

# 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

## VACINA ADSORVIDA DIFTERIA E TÉTANO INFANTIL

### Vaccinum diphtheriae et tetani adsorbatum

vacina adsorvida difteria e tétano infantil; 09988

A vacina é uma mistura de anatoxinas diftérica e tetânica, diluídas em solução salina tamponada e adsorvidas pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. É uma suspensão opalescente, ligeiramente acastanhada, em que não há grumos ou partículas estranhas.

*Componente diftérico:* a preparação da toxina diftérica baseia-se no sistema de lote-semente, que é uma quantidade de ampolas contendo *Corynebacterium diphtheriae* liofilizado, de composição uniforme, obtido a partir de 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. diphtheriae*. O meio de cultura para preparação da toxina diftérica deve ser isento de substâncias capazes de induzir reações tóxicas e/ou alérgicas ao ser humano. 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. A toxina diftérica é um filtrado tóxico obtido a partir do cultivo de *C. diphtheriae* em meio de cultura para produção de toxina e coletado assepticamente em um único processo. O limite de floculação (Lf) é avaliado utilizando a técnica de Ramon, como descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. A purificação da toxina é realizada por métodos físicos ou químicos e a amostra é submetida aos controles de Lf/mL e pH.

A anatoxina diftérica é obtida por destoxificação da toxina diftérica 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

*Prova subcutânea:* 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 devem sobreviver durante o período de observação, sem apresentar sinais de intoxicação diftérica. 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.

*Prova intradérmica:* diluir a amostra em solução fisiológica para 100 Lf/mL. Inocular 0,2 mL da diluição, por via intradérmica, em uma cobaia previamente depilada. Como controle, inocular o mesmo volume de solução fisiológica no mesmo animal. Após 48 horas de observação, não devem ser formados eritemas específicos nos locais de inoculação.

A anatoxina purificada é preparada a partir de coleta individual ou da mistura de coletas individuais de anatoxinas que, 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. Amostras do produto são avaliadas quanto à concentração de antígeno (Lf/mL), esterilidade e aos controles 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 30 UI/dose individual humana, conforme o método utilizado.

**Toxicidade específica.** Proceder à prova subcutânea conforme descrito anteriormente para anatoxina diftérica, 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, 1500 Lf/mg de nitrogênio proteico.

**Reversão de toxicidade.** Proceder conforme descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. Os animais não podem apresentar sinais de intoxicação diftérica e devem apresentar ganho de peso.

*Componente tetânico:* a anatoxina tetânica cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

A vacina adsorvida difteria e tétano infantil é preparada pela diluição e adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica. Uma dose para uso humano contém, no máximo, 30 Lf e 25 Lf para os componentes diftérico e tetânico, respectivamente. 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

### Componente diftérico

**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 diftérica de referência e os periféricos com a amostra em diluições variáveis. Como controle positivo, preencher um dos orifícios com toxoide diftérico 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, conforme descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

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

**Componente tetânico.** Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

## CARACTERÍSTICAS

**pH (5.2.19).** Determinar o pH na amostra. 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

A atividade imunogênica da vacina é determinada para cada um dos componentes. Não existem padrões internacionais de referência para as vacinas combinadas e a atividade de cada componente se expressa em unidades internacionais, mediante a comparação com padrões de referência calibrados contra os padrões de referência dos componentes.

### Componente diftérico

*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. Quatro semanas após a inoculação, coletar sangue de cada animal, por punção cardíaca, e extrair o soro. Misturar volumes iguais dos soros de, no mínimo, quatro cobaias que apresentem ganho de peso.

*Controle do limite morte (L+/50) da toxina diftérica padronizada:* distribuir em uma série de tubos de ensaio volumes constantes de antitoxina diftérica de referência, aferida por padrão internacional, de maneira que o volume a inocular contenha 1 UI. Acrescentar volumes variáveis de toxina diftérica 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 volume constante de cada diluição, por via subcutânea, em quatro cobaias pesando entre 250 g e 350 g. Observar os animais em relação à mortalidade por período de 96 horas após a inoculação. Calcular a dose letal 50% (L+/50) por método estatístico adequado.

*Titulação do soro:* distribuir em uma série de tubos de ensaio, volumes variáveis do soro. Acrescentar volume constante de toxina diftérica padronizada, de maneira que o volume a inocular por animal contenha 1 L+/50 (limite morte). 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, no mínimo quatro cobaias pesando 250 g e 350 g. Observar os animais por período de 96 horas após a inoculação e registrar o número de vivos em cada mistura. Os valores das doses efetivas médias (DE50) da amostra e da antitoxina de referência são determinados, utilizando método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa da resposta produzida (DE50) esteja entre a maior e menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que devem apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança ( $p = 0,95$ ) estejam entre 50% e 200% da potência calculada; (c) paralelismo entre a curva da referência e amostras. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

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

em que

AI = atividade imunogênica em UI/mL;

A = DE<sub>50</sub> da antitoxina de referência;

B = DE<sub>50</sub> da amostra;

C = UI/mL da antitoxina de referência.

No mínimo 2 UI/mL. 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 citotoxicidade em célula Vero, desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

**B. Por Desafio em cobaia.** Comprovar a atividade imunogênica do produto em teste por comparação com toxoide diftérico de referência. Separar oito grupos de, no mínimo, 16 cobaias pesando entre 250 g e 350 g. Efetuar quatro diluições da amostra em teste com solução de cloreto de sódio a 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição 2. Proceder da mesma forma com o toxoide diftérico de referência. Inocular, por via subcutânea, volume de 1 mL por animal, de cada diluição. Separar um grupo de 12 animais sem inocular, para controle da toxina de desafio. Após 28 dias da inoculação, diluir a toxina diftérica padronizada em solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona, de modo a conter 100 DL<sub>50</sub>/mL (dose letal 50%) e inocular cada cobaia imunizada, por via subcutânea, com volume de 1 mL da dose desafio de toxina. 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 diluição 1:100 a partir da solução de toxina que contém 100 DL<sub>50</sub>/mL, utilizando o mesmo diluente. Inocular 1 mL da diluição, por via subcutânea, em cada uma de cinco cobaias. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos na diluição. Calcular as Doses Efetivas 50% (DE<sub>50</sub>) da amostra em teste e do toxoide de referência, utilizando método de análise estatística 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 = DE<sub>50</sub> do toxoide de referência;

B = DE<sub>50</sub> da amostra;

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

No mínimo 30 UI/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

**Componente tetânico.** Proceder às determinações de atividade imunogênica, utilizando um dos métodos descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. No mínimo 2 UI/mL (método **A.**). No mínimo 40 UI/dose individual humana (método **B.**). No mínimo 40 UI/dose individual humana (método **C.**). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

#### ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.