



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária
Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
Coordenação Geral de Programas Especiais

NORMA INTERNA DIPOA/SDA Nº 2, DE 20 DE AGOSTO DE 2013

A DIRETORA DO DEPARTAMENTO DE INPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL da Secretaria de Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no uso das atribuições que lhe confere o inciso II, do art. 43, da Portaria MAPA nº 45, de 22 de março de 2007, tendo em vista o disposto no Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, na Portaria nº 215, de 27 de abril de 2001, e do que consta no Processo nº , resolve:

Art. 1º Aprovar os procedimentos para a coleta e análise de *Escherichia coli* verotoxigênica em carne de bovino *in natura* utilizada na formulação de produtos cárneos, cominutados, prontos para serem cozidos, fritos ou assados.

§ 1º As análises para pesquisa de *E. coli* verotoxigênica têm como objetivos a identificação do patógeno e o levantamento da sua prevalência em carne bovina *in natura* nos estabelecimentos registrados junto ao Serviço de Inspeção Federal (SIF).

Art. 2º Para fins dessa norma entende-se como “carne de bovino *in natura* utilizada na formulação de produtos cárneos, cominutados, prontos para serem cozidos, fritos ou assados”:

- I - produtos provenientes do abate: carne de cabeça, esôfago, diafragma;
- II – aparas (retalhos) da desossa.

Art. 3º As amostras de carne bovina descritas no artigo anterior serão coletadas nos estabelecimentos que realizam abate ou desossa de bovinos, pelo SIF e encaminhadas aos laboratórios pertencentes à Rede de Laboratórios Nacionais Agropecuários - LANAGRO do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, para a pesquisa de *E. coli* verotoxigênica

Art. 4º Para a definição do plano amostral, os estabelecimentos de abate ou desossa de bovinos registrados junto ao DIPOA são classificados de acordo com a capacidade de abate, sendo considerados:

- I – pequeno porte: abate diário de até 500 cabeças/dia;
- II – médio porte: abate diário ente 500 e 800 cabeças/dia;
- III – grande porte: abate diário superior a 800 cabeças/dia.

Art. 5º. O DIPOA publicará, periodicamente, o plano amostral estatisticamente desenvolvido para identificar a prevalência de *Escherichia coli* verotoxigênica e o cronograma de coletas de amostras de carne de bovino “in natura” utilizada na formulação de produtos cárneos, cominutados, prontos para serem cozidos, fritos ou assados.



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária
Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
Coordenação Geral de Programas Especiais

§1º O DIPOA informará a prevalência que será analisada pelo plano amostral desenvolvido.

§2º. O plano amostral e a prevalência inicial da coleta de amostras encontram-se descritos no Anexo I.

§3º. A grade de sorteio inicial de coleta de amostras encontra-se descrita no Anexo II.

Art. 6º O SIF selecionará aleatoriamente o dia de amostragem, considerando o cronograma de coletas publicado periodicamente pelo DIPOA.

§1º A coleta da amostra para os produtos provenientes do abate deverá ser distribuída proporcionalmente entre os lotes que compõem o período de abate do dia selecionado para a amostragem, conforme Anexo III e IV.

§2º A coleta da amostra das aparas da desossa deverá ser distribuída em intervalos regulares durante um turno de trabalho, conforme exemplificado no Anexo IV.

§3º Para cada amostra coletada o SIF deverá manter registros das seguintes informações:

I- No caso de carne de cabeça, esôfago e diafragma (Anexo III):

- a) número de animais abatidos no dia da coleta;
- b) número de animais de cada lote que compõem o período de abate amostrado;

II - Para carne de desossa (Anexo IV):

- a) número de turnos de desossa;
- b) período de trabalho do turno amostrado;
- c) volume de produção de aparas da desossa do turno amostrado

§4º Cabe ao SIF atentar para que todos os turnos de produção tenham a mesma chance de serem amostrados.

Art. 7º. O estabelecimento deverá ser notificado sobre a coleta de amostra com antecedência mínima de 24 horas, de forma a permitir o planejamento da produção e a execução do trabalho pelo SIF.

§1º Caso um estabelecimento não tenha disponível o produto sorteado para a coleta (seja por não ter abate, desossa ou não fazer uso desses produtos para alimentação humana), o SIF deverá coletar outro produto dentre carne de cabeça, diafragma, esôfago ou apara de desossa e comunicar a CGPE/DIPOA.

Art. 8º. A coleta de amostras seguirá o método designado como N60, que consiste na coleta asséptica de 60 pedaços pequenos e finos do produto indicado no plano amostral, que deverão ser acondicionados em um saco plástico estéril (tipo **whirlpack**).



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária
Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
Coordenação Geral de Programas Especiais

§1º Os pedaços coletados consistem de fatias finas retiradas da superfície dos produtos, com tamanho de aproximadamente 3 cm de largura, 8 cm de comprimento e 0,5 cm de espessura, com peso aproximado entre 5g a 10g.

§2º O peso dessa amostra será de no mínimo 325g.

Art. 9º. Adicionalmente será necessário coletar assepticamente cerca de 700g de pequenos pedaços do produto nas mesmas caixas ou sacos do lote amostrado para o N60 para a realização da técnica laboratorial.

§1º Nesta etapa não será necessário cortar os pedaços no tamanho e número descritos no Art. 8º, mas atentar para que os pedaços contenham a maior área de superfície possível

§2º O produto coletado deverá ser acondicionado num segundo saco plástico estéril.

§3º Orientações sobre a coleta da amostra estão descritas no Anexo V.

Art. 9º. Após coletar as amostras é necessário medir a temperatura dos produtos que estão na parte superior das caixas ou sacos que foram aleatoriamente amostrados, devendo ser registrado no formulário de Solicitação Oficial de Análise (SOA) a maior temperatura observada.

§ 1º Não medir a temperatura nos pedaços que compõem a amostra.

Art. 10. Após a coleta, as amostras acondicionadas nos sacos plásticos estéreis devidamente fechados deverão ser colocadas em um saco plástico maior o qual será lacrado de forma inviolável.

Art. 11. A amostra será enviada ao laboratório acompanhada da SOA devidamente preenchida, carimbada e assinada, com os respectivos códigos das análises requeridas.

§1º Orientações sobre o preenchimento da SOA constam no Anexo VI.

Art. 12. Considerando os problemas de logística e para assegurar a conservação do produto, a amostra deverá ser congelada antes do envio ao laboratório.

§1º A amostra coletada na semana do sorteio deverá ser enviada ao laboratório no início da semana seguinte, de forma que chegue ao LANAGRO respeitando o horário de recebimento de amostras de cada laboratório, conforme Anexo VII.

Art. 13. No caso de impedimentos na coleta e envio de amostras, paralisação temporária ou retorno da produção dos estabelecimentos sorteados a CGPE/DIPOA deverá ser imediatamente comunicada pelo e-mail cgpe.dipoa@agricultura.gov.br.



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária
Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
Coordenação Geral de Programas Especiais

Art. 14. O teste para detecção de *Escherichia coli* O157:H7 e dos seis sorogrupos relevantes de *Escherichia coli* produtoras de shiga toxina (STEC) O26, O45, O103, O111, O121 e O145, denominados de “não-O157 STEC”, será realizado nos LANAGROs em três etapas.

Art. 15. Na primeira etapa será realizado um teste presuntivo que envolve uma reação em cadeia da polimerase (PCR **screening test**) para a identificação de amostras “potencialmente positivas”.

§1º A metodologia para *E.coli* O157:H7 inclui somente um estágio de PCR **screening test**.

§ 2º Para não-O157 STEC screening test serão realizados dois estágios, o primeiro irá detectar amostras positivas para os genes *stx* (Shiga toxina) e *eae* (intimin). No segundo estágio, as amostras serão testadas para a presença de um dos seis sorogrupos alvo (O26, O45, O103, O111, O121 e O145).

§ 3º No caso de resultado negativo, os procedimentos de análise estarão concluídos.

§4º No caso de resultados positivos nesta primeira etapa as amostras serão consideradas potencialmente positivas e são necessários testes complementares para confirmação.

Art. 16. A segunda etapa consistirá em isolamento em meio de cultura específico **Agar rainbow**, cujo resultado será interpretado como amostra “presumivelmente positiva” se forem observadas colônias típicas e reações com antisoro (antígeno).

§1º Para *E.coli* O157:H7 as amostras apresentam colônias típicas no **Agar rainbow** e reagem especificamente com o antisoro O157.

§2º Para não-O157 STEC as amostras apresentam colônias típicas no **Agar rainbow** modificado e reagem especificamente com um ou mais antisoros dos sorogrupos alvo. As colônias que reagem com o antisoro possuem determinação genética de *stx*, *eae* e um dos genes do sorogrupo alvo O.

§3º No caso de amostras negativas, os procedimentos de análise estarão concluídos.

§4º No caso de resultados positivos nesta primeira etapa as amostras serão consideradas presumivelmente positivas e são necessários testes complementares para confirmação.

Art. 17. A última etapa consiste na determinação sorológica ou genética de um isolado bioquimicamente identificado como *E. coli*.

§1º Para a confirmação de *E.coli* O157:H7 o isolado bioquimicamente identificado como *E. coli* deverá ser sorologicamente ou geneticamente determinado como O157 reunindo pelo menos um dos seguintes critérios: produção de Shiga toxina (ST), gene Shiga toxina (*stx*) ou determinação genética do sorotipo H7.



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária
Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
Coordenação Geral de Programas Especiais

§2º Para a confirmação de não-O157 STEC o isolado bioquimicamente identificado como ***E. coli*** possui **stx, eae**, e um dos sorogrupos O alvo (O26, O45, O103, O111, O121 e O145).

§3º No caso de amostras positivas, o resultado do teste nesta terceira etapa será emitido como “positivo confirmado” e informará o sorotipo detectado.

Art. 18. Na fase inicial desse Programa, que consiste na identificação e no levantamento da prevalência do patógeno no país, os resultados das análises laboratoriais serão encaminhados diretamente ao DIPOA, pelo email cgpe.dipoa@agricultura.gov.br.

§1º Esta fase tem inicialmente a duração prevista de quatro meses.

Art. 19. Os procedimentos de autocontrole dos estabelecimentos de abate de bovinos devem levar em consideração os riscos inerentes a ***E. coli*** verotoxigênica.

Art. 20. O SIF local poderá adotar as seguintes ações fiscais, quando couber, para salvaguardar a saúde dos consumidores:

- I – apreensão de produtos;
- II – destinação de produtos;
- III – interdição de áreas, instalações e equipamentos;
- IV – interrupção da emissão de Certificados Sanitários.

Art. 21. Esta Norma entra em vigor na data de sua publicação.

JUDI MARIA DA NÓBREGA

ANEXO I - PLANO AMOSTRAL

ANEXO II - GRADE DE SORTEIO PARA O PROGRAMA DE *E. coli* VEROTOXIGÊNICA
FASE INICIAL - 1º ETAPA

ANEXO III - CÁLCULO PARA AMOSTRAGEM N60

ANEXO IV - DISTRIBUIÇÃO DA AMOSTRA



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária
Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
Coordenação Geral de Programas Especiais

ANEXO V - ORIENTAÇÕES PARA COLETA DE AMOSTRA PARA ANÁLISE DE
E. coli VEROTOXIGÊNICA

ANEXO VI - ORIENTAÇÕES PARA PREENCHIMENTO E MODELO DA
SOLICITAÇÃO OFICIAL DE ANÁLISE (SOA)

ANEXO VII - REDE DE LABORATÓRIOS NACIONAIS AGROPECUÁRIOS - LANAGROS