

FARMACOPÉIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia
Brasileira,
6ª edição

Volume II – Monografias

Hemocomponentes e Hemoderivados

Brasília
2019

HEMOCOMPONENTES E HEMODERIVADOS

COLA DE FIBRINA	HD001-00
COMPLEXO PROTROMBÍNICO HUMANO TOTAL LIOFILIZADO	HD002-00
FATOR IX DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO	HD003-00
FATOR VII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO	HD004-00
FATOR VIII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO	HD005-00
FIBRINOGENIO HUMANO LIOFILIZADO	HD006-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-D	HD007-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE A	HD008-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE B	HD009-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE B PARA USO INTRA VENOSO	HD010-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIRRÁBICA	HD011-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIRRUBÉOLA	HD012-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTISSARAMPO	HD013-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTITÉTANO	HD014-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIVARICELA	HD015-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIVARICELA PARA USO INTRA VENOSO	HD016-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL	HD017-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL PARA ADMINISTRAÇÃO POR VIA INTRA VENOSA	HD018-00
MISTURAS DE PLASMA HUMANO EXCEDENTE TRATADO POR INATIVAÇÃO VIRAL	HD019-00
MISTURAS DE PLASMA HUMANO TRATADO POR INATIVAÇÃO VIRAL	HD020-00
PLASMA HUMANO PARA FRACIONAMENTO	HD021-00
SOLUÇÃO DE ALBUMINA HUMANA	HD022-00

SOLUÇÃO DE ALBUMINA HUMANA

Albumini humani solutio

Solução de albumina humana é uma solução proteica, estéril e apirogênica obtida do plasma humano que está de acordo com as exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento*.

A obtenção da albumina é realizada sob condições controladas particularmente no que tange ao pH, à força iônica e à temperatura, de modo que a concentração em albumina no produto final seja, no mínimo, 96% do teor total de proteínas.

A solução de albumina humana é preparada como uma solução concentrada contendo 150 g/L a 250 g/L de proteína total ou como uma solução isotônica contendo 35 g/L a 50 g/L de proteína total. Pode ser acrescentado contra os efeitos do calor um estabilizador como o caprilato de sódio (octanoato de sódio) ou *N*-acetiltriptofano ou uma combinação desses dois, a uma concentração adequada. Se forem acrescentadas substâncias para inativação viral na etapa de produção, um procedimento de purificação deve ser validado de modo a demonstrar que as concentrações dessas substâncias foram reduzidas a um nível aceitável, e que tais resíduos não comprometem a segurança da preparação.

Nenhum conservante antimicrobiano é adicionado em qualquer fase da preparação. A solução final é submetida a uma filtração esterilizante e é distribuída asépticamente em recipientes estéreis que são, então, fechados de modo a evitar a contaminação. A solução no seu recipiente final é aquecida a $(60,0 \pm 1,0)$ °C e mantida a essa temperatura por tempo não inferior a 10 horas. Os recipientes são então incubados à temperatura entre 30 °C e 32 °C durante pelo menos 14 dias ou entre 20 °C e 25 °C durante pelo menos quatro semanas e analisados visualmente para evidenciar uma possível contaminação microbiana.

IDENTIFICAÇÃO

A. Fazer ensaios de precipitação utilizando soros antialbumina de diferentes espécies. Recomenda-se que o ensaio seja efetuado com soros específicos para albumina humana de cada espécie de animal doméstico habitualmente utilizado no país para a preparação de produtos de origem biológica. A solução contém proteínas humanas e dá resultados negativos com os soros antialbumina de outras espécies.

B. Fazer um ensaio utilizando um dos *Métodos imunoquímicos (5.6)*, segundo técnica apropriada. Com o auxílio de um soro humano normal, comparar um soro normal com a amostra, após diluição prévia de ambos, de modo a conterem 10 g/L de proteínas. O componente principal da amostra corresponde ao componente principal do soro humano normal, podendo existir outras proteínas plasmáticas em pequenas quantidades.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Líquido límpido, ligeiramente viscoso, geralmente incolor, amarelo acastanhado ou esverdeado.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 6,7 a 7,3. Diluir a preparação a ser examinada com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) para obter uma solução contendo 10 g/L de proteína.

Composição de proteínas. Proceder conforme descrito em *Eletroforese (5.2.22)*, utilizando, como suporte, tiras de gel de acetato de celulose ou gel de agarose e, como solução de eletrólito, o tampão de barbital pH 8,6.

Nota: se a tira de acetato de celulose for a escolhida para a corrida, o método descrito abaixo pode ser utilizado. Se géis de agarose são utilizados, é porque eles fazem parte de um sistema automatizado de eletroforese e as instruções do fabricante deverão ser seguidas em seu lugar.

Solução amostra: diluir a amostra em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de modo a obter uma concentração de 20 g/L em proteínas.

Solução padrão: diluir um padrão de albumina humana para eletroforese com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até obter uma concentração de 20 g/L em proteínas.

Aplicar, em uma tira, 2,5 µL da *Solução amostra* em traços de 10 mm, ou depositar 0,25 µL por milímetro se for utilizada uma tira mais estreita. Aplicar nas mesmas condições um volume igual da *Solução padrão* em uma outra tira. Aplicar um campo elétrico apropriado de modo que o composto que se desloca mais rapidamente migre pelo menos 30 mm. Tratar as tiras com negro de amido 10B SR durante cinco minutos e em seguida com uma mistura de 10 volumes de ácido acético glacial e 90 volumes de álcool metílico durante o tempo estritamente necessário para obter a descoloração do suporte. Provocar a transparência do suporte com uma mistura de 19 volumes de ácido acético glacial e 81 volumes de álcool metílico. Determinar a absorvância das bandas em 600 nm com auxílio de um aparelho que, nesse comprimento de onda, dê uma resposta linear no intervalo de medida. Realizar três determinações sobre cada tira e calcular a média das leituras para cada tira. No eletroforetograma da solução amostra, 5% das proteínas, quando muito, podem ter uma mobilidade diferente da banda principal. O ensaio só é válido se, no eletroforetograma obtido com a solução de referência, a proporção de proteínas contidas na banda principal estiver compreendida entre os limites estabelecidos pelo fabricante que acompanha a preparação de referência.

Distribuição do tamanho molecular. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 600 mm de comprimento e 7,5 mm de diâmetro interno ou 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel hidrofílica (adequada ao fracionamento de proteínas globulares com relação massa moleculares na faixa de 10 000 a 500 000); fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: solução contendo 4,873 g de fosfato de sódio dibásico di-hidratado, 1,741 g de fosfato de sódio monobásico monohidratado, 11,688 g de cloreto de sódio e 50 mg de azida sódica, por litro de água ultrapurificada.

Solução amostra: diluir a amostra em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até uma concentração apropriada ao sistema cromatográfico utilizado. Uma concentração compreendida entre 4 g/L e 12 g/L e a injeção de 50 µg a 600 µg de proteínas são geralmente adequadas.

O tempo de retenção será definido pelo equipamento e o tamanho da coluna utilizada, devendo ser desconsiderado o pico de estabilização. O pico produzido pela albumina deve ser simétrico e ser igual ou superior a 95% da área total do cromatograma. Após um breve espaço vazio, deverão surgir os picos produzidos pela presença de polímeros e agregados. A área deste pico dividida por dois deve ser, no máximo, 5% da área total do cromatograma.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica (5.2.13.1)*. Empregar as seguintes condições: utilizar um forno de grafite como gerador de átomos, chama entre leituras, comprimento de onda de 309,3 nm ou outro adequado, largura da fenda de 0,5 nm, tubo piroliticamente revestido, com plataforma integrada e prioridade de correção desligado. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Nota: utilizar recipientes de matéria plástica para a preparação das soluções e equipamentos plásticos, sempre que possível. Lavar a aparelhagem com ácido nítrico a 200 g/L antes da utilização.

Solução amostra: utilizar a amostra a ser analisada, diluída se necessário.

Solução de validação: utilizar um padrão internacional de albumina para validação do ensaio de alumínio.

Soluções de referência: preparar pelo menos três soluções de referência em uma escala que mede a concentração de alumínio esperada na preparação a ser examinada, por exemplo, diluindo a *Solução padrão de alumínio (10 ppm de alumínio Al)* com solução de octoxinol 10 a 1,0 g/L.

Solução de monitoramento: adicionar *Solução padrão de alumínio (10 ppm alumínio Al)* ou um material de referência certificado para a adequada solução em uma quantidade suficiente para aumentar a concentração de alumínio para 20 µg/L.

Solução branco: solução de octoxinol 10 a 1,0 g/L.

As condições de funcionamento encontradas na **Tabela 1** são citadas como um exemplo de condições adequadas encontradas para determinado aparelho e podem ser modificadas para obter melhores resultados.

Tabela 1 – Condições adequadas de funcionamento encontradas, citadas como exemplo.

<i>Passo</i>	<i>Temperatura final (°C)</i>	<i>Tempo de deslocamento (s)</i>	<i>Tempo decorrido (s)</i>	<i>Gás</i>
1	120	10	80	Argônio
2	200	5	20	Argônio
3	650	5	10	Argônio
4	1300	5	10	Argônio
5	1300	1	10	Nenhum gás
6	2500	0,7	4	Nenhum gás
7	2600	0,5	3	Argônio
8	20	12,9	3	Nenhum gás

Procedimento: injetar três vezes a *Solução branco*, as *Soluções de referência*, a *Solução amostra* e a *Solução de monitoramento*. A recuperação do alumínio adicionado na preparação da *Solução de monitoramento* está dentro do intervalo de 80% a 120%. Determinar as absorvâncias. Construir uma curva analítica a partir da média das leituras obtidas com as *Soluções de referência* e determinar o teor de alumínio na preparação a ser analisada através da curva analítica. No máximo 200 µg/L.

Ativador da pré-caliceína. Proceder conforme descrito em *Determinação do título do ativador da pré-caliceína (5.5.1.11)*. A amostra contém, no máximo, 35 UI de ativador da pré-caliceína por mililitro.

Hemoglobina. Diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até uma concentração de 10 g/L em proteínas. Determinar a absorvância (5.2.14) em 403 nm, utilizando água como branco. A absorvância é, no máximo, 0,15.

Potássio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica (5.2.13.2)*. Determinar a intensidade emitida em 766,5 nm. A amostra contém, no máximo, 0,05 milimol de K⁺ por grama de proteínas.

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica (5.2.13.2)*. Determinar a intensidade emitida em 589 nm. A amostra contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 105% do teor de sódio indicado no rótulo e, no máximo, 160 milimol de Na⁺ por litro.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste.

Nota: no caso de uma solução contendo 35 g/L a 50 g/L de proteínas, injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da preparação a ser examinada. No caso de uma solução contendo 150 g/L a 250 g/L de proteínas, injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 5 mL da preparação a ser examinada.

DOSEAMENTO

Proteínas totais

Diluir a preparação com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) para obter uma solução que se espera conter aproximadamente 15 mg de proteína em 2 mL. Em um tubo de centrifugação de fundo arredondado introduzir 2 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de solução de molibdato de sódio a 75 g/L e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico livre de nitrogênio e água (1:30). Agitar, centrifugar durante cinco minutos, decantar o líquido sobrenadante e inverter o tubo, permitindo que o seu conteúdo escorra sobre papel de filtro. Determinar o teor de nitrogênio presente no resíduo após mineralização de acordo com *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (5.3.3.2)* e calcular o teor de proteínas multiplicando a quantidade de nitrogênio por 6,25. A preparação contém, no mínimo, 96% e, no máximo, 105% da quantidade de proteína declarada no rótulo.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. O rótulo deve conter o nome da preparação, volume da preparação, conteúdo em proteínas expresso em gramas por litro, conteúdo de sódio expresso em milimol por litro, nome e concentração de qualquer substância adicionada à preparação (exemplo: estabilizante) e que o produto não deverá ser usado se houver turvação ou depósito.