

FARMACOPÉIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia
Brasileira,
6ª edição

Volume II – Monografias

Produtos Biológicos

Brasília
2019

PRODUTOS BIOLÓGICOS

DALTEPARINA SÓDICA	PB001-00
ENOXAPARINA SÓDICA	PB002-00
HEPARINA CÁLCICA	PB003-00
HEPARINA CÁLCICA SOLUÇÃO INJETÁVEL	PB004-00
HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR	PB005-00
HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR SOLUÇÃO INJETÁVEL	PB006-00
HEPARINA SÓDICA BOVINA	PB007-00
HEPARINA SÓDICA SUÍNA	PB008-00
HEPARINA SÓDICA SOLUÇÃO INJETÁVEL	PB009-00
INSULINA	PB010-00
INSULINA HUMANA	PB011-00
INSULINA HUMANA INJETÁVEL	PB012-00
INSULINA HUMANA ISOFANA SUSPENSÃO	PB013-00
INSULINA HUMANA ISOFANA SUSPENSÃO E INSULINA HUMANA INJETÁVEL	PB014-00
INSULINA HUMANA ZINCO SUSPENSÃO	PB015-00
INSULINA HUMANA ZINCO SUSPENSÃO ESTENDIDA	PB016-00
INSULINA INJETÁVEL	PB017-00
INSULINA LISPRO	PB018-00
NADROPARINA CÁLCICA	PB019-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE)	PB020-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTILAQUÉTICO	PB021-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTICROTÁLICO	PB022-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE), ANTICROTÁLICO E ANTILAQUÉTICO	PB023-00
SORO ANTIBOTULÍNICO (TRIVALENTE)	PB024-00
SORO ANTICROTÁLICO	PB025-00
SORO ANTIDIFTÉRICO	PB026-00
SORO ANTIELAPÍDICO (BIVALENTE)	PB027-00
SORO ANTIESCORPIÔNICO	PB028-00
SORO ANTILONÔMICO	PB029-00
SORO ANTILOXOSCÉLICO (TRIVALENTE)	PB030-00
SORO ANTIRRÁBICO	PB031-00
SORO ANTITETÂNICO	PB032-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-A PARA USO HUMANO	PB033-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-A,B PARA USO HUMANO	PB034-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-B PARA USO HUMANO	PB035-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-RH (ANTI-D, ANTI-C, ANTI-E, ANTI-C, ANTI-E E ANTI-CW) PARA USO HUMANO	PB036-00
SOROS HIPERIMUNES PARA USO HUMANO	PB037-00
TINZAPARINA SÓDICA	PB038-00
TOXOIDE TETÂNICO ADSORVIDO	PB039-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA E TÉTANO ADULTO	PB040-00

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA E TÉTANO INFANTIL	PB041-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO E PERTUSSIS	PB042-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB043-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, HEPATITE B (RECOMBINANTE) E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB044-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA) E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB045-00
VACINA BCG	PB046-00
VACINA CAXUMBA (ATENUADA)	PB047-00
VACINA FEBRE AMARELA (ATENUADA)	PB048-00
VACINA HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB049-00
VACINA HEPATITE B (RECOMBINANTE)	PB050-00
VACINA INFLUENZA (ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE, INATIVADA)	PB051-00
VACINA INFLUENZA (FRAGMENTADA, INATIVADA)	PB052-00
VACINA MENINGOCÓCICA ACWY (POLISSACARÍDICA)	PB053-00
VACINA MENINGOCÓCICA C (CONJUGADA)	PB054-00
VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (ATENUADA)	PB055-00
VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA)	PB056-00
VACINA RAIVA (INATIVADA)	PB057-00
VACINA ROTAVÍRUS HUMANO (ATENUADA)	PB058-00
VACINA RUBÉOLA (ATENUADA)	PB059-00
VACINA SARAMPO (ATENUADA)	PB060-00
VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA	PB061-00
VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA E VARICELA (ATENUADA)	PB062-00
VACINA SARAMPO, RUBÉOLA	PB063-00
VACINA VARICELA (ATENUADA)	PB064-00
VACINAS PARA USO HUMANO	PB065-00

TOXOIDE TETÂNICO ADSORVIDO**Toxoidum tetanicum adsorbatum**

O toxoide tetânico é anatoxina tetânica diluída em solução salina tamponada e adsorvida pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. É uma suspensão opalescente, ligeiramente acastanhada, que não apresenta grumos ou partículas estranhas.

A preparação da toxina tetânica baseia-se no sistema de lote semente, que é uma quantidade de ampolas contendo *Clostridium tetani* liofilizado, de composição uniforme, obtido a partir de uma cepa liofilizada de procedência conhecida. Os meios de cultura utilizados para as preparações do lote-semente e do inóculo de produção devem possibilitar o crescimento de *C. tetani*. O meio de cultura para preparação da toxina tetânica deve ser isento de substâncias capazes de induzir reações tóxicas e/ou alérgicas ao ser humano. A toxina tetânica é um filtrado tóxico obtido a partir do cultivo de *C. tetani* em meio de cultura para preparação de toxina e coletado assepticamente em um único processo. Ao final do cultivo e lise das células bacterianas, verifica-se a pureza da cultura por exame microscópico ou inoculação da amostra em meios de cultura adequados. O limite de floculação (Lf/mL) é avaliado, utilizando a técnica de Ramon.

Limite de floculação – Técnica de Ramon. Distribuir em tubos de ensaio volumes variáveis de antitoxina tetânica padronizada. Adicionar em cada tubo um volume constante de 1 mL da amostra. Homogeneizar e colocar em banho-maria à temperatura de 45 °C a 50 °C. Observar constantemente e anotar o primeiro tubo que apresenta floculação e o tempo necessário. Determinar o Lf/mL da amostra, multiplicando o volume de antitoxina de referência adicionada ao tubo pela sua concentração em Lf.

A toxina é purificada por métodos físicos ou químicos e submetida aos controles de Lf/mL e pH.

A anatoxina tetânica é obtida por destoxificação da toxina tetânica concentrada, pela adição de agentes químicos em condições adequadas de pH e temperatura. O agente químico mais utilizado é o formaldeído à temperatura de 35 °C. São realizados controles de pH, Lf/mL e toxicidade específica.

Toxicidade específica. Não diluir a anatoxina se não estiver concentrada. Diluir a amostra em solução fisiológica para 100 Lf/mL. Inocular 5 mL da diluição, por via subcutânea, em cada uma de pelo menos cinco cobaias de 250 g a 350 g. Observar os animais por quatro semanas. No mínimo 80% dos animais inoculados têm que sobreviver durante o período de observação, sem apresentar sinais de intoxicação tetânica. Se mais de um animal morrer de causa não específica durante o período de teste, o teste pode ser repetido mais uma vez. Se mais de um animal morrer no segundo teste, a amostra não cumpre com o teste.

A anatoxina purificada é preparada a partir de uma coleta individual ou da mistura de coletas individuais de anatoxina e, após processo de filtração esterilizante, um agente conservante pode ser adicionado. Não é permitido o uso de fenol, pois ele afeta as propriedades antigênicas do produto. A anatoxina purificada é avaliada quanto à concentração de antígeno (Lf/mL), esterilidade e aos testes que se seguem.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm.

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Atividade imunogênica. Proceder conforme descrito em *Determinação da atividade imunogênica*. No mínimo 2 UI/mL ou 40 UI/dose individual humana, conforme o método utilizado.

Toxicidade específica. Proceder conforme descrito anteriormente para anatoxina tetânica, sendo que a amostra é diluída para 500 Lf/mL e cada cobaia é inoculada com volume de 1 mL.

Pureza antigênica. Determinar o teor de nitrogênio proteico (5.3.3.2) e expressar a concentração em mg/mL. A pureza antigênica é determinada pela relação da concentração antigênica em Lf/mL e a concentração de nitrogênio proteico encontrada. O produto possui pureza antigênica de, no mínimo, 1000 Lf/mg de nitrogênio proteico.

Reversão de toxicidade. Diluir a amostra para 25 Lf/mL em solução fisiológica e distribuir em dois frascos. Manter um dos frascos à temperatura de 4 °C a 8 °C e o outro entre 35 °C e 37 °C, por seis semanas. Ao término das seis semanas, inocular o conteúdo de cada frasco, por via subcutânea, em cinco cobaias de 250 g a 350 g, sendo o volume do inóculo de 5 mL por animal. Os animais não podem apresentar sinais de intoxicação tetânica. Se mais de um animal morrer de causa não específica durante o período de teste, o teste pode ser repetido mais uma vez. Se mais de um animal morrer no segundo teste, a amostra não cumpre com o teste.

O toxoide tetânico é preparado pela diluição e adsorção, em compostos de alumínio, de determinada quantidade de anatoxina. Uma dose para uso humano contém, no máximo, 25 Lf. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, atividade imunogênica, pH, formaldeído residual, timerosal e alumínio.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Adicionar citrato de sódio à amostra da vacina até que se obtenha uma concentração de 5% a 10% de citrato de sódio. Manter a 37 °C por, aproximadamente, 16 horas e centrifugar. Utilizar o líquido sobrenadante para a identificação. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante. Preparar gel de ágar a 1% (p/v) em solução fisiológica tamponada e distribuir em lâmina para microscópio, de modo que resulte em fina camada. Colocar em estufa a 37 °C, sem secar. Adicionar volume de 4 mL de ágar na lâmina e colocar à temperatura de 2 °C a 8 °C em câmara úmida por uma hora. Fazer orifícios no gel, mantendo a mesma distância entre o orifício central e os periféricos. Preencher o orifício central com antitoxina tetânica de referência e os periféricos com a amostra em diluições variáveis. Como controle positivo, preencher um dos orifícios com toxoide tetânico fluido. Incubar a 37 °C por 24 horas em câmara úmida e realizar a leitura em lâmpada para contraste. Observar a presença de linha de precipitação, reação de identidade entre os componentes analisados.

B. Determinar o limite de floculação (Lf/mL) pela técnica de Ramon.

C. A *Determinação da atividade imunogênica* pode ser utilizada.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 1,25 mg/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOGÊNICA

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Por Determinação do título antitóxico em soros de animais imunizados

Imunização e sangria dos animais: inocular 0,75 mL (metade da dose total humana) da amostra, por via subcutânea, em cada uma de seis cobaias de 450 g a 550 g. Seis semanas após a inoculação, coletar sangue de cada animal e extrair o soro. Misturar volumes iguais dos soros de, no mínimo, quatro cobaias.

Controle de limite paralisante (Lp) da toxina tetânica padronizada: distribuir em uma série de tubos de ensaio, volumes constantes de antitoxina tetânica de referência, aferida por padrão internacional, de maneira que o volume a inocular contenha 0,1 UI. Acrescentar volumes variáveis de toxina tetânica padronizada e igualar os volumes de todos os tubos com solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona. Homogeneizar e incubar a 37 °C por 60 minutos. Inocular um volume constante de cada diluição, por via subcutânea, em dez camundongos albinos suíços pesando entre 17 g e 22 g. Observar os animais quanto aos sintomas de paralisia pelo período de 96 horas após a inoculação. Calcular a dose paralisante 50% (Lp/10/50) por método estatístico adequado.

Titulação do soro: distribuir, em uma série de tubos de ensaio, volumes variáveis do soro da amostra e do soro de referência. Acrescentar volume constante de toxina tetânica padronizada, de maneira que o volume a inocular por animal contenha 1 Lp/10/50. Igualar os volumes de todos os tubos com solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona. Homogeneizar e incubar a 37 °C por 60 minutos. Inocular cada mistura, por via subcutânea, em no mínimo seis camundongos albinos suíços pesando entre 17 g e 22 g. Observar os animais por um período de 96 horas após a inoculação e registrar o número de animais não paráliticos em cada mistura. Os valores das doses efetivas médias (DE50) da amostra e da antitoxina de referência são determinados, utilizando método estatístico adequado. Os limites de confiança (P = 0,95) devem estar compreendidos entre 50% e 200% da

potência estimada e a análise estatística deve mostrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/mL;

A = DE₅₀ da antitoxina de referência;

B = DE₅₀ da amostra;

C = UI/mL da antitoxina de referência.

No mínimo 2 UI/mL de soro. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Pode ser utilizado um método *in vitro*, como ensaio imunoenzimático ou ToBI (*toxin-binding inhibition test*), desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

B. Por Desafio em camundongos. Essa determinação comprova a atividade imunogênica do produto, por comparação com um toxoide tetânico de referência aferido por um padrão internacional. Separar nove grupos de, no mínimo, 20 camundongos de 11 g a 14 g para a realização do ensaio e um grupo de 12 animais, sem inocular, para controle da toxina de desafio. Efetuar quatro diluições da amostra com solução fisiológica, utilizando um fator de diluição 2. Proceder da mesma forma com o toxoide tetânico de referência. Imunizar, por via subcutânea, com um volume de 0,5 mL de cada diluição da amostra por animal. Vinte e oito dias após a imunização, diluir a toxina tetânica padronizada em solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona, de modo a conter 200 Dp₅₀/mL (dose paralisante média) e inocular cada camundongo imunizado, por via subcutânea, com um volume de 0,5 mL da dose desafio de toxina padronizada. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de vivos e sem paralisia em cada diluição. Paralelamente, como controle da dose desafio, efetuar diluições 1:50, 1:100 e 1:200 a partir da solução de toxina que contém 200 Dp₅₀/mL, utilizando o mesmo diluente. Inocular 0,5 mL de cada diluição, por via subcutânea, no grupo de 12 animais separados, divididos em grupo de quatro animais. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos e paralíticos em cada diluição. Todos os animais de controle do desafio, inoculados com a diluição 1:50, devem morrer ou apresentar paralisia e nenhum dos animais inoculados com a diluição 1:200 deve morrer ou apresentar paralisia. Calcular as doses efetivas médias (DE₅₀) da amostra em teste e do toxoide de referência, utilizando um método de análise estatístico adequado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, os limites de confiança (P = 0,95) devem estar compreendidos entre 50% e 200% da potência estimada e a análise estatística deve mostrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/dose individual humana;

A = DE₅₀ do toxoide de referência;

B = DE₅₀ da amostra;

C = UI/dose individual humana do toxoide de referência.

No mínimo 40 UI/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

C. Por *Desafio em cobaias*. Essa determinação comprova a atividade imunogênica do produto, por comparação com um toxoide tetânico de referência aferido por um padrão internacional. Separar oito grupos de, no mínimo, 16 cobaias de 250 g a 350 g para a realização do ensaio e um grupo de 12 animais, sem inocular, para controle da toxina de desafio. Efetuar quatro diluições da amostra com solução fisiológica, utilizando um fator de diluição 2. Proceder da mesma forma com o toxoide tetânico de referência. Imunizar, por via subcutânea, com um volume de 1 mL de cada diluição da amostra por animal. Após 28 dias da imunização, diluir a toxina tetânica padronizada em solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona, de modo a conter 100 DL₅₀/mL e inocular cada cobaia imunizada, por via subcutânea, com um volume de 1 mL da dose desafio de toxina padronizada. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de vivos em cada diluição. Paralelamente, como controle da dose desafio, efetuar diluições 1:50, 1:100 e 1:200 a partir da solução de toxina que contém 100 DL₅₀/mL, utilizando o mesmo diluente. Inocular 1 mL de cada diluição, por via subcutânea, no grupo de 12 animais separados, divididos em grupo de quatro animais. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos em cada diluição. Todos os animais de controle do desafio inoculados com a diluição 1:50 devem morrer e nenhum dos animais inoculados com a diluição 1:200 deve morrer. Calcular as doses efetivas médias (DE₅₀) da amostra e do toxoide de referência, utilizando um método de análise estatístico adequado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, os limites de confiança (P=0,95) devem estar compreendidos entre 50% e 200% da potência estimada e a análise estatística deve mostrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/dose individual humana;

A = DE₅₀ do toxoide de referência;

B = DE₅₀ da amostra;

C = UI/dose individual humana do toxoide de referência.

No mínimo 40 UI/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir com o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.