

# FARMACOPEIA 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 RAIVA (INATIVADA)

### Vaccinum rabiei inactivatum

vacina raiva (inativada); 09053

A vacina é uma suspensão inativada preparada a partir de vírus rábico replicado em cultura de células e pode ser apresentada sob as formas liofilizada ou em suspensão. A vacina liofilizada, após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo apresentar coloração, devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente de vírus, que deve estar devidamente caracterizado. Os lotes são submetidos aos controles de identificação viral, esterilidade e potência infectiva. Além disso, é necessário que a cepa viral demonstre imunogenicidade adequada para o ser humano. A replicação do vírus é realizada em cultura de célula suscetível e controlada quanto a esterilidade, identificação viral e potência infectiva. No processo de produção, é preparada suspensão viral intermediária de concentração conhecida e submetida à centrifugação, purificação e inativação viral por método validado em que, usualmente, se emprega beta-propiolactona a 1:4000 ou irradiação por ultravioleta. Após a inativação, o produto é concentrado e são realizados testes de esterilidade, inativação viral e atividade imunogênica. A preparação final deve ser isotonicada, podendo conter conservantes e indicador de pH. Antes do envase, o produto é submetido aos controles de esterilidade, atividade imunogênica e conservantes.

A vacina é envasada em recipientes adequados, podendo ser liofilizada, rotulada e submetida aos controles adequados.

### IDENTIFICAÇÃO

A *Determinação da atividade imunogênica* pode ser utilizada.

**Fenol.** Ensaio aplicado quando o conservante estiver presente. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 0,15% (1500 ppm). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

**Timerosal.** Ensaio aplicado quando o conservante estiver presente. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 0,015% (150 ppm). É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

**Umidade residual.** Ensaio aplicado ao produto liofilizado. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

### TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

**Esterilidade (5.5.3.2.1).** Cumpre o teste.

**Pirogênios (5.5.2.1).** Cumpre o teste. Injetar em cada coelho uma dose humana da vacina diluída (1:10) em solução salina estéril e apirogênica.

**Verificação da inativação viral.**

*Empregar um dos métodos descritos a seguir.*

**A.** Inocular, por via intracerebral, 10 µL da amostra em, no mínimo, 20 camundongos lactentes (5 a 10 dias) e 30 µL em, no mínimo, 20 camundongos albinos suíços de 10 g a 15 g. Observar os animais inoculados por 21 dias. Durante o período de observação os animais não podem apresentar sintomas neurológicos ou morte. Se isto ocorrer, realizar o teste de *Imunofluorescência direta* no cérebro dos animais suspeitos. O produto cumpre com os requisitos se nenhum dos animais inoculados apresentar sintomas clássicos de raiva. Caso seja verificada evolução de sintomas neurológicos ou morte dos animais inoculados, a confirmação da infecção rábica dependerá da positividade detectada no ensaio de *Imunofluorescência direta*.

*Imunofluorescência direta:* cortar o cérebro do camundongo sob suspeita de raiva, de maneira que as secções centrais se voltem para cima. Preparar impressões pareadas em lâmina de vidro para microscopia, devidamente identificada. Paralelamente, preparar em lâminas devidamente identificadas, impressões para controle, utilizando camundongos sabidamente negativos e positivos para raiva, que, respectivamente, servirão de controles negativo e positivo. Deixar secar as lâminas por 30 minutos à temperatura de 20 °C a 25 °C e fixar as impressões em acetona previamente resfriada a -20 °C, mantendo-as incubadas por duas a quatro horas a -20 °C. Deixar secar as lâminas à temperatura de 20 °C a 25 °C. Proceder a coloração, circundando as impressões com substância que sirva para reter o conjugado durante o período de incubação. Pode ser empregado esmalte. Descongelar, no momento do uso, duas alíquotas de diluição de trabalho de conjugado para identificação do vírus rábico (anticorpos contra o vírus rábico marcados geralmente com isotiocianato de fluoresceína) e diluir uma das alíquotas, na proporção de 1:5, com suspensão a 20% de cérebro de camundongos não infectado (SCN). Diluir a outra alíquota da mesma forma, mas em suspensão a 20% de cérebro de camundongos infectado com vírus rábico (SCI) e homogeneizar. Posicionar a lâmina de forma que sua identificação fique voltada para o lado esquerdo do operador e depositar as misturas sobre as impressões, utilizando pipetas Pasteur distintas. Cobrir a impressão da esquerda com a mistura “conjugado + SCN” e a da direita com a mistura “conjugado + SCI” e incubar em câmara-úmida por 30 minutos a 37 °C. Após incubação, lavar com tampão fosfato-salina PBS (com de pH 7,6 a 8,0) e deixar por 10 minutos em imersão no mesmo diluente. Escorrer o diluente e lavar com água destilada para evitar formação de cristais. Deixar secar e montar com glicerina tamponada pH 8,5 a 9,0 para aumentar a intensidade das fluorescências, colocando lamínula. Examinar em microscópio de fluorescência, com aumento de 100 vezes. Examinar primeiro a impressão controle negativo tratada com a mistura “conjugado + SCN”. A SCN é isenta de vírus rábico, logo, o conjugado permanece livre para reagir com o antígeno presente na impressão, havendo assim a emissão de fluorescência. Dessa forma, o antígeno será evidenciado como inclusões ou poeira fina, de coloração verde. Em seguida, observar a impressão controle positivo tratada com a mistura “conjugado + SCI”. O conjugado é adsorvido pelo antígeno presente na SCI, não restando, portanto conjugado disponível para reagir com o antígeno rábico presente na impressão, não havendo a emissão de fluorescência. O antígeno não será evidenciado nesta impressão. Observar as impressões da lâmina controle negativo nesta mesma ordem. Não deve ser observada fluorescência; após a verificação de que os controles estejam satisfatórios, observar as impressões do material em teste; a presença do vírus rábico no material analisado, ou seja, a positividade, é constatada quando observa-se, na lâmina teste, fluorescência somente na impressão que recebeu a mistura “conjugado + SCN”, o que não é verificado na impressão onde foi depositada a mistura “conjugado + SCI”; a ausência do vírus rábico no material examinado, ou seja, a negatividade é constatada quando não é observada fluorescência.

**B.** Método de verificação de inativação viral amplificado.

Inocular quantidade equivalente a, no mínimo, 25 doses de *Vacina raiva (inativada)* em cinco culturas de células, do mesmo tipo utilizado na produção da vacina ou outra cultura de células com sensibilidade semelhante ao vírus rábico. A proporção usada é de 3 cm<sup>2</sup> de cultura por mililitro de

vacina. Após a adsorção do vírus é adicionado meio de cultura em proporção não superior a 1:3 do volume da vacina utilizada. As culturas são observadas durante 21 dias e a detecção da presença de vírus rábico pode ser feita pela inoculação em camundongos ou por imunofluorescência.

Por inoculação em camundongos, no 14º e no 21º dia de cultivo: 0,03 mL de uma mistura das amostras do sobrenadante das culturas é inoculada, por via intracerebral, em 20 camundongos albino suíços de 12 g a 15 g. Os animais são observados por 14 dias e qualquer sintoma de raiva deve ser confirmado por imunofluorescência.

Por imunofluorescência: as culturas são examinadas no 21º dia após a inoculação e por meio do teste de imunofluorescência é pesquisada a presença do vírus rábico.

O teste é considerado satisfatório se ao fim do período de observação não for detectada a presença de vírus rábico ou o aparecimento de efeitos citopáticos nas culturas.

### DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOGÊNICA

*Método de desafio em camundongos:* preparar, no mínimo, três diluições da amostra e da vacina de referência em salina tamponada fosfatada pH 7,6 e inocular, por via intraperitoneal, 0,5 mL de cada diluição em, no mínimo, 16 camundongos albinos suíços de 10 g a 15 g. Reservar 30 animais não inoculados para o controle de título do vírus desafio. Realizar imunização de reforço inoculando as mesmas diluições em cada grupo de camundongos, sete dias após a primeira imunização. Sete dias após a segunda imunização, executar o desafio, inoculando em cada camundongo volume de 30 µL, que contenha aproximadamente 50 DL<sub>50</sub> de vírus rábico fixo da cepa CVS (*challenge virus standard*), por via intracerebral, de cada camundongo. Preparar duas diluições decimais a partir da diluição de desafio e inocular 30 µL dessas diluições e da diluição de desafio, por via intracerebral, nos três grupos de 10 camundongos dos animais não imunizados. Observar os animais por 14 dias, registrando o número de vivos de cada mistura. Os animais mortos antes do quinto dia após a inoculação não devem ser considerados para o cálculo da atividade imunogênica. Calcular as doses efetivas 50% (DE<sub>50</sub>) da amostra e da vacina de referência, assim como a DL<sub>50</sub> do vírus desafio, por método estatisticamente validado. A faixa de resposta produzida pela amostra teste (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na curva de regressão do padrão, que deve apresentar relação linear. A atividade imunogênica é determinada pela equação:

$$AI \text{ (UI/mL)} = \frac{DE_{50} \text{ da amostra} \times UI/\text{mL da vacina de referência}}{DE_{50} \text{ da vacina de referência}}$$

AI = atividade imunogênica

No mínimo 2,5 UI/dose individual humana. Quando se refere o valor da atividade imunogênica (UI/mL) deve ser citado o número de DL<sub>50</sub> real obtido na titulação do vírus desafio, que é igual ao antilogaritmo da diferença entre a DL<sub>50</sub> calculada e a diluição da dose desafio utilizada. Os limites de confiança não devem estar abaixo de 25% ou acima de 400% da atividade determinada. A titulação da suspensão de desafio deve apresentar no mínimo 10 DL<sub>50</sub>. A análise estatística deve demonstrar que não há desvios de linearidade e paralelismo das curvas dose-resposta.

### TERMOESTABILIDADE

Incubar a amostra em temperatura entre 35 °C e 37 °C por quatro semanas e proceder à *Determinação da atividade imunogênica*. No mínimo 2,5 UI/dose individual humana.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

#### ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.