



**Agência Nacional de Vigilância Sanitária**  
**Anvisa**

# **PERGUNTAS & RESPOSTAS**

## **Padrões Microbiológicos**

### **GERÊNCIA-GERAL DE ALIMENTOS**

Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia  
de Alimentos

4ª edição

Brasília, agosto de 2021

## **ELABORAÇÃO**

### **Gerência-Geral de Alimentos (GGALI)**

Thalita Antony de Souza Lima

Angela Karinne Fagundes de Castro

### **Gerência de Avaliação de Riscos e Eficácia (GEARE)**

Ligia Lindner Schreiner

Ana Cláudia Marquim Firmo de Araújo

Carolina Araújo Vieira

Cleidiana Rios Cary

Denise Reis Martins Homerod

Fátima Machado Braga

Larissa Bertollo Gomes Pôrto

Luana de Castro Oliveira

Maria Eugênia Vieira Martins

Marina Ferreira Gonçalves

Mario Torres Angonese

Patrícia Mandali de Figueiredo

Rebeca Almeida Silva

Viviane Mega de Andrade Zalfa

### **Gerência de Padrões e Regulação de Alimentos (GEPAR)**

Tiago Lanius Rauber

Ana Paula Rezende Peretti

Camila Miranda Moura

Lorena Beatriz Tozetto

Rodrigo Martins de Vargas

### **Gerência de Regularização de Alimentos (GEREG)**

Patrícia Ferrari Andreotti

Andressa Gomes de Oliveira

Adriana Moufarrege

Juliana Araújo Costa

Rejane Rocha França

Renata Calegari Lino

Simone Coulaud Cunha

Stefani Faro de Novaes

## SUMÁRIO

I – INTRODUÇÃO.....	9
II – LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
III – PERGUNTAS E RESPOSTAS.....	12
ESCLARECIMENTOS SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS.....	12
1. O que é um padrão microbiológico?.....	12
2. Qual o objetivo do estabelecimento de padrões microbiológicos para alimentos?.....	12
3. Quais são os componentes do padrão microbiológico?.....	12
4. Como foram definidas as categorias de alimentos presentes na Instrução Normativa n. 60/2019?.....	13
5. Como foram estabelecidos os padrões microbiológicos?.....	14
6. Como interpretar os padrões estabelecidos nos Anexos da Instrução Normativa n. 60/2019?	15
7. Como proceder quando não há padrão estabelecido para determinado alimento?.....	16
8. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para coliformes a 45°C?.....	16
9. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para Clostrídios Sulfito Redutores?.....	17
10. Por que a Instrução Normativa não estabelece padrão para todos os indicadores higiênico-sanitários (por exemplo, mesófilos, bolores e leveduras, Enterobacteriaceae, psicrófilos, etc.)?	17
ESCLARECIMENTOS SOBRE O ÂMBITO DE APLICAÇÃO DOS ATOS NORMATIVOS.....	18
11. Qual o âmbito de aplicação dos atos normativos?.....	18
12. Os padrões microbiológicos se aplicam aos ingredientes, incluindo os aditivos e as matérias primas?.....	19
13. Por que a ANVISA não regulamenta padrões microbiológicos para aditivos com fins industriais?.....	19
14. A Instrução Normativa nº 60/2019 deve ser utilizada na elucidação de surtos de DTA?....	20
15. Os limites da Instrução Normativa nº 60/2019 devem ser utilizados na interpretação de resultados de amostras de surtos de DTA?.....	20
16. Podem ser realizadas determinações analíticas de outros micro-organismos, suas toxinas ou metabólitos, não previstos na Instrução Normativa nº 60/2019?.....	20
17. Os produtos comercializados entre empresas devem atender aos padrões estabelecidos na IN?.....	21
ESCLARECIMENTOS SOBRE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E MÉTODOS ANALÍTICOS.....	22
18. Quais métodos analíticos podem ser utilizados na avaliação microbiológica de alimentos?	22

19. Métodos alternativos podem ser utilizados na avaliação microbiológica de alimentos? ...	22
20. Em quais situações pode ser realizada a composição (agrupamento) de amostras, para fins de análise?.....	22
21. Qual o limite de detecção do método para determinação de toxinas estafilocócicas?.....	23
22. Como os alimentos comercialmente estéreis devem ser analisados? .....	23
23. Qual deve ser a periodicidade das análises microbiológicas? .....	24
24. Em algumas categorias de alimentos são estabelecidos critérios para Salmonella e Enterobacteriaceae, não se trata de duplicidade? Posso realizar a análise de E. coli ao invés de Enterobacteriaceae ou vice-versa? .....	24
25. Qual a referência utilizada para estabelecimento do limite de detecção de toxina estafilocócica? .....	25
26. Estamos com dificuldades para encontrar laboratório que realize a análise de toxina estafilocócica em alimentos. Como proceder?.....	26
27. Se para análise de toxina estafilocócica temos dois métodos com sensibilidades diferentes, de (A) 0,25ng e de (B) 1,0 ng, por exemplo, ambos atendem a legislação. Mas o meu alimento tem 0,80 ng logo será reprovado pelo método (A) e aprovado pelo método (B). Como proceder?	26
28. Como deve ser realizado o ensaio de histamina para pescados? .....	27
29. Com relação ao padrão de águas envasadas, quais métodos podem ser utilizados, tendo em vista a alteração da unidade analítica de 100 para 250 mL? .....	27
30. 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? .....	27
31. 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? .....	28
32. 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?.....	29
33. 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? .....	29
34. 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 ?.....	30
35. Caso o resultado de Salmonella genérica seja positivo e o LACEN não realize a tipificação de Salmonella? .....	30
36. O Anexo 2, Padrão microbiológico de Listeria monocytogenes em alimentos prontos para consumo, define a análise quantitativa deste micro-organismo. Considerando que as empresas produtoras de alimentos de origem animal, utilizam como normativa para controle da Listeria	

*monocytogenes a IN 9/2019 do MAPA, e esta determina análise qualitativa, as empresas produtoras terão que implantar análises quantitativas para o micro-organismo em questão?*

30

<i>ESCLARECIMENTOS SOBRE PLANOS DE AMOSTRAGEM .....</i>	<i>31</i>
<i>37. O que é um plano de amostragem? .....</i>	<i>31</i>
<i>38. Qual a finalidade de um plano de amostragem? .....</i>	<i>31</i>
<i>39. Quais os componentes de um plano de amostragem? .....</i>	<i>32</i>
<i>40. Como foram definidos os planos de amostragem da Instrução Normativa n. 60/2019?....</i>	<i>32</i>
<i>41. Como são classificados os planos de amostragem? .....</i>	<i>35</i>
<i>42. Como foram definidas as classes dos planos de amostragem representativos, constantes da Instrução Normativa n.60/2019? .....</i>	<i>35</i>
<i>43. De quem é a responsabilidade de definir a aplicação do tipo de plano, se de duas ou de três classes? Do fabricante? .....</i>	<i>36</i>
<i>44. Podem ser utilizados planos de amostragem alternativos? .....</i>	<i>36</i>
<i>45. Quais os requisitos para estabelecimento e utilização de planos de amostragem alternativos?.....</i>	<i>37</i>
<i>46. Como são classificadas as amostras coletadas, para fins de análise?.....</i>	<i>38</i>
<i>47. Por que foi estabelecido, para Salmonella em carne de suínos, o plano de amostragem n=5 e c=1? .....</i>	<i>39</i>
<i>ESCLARECIMENTOS SOBRE O ESTABELECIMENTO DE LIMITES .....</i>	<i>39</i>
<i>48. Como foram estabelecidos os limites m e M?.....</i>	<i>39</i>
<i>49. 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"? .....</i>	<i>40</i>
<i>50. Por que foi estabelecido o limite de 100 UFC/g para Listeria monocytogenes em alimentos prontos para o consumo?.....</i>	<i>41</i>
<i>51. Qual a referência utilizada para estabelecimento dos limites de Cronobacter spp?.....</i>	<i>42</i>
<i>52. Qual a referência utilizada para estabelecimento do limite para histamina?.....</i>	<i>43</i>
<i>53. Por que foi estabelecido Ausência de Salmonella Enteritidis e Salmonella Typhimurium em carnes cruas de aves?.....</i>	<i>44</i>
<i>54. Qual foi o critério considerado para retirada do Bacillus cereus do leite em pó? .....</i>	<i>50</i>
<i>ESCLARECIMENTOS SOBRE AS DEFINIÇÕES.....</i>	<i>50</i>
<i>55. No que consiste uma amostragem indicativa? .....</i>	<i>50</i>
<i>56. No que consiste uma amostragem representativa? .....</i>	<i>50</i>
<i>57. Qual a diferença entre unidade amostral e unidade analítica?.....</i>	<i>51</i>
<i>58. O que significa alimento pronto para oferta ao consumidor? .....</i>	<i>51</i>

59. O que é esterilidade comercial? .....	51
60. Como identificar um alimento comercialmente estéril, para fins de aplicação do Anexo III? 51	
61. O que é considerado tratamento térmico efetivo? .....	54
62. O que é alimento preparado pronto para consumo?.....	54
63. Qual a diferença entre alimento preparado pronto para consumo e alimento pronto para consumo? .....	55
64. Qual a diferença entre alimento semielaborado e alimento pronto para consumo?.....	55
65. Quando enquadrar um alimento nas categorias gerais de alimentos semielaborados e alimentos pronto para consumo (Categoria 22)? .....	56
ESCLARECIMENTOS SOBRE A INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS E AÇÕES EM CASO DE DESCUMPRIMENTO DOS PADRÕES.....	56
66. Como interpretar os resultados, considerando os valores de “c”, “m” e “M” atribuídos no padrão microbiológico?.....	56
67. 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? .....	57
68. Qual a responsabilidade da cadeia produtiva de alimentos? .....	59
69. Quando a cadeia produtiva de alimentos deve investigar as causas de resultados não conformes?.....	60
70. Quando as medidas previstas na Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 24, de 8 de junho de 2015, devem ser adotadas? .....	60
71. Quando a cadeia produtiva de alimentos deve investigar a segurança de outros lotes? ...	61
ESCLARECIMENTOS SOBRE ENQUADRAMENTO DE ALIMENTOS.....	61
72. Quais alimentos devem ser pesquisados quanto à presença de <i>Listeria monocytogenes</i> ? E quais alimentos estão dispensados da pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> ?.....	61
73. Em qual categoria se enquadram os produtos que contém mais de um tipo de carne? .....	62
74. Os alimentos cárneos porcionados (fatiados, cubados, etc) e destinados a venda direta se enquadram em qual categoria da Instrução Normativa n. 60/2019? .....	62
75. Quais limites microbiológicos devo considerar para suplementos em cápsula/comprimido/drágeas, com constituintes ativos de diferentes origens, uma vez que na Farmacopeia Brasileira temos a avaliação de padrões microbiológicos conforme origem do produto?.....	62
76. No caso dos suplementos em cápsulas, cujo conteúdo é líquido, em qual categoria ele deve ser enquadrado?.....	63
77. Para fins de enquadramento no anexo II, serão considerados prontos para consumo apenas aqueles alimentos cuja subcategoria traz o termo "prontos para consumo"?.....	63

78. Qual o enquadramento recomendado para alimentos/fórmulas infantis pronto para consumo, como por exemplo, as fórmulas infantis preparadas em lactários de hospitais, após adição de água? .....	64
79. Para as categorias 17 e 23, os ensaios analíticos devem ser realizados no produto após preparo (infusão ou decocção)?.....	64
80. Para serviços de alimentação que realizam análises laboratoriais como medida de controle de qualidade dos alimentos ofertados, é necessário realizar a quantidade de amostras representativas (n) e pesquisa de micro-organismo/toxina/metabólito indicadas nos anexos I, II e III? .....	64
81. Em qual categoria se enquadra o sushi/sashimi preparados em serviços de alimentação? Deve-se analisar histamina nesses alimentos? .....	66
82. Houve harmonização dessa legislação com as legislações do MAPA? Por que são identificados critérios diferentes entre os órgãos reguladores?.....	67
83. Caso uma análise fiscal resulte em "qualidade intermediária aceitável" configura-se um descumprimento da legislação sanitária? .....	67
84. Para quais alimentos deve-se realizar análises de toxina estafilocócica?.....	67
85. 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 proteína isolada de soja essa análise deve ser realizada?.....	68
86. Por que não foram estabelecidos padrões microbiológicos para óleos vegetais na IN 60/2019? .....	68
87. 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?.....	69
<b>ESCLARECIMENTOS SOBRE A VIGÊNCIA E RETIFICAÇÃO DOS ATOS NORMATIVOS.....</b>	
88. Qual é o prazo para que os produtos se adequem ao novo marco regulatório?.....	70
89. Qual o procedimento necessário para incluir ou atualizar os padrões microbiológicos de alimentos?.....	70
90. Deve-se aguardar a data de vigência da Instrução Normativa para aplicar os padrões estabelecidos na IN 60/2019?.....	71
91. Houve retificação do padrão microbiológico definido para <i>Listeria monocytogenes</i> em alimentos prontos para consumo (categoria a do Anexo II)? Foi publicado como /25 g e deveria ser /g, não?.....	71
92. Sobre o padrão microbiológico de <i>Salmonella spp</i> em carnes cruas de suínos e de aves, o que muda com a publicação da Resolução – RDC n. 459/2020, que estabelece as instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias na rotulagem de produtos de carne crua suína e de aves?.....	71
93. Para quais alimentos se aplicam a veiculação das instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias na rotulagem, conforme estabelece a Resolução – RDC n. 459/2020? .....	72



## 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 4ª Edição possui 93 perguntas e respostas com orientações atualizadas sobre a aplicação do novo marco regulatório de padrões microbiológicos. Basicamente, além das modificações editoriais, foram inseridos ou alterados os seguintes questionamentos em relação à última edição: a) Pergunta nº 80, sobre a amostragem em serviços de alimentação; b) Pergunta nº 88, sobre os padrões microbiológicos aplicáveis às fórmulas para nutrição enteral no período de transição; e c) Pergunta nº 93, sobre as categorias de alimentos que devem veicular os dizeres de rotulagem da RDC n. 459/2020.

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 de um processo de alimento. Um padrão pode ser expresso como ausência ou presença de um determinado micro-organismo, população microbiana presente, ou presença de toxinas ou metabólitos microbianos 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 estabelecer padrões microbiológicos a serem adotados pela cadeia produtiva de alimentos, de forma a proteger a saúde dos consumidores.

Padrões microbiológicos são estabelecidos para apoiar a tomada de decisão sobre um alimento, 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 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 micro-organismo, o ponto específico da cadeia em que este padrão é aplicável, os limites microbiológicos mínimo e máximo, quando aplicáveis (m, M) e o plano de amostragem. Um plano de amostragem define 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 adotadas pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF), acrescidas de outras categorias, conforme apontado pelo setor produtivo.

As categorias gerais foram separadas em categorias específicas somente quando houvesse justificativa para a adoção de critérios microbiológicos distintos entre os alimentos da mesma categoria geral. Essa separação foi adotada em função de diferenças nos processos produtivos, formas de consumo, população para qual o alimento 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 acompanha estes avanços, a Instrução Normativa prevê, em seu art. 5º, que um alimento que não consta na referida Instrução seja enquadrado na categoria que mais se assemelha à sua natureza e forma de processamento.

A Instrução Normativa prevê ainda duas categorias adicionais, consideradas abrangentes: “alimentos semielaborados” e “alimentos prontos para o consumo”. Qualquer alimento que atenda a definição de alimento semielaborado ou alimento pronto para consumo deve ser enquadrado nessa categoria, desde que não se enquadre em nenhuma das categorias específicas listadas.

Ressaltamos que o enquadramento de produto é de responsabilidade da empresa fabricante, pois além da natureza do alimento, depende também de características que podem variar de produto a produto, tais como, processamento empregado, instruções de preparo, instruções de conservação, uso de conservadores, etc.

## 5. Como foram estabelecidos os padrões microbiológicos?

Os padrões microbiológicos foram estabelecidos apenas para os alimentos com uma necessidade definida ou aplicação prática. Essa necessidade é decorrente, por exemplo, de evidências epidemiológicas de que o alimento em questão pode representar um risco para a saúde pública e que o estabelecimento de um critério é necessário para a proteção dos consumidores, ou ainda, como indicação de uma avaliação de risco. Também foi considerada a existência de método analítico oficial para determinação do micro-organismo ou toxina/metabólito em questão. Os padrões microbiológicos foram estabelecidos considerando-se:

- Presença de micro-organismos patogênicos, suas toxinas e metabólitos de relevância no alimento;
- Níveis quantitativos de micro-organismos de interesse para verificação das condições de higiene, considerando as Boas Práticas;
- Características intrínsecas e extrínsecas do alimento e a forma de preparo e consumo;
- Evidências epidemiológicas de ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e probabilidade de presença do micro-organismo 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 os estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*.

Os micro-organismos incluídos nos padrões foram somente os 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 planos de amostragem indicados para cada categoria de alimento, ilustramos na tabela abaixo alguns exemplos 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 <sup>2</sup>	-
Alimento C	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	10 <sup>2</sup>

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

Para o alimento B, o padrão microbiológico estabelece que devem ser coletadas 10 unidades amostrais do alimento (n=10), sendo que nenhuma unidade amostral (c=0) pode apresentar resultado maior que 10<sup>2</sup> UFC por grama (m). Também é um plano de duas classes, pois o resultado pode ser classificado em qualidade aceitável ou inaceitável, mesmo sendo baseado na determinação da concentração de micro-organismo.

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

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

A Resolução não apresenta critérios microbiológicos para certos "alimentos", pois ou são considerados ingredientes, não sendo ofertados diretamente ao consumidor, ou possuem características intrínsecas (atividade de água, pH) que não permitem a multiplicação de micro-organismos (Ex.: sal, mel, bebidas alcóolicas, arroz e feijão crus, etc).

A Instrução Normativa traz um dispositivo que prevê o enquadramento do alimento em categoria com natureza e processamento similar.

Para os alimentos prontos para o consumo que não se enquadram em alguma categoria especificamente listada, aplicam-se os padrões da categoria "Alimento pronto para o consumo". Considera-se "Alimento pronto para o consumo" aquele destinado ao consumo direto, sem a necessidade de tratamento térmico efetivo ou outro processo para a eliminação ou redução de micro-organismos a níveis seguros.

## 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:

- as determinações analíticas de "Coliformes a 35°C" e "Coliformes a 45°C", não são mais usadas internacionalmente, uma vez que esses testes indicam/quantificam somente os micro-organismos que fermentam a lactose. Aqueles não fermentadores de lactose não aparecem na determinação, mas podem ter importância sanitária e predominar no alimento, por exemplo, *Cronobacter*, *Shigella*, *Yersinia*, *E. coli* O157.
- os coliformes não constituem um grupo taxonômico definido, podendo incluir algumas espécies que fermentam lentamente lactose e que não são reconhecidamente coliformes, como *Erwinia* e *Serratia*, ou espécies com linhagens capazes de perder a capacidade fermentativa da lactose, como *Citrobacter*, *Klebsiella* e algumas cepas de *Escherichia*.

- os métodos de referência para a 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.
- a pesquisa de bactérias do grupo Enterobacteriaceae fornece 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. Para essas metodologias, os ensaios de contagem de colônias em placas recomendam incubação das placas às temperaturas entre 35 e 37°C, não à 46°C, como era realizado para a determinação de Clostrídios Sulfito Redutores à 46°C. Embora *Clostridium perfringens* multiplique rapidamente entre 44-46°C, não é recomendado fazer a incubação à temperatura de 46°C quando são utilizadas técnicas de semeadura em placas ou contagem de colônias. Além disso, os ensaios quantitativos de *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 que indicam contaminação ou falhas de processamento (Ex.: *Escherichia coli* e Enterobacteriaceae).

Os micro-organismos relacionados com deteriorações ou perda de qualidade dos alimentos foram considerados somente para aqueles alimentos nos quais a probabilidade de crescimento de micro-organismos indicadores é muito baixa, pela sua natureza (Ex.: alimentos com baixa atividade de água devido à secagem ou alta concentração de açúcares, gorduras ou sais) ou para aqueles alimentos que têm tempo de prateleira limitado (Ex.: carnes). nos quais a avaliação da qualidade tem grande importância.

Entretanto, os fabricantes de alimentos são responsáveis por 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 nos pontos de venda e nas residências. Alimentos com sinais visíveis de deterioração são impróprios para o consumo e sua qualidade é considerada inaceitável, independente de atender ou não ao padrão microbiológico estabelecido.

## **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 produção, distribuição, comercialização e preparação do alimento, 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 aos alimentos prontos para oferta ao consumidor, ou seja, aplicam-se até o último dia do prazo de validade, considerando as condições de conservação estabelecidas pelo fabricante. Assim, se as características do alimento permitem a multiplicação de micro-organismos durante a distribuição e preparo, o fabricante deverá adotar padrões mais rigorosos para o produto que sai da indústria, de forma a assegurar que os limites estabelecidos na Instrução Normativa não sejam ultrapassados até o último dia do prazo de validade do alimento.

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 existentes, conforme Portaria n. 540/1998.

Para os outros ingredientes devem ser observados os limites estabelecidos em especificações publicadas em monografias de referência, como FCC, Farmacopéias 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 quando se objetiva limites inferiores aos 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 a qualidade do alimento. A especificação de um ingrediente deve ser definida de forma que os limites microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa 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 existentes, 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 e acondicionamento dos alimentos e público consumidor, considerando que as empresas fabricantes adotam as melhores práticas de fabricação possíveis. Com exceção dos planos de duas classes, os limites m e M são muito inferiores às concentrações de micro-organismos capazes de causar DTA. Logo, estes limites não devem ser utilizados para conclusões sobre a etiologia 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 suas doses infectantes, 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-organismos patogênicos, toxinas ou metabólitos microbianos que possam 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 para os quais existem testes microbiológicos oficiais capazes de identificá-los ou enumerá-los. No entanto, avanços nas tecnologias de produção de alimentos e emergência de novos micro-organismos patogênicos podem desencadear a necessidade de pesquisa 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. Os perigos listados na IN e para os quais foram estabelecidos limites são os mais prováveis de ocorrer naquela categoria específica de alimento, o que não significa que outros micro-organismos que possam causar danos à saúde humana, não listados na IN, não possam estar presentes no alimento. Por exemplo, *Shigella*, que é um micro-organismo patogênico e não pode estar presente nos alimentos, não consta como padrão em nenhuma categoria de alimento devido à sua baixa ocorrência e dificuldades analíticas. No entanto, o artigo 5º da Resolução – RDC n. 331/2018 determina que esse micro-organismo não pode estar presente, por exemplo, em alimentos prontos para o consumo, por ser patogênico.

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

Os padrões microbiológicos estabelecidos na IN se aplicam a alimentos prontos para oferta ao consumidor, ou seja, alimentos acabados. Os requisitos para aceitação de um ingrediente devem ser estabelecidos entre o fabricante do alimento e seu fornecedor, pois podem 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 à especificação solicitada pelo seu comprador, exceto quando este mesmo ingrediente também é 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?

A IN estabeleceu que os laboratórios devem utilizar métodos validados que constem de compêndios ou referências oficiais, tais como, *International Organization for Standardization (ISO)*, *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).

### 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, mencionados no item anterior, ou quando 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 utilizada, este procedimento só pode ser realizado quando previsto na referência do método analítico adotado, seguindo-se rigorosamente os procedimentos estabelecidos. Os métodos devem ter sido validados para composição de amostras com as matrizes que serão analisadas. Exemplo: o método para *Salmonella* do *Bacteriological*

*Analytical Manual* (BAM) prevê a composição de, no máximo, 15 amostras de 25g, totalizando 375g, que devem ser homogeneizadas com 3375 mL de caldo de pré-enriquecimento, para obtenção da diluição 1:9. Caso o método utilizado não mencione a possibilidade de composição, a validação é necessária. A composição de amostras 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?**

Conforme art. 6º da IN n. 60/2019, os alimentos comercialmente estéreis devem cumprir os padrões microbiológicos estabelecidos no Anexo III da Instrução Normativa. Para esses alimentos não se aplicam os padrões dos Anexos I e II.

O alimento comercialmente estéril deve ser estável à temperatura ambiente, ou seja, não pode apresentar sinais de deterioração microbiológica, tais como estufamento, vazamento, perda de vácuo ou deformação da embalagem, assim como qualquer modificação na aparência e odor ou alteração significativa de pH. Caso a amostra a ser analisada apresente qualquer uma dessas alterações, o alimento deve ser considerado de QUALIDADE INACEITÁVEL, devendo ser realizados ensaios adicionais para determinação das causas da deterioração. Para determinação da esterilidade comercial, a IN não determina procedimentos analíticos, tais como temperatura e tempo de incubação. Para a determinação das causas da deterioração deve-se aplicar os procedimentos que constam nos métodos internacionais para essa finalidade. A IN não especifica a quantidade de amostras a serem analisadas pois, segundo esses métodos, o número de amostras deve ser grande o suficiente para fornecer resultados confiáveis. Quando a causa da deterioração é clara, a análise de 4-6 amostras pode ser suficiente, mas em

alguns casos pode ser necessário analisar 10 a 50 amostras para que a causa da deterioração possa ser determinada (Examination of Canned Foods, Bacteriological Analytical Manual, Chapter 21<sup>a</sup>). Os resultados quanto à causa da deterioração (por ex., subprocessamento, resfriamento inadequado, contaminação pós processamento) devem ser interpretados conforme o método analítico utilizado.

### **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 frequência das análises deve ser determinada de acordo com as características dos produtos e do processo produtivo (APPCC, BPF) e o programa de controle de qualidade do alimento (produto final). O estabelecimento industrial e o serviço de alimentação deve conhecer todo o 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 representativa (Ex: a cada lote produzido ou não) deve ser determinada pela empresa.

### **24. Em algumas categorias de alimentos são estabelecidos critérios para *Salmonella* e Enterobacteriaceae, não se trata de duplicidade? Posso realizar a análise de *E. coli* ao invés de Enterobacteriaceae ou vice-versa?**

Não. Um dos componentes de um padrão microbiológico é o micro-organismo (Por ex *Salmonella*, *E.coli*) ou um grupo de micro-organismos (Por ex Enterobacteriaceae), e um não pode ser substituído pelo outro. A seleção do padrão para *E. coli* ou para Enterobacteriaceae foi baseada na natureza e no tipo de processamento do alimento, e os dois padrões não são intercambiáveis.

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*. A família Enterobacteriaceae é utilizada como indicador das condições de higiene dos processos de fabricação, porque seus membros são facilmente inativados 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 ( $> 10^4$  UFC por grama) em alimentos prontos para consumo indica nível inaceitável de contaminação ou subprocessamento (por exemplo, cozimento inadequado). A contagem de Enterobacteriaceae não é aplicável a frutas e vegetais frescos ou produtos contendo estes alimentos. Apesar de *Salmonella* fazer parte desta família, o método utilizado para determinação de Enterobacteriaceae não permite distinguir esse patógeno dos demais micro-organismos, podendo passar despercebido. Por essa razão, a pesquisa de *Salmonella* deve ser feita empregando-se metodologia específica, que envolve etapa de enriquecimento em meio líquido seguido de semeadura em meios de cultura seletivos que permitam 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 (*Commission Regulation* (EC) n. 2073/ 2005).

## **26. Estamos com dificuldades para encontrar laboratório que realize a análise de toxina estafilocócica em alimentos. Como proceder?**

Além dos métodos oficiais e dos métodos alternativos automatizados, existem kits de detecção rápida de toxinas estafilocócicas em alimentos, que atendem o limite de detecção estabelecido na RDC n. 331/2019. Esses kits não necessitam de equipamento para leitura e podem ser utilizados no laboratório do próprio fabricante do alimento.

## **27. Se para análise de toxina estafilocócica temos dois métodos com sensibilidades diferentes, de (A) 0,25ng e de (B) 1,0 ng, por exemplo, ambos atendem a legislação. Mas o meu alimento tem 0,80 ng logo será reprovado pelo método (A) e aprovado pelo método (B). Como proceder?**

Como em qualquer limite que o parâmetro é ausência, esse valor está limitado ao limite de detecção do método. 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, conforme o critério adotado pela União Europeia (EU, 2005). Sabe-se, no entanto, que populações vulneráveis, crianças inclusive, podem desenvolver intoxicação estafilocócica com a ingestão de apenas alguns microgramas de toxina, a IN estabeleceu o limite de segurança de 1ng/g (EVENSON et al., 1988; LARKIN et al., 2009). Assim, o método utilizado deve ser capaz de detectar, no mínimo, concentrações de enterotoxina menores ou iguais ao valor de segurança adotado. Portanto, tanto um método com sensibilidade de 0,25 ng/g (25 ng/100g de alimento), quanto um método de 1,0 ng/g (100ng/100g de alimento) podem ser utilizados. Só não podem ser utilizados métodos analíticos com limites de detecção superiores a 1,0 ng/g. Deve-se considerar que se trata de uma toxina, e os alimentos não devem apresentar qualquer quantidade de enterotoxina estafilocócica. Quanto menor o limite de detecção do método utilizado, maior será a segurança em relação à “ausência” de enterotoxina no alimento.

Sobre amostras contendo enterotoxina de 0,80 ng/g, o valor está bem próximo ao limiar de segurança estabelecido. Pequenas variações nos resultados, caso

sejam utilizados métodos analíticos com diferentes limites de detecção são esperadas, mas ocorrerão em raríssimas exceções.

### **28. Como deve ser realizado o ensaio de histamina para pescados?**

O ensaio de histamina deve ser realizado em uma amostra composta por 9 unidades amostrais, com um limite de 100mg/Kg. Caso o resultado seja superior a esse limite, deve-se analisar as unidades amostrais individualmente para verificar se alguma delas apresenta resultado acima de 200mg/Kg.

### **29. Com relação ao padrão de águas envasadas, quais métodos podem ser utilizados, tendo em vista a alteração da unidade analítica de 100 para 250 mL?**

As técnicas de filtração em membrana da ISO ou da AWWA são válidas para a filtração de 250mL. Adicionalmente, podem ser utilizadas as técnicas de NMP ou presença/ausência, mas o volume da amostra analisada deve ser ajustado (Ex.: dupla concentração).

### **30. 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?**

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), 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). O método escolhido deve contemplar, obrigatoriamente, em seu escopo de aplicação, a forma do suplemento a ser analisado, ou seja, cápsula, drágea ou comprimido. Os micro-

organismos pesquisados e seus limites são aqueles estabelecidos na Farmacopeia Brasileira, conforme IN n. 60/2019 (Anexo I, item 15c).

### **31. 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 que, para pesquisa de *Salmonella* em carne crua de suínos, o plano de amostragem deve ser  $n=5$  e  $c=1$ . 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.

Cabe ressaltar que 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 verificação do 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.

**32. 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.

**33. 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?**

O esquema utilizado na sorotipagem de *Salmonella* é o de White-Kauffmann, baseado nas diferenças encontradas nas estruturas de superfície do micro-organismo, que são antigênicas. Essas estruturas são a parede celular (antígenos somáticos "O"), o envelope celular ou cápsula (antígeno capsular "Vi") 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, a sorotipagem de *Salmonella* que tenha como resultado 1,4,[5],12:i:- ou 1,4,[5],12:-:1,2 indica tratar-se de *Salmonella* Typhimurium e, conseqüentemente, o produto do qual estes sorotipos foram isolados deve ser considerado de QUALIDADE INACEITÁVEL, ou seja, em desacordo com o padrão estabelecido.

**34. 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 *Salmonella* deve ser isolada e submetida à sorotipagem. Quando a sorotipagem indicar que se trata de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, esses resultados também deverão constar do laudo analítico.

**35. 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), para a realização de sorotipagem. Há um acordo para que o Laboratório de Referência receba os isolados dos diferentes Laboratórios de Saúde Pública, e emita o resultado analítico para o LACEN e para a Anvisa no prazo máximo cinco dias.

**36. O Anexo 2, Padrão microbiológico de *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para consumo, define a análise quantitativa deste micro-organismo. Considerando que as empresas produtoras de alimentos de origem animal, utilizam como normativa para controle da *Listeria monocytogenes* a IN 9/2019 do MAPA, e esta determina análise qualitativa, as empresas produtoras terão que implantar análises quantitativas para o micro-organismo em questão?**

Sim. As empresas de alimentos devem garantir, por meio de estudos e medidas de controle, que o alimento cumpre com os critérios estabelecidos pelo MAPA antes de deixar a indústria, mas também que o alimento disponibilizado para o consumidor atende os critérios estabelecidos pela Anvisa, até seu último dia de validade.

Ao determinar o prazo de validade de um alimento pronto para consumo, é importante considerar se o alimento permite a sobrevivência ou a multiplicação de *L. monocytogenes*. A sobrevivência e a multiplicação de *L. monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo variam de acordo com características do alimento e das condições em que esse alimento é

produzido, embalado e armazenado. Essas características são algumas vezes referidas como propriedades intrínsecas e extrínsecas dos alimentos, sendo as mais importantes o pH, a atividade da água ( $a_w$ ), a temperatura, a atmosfera, o tempo de armazenamento, conservadores e microbiota presentes, incluindo possíveis culturas iniciadoras. A empresa deve conhecer essas características e avaliar se existe a possibilidade de *L. monocytogenes* sobreviver ou multiplicar no alimento. Quando essa possibilidade existe, a empresa deve determinar os níveis de *L. monocytogenes* no ambiente de produção, matérias-primas e alimentos existentes, de acordo com as Boas Práticas e APPCC adotados. Deve também indicar os níveis de *L. monocytogenes* nos alimentos no início e no final de sua vida útil, para avaliar seu potencial de multiplicação em alimentos produzidos sob condições idênticas e confirmar que a vida útil está de acordo com as condições em que o alimento é armazenado, manuseado e consumido. Quando os níveis de *L. monocytogenes* nos alimentos prontos para consumo no final do prazo de validade são consistentemente baixos (inferiores a 100 UFC/g) ou “ausentes”, esses dados podem ser combinados com dados de amostragem de áreas e equipamentos de processamento, e de qualidade das matérias-primas e assim indicar, com nível suficiente de confiança, que o alimento não apresenta um risco para a saúde pública. O nível de confiança nesta avaliação aumenta com a quantidade de dados disponíveis, ou seja, quanto mais unidades de produto testadas, mais confiáveis os dados históricos se tornam.

## **ESCLARECIMENTOS SOBRE PLANOS DE AMOSTRAGEM**

### **37. 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.

### **38. Qual a finalidade de um plano de amostragem?**

O plano de amostragem representativo permite que os resultados da análise microbiológica de amostras de um alimento reflitam, de forma fiel, as condições microbiológicas do lote do alimento como um todo. O plano de

amostragem deve assegurar que as amostras analisadas representam o lote de onde foram retiradas.

Considerando que a análise microbiológica do produto todo ou de um lote inteiro de alimento é impraticável, pelo caráter destrutivo deste tipo de análise e custo, analisam-se amostras retiradas do alimento ou do lote. O número de amostras que devem ser analisadas e os critérios de decisão compõem o que se denomina um plano de amostragem.

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

### **39. Quais os componentes de um plano de amostragem?**

Um plano de amostragem é constituído por  $n$ ,  $c$  e o tamanho da unidade analítica (ex: 25g, 1g, 10g), sendo:

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

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

Os planos de amostragem foram inicialmente propostos pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF – *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*) em 1974. Segundo a ICMSF, os 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 disseminação 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 de acordo com o caso 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).

Na Instrução Normativa n. 60/2019, os alimentos e os micro-organismos foram classificados segundo os casos do ICMSF. Em alguns casos especiais, nos quais a combinação alimento/micro-organismo apresenta maior risco ao consumidor ou o alimento é destinado a populações sensíveis, adotou-se  $n > 5$ .

Condições em que o alimento poderá ser manipulado ou consumido após a amostragem				
Grau de risco	Exemplos	Risco		
		diminui	não se altera	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.

#### 41. 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).

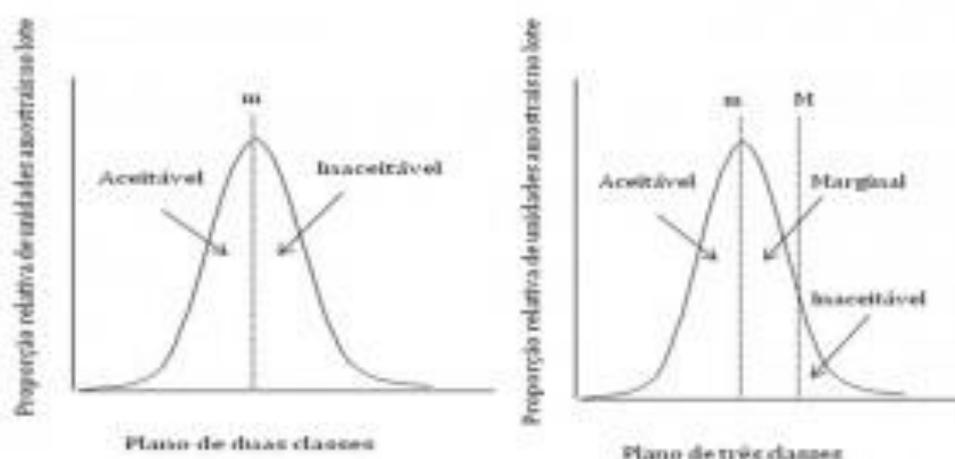


Figura. Representação dos resultados de um ensaio microbiológico, conforme plano de duas e três classes.

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.

#### 42. 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 detectaria o micro-organismo. Este plano é aplicável para patógenos que causam doenças mesmo em populações baixas ou para os quais existe um nível muito baixo de tolerância ( $m$ ), como *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 quando existe um limite superior claro que define concentrações inaceitáveis que não devem ser excedidas (M), tais como *Escherichia coli*, estafilococos coagulase positiva.

Na Instrução Normativa n. 60/2019, os planos de amostragem, se de duas ou três classes, foram estipulados de acordo com as premissas acima descritas. Os padrões que possuem  $c \geq 1$  são planos de três classes, enquanto os padrões que possuem  $c=0$  são planos de duas classes.

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

Os planos de amostragem na Instrução Normativa n. 60/2019 foram estipulados de acordo com as premissas anteriormente descritas (ver resposta à Pergunta 42). Não cabe à empresa escolher se deve aplicar um plano de duas ou de três classes, pois não é discricionário.

#### **44. 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.

#### 45. Quais os requisitos para estabelecimento e utilização de planos de amostragem alternativos?

O art. 9º da Resolução RDC n. 331/2019 estabelece que as empresas de alimentos devem seguir o plano de amostragem representativo estabelecido na IN n. 60/2019. Planos alternativos podem ser utilizados desde que forneçam proteção equivalente, que deve ser comprovada por meio de histórico de produção e implementação de sistemas de qualidade e segurança de alimentos documentados e validados. Ou seja, planos de amostragem alternativos podem ser usados desde que os seguintes critérios sejam atendidos: a) a empresa possua sistemas de qualidade e segurança de alimentos documentados (BPF e HACCP) e validados (HACCP); b) o plano alternativo escolhido apresente desempenho correspondente ao plano representativo estabelecido na IN n. 60/2019, comprovado por meio de histórico de produção.

Planos de amostragem com desempenho correspondente são aqueles que apresentam concentrações médias geométricas similares, admitindo-se 95% de probabilidade de rejeição e o mesmo desvio padrão. Exemplos são apresentados a seguir:

- a) o desempenho do plano de amostragem no caso 15 da ICMSF ( $n=60$ ,  $c=0$ ,  $m=Aus$ ) corresponde à concentração média geométrica de 1 célula em 2000g, com 95% de probabilidade de rejeição do lote, considerando um desvio padrão de 0,80 UFC/g. O desempenho do plano de amostragem no caso 14 da ICMSF ( $n=30$ ,  $c=0$ ,  $M=Aus$ ) corresponde à concentração média geométrica de 1 célula em 850g, com 95% de probabilidade de rejeição do lote, considerando o mesmo desvio padrão de 0,80 UFC/g. Portanto, esses dois planos de duas classes não apresentam desempenho correspondente.
- b) O desempenho do plano de amostragem no caso 7 da ICMSF ( $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=10^3$ ,  $M=5 \times 10^4$ ) corresponde à concentração média de 4500 UFC/g, com 95% de probabilidade de rejeição do lote, considerando um desvio padrão de 0,80 UFC/g. O desempenho do plano de amostragem do caso 7 da ICMSF ( $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=10^3$ ,  $M=10^5$ ) corresponde à concentração média de 4800 UFC/g, com 95% de probabilidade de rejeição do lote,

considerando o mesmo desvio padrão de 0,80 UFC/g. É possível considerar que esses dois planos de três classes apresentam desempenho correspondente, portanto, o último plano pode ser utilizado como plano alternativo ao primeiro, desde que a empresa possua sistemas de qualidade e segurança de alimentos documentados (BPF e HACCP) e validados (HACCP) e histórico de produção.

O desempenho dos planos pode ser comparado utilizando-se a ferramenta desenvolvida pela ICMSF, disponível em <https://www.icmsf.org/publications/software-downloads>. A concentração média geométrica dos planos de amostragem por atributos também pode ser consultada no livro Microrganismos em Alimentos 8 (ICMSF, 2015).

#### **46. 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.

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 (n, c) é aquele indicado nos Anexos 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.

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

#### **47. 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 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o setor produtivo a fim de estabelecer o padrão microbiológico para carnes cruas de suínos. O 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 amostra positiva em cada 8 analisadas (n=8; c=1; m=Aus; prevalência de 25%). Assim, a Anvisa manteve o padrão do MAPA, pois não seria coerente estabelecer tolerância menor que aquela estabelecida para controle da produção e industrialização, considerando que não existe uma etapa de redução microbiana entre a industrialização e comercialização destes produtos.

Uma abordagem baseada em sorotipos, tal como estabelecida para carne de aves, também não seria coerente, 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 de *Salmonella* nos produtos crus reduz a probabilidade de ocorrência de contaminação cruzada e, conseqüentemente, de salmoneloses, foi estabelecido o seguinte critério para *Salmonella* em carne de suínos crua in natura: n=5, c=1, m=Aus, ou seja, entre cinco amostras analisadas, tolera-se apenas uma positiva. Essa tolerância baseia-se no fato de *Salmonella* ser destruída pelo cozimento da carne e a contaminação cruzada poder ser evitada com medidas de uso e preparo adequadas.

### **ESCLARECIMENTOS SOBRE O ESTABELECIMENTO DE LIMITES**

#### **48. Como foram estabelecidos os limites m e M?**

Os valores de m e M foram estabelecidos com base no rigor relativo dos casos ICMSF, utilizando-se valores hipotéticos de m e M para a concentração média de micro-organismos e desvio padrão de 0,8 UFC/g e adotando-se 95% como

probabilidade de rejeição. De acordo com os casos ICMSF, o rigor dos casos aumenta à medida que a severidade do perigo aumenta, o que requer aumento de  $n$ , diminuição de  $c$  ou diminuição da concentração média de micro-organismos permitida (limites  $m$  e  $M$ ).

Além dos valores hipotéticos de  $m$  e  $M$  considerados de acordo com o caso ICMSF no qual o alimento/micro-organismo se enquadra, também foram considerados os critérios estabelecidos em referências internacionais (Regulamento CE 2073/2005) e guias (HPA, 2009; FSAI, 2014) para alimentos prontos para o consumo.

**49. 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" independem do número de amostras analisadas. A avaliação de lotes e ou partidas pelas empresas de alimentos, quando realizada, deve ser conduzida utilizando-se amostragem representativa, exceto quando as empresas possuem 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. Uma amostra indicativa 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, os valores 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.

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

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria comum na natureza, e pode ser encontrada no solo, água, vegetação e fezes de alguns animais, contaminando alimentos. *L. monocytogenes* causa listeriose, 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 da maioria dos micro-organismos causadores de doenças de origem alimentar, *L. monocytogenes* pode sobreviver e multiplicar-se em temperatura de refrigeração. Os alimentos contaminados com elevado número de *L. monocytogenes* são a principal via de infecção, mas 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 vida de prateleira longa sob refrigeração, devido à capacidade de *L. monocytogenes* multiplicar-se nessas condições; e
- Alimentos não submetidos a tratamento térmico (Por ex cozimento) antes de consumidos.

Para estar em acordo com regulamentos internacionais, a IN estabeleceu limites para todos os alimentos prontos para o consumo, isto é, alimentos destinados ao consumo direto, que não passam por tratamento térmico ou

outro processo efetivo para a eliminação ou redução de micro-organismos a níveis seguros.

Os critérios microbiológicos para *L. monocytogenes* foram determinados com base nas recomendações do *Codex Alimentarius* (CAC/GL 61 – 2007) e da Comunidade Europeia (*Commission Regulation* (EC) n. 2073/ 2005), que consideram que o consumo de alimentos contendo *L. monocytogenes* em valores acima de 100 UFC/g apresentam um risco elevado para o consumidor.

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

*Cronobacter* spp. é um patógeno emergente de origem alimentar associado a casos raros, porém severos, de enfermidade relacionada ao consumo de fórmulas infantis em pó contaminadas. A taxa de mortalidade depende do tipo de infecção, podendo variar de 10% para bebês que apresentam bacteremia a 44% para aqueles que apresentam meningite. A maioria dos sobreviventes apresenta complicações graves, principalmente distúrbios neurológicos (FAO/WHO, 2006). Existem diversos relatos de isolamento de *Cronobacter* spp. em alimentos em pó, fórmulas preparadas e outros tipos de alimentos, mas os surtos têm sido mais associados a fórmulas infantis.

Três consultas da FAO e WHO (2004, 2006, 2008) a especialistas resultaram na recomendação 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), que define fórmulas infantis como alimentos destinados a uma aplicação nutricional especial para lactentes de até seis meses de idade, faixa etária considerada de risco elevado em relação à *Cronobacter* spp.

Com base nas recomendações do *Codex Alimentarius* (CAC/RCP 66 – 2008) e da Comunidade Europeia (*Commission Regulation* (EC) n. 2073/ 2005), a IN 60/2019 estabeleceu padrões 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. Não foram estabelecidos padrões de *Cronobacter* spp. para fórmulas líquidas porque esses produtos devem ser estéreis.

## **52. 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 manutenção da cadeia de frio durante o processamento e armazenamento, assim como alto padrão de higiene no processamento e manipulação 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).

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

O estabelecimento desse padrão microbiológico de carnes cruas de aves envolveu uma extensa discussão entre Anvisa, MAPA e setor produtivo.

Na Resolução-RDC nº12/2001 não consta critério microbiológico para *Salmonella* em carne crua de aves. Na época da publicação da RDC12/2002, não havia consenso sobre a adoção deste tipo de critério. Entretanto, desde 2003, os abatedouros no Brasil realizam o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. em carne de aves e perus, 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.

O resultado da avaliação de risco conduzida pela FAO/WHO em 2002 indicou que uma redução de 50% na prevalência de *Salmonella* em carcaças de aves resultaria em uma redução de 50% no risco esperado de salmonelose por porção consumida, enquanto 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.

#### **54. Qual foi o critério considerado para retirada do *Bacillus cereus* do leite em pó?**

O produto é suscetível à contaminação com *Bacillus cereus*, logo o limite estabelecido seria muito alto, a exemplo do que havia na Resolução RDC n 12/2001, de  $5 \times 10^3$  UFC/g, não sendo o melhor indicador para o produto e não resultando em aumento da segurança de consumo do alimento. Adicionalmente, a retirada foi realizada em virtude da necessidade de convergência com padrões internacionais e de harmonização com os padrões estabelecidos na Instrução Normativa n 53/2018 - Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade do Leite em Pó.

### **ESCLARECIMENTOS SOBRE AS DEFINIÇÕES**

#### **55. 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  $n$ .

#### **56. 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.

### **57. 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).

### **58. O que significa alimento pronto para oferta ao consumidor?**

O alimento pronto para oferta ao consumidor é aquele que se encontra na forma em que é disponibilizado ao consumidor, à 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 em que serão ofertados ao consumo.

### **59. 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.

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

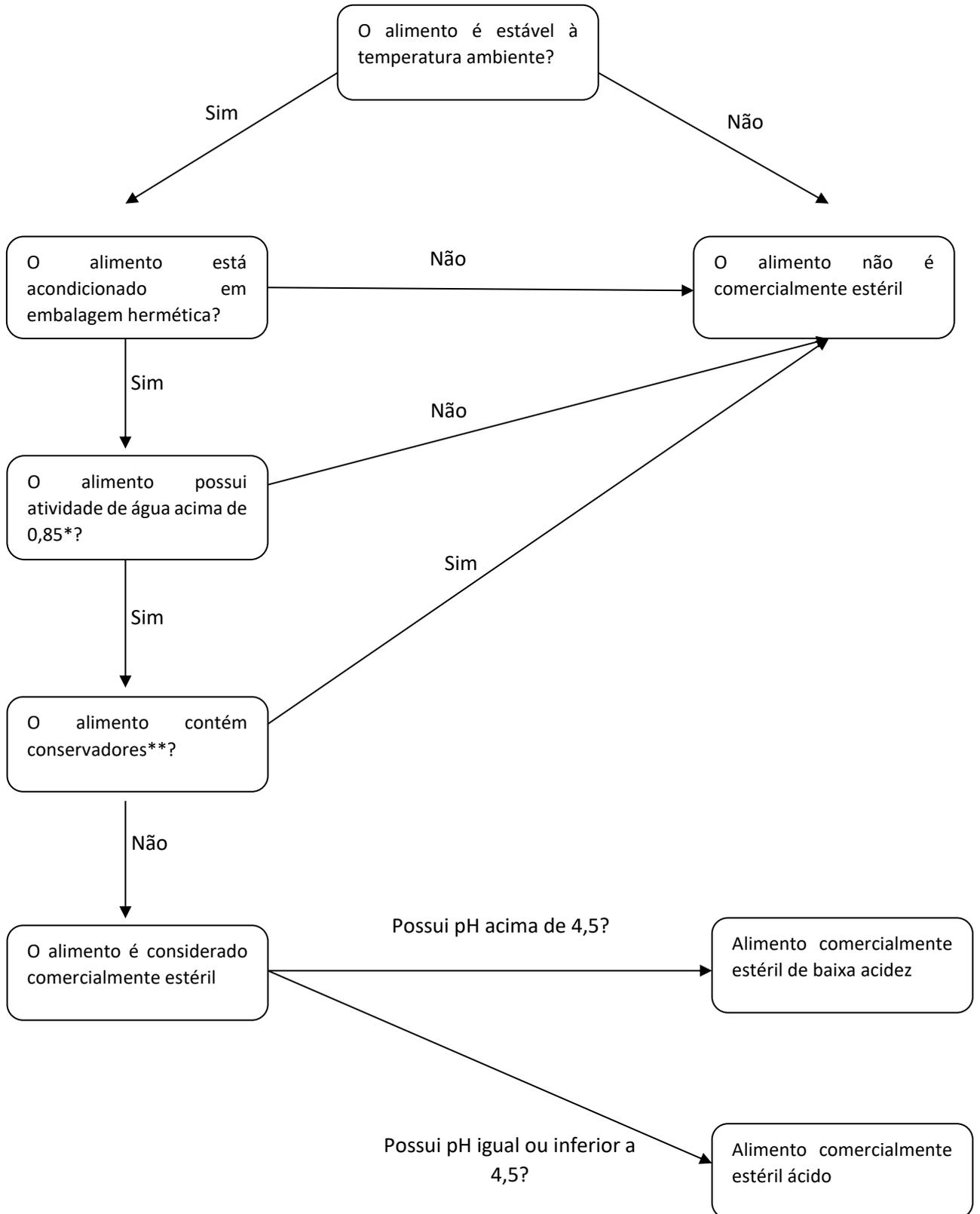
Os alimentos comercialmente estéreis são aqueles com atividade de água acima de 0,85 (exceto bebidas alcólicas) submetidos à esterilidade

comercial, ou seja, alimentos submetidos a tratamento térmico ou tecnologia equivalente e acondicionados em embalagens herméticas para garantir sua estabilidade à 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 (feijoada 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 determinar se um alimento é ou não comercialmente estéril, deve ser utilizada 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.

### **61. 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).

### **62. O que é alimento preparado pronto para consumo?**

Alimento preparado pronto para consumo é qualquer alimento manipulado e preparado em serviço de alimentação, exposto à venda embalado ou não.

Os serviços de alimentação são aqueles que realizam uma ou mais das seguintes operações: manipulação, preparação, fracionamento, armazenamento, distribuição, transporte, exposição à venda e entrega de alimentos preparados ao consumo. Nesta categoria incluem-se cantinas, bufês, comissarias, confeitarias, cozinhas industriais, cozinhas institucionais, delicatêsens, lanchonetes, padarias, pastelarias, restaurantes, rotisserias e congêneres.

### **63. Qual a diferença entre alimento preparado pronto para consumo e alimento pronto para consumo?**

Alimento preparado pronto para consumo é aquele produzido em serviços de alimentação, e alimento pronto para consumo é aquele produzido em uma 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.

### **64. Qual a diferença entre alimento semielaborado e alimento pronto para consumo?**

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

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. Essa categoria inclui também os alimentos prontos que passam por aquecimento, com fins de palatabilidade, mas não por cocção.

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.

### **65. Quando enquadrar um alimento nas categorias gerais de alimentos semielaborados e alimentos pronto para consumo (Categoria 22)?**

Esse enquadramento deve ser feito quando o alimento atender à definição de alimento semielaborado ou alimento pronto para consumo e não se enquadrar em qualquer outra categoria listada no Anexo I.

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

#### **66. 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:

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:

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 interpretações.

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

**67. 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 somente pode ser utilizada pela autoridade sanitária para fins de monitoramento e investigação, por exemplo, pois possibilita análise de um número maior de produtos distribuídos.

Os limites " $M$ " e " $m$ " independem do número de amostras analisadas.

A avaliação de lotes e ou partidas pelas empresas de alimentos, quando realizada, deve ser conduzida mediante a amostragem representativa estabelecida na Instrução Normativa, 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 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.

#### **68. Qual a responsabilidade da cadeia produtiva de alimentos?**

Todos os setores envolvidos na produção de alimentos são responsáveis por assegurar que os alimentos estão de acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos na Instrução Normativa nº 60/2019, durante todo o prazo de validade.

Para tanto, os fabricantes 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.

**69. 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.

**70. 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.

### **71. Quando a cadeia produtiva de alimentos deve investigar a segurança de outros lotes?**

A segurança de outros lotes deve ser investigada sempre que um resultado insatisfatório represente risco ou agravo à saúde do consumidor e a causa identificada possa ter afetado outros lotes de alimentos.

### **ESCLARECIMENTOS SOBRE ENQUADRAMENTO DE ALIMENTOS**

### **72. Quais alimentos devem ser pesquisados quanto à presença de *Listeria monocytogenes*? E quais alimentos estão dispensados da pesquisa de *Listeria monocytogenes*?**

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* deve ser realizada no alimento que: atende a definição estabelecida para “alimento pronto para o consumo”, ou seja, que não necessite 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; e não se enquadre em nenhuma das exceções listadas nos incisos I a XII, parágrafo único, do art. 4º da IN.

A pesquisa dessa bactéria fica dispensada para:

- a) alimentos que não são considerados prontos para o consumo;
- b) 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; e
- c) alimentos prontos para consumo que se enquadrem em, pelo menos, uma das seguintes situações: 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; ou alimentos tratados termicamente em sua embalagem final.

**73. Em qual categoria se enquadram 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 resultado para o ensaio de *Salmonella* deve-se cumprir os padrões estabelecidos para linguiça de suínos.

**74. Os alimentos cárneos porcionados (fatiados, cubados, etc) e destinados a venda direta se enquadram em qual categoria da Instrução Normativa n. 60/2019?**

Os alimentos cárneos porcionados ou fracionados destinados à venda direta devem ser enquadrados na mesma categoria que o produto de origem. Assim, o presunto fatiado enquadra-se na mesma categoria de uma peça inteira de presunto cozido, ou seja, 6g. Como este alimento é considerado alimento pronto para consumo, independente da categoria ou subcategoria a qual pertence no Anexo I, a pesquisa de *Listeria monocytogenes*, conforme Anexo II, também é obrigatória

**75. Quais limites microbiológicos devo considerar para suplementos em cápsula/comprimido/drágeas, com constituintes ativos de diferentes origens, uma vez que na Farmacopeia Brasileira temos a avaliação de padrões microbiológicos conforme origem do produto?**

Conforme estabelecido na IN n.60/2019, para a categoria 15c, aplicam-se os parâmetros de produtos não-estéreis da Farmacopeia Brasileira, ou seja,

os requisitos da Tabela 1, o que inclui também a nota (d). A nota (d) da Tabela 1 estabelece que para produtos que se enquadrem em mais de uma categoria ou situação prevalecerão os limites mais restritivos.

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

Os suplementos em cápsulas, cujo conteúdo é líquido, devem ser enquadrados na categoria “Suplementos em cápsulas, drágeas e comprimidos”.

**77. Para fins de enquadramento no anexo II, serão considerados prontos para consumo apenas aqueles alimentos cuja subcategoria traz o termo “prontos para consumo”?**

Não necessariamente. 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 no Anexo I. A pesquisa de *Listeria monocytogenes* é obrigatória, conforme anexo II, para aqueles alimentos que não se enquadram nas exceções previstas.

**78. Qual o enquadramento recomendado para alimentos/fórmulas infantis pronto para consumo, como por exemplo, as fórmulas infantis preparadas em lactários de hospitais, após adição de água?**

As fórmulas infantis em pó são enquadradas na Instrução normativa (IN) nº 60/19 no item 13 - alimentos infantis. O padrão microbiológico das fórmulas infantis preparadas não é de competência desta Gerência Geral de Alimentos. A IN 60/2019, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos, não se aplica à fórmula infantil manipulada em lactários de hospitais, uma vez que esses estabelecimentos de saúde são de competência da Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde (GGTES). A GGALI apenas estabelece padrões microbiológicos para produtos fabricados ou manipulados por estabelecimentos sujeitos à regulação de alimentos, como indústrias de alimentos, serviços de alimentação etc.

**79. Para as categorias 17 e 23, os ensaios analíticos devem ser realizados no produto após preparo (infusão ou decocção)?**

Não. O padrão se aplica ao alimento tal como ofertado ao consumidor, ou seja, antes do preparo.

**80. Para serviços de alimentação que realizam análises laboratoriais como medida de controle de qualidade dos alimentos ofertados, é necessário realizar a quantidade de amostras representativas (n) e pesquisa de micro-organismo/toxina/metabólito indicadas nos anexos I, II e III?**

A amostragem representativa é aplicada com a suposição de que a história do lote é desconhecida por parte da empresa, logo, o critério será usado lote a lote.

Assim, caso a finalidade da análise seja verificar a adequação de um determinado lote (ex.: pratos produzidos em cozinha industrial), é necessário realizar análise para a quantidade de unidades amostrais definidas.

Nos casos em que a história do produto é conhecida (por exemplo, o produto é produzido sob um sistema HACCP devidamente documentado), podem ser aplicados testes de controle de processo entre lotes, os quais adotam uma amostragem indicativa, que poderia ser utilizada de forma intercalada à amostragem representativa.

A amostragem indicativa também pode ser adotada, caso a finalidade da amostragem seja outra, ou ainda, seja conduzida por autoridade sanitária, por exemplo: monitoramento, investigação de surto e controle de processo entre lotes.

Lembramos que é de responsabilidade da empresa determinar a frequência de verificação do alimento/produto final, de forma a garantir que este cumpra com os padrões estabelecidos na IN 60/2019. Ademais, a frequência das análises deve ser determinada de acordo com as características dos produtos e do processo produtivo (APPCC, BPF) e o programa de controle de qualidade do alimento. O estabelecimento deve conhecer todo o fluxo produtivo, estabelecer controles de processo e executar o plano de amostragem representativo, conforme estabelecido na Instrução. Uma vez que o estabelecimento possui histórico de análise e atende todas as condições e medidas necessárias para garantir a segurança de seus alimentos, ou seja, as Boas Práticas, terá mais segurança em diminuir a frequência de amostragens representativas. Entretanto, a despeito da frequência de análises representativas realizada pelo fabricante, qualquer alimento produzido deve ser seguro e adequado ao consumo.

### **81. Em qual categoria se enquadra o sushi/sashimi preparados em serviços de alimentação? Deve-se analisar histamina nesses alimentos?**

O pescado utilizado para elaboração do sushi e do sashimi se enquadra na categoria 7a da IN n.60/2019, a qual inclui a pesquisa de histamina, em peixes com elevado teor de histidina (Carangidae, Gempylidae, Istiophoridae, Scombridae, Clupeidae, Engraulidae, Coryfenidae, Pomatomidae, Scombrosidae). Assim, o pescado utilizado para elaboração do sushi/sashimi não pode apresentar histamina em quantidade superior a 100 mg/kg, caso seja analisada uma amostra composta (9 unidades amostrais).

Como o sushi e o sashimi são alimentos preparados prontos para o consumo, o controle de qualidade desses alimentos deve obrigatoriamente incluir os micro-organismos listados na categoria 21b. Embora não haja padrão para histamina para alimentos preparados prontos para o consumo, isso não significa que estas preparações podem conter histamina. Quando houver suspeita de intoxicação alimentar, a histamina deve ser pesquisada na preparação pronta para o consumo, conforme diretrizes estabelecidas no Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos do Ministério da Saúde (art. 8 da RDC n. 331/2019). O restaurante é responsável por garantir a qualidade da matéria-prima que utiliza, portanto, deve realizar a pesquisa de histamina no pescado que recebe ou certificar-se que o pescado atende aos requisitos da IN n. 60/2019 de outra forma (aceitação de laudos do fornecedor, qualificação de fornecedores, etc), além de cumprir com as Boas Práticas de Manipulação para que não haja risco adicional ao consumidor. De acordo com o art. 7º da RDC n. 331/2019, podem ser realizadas determinações analíticas de outros micro-organismos, suas toxinas ou metabólitos, não previstos na Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, para a obtenção de dados adicionais sobre a adequação dos processos produtivos e a inocuidade do alimento. Portanto, embora não seja obrigatório, o restaurante pode realizar a

pesquisa de histamina em seu sushi ou sashimi produzidos. A histamina não pode estar em quantidade que cause dano à saúde (art. 5º da RDC n. 331/2019), ou seja, pode ser utilizado o limite máximo estabelecido para o pescado (nenhuma unidade amostral pode apresentar resultado superior a 200 mg/kg).

**82. 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 outras etapas da cadeia produtiva de alimentos, portanto, servem para verificar preocupações relacionadas ao processo de produção. Diferenças podem existir desde que os padrões não sejam excludentes.

**83. Caso uma análise fiscal resulte em "qualidade intermediária aceitável" configura-se um descumprimento da legislação sanitária?**

Um resultado de "Qualidade Intermediária" está dentro dos limites microbiológicos esperados, portanto, não implicariam em descumprimento do regulamento. No entanto, o resultado de "Qualidade Intermediária" pode estar muito próximo do limite superior (M), requerendo atenção por parte da empresa e, quiçá, revisão de práticas para garantir que os controles de alimentos continuem sendo eficazes.

**84. Para quais alimentos deve-se realizar análises de toxina estafilocócica?**

Essa análise deve ser realizada para todos os alimentos que possuam limite para enterotoxina estafilocócica estabelecido na Instrução Normativa. A análise de enterotoxinas independe da realização de contagem de estafilococos coagulase positiva. A IN estabelece limites para as

enterotoxinas estafilocócicas em queijos, requeijão, leite em pó, doce de leite, outros produtos lácteos similares e alimentos prontos para consumo.

**85. 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 proteína isolada de soja essa análise deve ser realizada?**

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). Contagem de estafilococos coagulase positiva acima de  $10^5$ UFC/g pode indicar presença de enterotoxinas estafilocócicas, que são produzida durante a fase log de crescimento desses micro-organismos, mas contagem baixa não assegura ausência de enterotoxinas, uma vez que os estafilococos podem ter sido reduzidos pelo aquecimento, mas as enterotoxinas podem ter permanecido no produto, pois são termoestáveis. Por esse motivo e, considerando que o leite é um alimento propício à contaminação por estafilococos coagulase positiva devido à ordenha ou contaminação do úbere das vacas, as enterotoxinas estafilocócicas foram incluídas no padrão de derivados de leite e também de suplementos em pó de base láctea, tais como *whey protein*.

Esclarecemos que em 22/12/2020, a IN foi retificada, estabelecendo que a pesquisa de enterotoxinas estafilocócicas se aplica somente para aqueles suplementos de base láctea, tais como, *whey protein* e outros.

**86. 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.: sal, 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.

**87. 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 “fritos ou assados, com ou sem adição de outros ingredientes” possibilitou o enquadramento de alguns produtos derivados

de frutas e hortaliças disponíveis no mercado, consumidos geralmente na forma de petiscos. O limite máximo proposto para *Escherichia coli* não foi aceito, conforme sugerido na Consulta Pública, porque esses alimentos não passam por tratamento térmico efetivo antes do consumo, sendo considerados alimentos prontos para o consumo, adotando-se os mesmos limites de *Escherichia coli* estabelecidos para essa categoria de alimentos (categoria 22b).

## **ESCLARECIMENTOS SOBRE A VIGÊNCIA E RETIFICAÇÃO DOS ATOS NORMATIVOS**

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

Os alimentos fabricados até 24 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 25 de dezembro de 2020 devem atender aos padrões estabelecidos na Instrução Normativa n. 60/2019.

Para a categoria 14 - Fórmulas para nutrição enteral – os novos padrões microbiológicos entram em vigor em 25 de dezembro de 2021, conforme Instrução Normativa n. 79/2020. Isso significa que os dispositivos relativos às fórmulas para nutrição enteral que se encontram definidos na Resolução RDC nº 12/2001 somente serão revogados no dia 25/12/2021, quando entra em vigor a IN nº 60/2019 para esta categoria.

### **89. 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.

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

Os alimentos fabricados até 24 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 25 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 processos sejam implementadas e os alimentos atendam aos novos padrões.

**91. Houve retificação do padrão microbiológico definido para *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para consumo (categoria a do Anexo II)? Foi publicado como /25 g e deveria ser /g, não?**

A retificação do padrão foi publicada no D.O.U em 22/12/2020. No item a ("Alimentos prontos para o consumo") do Anexo II da Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, onde se lê: "*Listeria monocytogenes*/25g ou mL", leia-se: "*Listeria monocytogenes*/g ou mL"

**92. Sobre o padrão microbiológico de *Salmonella* spp em carnes cruas de suínos e de aves, o que muda com a publicação da Resolução – RDC n. 459/2020, que estabelece as instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias na rotulagem de produtos de carne crua suína e de aves?**

A Resolução RDC n. 459/2020 estabelece a obrigatoriedade de veicular, na rotulagem de alimentos de carnes cruas de aves e de suínos, instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias.

Os alimentos abrangidos nesta Resolução têm o prazo de até 24 meses para realizar a adequação. As empresas fabricantes de carnes cruas de suínos e de aves devem se adequar o mais rápido possível. Enquanto não

cumprirem os requisitos da RDC n. 459/2020, durante o período de adequação:

- a) os produtos de carnes cruas de aves deverão veicular os dizeres anteriormente aprovados pela RDC n. 13/2001;
- b) os produtos de cruas de suínos deverão atender os padrões microbiológicos do Anexo IV da RDC n. 459/2020, que estabelecem tolerância zero para *Salmonella* spp (n=5, c=0, m= Aus).

O padrão estabelecido no Anexo I da IN n. 60/2019 (n=5, c=1, m=Aus), para carnes cruas de suínos, somente será aplicável para aqueles produtos que realizarem a veiculação dos dizeres de rotulagem obrigatórios, conforme determina a RDC n. 459/2020.

**93. Para quais alimentos se aplicam a veiculação das instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias na rotulagem, conforme estabelece a Resolução – RDC n. 459/2020?**

As instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias se aplicam a alimentos específicos de carne crua suína e de aves, a saber: alimentos enquadrados nas categorias 4a, 4b, 5a ou 5b da Instrução Normativa n. 60/2019, para os quais há tolerância em relação à presença de *Salmonella* spp. Esclarecemos que, conforme abrangência da Resolução – RDC n. 459/2020, esses alimentos compreendem as carnes suínas cruas, miúdos, toucinho e pele; as carnes suínas moída e produtos cárneos de suínos crus moldados; os embutidos crus de carnes suínas; as carnes de aves cruas ou miúdos crus; e os produtos cárneos crus à base de carne moída ou picada de aves.

Carnes secas (dessecadas), salgadas ou cozidas de suínos enquadram-se nas categorias 6d, 6e e 6f da Instrução Normativa n. 60/2019, respectivamente. Produtos cárneos semielaborados ou produtos cárneos cozidos de aves enquadram-se nas categorias 4c e 4d da Instrução

Normativa n. 60/2019, respectivamente. Para essas categorias a tolerância de *Salmonella* é zero ( $n=5$ ,  $c=0$ ,  $m=Aus$ ), portanto, não há obrigatoriedade de veiculação das instruções contidas na RDC n. 459/2020.

## 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.

Commission 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](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.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). *Microrganismos em alimentos 8: utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação de produto/International Commission on Microbiological Specifications for Foods; tradução de Bernadette D. G. M. Franco, Marta H. Taniwaki, Mariza Landgraf, Maria Tereza Destro*. São Paulo: Blucher, 2015.

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.