

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 15, DE 19 DE FEVEREIRO DE 2004 (*)

Aprovar regulamento técnico para produção e controle de qualidade da vacina contra a brucelose e antígenos para diagnóstico da brucelose;

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o inciso IV, do art. 83, do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, tendo em vista o disposto no Decreto-Lei nº 467, de 13 de fevereiro de 1969, e o que consta dos Processos nº 21000.005699/2003-25 e 21000.001085/2004-55 resolve:

Art. 1º Aprovar regulamento técnico para produção e controle de qualidade da vacina contra a brucelose e antígenos para diagnóstico da brucelose;

Art. 2º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

MAÇAO TADANO

ANEXO - REGULAMENTO TÉCNICO PARA PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DA VACINA CONTRA A BRUCELOSE E ANTÍGENOS PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

1. PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DA VACINA

1.1. Toda partida de vacina contra Brucelose e de antígeno para diagnóstico da Brucelose deverá ser submetida ao controle previsto no presente regulamento.

1.2. A vacina, utilizada para o controle da brucelose bovina e bubalina é obtida a partir de culturas de referência certificadas de *Brucella abortus* B19, cultivadas em tanques de fermentação ou garrafas tipo Roux, padronizada conforme normas estabelecidas pelo MAPA, comercializada na forma viva, liofilizada, acompanhada do respectivo diluente e de uso veterinário exclusivo.

1.3. Outras cepas poderão ser utilizadas para a fabricação de vacinas contra a brucelose, desde que aprovadas pelo MAPA. As respectivas especificações devem ser objeto de regulamentação própria.

1.4 SEMENTES

1.4.1 SEMENTE DE REFERÊNCIA CERTIFICADA (SRC)

Cultura de *Brucella abortus* B19 proveniente de uma coleção de culturas, reconhecida pelo MAPA, acompanhada de certificado, adequadamente caracterizada, de composição uniforme, comprovada segurança e eficácia na administração parenteral a bezerras em idade apropriada, mantida na forma liofilizada e refrigerada entre 2°C e 8°C.

1.4.2 SEMENTE DE RESERVA (SR)

Cultura lisa de *Brucella abortus* B19 obtida a partir da reativação e repique em meio sólido de uma SRC, de composição uniforme, mantida na forma liofilizada e refrigerada entre 2°C e 8°C ou em suspensão congelada a uma temperatura igual ou inferior a - 30°C.

1.4.3 SEMENTE DE TRABALHO (ST)

Cultura lisa de *Brucella abortus* B19 obtida a partir da reativação e repique de uma SR.

1.4.4 INÓCULO

Cultura lisa de *Brucella abortus* B19 obtida a partir da reativação e repique de uma ST.

1.5 PRODUÇÃO E CONTROLE

A produção e o controle das partidas de vacina devem ser conduzidos conforme o relatório técnico do registro do produto, obedecidas as determinações deste regulamento, sendo todas as suas etapas registradas de forma a permitir a rastreabilidade das informações. O controle da vacina deve ser realizado segundo ensaios provenientes de referências normalizadas. Eventuais adaptações, modificações ou substituições devem ser devidamente validadas e aprovadas pelo MAPA.

1.6 CONTROLE DO PRODUTO FINAL

As partidas da vacina, constituídas por fração liofilizada e respectivo diluente, devidamente aprovadas no controle de qualidade dos estabelecimentos fabricantes serão acondicionadas em embalagens comerciais e submetidas ao controle oficial. Os ensaios serão realizados de acordo com o MANUAL DE PROCEDIMENTOS E TÉCNICAS DE CONTROLE DE QUALIDADE DE VACINAS CONTRA A BRUCELOSE E ANTÍGENOS PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE DO MAPA.

1.6.1 PUREZA

1.6.1.1 PESQUISA DE CONTAMINANTES VIÁVEIS

A vacina deve estar livre de contaminação e apresentar apenas o crescimento de *Brucella abortus*, constatado por semeadura em meios de cultura apropriados para a avaliação da presença de contaminantes bacterianos (aeróbicos e anaeróbicos) e fúngicos e por microscopia. A partida deve ser considerada satisfatória para pureza se, por observação macro e microscópica não houver crescimento atípico.

1.6.1.2 PESQUISA DE CONTAMINANTES POR MICROSCOPIA DIRETA

Em exames microscópicos da vacina reconstituída, constatando-se a presença de outros microrganismos, será realizada avaliação de risco que indicará a aprovação ou reprovação da partida.

1.6.2 DISSOCIAÇÃO

A partida deve ser considerada satisfatória para dissociação quando, por observação micro e microscópica, não houver mais que 5% de colônias não lisas. Caso contrário, a partida deve ser considerada insatisfatória e reprovada.

1.6.3 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS VIÁVEIS

O número de microrganismos viáveis não pode ser inferior a 60×10^9 unidades formadoras de colônias (UFC) por dose e nem superior a 120×10^9 UFC por dose na data de liberação e não deve ser inferior a 40×10^9 UFC por dose ao fim do prazo de validade.

1.6.3.1 ENSAIO A FRESCO

O número de microrganismos viáveis não pode ser inferior a 60×10^9 UFC por dose e nem superior a 120×10^9 UFC por dose na data de liberação. Caso contrário, a partida deve ser considerada insatisfatória e reprovada.

1.6.3.2 ENSAIO DE ESTABILIDADE TÉRMICA

Na avaliação de estabilidade térmica, a vacina deve ser mantida a 37° C, por 7 (sete) dias de incubação. O número ideal de microrganismos viáveis é igual ou maior a 40×10^9 UFC por dose.

1.6.4 pH

O pH ideal da vacina varia de 6,4 a 7,2.

1.6.5 UMIDADE

A umidade residual máxima ideal da vacina é de 3%.

1.6.6 DILUENTE

1.6.6.1 Utilizar água padrão injetável definido pelo MAPA ou solução salina tamponada estéril.

1.6.6.2 O diluente deve estar livre de partículas em suspensão, comprovada por exame visual macroscópico e de contaminação microbiana, comprovada por microscopia e semeadura em meios de cultura apropriados. Caso contrário, a partida do diluente deve ser considerada insatisfatória e reprovada.

1.6.6.3 O frasco de diluente deve ser transparente e incolor, identificado com seu respectivo número de partida, sendo vedada a utilização de mais de uma partida de diluente para a mesma partida de vacina.

1.6.6.4 Será permitida a utilização de uma partida de diluente para mais de uma partida de vacina.

1.6.7 PRESSÃO NEGATIVA

O frasco que contém a vacina deve apresentar pressão negativa.

1.6.8 CRITÉRIOS PARA APROVAÇÃO DAS PARTIDAS DA VACINA

Para aprovação de uma partida de vacina, todos os testes indicados devem ser realizados. Devem ser obtidos resultados satisfatórios nos testes descritos nos itens 1.6.1, 1.6.2 e 1.6.3.1. Resultados insatisfatórios em pelo menos um destes testes reprovam a partida da vacina.

1.7 PRAZO DE VALIDADE E CONSERVAÇÃO

1.7.1 O prazo de validade deve ser de até 24 (vinte e quatro) meses a partir da data de liofilização, condicionado à aprovação pelo MAPA nos testes de contagem de microorganismos viáveis, realizados após o final do prazo pretendido, em amostras de contra-prova de três partidas colhidas oficialmente.

1.7.2 A vacina deve ser conservada à temperatura entre 2°C e 8°C, protegida da radiação solar direta.

1.8 DISPOSIÇÕES GERAIS

Os casos omissos e as dúvidas suscitadas na execução da presente norma serão resolvidos pelo Departamento de Defesa Animal.

2 PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE ANTÍGENOS PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE.

2.1 DEFINIÇÃO

Os antígenos para o diagnóstico sorológico da brucelose, causada por espécies lisas da bactéria (*B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*), são preparados a partir de culturas de referência certificadas de *Brucella abortus* 1119-3, cultivadas em tanques de fermentação ou garrafas tipo Roux, inativadas e padronizadas conforme normas estabelecidas pelo MAPA, sendo de uso veterinário exclusivo. Outras cepas podem ser utilizadas para a fabricação de antígenos para diagnóstico da brucelose, desde que aprovadas pelo MAPA.

2.2 SEMENTES

2.2.1 SEMENTES DE REFERÊNCIA CERTIFICADAS (SRC)

Culturas de *Brucella abortus* 1119-3 provenientes de uma coleção de culturas reconhecida nacional e/ou internacionalmente, acompanhada de certificação, adequadamente caracterizada, de composição uniforme, mantida na forma liofilizada e refrigerada entre 2°C e 8°C.

2.2.2 SEMENTES DE RESERVA (SR)

Culturas lisas de *Brucella abortus* 1119-3 obtidas a partir da reativação e repique em meio sólido de uma CRC, de composição uniforme, mantida na forma liofilizada e refrigerada entre 2°C e 8°C ou congelada em nitrogênio líquido, com não mais que 3 (três) piques.

2.2.3 SEMENTES DE TRABALHO (ST) OU INÓCULO

Cultura lisa de *Brucella abortus* 1119-3 obtida a partir da reativação e repique de uma CR, por crescimento em meio sólido, com não mais que 3 (três) repiques, mantida sob refrigeração entre 2°C e 8°C.

2.3 PRODUÇÃO E CONTROLE

A produção e o controle das partidas de antígenos para diagnósticos devem ser conduzidos conforme relatório técnico do registro do produto, obedecidas as determinações deste regulamento, sendo todas as suas etapas registradas de forma a permitir a rastreabilidade das informações. O controle dos antígenos para diagnóstico deve ser realizado segundo ensaios provenientes de referências normalizadas. Eventuais adaptações destas referências devem ser aprovadas pelo MAPA.

2.4 CONTROLE DO PRODUTO FINAL

As partidas de antígenos, devidamente aprovadas no controle de qualidade dos estabelecimentos fabricantes serão acondicionadas em embalagens comerciais e submetidas ao controle oficial. Os ensaios serão realizados de acordo com o MANUAL DE PROCEDIMENTOS E TÉCNICAS DE CONTROLE DE QUALIDADE DE VACINAS CONTRA A BRUCELOSE E ANTÍGENOS PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE DO MAPA.

2.4.1 PUREZA E ESTERILIDADE

O antígeno deve estar livre de contaminação comprovada por microscopia, e não apresentar crescimento bacteriano (aeróbico e anaeróbico) e fúngico, após semeadura em meios de cultura apropriados. Caso contrário, a partida deve ser considerada insatisfatória e reprovada.

2.4.2 SENSIBILIDADE

A sensibilidade do antígeno deve ser testada, por comparação da reação de aglutinação, com um antígeno de referência, frente a soros ou amostras de leite, conforme o antígeno que estiver sendo avaliado.

2.4.2.1. ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO

A sensibilidade do antígeno deve ser testada por comparação com um antígeno de referência frente a 20 soros bovinos, sendo 5 (cinco) negativos, 10 (dez) fracamente positivos e 5 (cinco) fortemente positivos. Após a leitura das reações positivas e negativas, estabelecer um valor de 0,5 (meio) ponto para cada diferença de intensidade de aglutinação de um mesmo soro, tolerando-se um total de até 3 (três) pontos em 6 (seis) amostras de soros para considerar o antígeno em teste satisfatório. O antígeno deve ser considerado insatisfatório e reprovado quando houver pelo menos um soro com diferença entre reação negativa e positiva, ou somatório de diferenças maior que três pontos.

2.4.2.2 ANTÍGENO PARA SOROAGLUTINAÇÃO LENTA

A sensibilidade do antígeno deve ser testada por comparação da reação de aglutinação, com um antígeno de referência, frente a 20 soros bovinos, sendo 5 (cinco) negativos, 10 (dez) fracamente positivos e 5 (cinco) fortemente positivos. Atribuir valor de 1 (um) ponto para cada tubo que apresentar uma reação positiva e 0,5 (meio) ponto para cada tubo que apresentar uma reação incompleta. O valor numérico total para cada antígeno é determinado pela soma dos valores numéricos das amostras dos soros individuais. O antígeno deve ser considerado insatisfatório e reprovado quando a diferença entre os dois valores for menor que -3 ou maior que 3 pontos e a diferença entre as amostras individuais não for maior que +- 0,5 (meio) ponto.

2.4.2.3. ANTÍGENO PARA O TESTE DO ANEL DO LEITE

A sensibilidade do antígeno deve ser testada, por comparação da reação de aglutinação, com um antígeno de referência, frente a diluições seriadas de pelo menos 5 (cinco) amostras de leite de títulos elevados.

2.4.3. CONCENTRAÇÃO CELULAR

A concentração celular final do antígeno deve ser avaliada paralelamente a um antígeno de referência. A concentração do antígeno em teste deve ser igual à do antígeno de referência.

2.4.3.1. ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO

A concentração do antígeno de referência é de 8%.

2.4.3.2. ANTÍGENO PARA SOROAGLUTINAÇÃO LENTA

A concentração do antígeno de referência é de 4,5%.

2.4.3.3. ANTÍGENO PARA O TESTE DO ANEL DO LEITE

A concentração do antígeno de referência é de 4,0%.

2.4.4. pH

2.4.4.1 ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO

O pH do antígeno deve ser de $3,65 \pm 0,05$ e, quando determinado em uma mistura de partes iguais com soro bovino, o Ph deve ser de $3,80 \pm 0,05$.

2.4.4.2. ANTÍGENO PARA SOROAGLUTINAÇÃO LENTA

O pH do antígeno deve estar entre 6,4 e 7,0.

2.4.4.3. ANTÍGENO PARA O TESTE DO ANEL EM LEITE

O pH do antígeno deve estar entre 4,0 e 4,3.

2.4.5. CRITÉRIOS PARA APROVAÇÃO DE PARTIDAS DE ANTÍGENOS

Para aprovação de uma partida de antígeno, todos os testes indicados devem ser realizados. Devem ser obtidos resultados satisfatórios nos testes descritos nos itens 2.4.1, 2.4.2, 2.4.4. Resultados insatisfatórios em pelo menos um destes testes reprovam a partida.

2.5 PRAZO DE VALIDADE E CONSERVAÇÃO

2.5.1 O prazo de validade deve ser de até 18 (dezoito) meses a partir da data de envase, condicionado à aprovação pelo MAPA nos testes do item 2.4.5, realizados após o final do prazo pretendido em amostras de contra-prova de três partidas colhidas oficialmente.

2.5.2 O antígeno deve ser conservado à temperatura entre 2°C e 8°C, protegido da radiação solar direta.

2.6 DISPOSIÇÕES GERAIS

Os casos omissos e as dúvidas suscitadas na execução da presente norma serão resolvidos pelo Departamento de Defesa Animal.

(*) Republicada por ter saído com incorreção, do original, no D.O.U. nº 37, de 25-02-2004, Seção 1, págs. de 2 a 3.

REPUBLICAÇÃO 24/03/2004

D.O.U., 25/02/2004 - Seção 1

REP., 24/03/2004 - Seção 1