



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

NORMA INTERNA DIPOA/SDA Nº 01, DE 17 DE JUNHO DE 2015

O DIRETOR 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 21000.007094/2013-41, resolve:

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

Art. 2º As análises para pesquisa de **E. coli** verotoxigênica têm como objetivos a identificação desse patógeno de alto risco para a saúde pública e o estudo longitudinal prospectivo para estimar a prevalência referencial para um programa de controle de **E. coli** verotoxigênica e **Salmonella spp.** em carne bovina **in natura** nos estabelecimentos registrados junto ao Serviço de Inspeção Federal (SIF).

Art. 3º 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 – aparas, também denominadas de retalhos da desossa; ou

II - produtos provenientes do abate como carne de cabeça, esôfago ou diafragma destinados à alimentação humana.

§ 1º Nos estabelecimentos que realizam abate e desossa obrigatoriamente deverão ser coletadas as aparas.

§ 2º Caso o estabelecimento sorteado não disponibilize aparas por não realizar desossa, o SIF deverá coletar carne de cabeça e na ausência desta, diafragma ou esôfago.

Art. 4º As amostras de carne bovina descritas no artigo anterior serão coletadas pelo SIF nos estabelecimentos que realizam abate ou desossa de bovinos, e encaminhadas aos laboratórios pertencentes à Rede de Laboratórios Nacionais Agropecuários - LANAGRO do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária definidos pela CGAL, para a pesquisa de **E. coli** verotoxigênica e **Salmonella spp.**



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária

Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal

Art. 5º 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. 6º O plano amostral para estimar a prevalência de **Escherichia coli** verotoxigênica e **Salmonella spp.** em carne de bovino **in natura** está descrito no Anexo I e o DIPOA divulgará periodicamente o cronograma de coletas de amostras.

Art. 7º O SIF selecionará aleatoriamente o dia de amostragem, considerando o cronograma de coletas divulgado pelo DIPOA.

§1º Cabe ao SIF atentar para que todos os turnos de produção tenham a mesma chance de serem amostrados.

§2º Para cada amostra coletada, o SIF deverá manter registros dos dados necessários para a rastreabilidade tais como turno de produção e lote definido pelo estabelecimento que corresponde ao produto amostrado.

Art. 8º 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.

Art. 9º A coleta de amostra seguirá o método designado como N60, que consiste na coleta asséptica de 60 pedaços pequenos e finos do produto definido no inciso I ou II do art. 2º desta Norma Interna, que deverão ser acondicionados em um saco plástico estéril, tipo **whirlpack**.

§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. 10. 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 uso do laboratório quando necessário.



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária

Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal

§1º Nesta etapa não será necessário cortar os pedaços no tamanho e número descritos no Art. 9º, 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 II.

Art. 11. 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. 12. A amostra será enviada ao laboratório acompanhada da solicitação oficial para envio de amostra ao laboratório devidamente preenchida, carimbada e assinada.

Art. 13. Considerando os problemas de logística e para assegurar a conservação do produto, a amostra deverá ser congelada antes do envio ao laboratório.

Parágrafo único. A amostra coletada na semana do sorteio poderá 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.

Art. 14. 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.

Art. 15. A mesma amostra descrita nos arts. 9º e 10º desta Norma Interna será utilizada no laboratório para detecção dos dois patógenos **E. coli** verotoxigênica e **Salmonella spp.** seguindo a metodologia MLG disponibilizada no sítio eletrônico da CGAL.

Art. 16. O teste para detecção de **E. coli** O157:H7 e dos seis sorogrupos relevantes de **E. coli** produtoras de shiga toxina, **STEC** O26, O45, O103, O111, O121 e O145, denominados de não-O157 STEC será realizado em três etapas.

Art. 17. Na primeira etapa será realizado um teste 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



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

Secretaria de Defesa Agropecuária

Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal

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 resultado positivo nesta primeira etapa as amostras serão consideradas potencialmente positivas e são necessários testes complementares para confirmação.

Art. 18. A segunda etapa consistirá no 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.

§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 resultado negativo, os procedimentos de análise estarão concluídos.

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

§5º Considerando que o laboratório confirma a maioria das amostras presumivelmente positivas, este resultado deve ser comunicado à CGPE/DIPOA pelo endereço eletrônico cgpe.dipoa@agricultura.gov.br.

Art. 19. 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.

§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.



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

Secretaria de Defesa Agropecuária

Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal

§3º No caso de amostras positivas para **E. coli** verotoxigênica, o resultado do teste nesta terceira etapa será emitido como positivo confirmado e informará o sorotipo alvo detectado.

Art. 20. Os laboratórios encaminharão os resultados das análises de **E. coli** verotoxigênica e **Salmonella spp.** diretamente ao DIPOA, pelo endereço eletrônico cgpe.dipoa@agricultura.gov.br, sendo que os resultados positivos confirmados para **E. coli** STEC deverão ser enviados com a maior brevidade possível.

Art. 21. Considerando que **E. coli** verotoxigênica é um patógeno de alto risco para a saúde pública, as ações de fiscalização decorrentes de constatação de desvios, quando couber, serão executadas em conformidade com o estabelecido na legislação vigente.

Art. 22. Esta Norma entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 23. Fica revogada a Norma Interna Dipoa/SDA nº 2, de 20 de agosto de 2013.

JOSÉ LUIS RAVAGNANI VARGAS

ANEXO I - PLANO AMOSTRAL

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