os padrões que possuem $c=0$ são planos de duas classes.

39. De quem é a responsabilidade de definir a aplicação do tipo de plano, se de duas ou de três classes? Do fabricante?

O plano de amostragem, se de duas ou três classes, já está estipulado na Instrução Normativa, de acordo com as premissas anteriormente descritas (item 37). Na Instrução Normativa n. 60/2019, os padrões que possuem $c \geq 1$, são planos de três classes; os padrões que possuem $c=0$ são planos de duas classes. Não cabe a empresa escolher se deve aplicar um plano de duas ou de três classes, pois não é discricionário.

40. Podem ser utilizados planos de amostragem alternativos?

Sim. O art. 9º da Resolução RDC n. 331/2019 estabelece que as empresas de alimentos devem seguir o plano de amostragem representativo estabelecido na Instrução Normativa n. 60, de 23 de janeiro de 2019, ou planos alternativos, caso estes forneçam proteção equivalente, que deve ser comprovada por meio de histórico de produção e implementação de sistema de qualidade e segurança de alimentos documentado e validado.

Adicionalmente, o § 1º do art. 9º estabelece que as autoridades sanitárias podem coletar amostra indicativa, ou seja, amostra constituída por um número

de unidades amostrais (n) inferior ao estabelecido no plano de amostragem representativo, conforme a finalidade de coleta.

41. Como são classificadas as amostras coletadas, para fins de análise?

As amostras são classificadas como representativas ou indicativas, de acordo com o número de unidades amostrais coletadas.

A amostra representativa é constituída por um determinado número de unidades amostrais (n), retiradas aleatoriamente de um mesmo lote, conforme estabelecido no plano de amostragem. O plano de amostragem representativo é aquele indicado (n, c) nos Anexo I e II da Instrução Normativa. A avaliação de lotes e ou partidas, pelas empresas de alimentos, deve ser realizada pela aplicação da amostragem representativa, com exceção de empresas que possuam um plano alternativo de amostragem comprovadamente capaz de fornecer proteção equivalente ao plano representativo estabelecido na Instrução Normativa n. 60/2019, tal como estabelecido no § 1º, art. 9º da Resolução RDC n. 331/2019.

A amostra indicativa é aquela constituída por um número de unidades amostrais (n) inferior ao estabelecido no plano de amostragem representativo. A amostra indicativa pode ser utilizada pela autoridade sanitária para fins de monitoramento e investigação, por exemplo, pois possibilita uma varredura maior dos produtos distribuídos.

42. Por que foi estabelecido, para *Salmonella* em carne de suínos, o plano de amostragem n=5 e c=1?

A Anvisa realizou diversas discussões com o MAPA e o setor produtivo a fim de estabelecer o padrão microbiológicos para carnes cruas de suínos. Como o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), órgão responsável pelo controle da produção e industrialização de produtos de origem animal, estabelece, por meio da Instrução Normativa nº 58, de 17 de dezembro de 2018, parâmetros para o controle e monitoramento de *Salmonella* spp, tolerando 1 amostras positiva em cada 8 analisadas (n=8; c=1; m=Aus; prevalência de 25%). Não é coerente que a Anvisa estabeleça um

plano com $c=0$ para o comércio de carne de suínos in natura, uma vez que há tolerância superior estabelecida na etapa de industrialização e não há etapa de redução microbiana posterior.

Uma abordagem baseada em sorotipos, tal como foi estabelecida para carne de aves, não seria coerente nesse momento, pois não há ainda no país controle de sorotipos de *Salmonella* em carcaças de suínos na indústria. Além disso, ainda não há referência internacional que adote padrão baseado em sorotipos para carne de suínos.

Assim, considerando que a diminuição da prevalência nos produtos crus diminui a probabilidade de ocorrência de contaminação cruzada e, conseqüentemente, salmonelose, foi estabelecido o seguinte critério para *Salmonella* em carne de suínos crua in natura foi $n=5$, $c=1$, $m=Aus$. Ou seja, de cinco amostras analisadas, apenas uma poderia apresentar *Salmonella*, uma vez que este micro-organismo é destruído pelo cozimento e não há o hábito de consumo de carne de suínos crua.

Futuramente esse padrão pode ser atualizado, considerando as medidas de controle que vem sendo adotadas pelo setor produtivo e os dados gerados durante os controles e programas de monitoramento.

ESCLARECIMENTOS SOBRE O ESTABELECIMENTO DE LIMITES

43. Como foram estabelecidos os limites m e M ?

Para estipular os valores de m e M , o rigor relativo dos casos ICMSF foi considerado, assim utilizou-se valores hipotéticos de m e M da ICMSF, nos quais a concentração média de micro-organismos que seria corretamente rejeitada com probabilidade de 95% é determinada com base nos cálculos de Van Schothordt et al. (2009). Para tanto, admite-se que o desvio padrão seja 0,8 e que haja uma distribuição log normal de micro-organismos. De acordo com os casos ICMSF, à medida que a severidade do perigo aumenta, o rigor dos casos deve aumentar com o aumento de n , diminuição de c ou diminuição da concentração média de micro-organismos permitida (limites m e M).

Embora os valores hipotéticos de m e M da ICMSF tenham sido considerados, de acordo com o caso no qual o alimento/micro-organismo se enquadrava,

também foram considerados os critérios estabelecidos em referências internacionais (Regulamento CE 2073/2005) e referências para os alimentos prontos para o consumo, tais como, os limites estabelecidos em guias (HPA, 2009; FSAI, 2014).

44. Quando a empresa encaminha uma única amostra de seu produto para um laboratório externo, qual padrão deve ser considerado para o produto em questão? O limite estabelecido como "M" ou o limite estabelecido como "m"?

Os limites "M" e "m" não possuem relação com o número de amostras analisadas.

A avaliação de lotes e ou partidas pelas empresas de alimentos, quando realizada, deve ser conduzida mediante amostragem representativa, com exceção de empresas que possuam um plano alternativo de amostragem comprovadamente capaz de fornecer proteção equivalente ao plano representativo estabelecido na Instrução Normativa n. 60/2019, tal como estabelecido no § 1º, art. 9º da Resolução RDC n. 331/2019. Somente a autoridade sanitária competente pode realizar amostragem indicativa, conforme a finalidade da coleta.

A empresa que realiza controle de qualidade de sua produção somente por meio de uma amostra (indicativa) está contrariando a legislação sanitária. Este tipo de amostra não representa um lote de alimento em sua totalidade. Assim, um resultado negativo para um micro-organismo ou contagem abaixo do limite estabelecido não deve ser interpretado como SATISFATÓRIO para todo um lote.

Caso a amostra indicativa seja coletada por uma autoridade sanitária, a interpretação deve ocorrer conforme os arts. 13 e 14 da Resolução RDC n. 331/2019. Independente do n coletado, o valor de c, m e M permanecem os mesmos. Em um plano de duas classes (Ex.: Presença/Ausência) uma amostra indicativa será considerada Insatisfatória quando o resultado for maior que m. Em um plano de três classes (Ex.: *Escherichia coli*) uma amostra indicativa será considerada insatisfatória em duas situações: a) quando o número de unidades amostrais com resultados entre m e M for maior que c; ou b) quando

alguma unidade amostral apresentar resultado maior que M. Assim, em um plano de duas classes, m é considerado o limite e, em um plano de três classes, os dois limites, m e M, devem ser considerados.

45. Por que foi estabelecido o limite de 100 UFC/g para *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo?

Listeria monocytogenes são micro-organismos amplamente distribuídos na natureza. Podem ser encontrados no solo, na água, na vegetação e nas fezes de alguns animais contaminando os alimentos (WHO, 2018).

A listeriose de origem alimentar é uma das doenças mais graves transmitidas por alimentos. É uma doença relativamente rara, com 0,1 a 10 casos por 1 milhão de pessoas por ano, dependendo dos países e regiões do mundo. Embora o número de casos de listeriose seja pequeno, a alta taxa de mortalidade associada a essa infecção torna-a uma preocupação significativa para a saúde pública (WHO, 2018).

Ao contrário de muitos outros micro-organismos causadores de doenças de origem alimentar, *L. monocytogenes* pode sobreviver e multiplicar em baixas temperaturas, normalmente encontradas em refrigeradores. Os alimentos contaminados com elevado número de *L. monocytogenes* são a principal via de infecção. A infecção também pode ser transmitida entre seres humanos, principalmente de mulheres grávidas a bebês durante a gestação (WHO, 2018).

Os alimentos mais frequentemente associados à listeriose incluem:

- alimentos com uma vida de prateleira longa sob refrigeração (*L. monocytogenes* pode multiplicar em níveis significativos na temperatura de refrigeração quando dado tempo suficiente); e
- alimentos que são consumidos sem tratamento térmico adicional, como cozimento, que matariam *L. monocytogenes*.

A RDCn.12/2001 estabelece limite para *L. monocytogenes* apenas em queijos, ao contrário dos regulamentos internacionais, que estabelecem limite para *L. monocytogenes* em todos alimentos prontos para o consumo, ou seja, há limite

para todo alimento destinado ao consumo direto que não passe por tratamento térmico, ou outro processo efetivo, para a eliminação ou redução de micro-organismos a níveis seguros.

A seleção dos critérios microbiológicos de segurança para a determinação de *Listeria monocytogenes* foi realizada com base nas recomendações do Codex Alimentarius (CAC/GL 61 – 2007) e da Comunidade Europeia (Comission Regulation (EC) n. 2073/ 2005), nas quais o consumo de alimentos contendo *L. monocytogenes* em valores maiores que 100 UFC/g é considerado como risco elevado.

46. Qual a referência utilizada para estabelecimento dos limites de *Cronobacter* spp?

Enterobacter sakazakii (*Cronobacter* spp.) é um patógeno emergente de origem alimentar associado a casos raros, porém severos, de enfermidade sendo vários destes casos relacionados ao consumo de fórmulas infantis em pó contaminadas. Nos surtos relatados, a taxa de mortalidade depende do tipo de infecção sendo de aproximadamente 10% para os bebês que apresentam bacteremia e em torno de 44% para aqueles que apresentam meningite. A maioria dos sobreviventes apresenta complicações graves como distúrbios neurológicos (FAO/WHO, 2006).

Mundialmente existem diversos relatos de casos sobre o isolamento de *Cronobacter* spp. em alimentos em pó e fórmulas preparadas. *Cronobacter* spp. foi detectada em outros tipos de alimentos, mas os surtos têm sido mais associados ao consumo de fórmulas infantis.

A segurança microbiológica de fórmulas infantis recebeu muita atenção após a emergência de *Enterobacter sakazakii* como um patógeno oportunista importante e a publicação da ICMSF (2005). Numerosos estudos taxonômicos com os isolados de *E. sakazakii* levaram à sua reclassificação em um novo gênero, *Cronobacter*, abrangendo várias espécies intimamente relacionadas (IVERSEN et al., 2008). Três consultas da FAO e WHO (2004, 2006, 2008) a especialistas resultaram em recomendações de medidas de controle adequadas para *Cronobacter* spp. em fórmulas infantis, e também à revisão

do *Code of Hygienic Practices for Powdered Formulae for Infants and Young Children* (CAC/RCP 66 – 2008). Este código define fórmulas infantis como alimentos destinados a uma aplicação nutricional especial para lactentes de até seis meses de idade, faixa etária em que *Cronobacter* spp. é relevante e considerada de risco elevado.

A IN n. 60/2019 estabelece padrão para *Cronobacter* spp. em fórmulas infantis em pó para lactentes (até seis meses de idade); fórmulas infantis destinadas a necessidades dietoterápicas específicas, fórmulas de nutrientes apresentadas ou indicadas para recém-nascidos de alto risco e outros alimentos especialmente formulados para lactentes, com base nas recomendações do *Codex Alimentarius* (CAC/RCP 66 – 2008) e da Comunidade Europeia (Commission Regulation (EC) n. 2073/ 2005).

O não estabelecimento da determinação de *Cronobacter* spp. para fórmulas líquidas é porque essas devem ser estéreis.

47. Qual a referência utilizada para estabelecimento do limite para histamina?

A intoxicação por histamina, também conhecida como envenenamento por escombrídeos, é atribuída ao desenvolvimento de bactérias que descarboxilam a histidina, tais como Enterobacteriaceae, produzindo elevados níveis de histamina e outras aminas biogênicas quando o pescado não é imediatamente refrigerado após captura. Os peixes mais susceptíveis à produção de histamina são aqueles com elevado teor de histidina, pertencentes à família Scombridae, tais como, o atum, a cavala e o bonito, embora histidina também possa ser encontrada em peixes das famílias Clupeidae, Engraulidae, Coryfenidae, Pomatomidae e Scombrosidae.

Muitos casos de intoxicação envolvem níveis maiores ou iguais a 50mg/100g de histamina e raramente são fatais (LEHANE & OLLEY, 2000). Refrigeração rápida após a captura e alto padrão de higiene na manipulação e durante o processamento impedem o desenvolvimento das bactérias e formação da toxina. A histamina é termoestável e, se produzida na matéria-prima, não será eliminada pelo cozimento, pela defumação a quente e nem mesmo pelo processamento térmico de esterilização comercial. Além disso, os peixes

podem conter níveis tóxicos de histamina sem apresentar qualquer dos parâmetros sensoriais habituais característicos da deterioração. A referência empregada foi a da Comunidade Européia (CE, 2007) que estabelece como critério de segurança em pescados com alto teor de histidina, frescos e anchovados, os limites de 10mg/100g (ou 100mg/Kg) e 20mg/100g (ou 200mg/Kg).

48. Por que foi estabelecido Ausência de *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium* em carnes cruas de aves?

A discussão acerca do padrão microbiológico de carnes cruas de aves envolveu uma extensa discussão entre Anvisa, MAPA e setor produtivo.

Na Resolução-RDC nº12/2001, que dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos, não consta critério microbiológico para *Salmonella* em carne crua de aves. Na época, não houve consenso sobre a adoção deste tipo de critério.

Entretanto, o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. em carne de aves e perus é realizado, nos abatedouros do Brasil desde 2003, conforme Instrução Normativa nº 70, de 6 de outubro de 2003. Essa IN foi atualizada por meio da Instrução Normativa nº 20, de 21 de outubro de 2016, que estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor.

Avaliação de risco conduzida pela FAO/WHO (2002) sugere que uma redução de 50% na prevalência da contaminação em carcaças de aves resultaria em uma redução de 50% no risco esperado de salmonelose por porção consumida, uma redução de 40% na concentração de células de *Salmonella* resultaria em uma redução de 65% no risco da doença por porção consumida.

Os surtos de salmonelose envolvendo carne de aves podem ocorrer em função do cozimento inadequado, recontaminação da carne de ave cozida ou, ainda, por contaminação cruzada de outros alimentos prontos para consumo. É importante ressaltar que o cozimento adequado da carne não elimina o risco

de doença por meio da contaminação cruzada. A contaminação cruzada ocorre, geralmente, antes do cozimento da carne, mediante manipulação inadequada da carne crua (Ex.: utilização de utensílios contaminados). A contaminação cruzada pode de fato ser a fonte predominante de risco da doença (WHO, 2002). Em geral, a contaminação cruzada por *Salmonella* é muito mais difícil de prevenir do que se pensava. A Organização Mundial da Saúde estimou que a contaminação cruzada causa dez vezes mais infecções por *Salmonella* do que o consumo de carnes mal cozidas (WHO, 2002).

Uma vez que a aplicação de critérios para patógenos transmitidos por alimentos em etapas específicas da cadeia do alimento é de grande importância para melhoria da segurança microbiológica de alimentos e que, de 2001 até a presente data, muitas melhorias foram implementadas para o controle de *Salmonella* na produção de carne de aves, a ANVISA considerou primordial o estabelecimento de um critério para *Salmonella* neste tipo de carne.

Segundo a Instrução Normativa nº 20/2016, do MAPA, os estabelecimentos produtores devem monitorar os níveis de contaminação das carcaças por *Salmonella*, nos abatedouros, de acordo com seus programas de autocontrole. Conforme o tamanho do estabelecimento, a Instrução Normativa nº 20/2016 estabelece o seguinte plano de autocontrole em estabelecimentos para abate de frangos:

Classificação dos estabelecimentos	n	c	Nº de ciclos/ano	Frequência da coleta
P	8	2	6	1 amostras/semana
M	26	6	4	2 amostras/semana
G	51	12	5	5 amostras/semana
GG	51	12	10	10 amostras/semana

n=número de amostras a serem coletadas

c=número máximo de amostras positivas aceitáveis

A Instrução Normativa nº 20/2016 também estabelece a adoção de medidas de controle específicas em relação à presença dos sorotipos *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis, sorotipos mundialmente considerados de relevância em saúde pública. A ação no caso de diagnóstico de *Salmonella*

spp. em lotes de aves vivas é o abate em separado dos lotes, com objetivo de minimizar a contaminação cruzada nos abatedouros. No caso de lotes em que for detectada presença de *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis, a carne obtida deve ser destinada a tratamento térmico para eliminação do micro-organismo ou produção de carne mecanicamente separada.

Após conhecer o contexto de controle de salmonela em abatedouros do Brasil, a Anvisa levantou as abordagens adotadas em outros países. Resumidamente, as abordagens encontradas baseiam-se em:

- *Salmonella* genérica
- Linhagens isoladas de surtos;
- Sorotipos de *Salmonella*;
- Linhagens com resistência antimicrobiana.

A abordagem baseada em *Salmonella* genérica contempla duas alternativas: estabelecer um plano de amostragem com tolerância zero, ou seja, a detecção de *Salmonella* em qualquer amostra acarretaria o recolhimento do produto; ou estabelecer um plano de amostragem que permitia a detecção de *Salmonella* em algumas unidades amostrais. A primeira opção envolve diversas medidas relacionadas não apenas com as instalações de abate e processamento, mas também com as fazendas onde as aves são criadas, os criadores que fornecem os pintinhos e as rações dos animais. Dentre as medidas destacam-se: a aquisição de pintos de um dia livres de *Salmonella*, criação em um ambiente livre de *Salmonella*, fornecimento de alimentação e água livre de *Salmonella*, monitoramento e teste regular para *Salmonella* em toda a cadeia de produção e adoção de medidas imediatas sempre que *Salmonella* for detectada. Entretanto, em 2010, cientistas de 16 países - incluindo a Suécia - colaboraram em um esforço para avaliar as políticas de "tolerância zero" em relação à *Salmonella* em frangos. O grupo reconheceu que "na Finlândia e na Suécia, onde o controle efetivo da *Salmonella* na indústria está em vigor há muito tempo, há uma baixa prevalência de contaminação do produto, o que reduziu consideravelmente a exposição do consumidor ao patógeno nesses países". No entanto, concluiu-se que as medidas adotadas não são economicamente ou tecnicamente viáveis para aplicação direta em todos os países" (Mead et al., 2010). Assim, considerando

que, no Brasil, as medidas necessárias ainda não estão implantadas no abate, essa opção foi descartada. A segunda opção seria permitir a presença de *Salmonella* em algumas unidades amostrais (Ex.: $n=5$, $c= 1$). Essa possibilidade foi considerada inicialmente pela Anvisa, mas foi apresentado como justificativa que o limite máximo de 23% de prevalência de *Salmonella* foi estabelecido na IN n. 20/2016 para o abatedouro, não para o lote do produto. Considerando que o critério estabelecido para o produto precisava estar de acordo com o critério adotado em carcaças de aves nas indústrias (ou seja, $n = 50$, $c = 7$) e estes apresentam grandes diferenças de conceito e desenho metodológico, optamos por não utilizar esta abordagem.

As abordagens baseadas em surtos e resistência envolvem a adoção generalizada da tecnologia de sequenciamento genômico completo para correlação de linhagens. Considerando que o país ainda está iniciando este trabalho para linhagens isoladas de surtos, optamos por não adotar estas abordagens.

A partir de 2014, o USDA Food Safety and Inspection Service (FSIS) declarou que “quando aves de criação ou produtos de carne crus estão associados a um surto de doença e contêm agentes patogênicos que não são considerados adulterantes por si mesmos, tais como *Salmonella* spp, o FSIS irá considerar o produto impróprio para o consumo, caso a linhagem isolada no surto seja a mesma isolada no produto cru (FSIS, 2012). Consistente com essa política, o FSIS pode tratar como não conforme o produto contendo a linhagem de *Salmonella* que apresenta o mesmo *fingerprinting* (impressão digital genética) de uma linhagem que tenha causado um surto de doença em curso.

Desde que o FSIS finalizou sua política de produtos “associados a surtos de doenças” em 2014, a adoção generalizada da tecnologia de sequenciamento genômico completo (WGS) proporcionou um novo ímpeto para repensar a abordagem da agência. Para cada amostra colhida pelo FSIS em uma instalação de abate ou processamento que tenha resultados positivos para *Salmonella*, a agência cultiva um isolado da bactéria e transfere o perfil genético (*fingerprinting*) dessa bactéria para um banco de dados que possui também os perfis genéticos de bactérias encontradas em

pacientes com casos confirmados de salmonelose (FSIS, 2018). Desta forma, os reguladores federais podem, e fazem, rotineiramente, a combinação ou pareamento da “impressão digital” genética da linhagem de *Salmonella* isolada de plantas de processamento, com a de bactérias que causaram surtos de doenças transmitidas por alimentos.

O objetivo dessa estratégia é retirar do comércio produtos contendo linhagens de *Salmonella* comprovadamente capazes de causar surto. A estratégia tem suas desvantagens, no entanto. A presença de uma linhagem de surto em um produto serve como um fraco preditor de risco, porque a quantidade do patógeno desempenha um papel tão importante quanto o da linhagem. Ainda, a determinação do perfil genético de um micro-organismo requer tempo maior que o teste de sorotipos, e é claro que é impossível identificar uma linhagem potencialmente perigosa antes que um surto realmente ocorra, ou seja, trata-se de uma abordagem reativa.

Na mesma linha, carne de aves contendo certas linhagens de *Salmonella* spp, consideradas resistentes a antibióticos importantes para a saúde pública, acarretaria a condenação do alimento.

Além das desvantagens citadas acima, a abordagem baseada em linhagens resistentes e linhagens de surtos prescindem da adoção generalizada da tecnologia de sequenciamento genômico completo para correlação de linhagens.

A abordagem baseada em sorotipos foi adotada pela Comunidade Européia em 2003, com a publicação do Regulamento nº 2160/2003. Foi solicitado à Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) identificar os sorotipos de *Salmonella* mais prejudiciais para a saúde pública, e definir metas para cada país-membro na redução de sua prevalência (Messens et al., 2013). Dois anos depois, a EFSA implementou critérios e requisitos comuns de monitoramento dos programas nacionais de controle, com o objetivo de reduzir a prevalência de *Salmonella* Enteritidis, Hadar, Infantis, Typhimurium e Virchow para menos de 1% nos plantéis de reprodução. Nos anos que se seguiram, a EFSA lançou protocolos similares visando a redução da prevalência de *Salmonella* Enteritidis e Typhimurium em galinhas poedeiras, frangos de corte e perus (EFSA, 2019).

A adoção dessas iniciativas para reduzir as salmonelas na produção de aves e ovos foram acompanhadas de uma redução acentuada nos casos de salmonelose (Antunes et al., 2016). De fato, o número estimado de casos de salmonelose em humanos na UE diminuiu de 200.000 casos, em 2004, para menos de 90.000 casos, em 2014, embora com novos avanços nos últimos anos (EFSA, 2019).

Os defensores da abordagem baseada em sorotipos específicos apontam que nem todos os sorotipos de *Salmonella* impactam de forma semelhante à saúde pública. Enquanto *Salmonella* Enteritidis tem uma forte associação com doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo, *Salmonella* Kentucky, por exemplo, geralmente aparece em amostragem de abatedouros de frango dos EUA, mas raramente em amostras clínicas de vítimas de doenças transmitidas por alimentos naquele país.

Se alguns sorotipos de *Salmonella* raramente deixam as pessoas doentes, os esforços para reduzir sua prevalência podem não ser os melhores investimentos em saúde pública. Por outro lado, seria importante canalizar recursos de segurança alimentar para evitar a contaminação pelos sorotipos de *Salmonella* mais associados com doenças transmitidas por alimentos.

Considerando as diversas abordagens relatadas, assim como a realidade da produção brasileira, consideramos viável do ponto de vista técnico, e adequada do ponto de vista da saúde pública, a adoção de abordagem baseada em sorotipos.

Assim, para carne de aves cruas, a Anvisa propôs a adoção de um padrão baseado nos sorotipos de *Salmonella* prevalentes em surtos, a exemplo do critério de segurança adotado pela Comunidade Europeia (Regulamento CE 2073/2005).

Os dados brasileiros reafirmam a importância mundial de *Salmonella* enterica sorotipo Enteritidis e *Salmonella* enterica sorotipo Typhimurium, como os dois sorotipos mais importantes de *Salmonella* para a saúde pública.

Assim, como a IN nº 20/2016 já estabelece controle para *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, inicialmente, seria viável estabelecer, para o produto final, critério baseado nestes dois sorotipos (n=5, c=0, m=Aus).

Com o objetivo de conferir proteção à saúde, ambas instituições, MAPA e Anvisa, ressaltam a importância de que o critério baseado em sorotipos seja avaliado e alterado periodicamente, haja vista a flutuação dos sorotipos prevalentemente isolados de aves, carcaças, produto final e surtos. A Anvisa ressaltou que, uma vez de posse destes dados e como os padrões microbiológicos serão publicados na forma de Instrução Normativa, essa atualização será realizada periodicamente. Ressaltamos, entretanto, que o sorotipo nem sempre serve como o melhor preditor sobre se determinada linhagem de Salmonella causará mais doenças do que outra. O sorotipo Enteritidis é “algo incomum” por sua variabilidade genética relativamente baixa, o que o torna um risco bastante constante. Concentrar as medidas de controle nos sorotipos, portanto, deve ser acompanhado de fortalecimento de estratégias aplicáveis a todos sorotipos, tais como, como Boas Práticas de Higiene.

ESCLARECIMENTOS SOBRE AS DEFINIÇÕES

49. No que consiste uma amostragem indicativa?

A amostra indicativa é aquela constituída por um número de unidades amostrais (n) inferior ao estabelecido no plano de amostragem representativo. Para a amostra indicativa, os limites (m , M) e c continuam os mesmos, o que varia é o n .

50. No que consiste uma amostragem representativa?

A amostra representativa é aquela constituída por um determinado número de unidades amostrais (n), retiradas aleatoriamente de um mesmo lote, conforme estabelecido no plano de amostragem estabelecido nos Anexo I e II da Instrução Normativa.

51. Qual a diferença entre unidade amostral e unidade analítica?

A unidade amostral é a porção ou unidade coletada aleatoriamente de um lote que contém a quantidade necessária para a realização dos ensaios. A unidade amostral está representada no plano amostral por c e n . A unidade

analítica é a alíquota retirada da unidade amostral para análise (Ex.: 25g, 10g, 1g).

52. O que significa alimento pronto para oferta ao consumidor?

O alimento pronto para oferta ao consumidor é aquele na forma como será disponibilizado ao consumidor, destinado a venda direta ou qualquer outra forma de transferência ou distribuição, gratuita ou não.

Os alimentos prontos para oferta ao consumidor são aqueles alimentos encontrados em supermercados, lojas de conveniência, distribuidores, atacadistas, serviços de alimentação, fabricantes, fracionadores, produtores primários (quando o produto está pronto para venda ou distribuição) e pontos de importação, desde que estejam na forma como serão ofertados ao consumo.

53. O que é esterilidade comercial?

É a condição atingida por aplicação de calor suficiente, isolado ou em combinação com outros tratamentos apropriados ou tecnologia equivalente, para tornar o alimento isento de micro-organismos capazes de se reproduzir em condição ambiente (não refrigerada) de armazenamento e distribuição do produto.

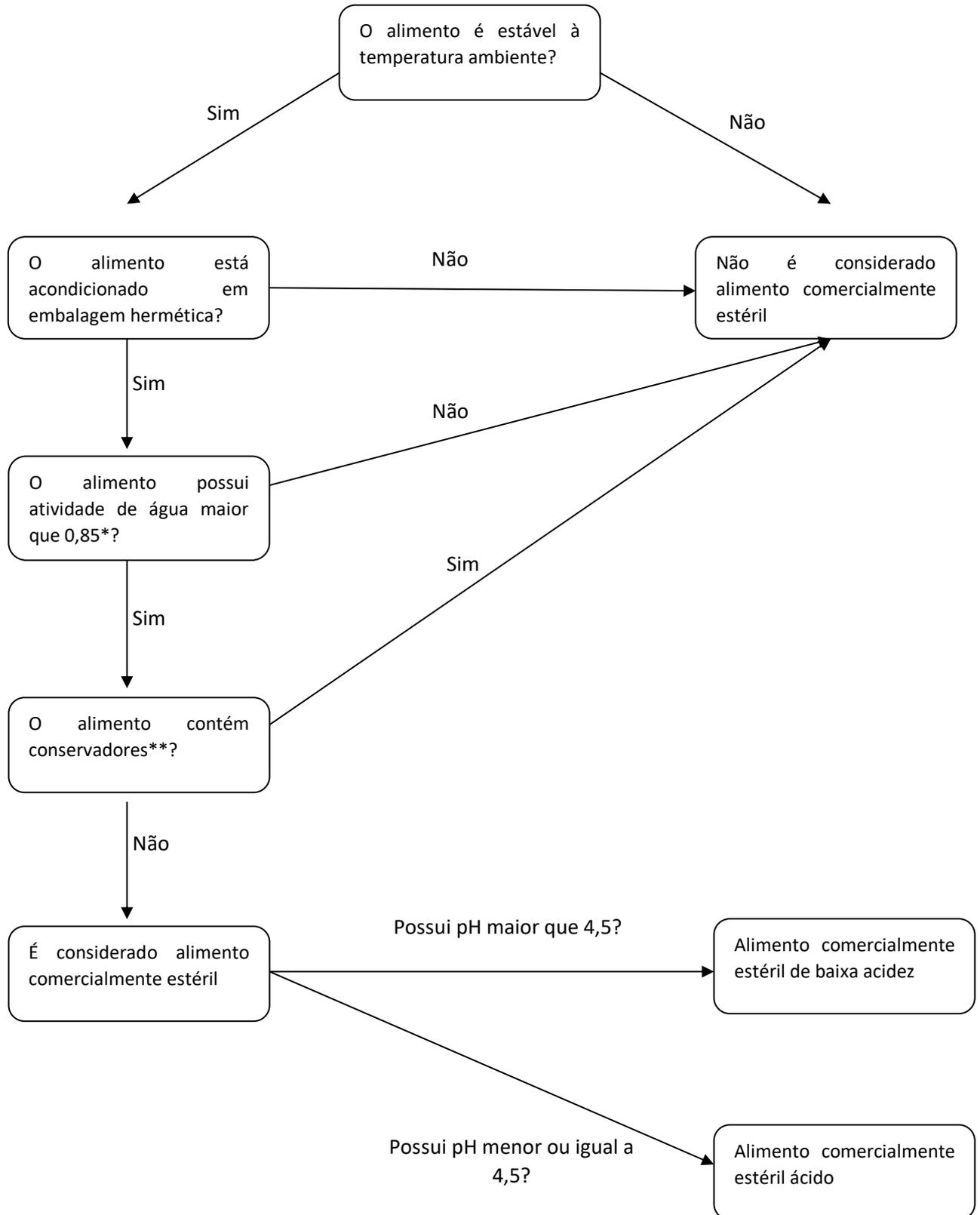
54. Como identificar um alimento comercialmente estéril, para fins de aplicação do Anexo III?

Os alimentos comercialmente estéreis são aqueles com atividade de água acima de 0,85 (exceto bebidas alcólicas) submetidos a esterilidade comercial, ou seja, alimentos submetidos a tratamento térmico ou tecnologia equivalente e acondicionados em embalagens herméticas para garantir sua estabilidade a temperatura ambiente. A estabilidade desses produtos não depende de conservadores ou outros agentes inibitórios, além de ácidos, com exceção de produtos cárneos comercialmente estéreis adicionados de sais de cura.

Os alimentos comercialmente estéreis podem ser classificados em:

- Alimentos comercialmente estéreis de baixa acidez: incluem os produtos com pH maior que 4,5, como os derivados de carne (salsichas em lata, almôndegas em lata, patês de fígado ou presunto em lata ou vidro), derivados de peixes (sardinha em lata, atum em lata), derivados de leite (leite longa vida, leite evaporado, creme de leite em lata, garrafa ou cartonado), vegetais em lata, vidro, cartonado ou laminado (ervilha, milho, seleta de legumes, leite de soja) e preparações (feijoadas em lata, sopas em lata).
- Alimentos comercialmente estéreis ácidos: incluem os produtos com pH menor ou igual a 4,5, como os derivados de tomate, os vegetais acidificados (palmito, picles, azeitonas), as frutas em calda (figos, pêssegos, abacaxi), os sucos de frutas e misturas (bebidas de soja com frutas ou leite com frutas)

Para decidir se um alimento é ou não comercialmente estéril, pode-se aplicar a seguinte árvore decisória:



*Esta pergunta não se aplica às bebidas alcoólicas;

**Esta pergunta não se aplica aos produtos cárneos adicionados de sais de cura.

55. O que é considerado tratamento térmico efetivo?

O tratamento térmico efetivo é aquele capaz de alcançar uma redução 6-D no número de células de *Listeria monocytogenes*. *L. monocytogenes* é considerada a bactéria mais resistente dentre os micro-organismos patogênicos e não formadores de esporos. Portanto, um tratamento térmico eficaz para destruir *L. monocytogenes* também o será para outros patógenos não formadores de esporos, caso estejam presentes no alimento.

O tratamento térmico efetivo foi definido como o processo pelo qual o ponto frio do alimento atinge uma temperatura de 75°C (ou combinação de tempo-temperatura equivalente). Outras combinações de tempo-temperatura de cozimento podem ser utilizadas desde que seja obtido o mesmo efeito letal de 75°C. Combinações alternativas de binômios tempo-temperatura cientificamente aceitas incluem: 70°C por 2 minutos, 67°C por 5 minutos e 64°C por 12 minutos e 37 segundos (FSAI, 2014).

56. O que é alimento preparado pronto para consumo?

Qualquer alimento manipulado e preparado em serviço de alimentação, exposto à venda embalado ou não.

Os serviços de alimentação realizam algumas das seguintes atividades: manipulação, preparação, fracionamento, armazenamento, distribuição, transporte, exposição à venda e entrega de alimentos preparados ao consumo, tais como cantinas, bufês, comissarias, confeitarias, cozinhas industriais, cozinhas institucionais, delicatessens, lanchonetes, padarias, pastelarias, restaurantes, rotisseries e congêneres.

57. Qual a diferença entre alimento preparado pronto para consumo e alimento pronto para consumo?

O alimento preparado pronto para consumo é produzido em serviços de alimentação, o alimento pronto para consumo é produzido por indústria de alimentos. Para os alimentos preparados prontos para o consumo aplicam-se os padrões estabelecidos no item 21 do Anexo I da IN. Para os alimentos prontos para o consumo aplicam-se os padrões estabelecidos no item 22-b do Anexo I da IN.

58. Qual a diferença entre alimento semielaborado e alimento pronto para consumo?

Ambos tipos de alimentos são provenientes da indústria de alimentos e não necessitam adição de outros ingredientes para o seu consumo.

No entanto, o alimento pronto para o consumo não necessita ser submetido a tratamento térmico efetivo ou outro processo de eliminação ou de redução de micro-organismos de preocupação à saúde humana a níveis seguros, antes de seu consumo.

Ao contrário, o alimento semielaborado deve ser submetido a tratamento térmico efetivo ou outro processo de eliminação ou de redução de micro-organismos de preocupação à saúde humana a níveis seguros, antes de seu consumo.

A indicação da necessidade ou não de tratamento térmico deve ser avaliada conforme as condições de uso estabelecidas na rotulagem de cada alimento.

ESCLARECIMENTOS SOBRE A INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS E AÇÕES EM CASO DE DESCUMPRIMENTO DOS PADRÕES

59. Como interpretar os resultados, considerando os valores de “c”, “m” e “M” atribuídos no padrão microbiológico?

Existem três categorias de resultados, definidas com base na presença ou concentração de micro-organismos e no tipo de plano de amostragem estipulado.

Para o plano de duas classes ($c=0$), temos resultado:

Satisfatório com qualidade aceitável: quando o resultado observado em todas as unidades amostrais for ausência ou menor ou igual a m ; ou

Insatisfatório com qualidade inaceitável: quando o resultado observado em qualquer unidade amostral for presença ou maior que m .

Para o plano de três classes ($c \geq 1$), temos resultado:

Satisfatório com qualidade aceitável: quando o resultado observado em todas as unidades amostrais for menor ou igual a m ;

Satisfatório com qualidade intermediária: quando o número de unidades amostrais com resultados entre m e M for igual ou menor que c e nenhuma unidade amostral apresentar resultado maior que M ; ou

Insatisfatório com qualidade inaceitável: quando o número de unidades amostrais com resultados entre m e M for maior que c ou alguma unidade amostral apresentar resultado maior que M .

Abaixo ilustramos os mesmos exemplos de padrões microbiológicos constantes da pergunta 6, com 3 resultados diferentes e suas respectivas interpretação

Categorias Específicas	Micro-organismo	n	c	m	M	Resultado 1	Resultado 2	Resultado 3
Alimento A	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-	0 unidades amostrais positivas	1 unidade amostral positiva	5 unidades amostrais positivas
Interpretação do Resultado						Satisfatório com qualidade aceitável	Insatisfatório com qualidade inaceitável	Insatisfatório com qualidade inaceitável
Alimento B	<i>Listeria monocytogenes</i> /g	10	0	10 ²	-	1 unidade amostral com 50 UFC/g	1 unidade amostral com 100 UFC/g	1 unidade amostral com 1000 UFC/g
Interpretação do Resultado						Satisfatório com qualidade aceitável	Satisfatório com qualidade aceitável	Insatisfatório com qualidade inaceitável
Alimento C	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	10 ²	5 unidades amostrais com 5 UFC/g	2 unidades amostrais com 50 UFC/g	1 unidade amostral com 1000 UFC/g ou 3 unidades amostrais com 50 UFC/g
Interpretação do Resultado						Satisfatório com qualidade aceitável	Satisfatório com qualidade intermediária	Insatisfatório com qualidade inaceitável

60. Qual o limite permitido para amostra indicativa, tendo em vista que a IN n. 60/2019 não possui a coluna "Tolerância para Amostra Indicativa"? Ou seja, qual limite (m ou M) devemos considerar para amostra indicativa?

As amostras são classificadas como representativas ou indicativas, de acordo com o número de unidades amostrais coletadas.

A amostra representativa é constituída por um determinado número de unidades amostrais (n), retiradas aleatoriamente de um mesmo lote, conforme estabelecido no plano de amostragem. O plano de amostragem representativo é aquele indicado (n, c) nos Anexo I e II da Instrução Normativa. A avaliação de lotes e ou partidas, pelas empresas de alimentos, deve ser realizada pela aplicação da amostragem representativa, com exceção de empresas que possuam um plano alternativo de amostragem comprovadamente capaz de fornecer proteção equivalente ao plano representativo estabelecido na Instrução Normativa n. 60/2019, tal como estabelecido no § 1º, art. 9º da Resolução RDC n. 331/2019.

A amostra indicativa é aquela constituída por um número de unidades amostrais (n) inferior ao estabelecido no plano de amostragem representativo. A amostra indicativa pode ser utilizada pela autoridade sanitária para fins de monitoramento e investigação, por exemplo, pois possibilita uma varredura maior dos produtos distribuídos.

Os limites "M" e "m" não possuem relação com o número de amostras analisadas.

A avaliação de lotes e ou partidas pelas empresas de alimentos, quando realizada, deve ser conduzida mediante amostragem representativa, com exceção de empresas que possuam um plano alternativo de amostragem comprovadamente capaz de fornecer proteção equivalente ao plano representativo estabelecido na Instrução Normativa n. 60/2019, tal como estabelecido no § 1º, art. 9º da Resolução RDC n. 331/2019. Somente a autoridade sanitária competente pode realizar amostragem indicativa, conforme a finalidade da coleta.

A empresa que realiza controle de qualidade de sua produção somente por meio de uma amostra (indicativa) está contrariando a legislação sanitária. Este tipo de amostra não representa um lote de alimento em sua totalidade. Assim, um resultado negativo para um micro-organismo ou

contagem abaixo do limite estabelecido não deve ser interpretado como SATISFATÓRIO para todo um lote.

Caso a amostra indicativa seja coletada por uma autoridade sanitária, a interpretação deve ocorrer conforme os arts. 13 e 14 da Resolução RDC n. 331/2019. Independente do n coletado, o valor de c, m e M permanecem os mesmos. Em um plano de duas classes (Ex.: Presença/Ausência) uma amostra indicativa será considerada Insatisfatória quando o resultado for maior que m. Em um plano de três classes (Ex.: *Escherichia coli*) uma amostra indicativa será considerada insatisfatória em duas situações: a) quando o número de unidades amostrais com resultados entre m e M for maior que c; ou b) quando alguma unidade amostral apresentar resultado maior que M. Assim, a interpretação de resultados para a amostra indicativa é semelhante à interpretação para a amostra representativa: em um plano de duas classes, m é considerado o limite; e em um plano de três classes, os dois limites, m e M, devem ser considerados.

61. Qual a responsabilidade da cadeia produtiva de alimentos?

Todos os setores envolvidos nas etapas de produção de alimentos devem assegurar que os alimentos cumpram com os padrões microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa nº 60/2019, durante todo o prazo de validade.

Para tanto, devem realizar avaliações periódicas quanto à adequação do processo e determinar a frequência das análises, de forma a garantir que todos os alimentos cumpram com os padrões microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa nº 60/2019, em conformidade com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e outros programas de controle de qualidade.

Caso ocorra descumprimento dos padrões estabelecidos ou tendência ao descumprimento, ou seja, quando houver resultados insatisfatórios e resultados satisfatórios com qualidade intermediária, a cadeia produtiva de

alimentos deve reavaliar seus sistemas de segurança de alimentos, incluindo os procedimentos de Boas Práticas, investigar a causa da não conformidade e determinar ações apropriadas. As ações devem basear-se no risco oferecido ao consumidor.

Caso o resultado insatisfatório represente risco ou agravo à saúde do consumidor devem ser tomadas medidas para contenção e disposição apropriada do alimento. Ou seja, além das correções no processo produtivo, faz-se necessário o recolhimento do produto, conforme Resolução – RDC n. 24/2015.

62. Quando a cadeia produtiva de alimentos deve investigar as causas de resultados não conformes?

Quando houver resultados insatisfatórios e resultados satisfatórios com qualidade intermediária, a cadeia produtiva de alimentos deve reavaliar seus sistemas de segurança de alimentos, incluindo os procedimentos de Boas Práticas, investigar a causa da não conformidade e determinar ações apropriadas.

63. Quando as medidas previstas na Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 24, de 8 de junho de 2015, devem ser adotadas?

Caso o resultado insatisfatório represente risco ou agravo à saúde do consumidor devem ser tomadas medidas para contenção e disposição apropriada do alimento. Além das correções no processo produtivo, faz-se necessário o recolhimento do produto, conforme Resolução – RDC n. 24/2015.

64. Quando a cadeia produtiva de alimentos deve investigar a segurança de outros lotes?

Caso o resultado insatisfatório represente risco ou agravo à saúde do consumidor e a causa identificada possa ter afetado outros lotes de alimentos.

65. Qual é o prazo para que os produtos se adequem ao novo marco regulatório?

Os alimentos fabricados até 26 de dezembro de 2020 devem cumprir os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução – RDC n. 12/2001, até o fim de sua validade. Alimentos fabricados após 26 de dezembro de 2020 devem atender aos padrões estabelecidos na Instrução Normativa n. 60/2019.

ESCLARECIMENTOS SOBRE ENQUADRAMENTO DE ALIMENTOS

66. Quais alimentos devem ser pesquisados quanto à presença de *Listeria monocytogenes*?

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* deve ser realizada em todos os alimentos que atendam a definição estabelecida para “alimento pronto para o consumo” e que não se enquadram em nenhuma das exceções listadas nos itens I a XII, parágrafo único, do art. 4º da IN.

A pesquisa da bactéria fica dispensada para frutas e hortaliças frescas inteiras e não processadas (exceto as sementes germinadas); pães, biscoitos e produtos similares; águas envasadas, águas carbonatadas, refrigerantes, cervejas, cidras, vinhos e produtos similares; açúcares e produtos para adoçar; mel; chocolate e produtos de cacau; balas, bombons e gomas de mascar; moluscos bivalves vivos; alimentos com vida útil menor que 5 dias; alimentos com pH menor ou igual a 4,4; atividade de água menor ou igual a 0,92; alimentos combinação de pH menor ou igual

a 5,0 e atividade de água menor ou igual a 0,94; e alimentos tratados termicamente em sua embalagem final.

67. Em qual categoria se enquadra os produtos que contém mais de um tipo de carne?

Quando um produto cárneo for elaborado com mistura de carnes de diferentes origens (Ex.:de aves, de suínos, de bovinos), deve ser adotado o padrão microbiológico da categoria específica menos restritiva. Assim, por exemplo, para uma linguiça mista de carne de aves e de suínos, o ensaio de *Salmonella* deve-se cumprir os padrões estabelecidos para linguiça de suínos.

68. No caso dos suplementos em cápsulas, cujo conteúdo é líquido, em qual categoria ele deve ser enquadrado?

Na categoria “Suplementos em cápsulas, drágeas e comprimidos”.

69. Serão considerados alimentos prontos para consumo apenas aqueles cuja subcategoria traz o termo "prontos para consumo"?

Não. Os alimentos prontos para consumo são aqueles provenientes da indústria de alimentos, destinados ao consumo direto, sem a necessidade de tratamento térmico efetivo, ou outro processo para a eliminação ou redução de micro-organismos a níveis seguros. Alimentos prontos para consumo são os alimentos normalmente consumidos no mesmo estado em que são vendidos ou distribuídos. Assim, qualquer alimento que se enquadre nesta definição é considerado alimento pronto para consumo, independente da categoria ou subcategoria a qual pertence.

70. Houve harmonização dessa legislação com as legislações do MAPA? Por que são identificados critérios diferentes entre os órgãos reguladores?

Sim. Na revisão das normativas buscou-se o máximo de harmonização entre os padrões estabelecidos nos diferentes órgãos. Entretanto, cabe ressaltar que os padrões do MAPA se aplicam em outra etapa da cadeia produtiva de alimentos, portanto, servem para verificar preocupações imediatamente relacionadas ao processo. Diferenças podem existir desde que os padrões não sejam excludentes.

71. Caso uma análise fiscal resulte em "qualidade intermediária aceitável" será gerado processo administrativo para a empresa?

Esclarecemos que o resultado de "Qualidade Intermediária" está dentro dos limites microbiológicos esperados, mas em alguns casos pode estar muito próximo do limite superior (M). Nesse caso, algumas ações podem ser necessárias para garantir que os controles de alimentos continuem sendo eficazes.

72. As empresas devem realizar análises de toxina estafilocócica?

Sim, para todos os alimentos que possuem, na Instrução Normativa, limite estabelecido para enterotoxina estafilocócica. Foram estabelecidos limites para as enterotoxinas estafilocócicas em queijos, requeijão, leite em pó, doce de leite e outros produtos lácteos similares.

73. Para suplementos em pó, categoria 15a, a análise de enterotoxinas estafilocócicas está prevista somente para produtos de base proteica. Para suplementos em pó que possuem em maior quantidade proteína isolada de soja, seria necessário realizar essa análise?

Informamos que em consonância com os critérios de segurança adotados em regulamentos internacionais, foram estabelecidos limites de

enterotoxinas estafilocócicas (1ng/g) para algumas categorias de leite e seus derivados (Ex.: queijo, requeijão, leite em pó, doce de leite e outros produtos lácteos similares). Embora uma contagem alta de estafilococos coagulase positiva, maior que 10^5 UFC/g, indique a possível presença de enterotoxina estafilocócica, pois esta é produzida durante a fase log de crescimento desses micro-organismos, uma contagem baixa de estafilococos coagulase positiva não indica a ausência de enterotoxinas, uma vez que os estafilococos podem ter sido reduzidos por alguma etapa de processamento (ex., aquecimento ou fermentação), mas as enterotoxinas por serem moléculas termoestáveis continuam presentes. Por esse motivo e, considerando que o leite é um alimento muito propício à contaminação por estafilococos coagulase positiva devido à ordenha ou contaminação do úbere das vacas, incluímos no padrão de derivados de leite, a enterotoxina estafilocócica. Assim, com o intuito de abarcar os suplementos em pó de base láctea, tais como *whey protein*, estabelecemos limite de enterotoxinas para suplementos de base proteica. Esclarecemos que embora a Instrução Normativa n. 60/2019 estabeleça a pesquisa de enterotoxinas para suplementos de base proteica, esta pesquisa se aplica somente para aqueles suplementos de base láctea, tais como, *whey protein* e outros.

74. Por que não foram estabelecidos padrões microbiológicos para óleos vegetais na IN 60/2019?

Para diversos "alimentos" não foram estabelecidos padrões microbiológicos, pois esses se enquadram exclusivamente como ingredientes, não sendo ofertados diretamente ao consumidor, ou possuem características intrínsecas (atividade de água, pH) que não permitem a multiplicação de micro-organismos (Ex.: mel, bebidas alcóolicas, arroz e feijão crus, etc). Os óleos vegetais são caracterizados pelo conteúdo extremamente baixo de água, o que contribui para sua estabilidade microbiológica.

Além disso, a IN não estabelece “padrões” para ingredientes, incluindo matérias primas e aditivos, pois estes não são, geralmente, entregues à venda direta ao consumidor final e possuem especificação mínima definida em compêndios oficiais. Para esses ingredientes devem ser observados os limites estabelecidos em especificações publicadas em monografias de referência, como Food Chemical Codex (FCC), Farmacopeias Oficiais, JECFA/FAO/WHO e Codex Alimentarius.

Uma especificação microbiológica é um critério aplicado como parte dos acordos de compra e determina a aceitabilidade de ingredientes, conforme necessário, de forma a garantir a segurança e qualidade do alimento.

Na ausência de uma monografia de referência para o ingrediente ou de um limite microbiológico definido na monografia, ou ainda, caso seja desejável o cumprimento de limites menores que aqueles especificados em monografias, a especificação do ingrediente deve ser acordada entre o fornecedor e a empresa fabricante do alimento, de forma que os limites microbiológicos estabelecidos na IN para o alimento/produto acabado não sejam ultrapassados.

75. Por que foi incluída a categoria específica “Fritos ou assados com ou sem adição de outros ingredientes” na “Categoria 2 - Hortaliças, Raízes, Tubérculos, Fungos Comestíveis e Derivados”? Por que o limite máximo ($M = 10^2$), para *Escherichia coli* não foi aceito?

A inclusão da categoria específica “fritos ou assados, com ou sem adição de outros ingredientes” foi aceita para possibilitar o enquadramento de alguns produtos derivados de frutas e hortaliças disponíveis no mercado, consumidos geralmente na forma de petiscos. Entretanto, o limite máximo proposto para *Escherichia coli* não foi aceito, conforme sugerido na contribuição. A motivação é que esses alimentos não passam por tratamento térmico efetivo antes do consumo, são considerados alimentos

prontos para o consumo. Sendo assim, foram adotados os mesmos limites de *Escherichia coli* estabelecidos para os alimentos prontos para o consumo (categoria 22b).

76. O que significa o termo perecível, tal como consta na “Categoria 20 - cacau, chocolates, confeitos, produtos para confeitaria, pastas e doces”?

O termo perecível foi utilizado para categorizar aqueles alimentos não estáveis à temperatura ambiente. O alimento não perecível é sinônimo de alimento estável à temperatura ambiente, ou seja, aquele alimento que, devido à sua natureza, mantém a segurança e características originais, mesmo quando armazenado em temperatura ambiente, desde que a integridade da embalagem seja mantida;

ESCLARECIMENTOS SOBRE A VIGÊNCIA DOS ATOS NORMATIVOS

77. Qual o procedimento necessário para incluir ou atualizar os padrões microbiológicos de alimentos?

A solicitação pode ser feita à GGALI com os dados que fundamentem o pleito. Caso os dados suportem a inclusão ou atualização de um padrão microbiológico, o pleito entrará no planejamento regulatório da GGALI.

78. Deve-se aguardar a data de vigência da Instrução Normativa para aplicar os padrões estabelecidos na IN 60/2019?

Os alimentos fabricados até 26 de dezembro de 2020 devem cumprir os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução – RDC n. 12/2001, até o fim de sua validade. Alimentos fabricados após 26 de dezembro de 2020 devem atender aos padrões estabelecidos na Instrução Normativa n. 60/2019 (artigo 20 da Resolução – RDC n. 331/2019). No entanto, as adequações de processo, estudos ou testes necessários para avaliar o cumprimento da Instrução Normativa n. 60/2019 já devem ser realizados para que na entrada da vigência da norma, as alterações de processo sejam implementadas e os alimentos atendam aos novos padrões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, P., MOURÃO, J., CAMPOS, J., PEIXE, L. Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clin Microbiol Infect*; 22: 110–121. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 70, de 6 de outubro de 2003. Estabelece o monitoramento e controle de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate dessas aves registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 6 de outubro de 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor, na forma desta Instrução Normativa e dos seus Anexos I a IV. Brasília, DF, 2016

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 58, de 17 de dezembro de 2018. Estabelece o controle microbiológico em carcaça de suínos e em carcaça e carne de bovinos em abatedouros frigoríficos, registrados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (Dipoa), com objetivo de avaliar a higiene do processo e reduzir a prevalência de agentes patogênicos, na forma desta Instrução Normativa e dos seus Anexos. Brasília, DF, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 60, de 20 de dezembro de 2018. Estabelece o controle microbiológico em carcaça de suínos e em carcaça e carne de bovinos em abatedouros frigoríficos, registrados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), com objetivo de avaliar a higiene do

processo e reduzir a prevalência de agentes patogênicos, na forma desta Instrução Normativa e dos seus Anexos. Brasília, DF, 2018.

BRASIL. Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, DF, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS. Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods. Annex II: microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods (CAC/GL 61 – 2007). Rome: FAO. FAO/WHO Food Standards Program, 2009.

Comission Regulation (EC) n. 2073 of 15 november 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official journal of the European Union, L.388, p. 1-25, 2005.

EFSA. Salmonella control in poultry flocks and its public health Impact. ADOPTED: 16 January 2019. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5596. 2019.

FAO/WHO. Enterobacter sakazakii and other micro-organisms in powdered infant formula: Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series, Nº6, 2004. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-y5502e.pdf>

FAO/WHO. Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens. Microbiological Risk Assessment Series 2. 2002.

FAO/WHO. Enterobacter sakazakii and Salmonella in powdered infant formula: Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series, Nº10, 2006. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0707e/a0707e00.pdf>

FAO/WHO. Enterobacter sakazakii (*Cronobacter* spp.) in powdered follow-up formulae: Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series, Nº15, 2008. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/MRA_followup.pdf

FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND (FSAI). Guidance note n° 3: Guidelines for the interpretation of results of microbiological testing of ready-to-eat foods placed on the market (Revision I), 2014.

HEALTH PROTECTION AGENCY (HPA). Guidelines for assessing the microbiological safety of ready-to-eat foods placed on the market. London: Health Protection Agency, 2009.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). *Microrganisms in Foods 6. Microbial ecology of food commodities*. 2 ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005.

IVERSEN, C., MULLANE N., McCARDELL, B., TALL, B.D., LEHNER, A., FANNING, S., STEPHAN, R., JOOSTEN, H.. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter* genomospecies 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 58, p. 1442-1447 , 2008.

LEHANE, L. & OLLEY J. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*. Amsterdam, v. 58, p. 1-37, 2000.

MEAD, G., LAMMERDING, A. M., COX, N., et al. Salmonella On Raw Poultry Writing Committee. Scientific and technical factors affecting the setting of Salmonella criteria for raw poultry: a global perspective. *J. Food Prot.* 73(8):1566-90, at 1584. PMID: 20819373. 2010.

MESSENS, W., VIVAS-ALEGRE, L., BASHIR, S., et al. Estimating the public health impact of setting targets at the European level for the reduction of zoonotic Salmonella in certain poultry populations. *Int J Environ Res Public Health* 10:4836–4850. Disponível em: doi:10.3390/ijerph10104836. 2013.

WHO (World Health Organization), 2018. Listeriosis. Fact sheet, disponível no site: <https://www.who.int/mediacentre/factsheets/listeriosis/en/> [Acesso em 28/01/2019]

BRASIL. Resolução RDC nº13, 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico para instruções de uso, preparo e conservação na rotulagem de carne de aves e seus miúdos crus, resfriados ou congelados. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, DF, 2001.