

Este informe recoge la opinión colectiva de un grupo internacional de especialistas y no representa necesariamente el criterio ni la política de la Organización Mundial de la Salud.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

SERIE DE INFORMES TECNICOS

Nº 178

NORMAS PARA SUSTANCIAS BIOLÓGICAS

1. Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección

2. Normas para la Vacuna Antipoliomielítica (Inactivada)

Informe de un Grupo de Estudio

	Página
1. Consideraciones generales	3
2. Recomendación para que se organice un estudio internacional sobre las pruebas de actividad	5
3. Revisión del texto de las Normas para la Vacuna Antipoliomielítica	7
Anexo 1. Normas generales para fábricas y laboratorios de inspección (Normas para Sustancias Biológicas Nº 1)	9
Anexo 2. Normas para la vacuna antipoliomielítica (inactivada) (Normas para Sustancias Biológicas Nº 2)	21

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

PALAIS DES NATIONS

GINEBRA

1959

**GRUPO DE ESTUDIO SOBRE NORMAS GENERALES
PARA FABRICAS Y LABORATORIOS DE INSPECCION
Y SOBRE NORMAS PARA LA VACUNA ANTIPOLIOMIELITICA**

Ginebra, 2-7 de junio de 1958

Miembros :

- Dr. O. Bonin, Investigador Científico, Instituto para la Investigación Quimioterápica, Paul-Ehrlich-Institut, Francfort del Meno, República Federal de Alemania
- Dr. D. G. Evans, Director, Biological Standards Control Laboratories, Medical Research Council, Hampstead, Londres, Inglaterra
- Dr. S. Gard, Profesor de Investigaciones sobre Virus, Escuela de Medicina, Karolinska Institutet, Estocolmo, Suecia (*Relator*)
- Dr. J. H. S. Gear, Director of Research, Poliomyelitis Research Foundation Laboratories, Johannesburgo, Unión Sudafricana (*Presidente*)
- Dr. A. Lafontaine, Directeur, Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruselas, Bélgica
- Dr. P. Lépine, Chef du Service des Virus, Institut Pasteur, París, Francia (*Vicepresidente*)
- Dr. H. von Magnus, Jefe del Departamento de Virus Poliomiélicos, Statens Seruminstitut, Copenhague, Dinamarca
- Dr. R. Murray, Director, Division of Biologics Standards, National Institutes of Health, Bethesda, Md., Estados Unidos de América
- Dr. G. Penso, Jefe del Laboratorio de Microbiología, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia
- Dr. V. Soloviev, Director Científico del Instituto para la Profilaxis de la Poliomiélitis, Moscú, Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas

Secretaría :

- Dr. B. K. Bhattacharya, médico, Sección de Patrones Biológicos, OMS
- Dr. N. K. Jerne, Jefe de la Sección de Patrones Biológicos, OMS (*Secretario*)
- Dr. U. Krech, Jefe del Departamento de Virus, Instituto de Sueros y Vacunas, Berna, Suiza (*Consultor*)
- Dr. A. M.-M. Payne, Jefe de la Sección de Enfermedades Endemoepidémicas, OMS

NORMAS PARA SUSTANCIAS BIOLÓGICAS

- 1. Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección**
- 2. Normas para la Vacuna Antipoliomielítica (Inactivada)**

Informe de un Grupo de Estudio

El Grupo de Estudio sobre Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección y sobre Normas para la Vacuna Antipoliomielítica se reunió en Ginebra del 2 al 7 de junio de 1958.

En nombre del Director General de la Organización Mundial de la Salud, el Dr. P. Dorolle, Director General Adjunto, abrió la reunión y dio la bienvenida a los miembros del Grupo.

El Director General Adjunto indicó que la reunión del Grupo de Estudio se había convocado para preparar una recomendación internacional sobre las normas que deben reunir los preparados de vacuna antipoliomielítica para que se les pueda considerar como agentes profilácticos inocuos, seguros y eficaces. La adopción de una recomendación internacional a este respecto contribuirá a facilitar el intercambio internacional de vacunas, y servirá de orientación a los técnicos que deseen emprender la producción de vacuna antipoliomielítica y que encuentren dificultades para escoger métodos apropiados de valoración e inspección.

El Director General Adjunto expresó su confianza en que el Grupo de Estudio llegaría a un acuerdo sobre las numerosas pruebas necesarias para la adecuada inspección de la fabricación de vacunas antipoliomielíticas y manifestó que el logro de los fines señalados a la reunión del Grupo sería de la mayor importancia para el proyecto de la OMS de fomentar la uniformidad de los métodos de valoración y de las normas aplicables a las preparaciones biológicas importantes.

1. CONSIDERACIONES GENERALES

El Grupo de Estudio tomó nota del informe¹ del Grupo de Estudio sobre Normas para Sustancias Biológicas (1957), y convino en que las normas para la vacuna antipoliomielítica podían ajustarse al esquema propuesto en dicho informe.

¹ Documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/27

En sus deliberaciones sobre las normas que podrían ser objeto de recomendación internacional, el Grupo de Estudio examinó el segundo proyecto de Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección,¹ e hizo pequeñas correcciones al texto. Las normas revisadas se reproducen en el anexo 1.

El Grupo de Estudio examinó después un primer proyecto de requisitos para la vacuna antipoliomielítica,² las recomendaciones formuladas en el segundo informe del Comité de Expertos en Poliomiélitis,³ un documento sobre la comprobación de la esterilidad,⁴ varios documentos relativos a la comprobación de la actividad,⁵ y numerosos datos inéditos recogidos por los miembros del Grupo.

El Grupo examinó asimismo las reglamentaciones y normas vigentes en varios países para la fabricación y la inspección de la vacuna antipoliomielítica, que, en su mayor parte, se inspiran en los primeros requisitos establecidos en los Estados Unidos de América. Ello no obstante, el examen de los documentos sometidos a la consideración del Grupo de Estudio⁶ y de los datos complementarios comunicados por los miembros del Grupo demostró que las normas en vigor varían mucho de unos países a otros. El Grupo llegó a la conclusión de que sería muy útil establecer unas normas fundamentales susceptibles de aceptación internacional para la fabricación y la inspección de la vacuna antipoliomielítica.

El Grupo redactó las normas relativas a la vacuna antipoliomielítica reproducidas en el anexo 2, que consideró susceptible de aplicación general a todas las vacunas que se usan en la actualidad y que, en consecuencia, se basan sólo en las vacunas trivalentes de virus inactivados. El Grupo convino en que podría darse el caso de que una población en su mayor

¹ Secretaría de la OMS, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/31

² Secretaría de la OMS, documentos de trabajo inéditos WHO/BS/IR/29 y 30

³ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, 145

⁴ Eissner, G. y Bonin, O., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/36

⁵ Gard, S., Johnsson, T., Lycke, E., Melén, B., Olin, G., Salenstadt, R. & Wrangle, G., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/32; de Somer, P., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/33; Lépine, P., Roger, F. & Sautter, V., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/34; Krech, U., documento de trabajo inédito, WHO/BS/IR/38; Benyesh, M. & Melnick, J. L., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/39; Estados Unidos de América, Division of Biologics Standards, National Institutes of Health, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/42; Prigge, R., Günther, O. & Bonin, O., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/43

⁶ Lafontaine, A., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/40 (Normas en vigor en Bélgica); Canadá: Laboratory of Hygiene, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/41; von Magnus, H., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/35 (Normas en vigor en Dinamarca); Lépine, P., documento de trabajo inédito WHO/Polio/23 (Normas en vigor en Francia); República Federal de Alemania, Paul-Ehrlich Institut, Francfort del Meno, tercer proyecto inédito del reglamento provisional para la inspección nacional de vacunas antipoliomielíticas; Penso, G., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/37 (Normas en vigor en Italia); Inglaterra y Gales, *Therapeutic Substances Amendment Regulations*, 1956, Schedule, Part XVII; Estados Unidos de América, *Code of Federal Regulations*, 1956, Title 42, Chapter I, Part 73

parte sin inmunizar se viera amenazada de una epidemia causada por un solo tipo de virus poliomielítico, y reconoció que en esas circunstancias podría resultar conveniente el uso de vacunas monovalentes o incluso bivalentes. Esas vacunas deberían reunir todas las normas pertinentes establecidas en el anexo 2.

Al deliberar sobre las normas de inocuidad que debería reunir la vacuna antipoliomielítica, el Grupo de Estudio examinó la importancia que podría tener la presencia del virus de la coriomeningitis linfocítica, del virus B y de otros agentes de enfermedades del mono en los cultivos de tejidos utilizados para la producción de la vacuna, y llegó a la conclusión de que los dos virus mencionados, a pesar de su patogenicidad para el hombre, no plantean un problema grave desde el punto de vista de la inocuidad, pues son mucho menos estables que el virus poliomielítico en presencia de formaldehído y de otras sustancias químicas. Si se considerara aconsejable investigar la presencia de virus B, las pruebas deberían practicarse lo antes posible después de la recogida del virus poliomielítico destinado a la fabricación de la vacuna.

2. RECOMENDACION PARA QUE SE ORGANICE UN ESTUDIO INTERNACIONAL SOBRE LAS PRUEBAS DE ACTIVIDAD

Es imposible, de momento, establecer con el debido detalle normas internacionales sobre la actividad antigénica de la vacuna antipoliomielítica. A juicio del Grupo de Estudio, sería prematuro fijar con precisión el grado de actividad que debe considerarse aceptable, no sólo por la diversidad de los principios y los métodos aplicados en las pruebas de laboratorio que se emplean en la actualidad, sino por la falta de datos suficientes sobre la relación que existe entre los resultados de las pruebas de actividad realizadas en el laboratorio y la eficacia práctica de la vacuna.

El Grupo de Estudio tomó nota de que en varios países se está procurando mejorar los métodos de determinación de la actividad, consideró que en esta fase la colaboración internacional es posible y conveniente, y recomendó que se organizara un estudio con la participación de varios laboratorios de distintos países, cuyos métodos de practicar esa determinación sean diferentes. Este estudio internacional permitiría comparar los datos obtenidos por distintos laboratorios al ensayar una misma vacuna por el método o los métodos que se especificaran y por los habituales de cada establecimiento. Con objeto de obtener datos tan útiles como sea posible, convendría que cada laboratorio participante en el estudio internacional valorara además de una vacuna de referencia que sería la misma en todos los casos, otra vacuna y varias de sus diluciones, designadas por los números de una clave. También sería conveniente que se ensayara la misma vacuna en el hombre.

El Grupo tomó nota de que se estaba preparando un lote de vacuna antipoliomielítica por encargo de los National Institutes of Health de Bethesda, Maryland (Estados Unidos de América), con objeto de usarlo como preparación preliminar de referencia en un estudio nacional sobre las pruebas de actividad, y de que parte de este lote podría utilizarse para el estudio internacional propuesto.

Un factor de importancia para el resultado del estudio internacional es la estabilidad de las vacunas que se empleen, y especialmente de la vacuna de referencia, en las condiciones de almacenamiento y transporte. Convendría, por tanto, proceder a estudios sobre la estabilidad de las vacunas después del transporte o de la exposición a una temperatura que pueda provocar su degradación, tomando como término de comparación un antígeno infectante estable.

El Grupo tomó nota asimismo de que el Comité de Expertos en Patrones Biológicos había adoptado algunas disposiciones conducentes a la adopción de una vacuna antipoliomielítica trivalente liofilizada y estable y pidió, en consecuencia, que se señalara a la atención de dicho Comité la presente recomendación con objeto de que en el estudio internacional se use un antígeno liofilizado, si se dispone de él.

Convendría pedir a los laboratorios participantes¹ que procedieran a valorar las vacunas por medio de una prueba especificada de actividad en el cobayo.² También deberían adoptarse las disposiciones adecuadas para que algunos de esos laboratorios practicaran una prueba especificada en pollos² y otra de combinación con el anticuerpo.² Además, todos los laboratorios procederían simultáneamente a valorar por su método habitual todas las vacunas objeto del estudio.

El Grupo de Estudio recomendó que la Organización Mundial de la Salud adoptara las disposiciones necesarias para emprender el indicado estudio internacional, y para reunir y evaluar sus resultados. Mientras éstos no se conozcan, será imposible establecer normas de actividad más detalladas que las que figuran en el anexo 2 del presente informe.

¹ Los siguientes laboratorios se han ofrecido a participar en el estudio internacional, practicando las pruebas que sean necesarias: Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruselas (Bélgica); Statens Seruminstitut, Copenhague (Dinamarca); Institut Pasteur, París (Francia); Paul-Ehrlich-Institut, Francfort del Meno (República Federal de Alemania); Istituto Superiore di Sanità, Roma (Italia); The Poliomyelitis Research Foundation Laboratories, Johannesburgo (Unión Sudafricana); Statens Bacteriologiska Laboratorium, Estocolmo (Suecia); Biological Standards Control Laboratories, Londres (Inglaterra); Division of Biologics Standards, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (Estados Unidos de América); Instituto de Moscú para la Profilaxis de la Poliomyelitis, Moscú (Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas).

² Todos los métodos de prueba que deberán emplearse en el estudio han sido objeto de especificaciones detalladas y recomendadas, que deberían comunicarse a los laboratorios participantes.

3. REVISION DEL TEXTO DE LAS NORMAS PARA LA VACUNA ANTIPOLIOMIELITICA

El Grupo de Estudio deliberó sobre los procedimientos que cabría recomendar para las revisiones del texto actual de las Normas para la Vacuna Antipoliomielítica (anexo 2 al presente informe), y recomendó a la Secretaría de la Organización Mundial de la Salud que sometiera todas las observaciones que puedan formular los miembros del Grupo u otros especialistas a la consideración de grupos de estudio o de comités de expertos de composición adecuada, a fin de que fuera posible redactar unas normas definitivas.

Convendría que el texto de las normas fuera objeto de exámenes ulteriores a intervalos adecuados y que se tomaran las disposiciones necesarias para publicar los textos revisados cuando fuere necesario.



Anexo 1

NORMAS GENERALES PARA FABRICAS Y LABORATORIOS DE INSPECCION (NORMAS PARA SUSTANCIAS BIOLÓGICAS Nº 1) *

	Página
Consideraciones generales	9
Parte A. Normas generales para fábricas	10
1. Personal	10
2. Locales e instalaciones	11
3. Inspección de la producción	12
4. Envase y recipientes	14
5. Pruebas	14
6. Registros	14
7. Muestras	15
8. Rotulación	15
9. Distribución y expedición	15
10. Almacenamiento y fecha de caducidad	16
Parte B. Normas generales para laboratorios de inspección	16
1. Administración y personal	16
2. Locales e instalaciones	16
3. Atribuciones	17

Consideraciones generales

Los procedimientos necesarios para la inspección de las sustancias biológicas durante su fabricación son distintos de los que aplican a los productos acabados los servicios nacionales de inspección. La inspección en la fase de fabricación es un asunto de interés exclusivamente nacional, mientras que la inspección oficial de los productos acabados, incluso los

* El proyecto original de estas normas fue preparado por el Grupo de Estudio sobre Normas para Sustancias Biológicas que se reunió en Ginebra del 7 al 12 de octubre de 1957. Los miembros de este Grupo de Estudio fueron: Dr. M. L. Ahuja, Medical Adviser to the High Commissioner for India, Londres (Inglaterra); Dr. J. Desbordes, Service Central de la Pharmacie, Bureau des Sérums et Vaccins, Paris (Francia); Dr. G. Eissner, Paul-Ehrlich-Institut, Francfort del Meno (República Federal de Alemania); Dr. J. H. Gaddum, Director, Pharmacological Laboratory, University New Buildings, Edimburgo (Escocia); Dr. L. Greenberg, Chief, Biologics Control Laboratories, Laboratory of Hygiene, Ottawa (Canadá); Dr. D. Ikić, Director del Instituto para la Producción de Sueros y Vacunas, Zagreb (Yugoslavia); Dr. M. Kurokawa, Jefe del Departamento de Análisis General, Instituto Nacional de Sanidad, Tokio (Japón); Dr. A. Lafontaine, Directeur, Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruselas (Bélgica) (Presidente); Dr. O. Maaloe, Director del Departamento de Patrones Biológicos, Statens Seruminstitut, Copenhague (Dinamarca); Dr. G. Penso, Jefe del Laboratorio de Microbiología, Istituto Superiore di Sanità, Roma (Italia); Dr. W. L. M. Perry, Director, Department of Biological Standards, National Institute for Medical Research, Londres (Inglaterra); Dr. J. T. Tripp, Division of Biologics Standards, National Institute of Health, Bethesda, Md. (Estados Unidos de América) (Vicepresidente). Actuó de Secretario el Dr. N. K. Jerne, Jefe de la Sección de Patrones Biológicos, OMS.

de importación, puede tener consecuencias de orden nacional e internacional.

Las normas generales formuladas en la parte A son aplicables a todas las situaciones que pueden darse en la fabricación.

La situación ideal sería que los gobiernos de todos los países aplicaran las mismas medidas de inspección. Si así ocurriera no habría ninguna dificultad para la libre circulación internacional de las sustancias biológicas y los servicios nacionales sólo tendrían que resolver el problema de la inspección de las sustancias fabricadas en sus respectivos países. Es necesario, sin embargo, hacerse cargo de que habrán de pasar muchos años antes de que se llegue a esa situación ideal; entretanto, los servicios nacionales de inspección tendrán que seguir ocupándose no sólo de las sustancias fabricadas en sus respectivos países, sino de las importadas de otros.

Las normas generales formuladas en la parte B son aplicables a todos los laboratorios de inspección en funcionamiento en las condiciones actuales, cualesquiera que sean el número o la naturaleza de las sustancias biológicas sometidas a inspección y tanto si han sido fabricadas en el país como importadas.

Cada una de las siguientes secciones del presente documento constituye una recomendación. Las partes de cada sección que van impresas en caracteres grandes se han redactado en forma de normas de manera que las administraciones sanitarias nacionales que lo deseen puedan usarlas como requisitos nacionales definitivos, sin necesidad de introducir modificaciones. Las partes impresas en caracteres pequeños tratan de extremos sobre los cuales se ha juzgado conveniente hacer observaciones.

Convendría que los países que adopten estas normas como base de sus reglamentos nacionales relativos a las normas generales para la fabricación e inspección de sustancias biológicas añadieran una disposición que permitiera introducir modificaciones, siempre que se haya demostrado a las autoridades nacionales de inspección que tales modificaciones aseguran un grado de inocuidad y de actividad de los productos por lo menos igual al estipulado por las normas formuladas a continuación. En esos casos, la decisión adoptada debe ponerse en conocimiento de la Organización Mundial de la Salud.

Los términos «autoridad nacional de inspección» y «laboratorios nacionales de inspección», tal como se usan en estas normas, se refieren siempre al país en el que se fabrica la vacuna.

Parte A. Normas generales para fábricas

1. Personal

La fabricación debe ser dirigida por una persona que domine las técnicas de la fabricación de sustancias biológicas y que conozca los principios

científicos en que se fundan esas técnicas. Esta persona debe tener además la autoridad suficiente para mantener la disciplina entre el personal, en el que debe haber especialistas con una formación adecuada a los productos fabricados en el establecimiento.

Así, para abordar los problemas de fabricación, es necesaria la formación en algunos de los siguientes campos o en todos: bacteriología, biometría, química, medicina, farmacia, veterinaria y virología.

El personal encargado de las pruebas de inspección debe ser distinto del asignado al departamento de fabricación y no debe estar a las órdenes del jefe de esta última.

Todo el personal asignado a la fabricación, a los ensayos y al cuidado de los animales debe estar inmunizado con vacunas específicas y someterse todos los años a un reconocimiento médico que permita diagnosticar los posibles casos de tuberculosis.

2. Locales e instalaciones

2.1 Locales

Los laboratorios, las salas de operaciones, los locales para los animales y todos los demás locales y edificios usados para la fabricación de sustancias biológicas deben proyectarse de manera que reúnan las mejores condiciones de limpieza, higiene, protección contra el polvo, los insectos y otras sabandijas, y construirse con los materiales más convenientes para esos fines. En todos esos locales habrá instalaciones de agua corriente, caliente y fría, y de desagüe. Se tomarán las precauciones adecuadas para impedir la contaminación del sistema de desagüe con efluentes peligrosos y la diseminación de microbios y virus patógenos en el aire. El personal dispondrá de los vestuarios y los demás servicios que hagan falta. Todos los edificios y locales deben estar constantemente limpios y en las debidas condiciones de higiene. Cuando los locales destinados a la fabricación de sustancias biológicas se empleen para otros fines, se limpiarán cuidadosamente y, en caso necesario, se esterilizarán antes de volver a fabricar en ellos dichas sustancias.

2.2 Salas de temperatura constante

Se instalarán cámaras frigoríficas de capacidad suficiente, así como incubadoras o cuartos calientes, en los que pueda mantenerse una temperatura uniforme dentro de los límites deseados.

La temperatura debe ser uniforme en todo el interior de las cámaras frigoríficas y las incubadoras; es preferible que estén provistas de termógrafos.

2.3 Salas estériles

Los locales estériles usados para los pases de cultivos y para la producción serán de las menores dimensiones posibles, de techo bajo y superficies lisas, con objeto de que se pueda limpiar a fondo cada vez que vayan a utilizarse.

Esos locales deben estar completamente limpios de polvo y, a ser posible, dispondrán de aire filtrado a mayor presión que la de los locales adyacentes.

El personal que trabaje en las salas estériles debe disponer de un vestuario especial.

2.4 Instalaciones de lavado y esterilización

El establecimiento dispondrá de las instalaciones adecuadas para el lavado de los aparatos. Se dispondrá de autoclaves, esterilizadores de calor seco y filtros antibacterianos para la esterilización de las materias primas, los medios de cultivo y los aparatos.

Conviene que las autoclaves estén provistas de termógrafos. Los demás medios de esterilización, como los rayos ultravioletas y los agentes químicos, tienen aplicaciones especiales y se emplearán, cuando sea necesario, bajo la debida vigilancia.

2.5 Locales para los animales

La disposición y los materiales de construcción de estos locales deben permitir el mantenimiento de las debidas condiciones de limpieza y de higiene y una protección eficaz contra los insectos y otros animales dañinos. Entre otras instalaciones, habrá locales aislados para tener en cuarentena a los animales recién adquiridos y almacenes para piensos debidamente protegidos contra los animales dañinos.

Conviene que haya medios para la desinfección de las jaulas, a ser posible con agua caliente y vapor, así como un horno para incinerar los residuos y los animales muertos.

3. Inspección de la producción

3.1 Métodos de producción

Se prepararán instrucciones escritas, en las que se detallarán todas las fases de la producción y de la inspección de cada producto. El personal no se apartará de dichas instrucciones sin el permiso de la autoridad competente.

3.2 Limpieza

Todos los aparatos, instalaciones y materiales usados en la fabricación deberán estar limpios y, en caso necesario, estériles y exentos de pirógenos.

3.3 Orden

Todos los recipientes de sustancias biológicas llevarán en todas las fases de la fabricación un rótulo bien pegado, que permita identificar su contenido.

3.4 Precauciones contra la contaminación

Todas las operaciones con microorganismos esporógenos o virus se efectuarán en locales exclusivamente destinados a este fin y dotados de todo el material necesario que no podrá usarse fuera de esos locales.

Por cada virus que haya que manejar se dispondrá de una instalación distinta. Se evitará, sobre todo durante las centrifugaciones y mezclas, la formación de aerosoles que puedan transportar virus de una sección a otra.

Las piezas anatomopatológicas que se reciban con fines diagnósticos deberán examinarse en locales exclusivamente destinados a ese menester y distintos de los que se usen para la fabricación de sustancias biológicas.

Durante el trabajo, los empleados deben permanecer en los locales que les correspondan y llevar prendas de protección, así como calzado, gorros, etc., adecuados, que se dejarán en esos locales. Los empleados que padezcan una enfermedad infecciosa no deben reintegrarse al trabajo hasta que estén completamente restablecidos.

Debe reducirse al mínimo el número de visitantes y, como regla general, no se permitirá a éstos la entrada a las salas estériles.

3.5 Cuidado de los animales

Los animales que se usen en las operaciones de producción o en las pruebas no deben presentar ningún síntoma de enfermedad transmisible, y deben estar convenientemente alojados en todo momento. Se les dará una alimentación equilibrada y se los tendrá constantemente limpios y en las debidas condiciones de higiene.

Los animales que se usen en las operaciones de producción o en las pruebas deben tenerse en cuarentena por lo menos durante una semana, observándolos a diario. En algunos casos es conveniente tener los locales a la temperatura óptima para la especie de que se trate y para la prueba que se practique. También puede ser necesario disponer de razas puras de animales de ensayo.

No se permitirá la salida del establecimiento de ningún animal vivo o muerto que pueda transmitir enfermedades.

Los animales muertos de resultas de una infección deben destruirse, a ser posible en un horno crematorio.

4. Envase y recipientes

4.1 Salas de envase

El envase debe hacerse en las salas exclusivamente destinadas a ese fin, que se mantendrán en las debidas condiciones de esterilidad y que dispondrán de instalaciones especiales para transvasar cantidades especificadas de sustancias biológicas acabadas de los depósitos donde se guarde el producto a granel a los recipientes definitivos. Se adoptarán medidas rigurosas de protección contra el polvo y de asepsia para evitar que el preparado se contamine durante el envase.

Entre esas medidas están las de precipitación del polvo por medio de vapor o rociamientos, el uso de ropas protectoras, etc.

4.2 Procedimientos de envase

Las operaciones de envase se llevarán a cabo de manera que no se produzca ninguna contaminación o alteración del preparado.

4.3 Recipientes

Los recipientes se cerrarán lo antes posible después de llenarlos. Los tapones serán de una materia que no provoque ninguna alteración en la sustancia biológica, y permitirán conservar el cierre hermético hasta la fecha de caducidad del preparado.

5. Pruebas

Todas las pruebas que hayan de practicarse con una sustancia biológica determinada, que exijan el uso de microorganismos vivos, se llevarán a cabo en locales distintos de los destinados a la producción.

A ser posible, todas las pruebas se practicarán en locales exclusivamente destinados a ese efecto.

En las normas formuladas para cada sustancia biológica, se describirán las pruebas necesarias para determinar la inocuidad, la pureza y la actividad de cada lote.

6. Registros

6.1 Memorias de producción y registros de distribución

Se llevarán registros permanentes en que se anotarán todos los datos relativos a las diferentes fases de fabricación, inspección, envase y distribución. Las memorias así constituidas se conservarán hasta la fecha de caducidad de cada lote del producto biológico, y estarán en todo momento a disposición de las autoridades nacionales de inspección.

Deben anotarse en las memorias los datos necesarios para seguir todas las fases del proceso de producción e inspección

de cada lote, entre ellos, los relativos a la esterilización de todos los aparatos y materiales usados para la fabricación. Los registros de distribución se llevarán de manera que en caso necesario se pueda retirar rápidamente del comercio cualquier lote.

6.2 *Registros de cultivos*

Se anotarán en registros especiales todos los pases que se hayan practicado con cada uno de los cultivos existentes en el establecimiento. Todos los cultivos estarán rotulados y se conservarán con las precauciones y el orden debidos.

7. Muestras

De cada lote se tomarán las muestras necesarias para enviarlas al laboratorio nacional de inspección. Se retendrán muestras adicionales como material de referencia hasta la fecha de caducidad del lote, de manera que éste pueda identificarse en cualquier momento.

Los fabricantes deben conservar suficientes muestras adicionales para repetir las pruebas de inspección, si fuera necesario.

8. Rotulación

Estando pendiente la formulación de las normas generales para la rotulación aplicable a todos los productos biológicos, los datos que deben constar en las etiquetas pegadas a los envases y a las envolturas, y en los prospectos que puedan acompañar al envase se indicarán en las normas para cada sustancia biológica.

9. Distribución y expedición

9.1 *Autorización de distribución*

No se autorizará la distribución de ningún lote de una sustancia biológica mientras no se hayan practicado, resumido y evaluado todas las pruebas necesarias y no se hayan cumplido los demás requisitos oficiales relativos a la inspección. Entre otras pruebas se practicará obligatoriamente un ensayo de identificación del contenido de un recipiente definitivo de cada tanda de envase, con objeto de verificar la exactitud de la rotulación.

9.2 *Expedición*

Las sustancias biológicas se expedirán con las precauciones debidas para que el producto conserve su actividad al llegar al punto de destino.

En la imposibilidad de enunciar reglas aplicables en todas las circunstancias, será necesario estudiar detenidamente cada caso particular.

10. Almacenamiento y fecha de caducidad

10.1 Condiciones de almacenamiento

Las sustancias biológicas se almacenarán a temperaturas constantemente comprendidas entre los límites más favorables para su estabilidad.

Durante la distribución, puede ser necesario autorizar la exposición del producto durante cortos periodos de tiempo a la temperatura ambiente.

10.2 Fecha de caducidad

La fecha de caducidad de las sustancias biológicas se determinará y se fijará con el visto bueno de las autoridades nacionales de inspección.

Parte B. Normas generales para laboratorios de inspección

1. Administración y personal

El laboratorio de inspección dependerá, directa o indirectamente, del servicio nacional de inspección.

La adopción de medidas para garantizar la inocuidad, la actividad y la pureza de las sustancias biológicas usadas en un país incumbe normalmente al departamento de sanidad del gobierno del país en cuestión, aunque naturalmente esa atribución haya de delegarse en el director del laboratorio de inspección, que debe disponer de todos los poderes necesarios y asumir la plena responsabilidad de esa función.

El director del laboratorio de inspección debe ser persona competente y experimentada en la inspección de sustancias biológicas.

El laboratorio dispondrá además de técnicos de todas las especialidades necesarias para la adecuada inspección de las sustancias biológicas, preparadas en el país o importadas, que deban someterse a su aprobación.

Será necesario, por lo general, que el laboratorio disponga de personas competentes en algunos de los siguientes campos o en todos: bacteriología, biometría, química, medicina, farmacia, farmacología, veterinaria y virología.

2. Locales e instalaciones

Las normas para locales e instalaciones enunciadas en la sección 2 de la parte A serán aplicables, en general, a los laboratorios de inspección.

Los instrumentos y aparatos del laboratorio deberán ser de alta precisión.

El calibrado y la precisión de todos los instrumentos y aparatos debe verificarse a intervalos regulares.

El personal del laboratorio debe disponer constantemente de obras de consulta, tanto libros como revistas.

3. Atribuciones

El método de inspección más eficaz es, sin duda alguna, el de obligar a los establecimientos productores a obtener una licencia oficial y someter sus instalaciones a inspecciones regulares y los productos acabados a las necesarias pruebas de verificación. El desempeño de esas funciones incumbe al laboratorio de inspección, que debe velar por la aplicación de las normas establecidas en la parte A para los establecimientos productores.

3.1 Expedición de licencias e inspección

Los fabricantes se proveerán de una licencia especial para cada sustancia biológica que vayan a preparar, licencia que podrá retirárseles en las condiciones que se determinen cuando no se atengan a las normas generales y especiales establecidas para dicha sustancia.

El personal técnico del laboratorio de inspección debe girar visitas periódicas a todos los establecimientos productores una vez al año o con más frecuencia si fuera posible.

3.2 Pruebas que debe practicar el laboratorio de inspección

El laboratorio de inspección dispondrá del personal y de las instalaciones que hagan falta practicar todas las pruebas necesarias con muestras de los productos acabados o en distintas fases de la fabricación.

Las pruebas que practique el laboratorio de inspección con los productos acabados serán de ordinario las mismas que se exijan al fabricante, pero el laboratorio debe estar facultado para cambiar esas pruebas y para decidir si procede aplicarlas a todos los lotes o solamente a algunos.

Las pruebas a que se somete con fines de inspección el producto acabado son a veces casi idénticas a las que se practican durante la fabricación, pero en algunos casos no ocurre así, pues las formas comerciales de las sustancias biológicas, por ejemplo, las mezcladas con otros ingredientes activos, con sustancias coadyuvantes o con agentes de conservación, pueden plantear problemas muy complicados al personal que debe llevar a cabo los ensayos necesarios. Es imposible establecer reglas generales sobre los tratamientos que deben aplicarse a las numerosas preparaciones comerciales de una sustancia biológica a fin de poder practicar las pruebas propuestas para esa sustancia. Los laboratorios de inspección tendrán que adoptar los métodos que consideren más adecuados, para lo que acaso convenga, como primera medida, que pidan los datos necesarios al fabricante.

El laboratorio de inspección aplicará en sus propios servicios medidas eficaces para la interpretación objetiva de los resultados de las pruebas y para evaluar el grado de precisión de éstas.

Entre esas medidas de « autoinspección », el laboratorio puede adoptar las siguientes : la inclusión de muestras dobles designadas por un número de clave entre los productos que se hayan de analizar ; el ensayo simultáneo por personas distintas de muestras de un mismo lote ; el calibrado y la verificación sistemática de la precisión de sus instrumentos.

El laboratorio dispondrá de animales sanos de varias especies y de razas perfectamente determinadas, en número suficiente para llevar a cabo todas las pruebas necesarias.

Los animales de ensayo deben ajustarse a normas más estrictas que las usadas en la inspección fabril, pues el número de muestras es limitado y hay que aspirar al máximo de precisión en la práctica de las pruebas. Los animales deben estar en inmejorables condiciones de nutrición y de alojamiento antes de las pruebas y durante ellas. Es indispensable además que los animales de ensayo no padezcan ninguna enfermedad infecciosa y para ello el mejor procedimiento es aplicar con todo rigor las medidas de cuarentena.

3.3 *Licencia de circulación y certificados de inspección*

No se autorizará la circulación de ningún lote de una sustancia biológica que no reúna las condiciones exigidas por el laboratorio nacional de inspección.

En ciertos casos, el funcionario encargado del laboratorio nacional de inspección deberá extender, a petición del laboratorio productor, un certificado que acredite si un determinado lote de la sustancia biológica reúne o no todas las condiciones exigidas.

Por regla general, es imposible y acaso resulte superfluo más adelante que el laboratorio de inspección trate de someter a su licencia o inspección a los fabricantes establecidos fuera de su propia jurisdicción.

La inspección de las sustancias biológicas importadas de otros países ha de fundarse, por consiguiente, en las pruebas que se practiquen con los productos acabados, completadas con las memorias de las pruebas hechas por el fabricante y, en ciertos casos, con un certificado acreditativo de que, a juicio del servicio de inspección del país de origen, el producto reúne las condiciones debidas.

3.4 *Investigación y formación profesional*

Es conveniente organizar los laboratorios de inspección de manera que, además de atender a sus actividades normales de ensayo, pueda encargarse de trabajos de investigación. El

fomento de las investigaciones no sólo permitirá perfeccionar los métodos de examen, sino que ayudará al laboratorio a retener un personal interesado, eficiente y altamente calificado. El número de especialistas que se necesitan en un país para la inspección de sustancias biológicas es demasiado pequeño para justificar la organización de cursos universitarios especiales. Es necesario, por tanto, organizar en los laboratorios de inspección programas eficaces de formación profesional, en los aspectos técnicos y administrativos de las actividades de inspección. Por regla general, el medio de adiestramiento más eficaz es la vigilancia inmediata del personal recién ingresado en el laboratorio durante la realización de su trabajo, completado, si las circunstancias lo permiten, con una instrucción más sistemática.



Anexo 2

NORMAS PARA LA VACUNA ANTIPOLIOMIELITICA (INACTIVADA) (NORMAS PARA SUSTANCIAS BIOLÓGICAS Nº 2)

	Página
Consideraciones Generales	21
Parte A. Normas de fabricación	22
1. Definición	22
2. Normas generales de fabricación.	23
3. Inspección de la producción.	23
4. Envase y recipientes	29
5. Inspección de la vacuna acabada	29
6. Datos exigidos por el laboratorio nacional de inspección	33
7. Muestras exigidas por el laboratorio nacional de inspección	33
8. Rotulación	33
9. Distribución y expedición.	34
10. Almacenamiento y fecha de caducidad	34
Parte B. Normas nacionales de inspección	35
1. Normas generales	35
2. Pruebas que debe practicar el laboratorio nacional de inspección del país donde se haya fabricado la vacuna	35
3. Licencia de circulación y certificado de inspección	35

Consideraciones generales

La recomendación de normas internacionales para la vacuna anti-poliomielítica inactivada presenta dificultades especiales, por la diversidad de los procedimientos de fabricación y ensayo seguidos en los distintos países. Esos procedimientos difieren sobre todo en las cepas de virus empleadas, en los métodos de inactivación y filtración y en los agentes de conservación y coadyuvantes empleados. A pesar de esas diferencias, parece posible establecer ciertas normas esenciales relativas a la fabricación y a la inspección. Las recomendaciones que siguen se fundan en los métodos actualmente usados, y será necesario revisarlas más adelante.

Cada una de las siguientes secciones constituye una recomendación. Las partes de cada sección que van impresas en caracteres grandes se han redactado en forma de normas, de manera que las administraciones sanitarias que lo deseen puedan usarlas como normas nacionales definitivas, sin necesidad de introducir modificaciones. Las partes impresas en caracteres pequeños tratan de extremos sobre los cuales se ha juzgado conveniente hacer observaciones.

Convendría que los países que adopten estas normas como base de sus reglamentos nacionales sobre vacuna antipoliomielítica añadieran una disposición que permitiera modificar detalles de la fabricación, siempre que se haya demostrado a las autoridades nacionales de inspección que tales modificaciones aseguran un grado de inocuidad y de actividad de la vacuna por lo menos igual al estipulado por las normas formuladas a continuación. En esos casos, la decisión adoptada deberá ponerse en conocimiento de la Organización Mundial de la Salud.

Los términos «autoridad nacional de inspección» y «laboratorios nacionales de inspección», tal como se usan en estas normas, se refieren siempre al país en el que se fabrica la vacuna.

Parte A. Normas de fabricación

1. Definición

1.1 Denominación internacional y denominación común

La denominación internacional será «*Vaccinum poliomyelitidis inactivatum*». Como denominación común se usará la equivalente de la internacional en el idioma del país de origen.

La denominación internacional debe reservarse para las vacunas que satisfagan las normas formuladas a continuación.

1.2 Definición descriptiva

El *vaccinum poliomyelitidis inactivatum* consistirá en una suspensión acuosa de virus poliomiélico humano¹ de los tipos 1, 2 y 3, proliferado en cultivos de tejido renal de mono e inactivado por un método adecuado. La preparación debe ajustarse a todas las normas formuladas a continuación.

1.3 Patrones, preparaciones de referencia y unidades internacionales

El Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos ha tomado medidas para establecer un Patrón Internacional para la Vacuna Antipoliomielítica.²

El Comité de Expertos ha establecido Preparaciones Internacionales de Referencia de Sueros Antipoliomielíticos de los Tipos 1, 2 y 3.³

El laboratorio nacional de patrones biológicos de cualquier país puede obtener muestras de estas Preparaciones Internacionales de Referencia del Laboratorio Internacional de Patrones Biológicos, Statens Seruminstitut, Copenhague (Dinamarca).

¹ Comité Internacional de Nomenclatura, Subcomité de Virus (1954) *Int. Bull. bact. Nomencl.* **4**, 109

² *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, **147**, 14; 1959, **172**, 12

³ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, **172**, 15

2. Normas generales de fabricación

Los establecimientos productores de vacuna antipoliomielítica observarán, además de las normas para Sustancias Biológicas N° 1,¹ las siguientes :

La vacuna antipoliomielítica se fabricará en locales independientes provistos de personal e instalaciones exclusivamente destinados a ese fin. La fabricación de la vacuna antipoliomielítica inactivada se efectuarán en locales distintos de aquellos en que se trabaja con virus activos.

La descripción de los métodos que vayan a usarse para la fabricación de vacuna antipoliomielítica se someterá por escrito a la aprobación de las autoridades nacionales de inspección. No podrá introducirse en esos métodos modificación alguna que no haya recibido la aprobación de las citadas autoridades.

Importa mucho que en cada establecimiento productor, la producción y la inspección de la vacuna se encomienden a dos departamentos distintos con atribuciones e independientes.

3. Inspección de la producción

3.1 Inspección de las materias primas

3.1.1 Cepas de virus.

Las cepas de virus poliomiélticos que se usen en la producción deben identificarse por fichas de procedencia, por pruebas de infectividad y por métodos inmunológicos. Podrá utilizarse cualquier cepa siempre que la vacuna obtenida se ajuste a las normas enunciadas en el presente documento. La producción de la vacuna se basará en un sistema de virus de siembra ; el virus poliomiéltico usado para la producción de la vacuna no deberá haber sufrido más de 10 pases, a partir del cultivo de la cepa sobre el que se hayan hecho las primeras pruebas de laboratorio y prácticas.

Se dará preferencia a las cepas de escasa patogenicidad para el mono.

Cualquier nuevo lote sembrado de una cepa de escasa patogenicidad debe someterse a una prueba de determinación de la virulencia antes de usarlo como virus de siembra. Deben depositarse en el laboratorio nacional de inspección muestras de las cepas usadas. Los laboratorios especializados * facilitarán

¹ Vease el Anexo 1.

* Los siguientes laboratorios se han ofrecido a proporcionar muestras de cepas para este fin : Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruselas (Bélgica) ; Statens Serum-institut, Copenhague (Dinamarca) ; Institut Pasteur, París (Francia) ; Paul-Ehrlich-Institut, Francfort del Meno (República Federal de Alemania) ; Laboratorio de Microbiología, Istituto Superiore di Sanità, Roma (Italia) ; The Poliomyelitis Research Foundation Laboratories, Johannesburgo (Unión Sudafricana) ; Statens Bacteriologiska Laboratorium, Estocolmo (Suecia) ; Biological Standards Control Laboratories, Medical Research Council Laboratories, Londres, N.W.3 (Inglaterra) ; Division of Biologics Standards, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (Estados Unidos de América) ; Instituto de Moscú para la Profilaxis de la Poliomiéltis, Moscú (Unión Soviética).

directamente, o por conducto de la Organización Mundial de la Salud, muestras de las cepas actualmente usadas para la fabricación de vacuna antipoliomielítica.

3.1.2 *Monos*

El tejido renal necesario para la producción del virus poliomielítico debe obtenerse de monos de especie apropiada y en buen estado de salud. Los animales sacrificados se examinarán para ver si presentan signos de enfermedad, y se desecharán si tienen alguna lesión patológica que puedan influir en la preparación de la vacuna. Tampoco se usarán los monos que hayan servido para estudios experimentales. A título de excepción podrán emplearse los que se hayan utilizado en pruebas de inocuidad o de actividad con resultados clínicos negativos.

Conviene tener a los monos en grupos tan pequeños como sea posible con objeto de reducir la propagación de infecciones en la colonia.

3.1.3 *Cultivo de tejidos para la producción de virus*

Los virus usados en la preparación de la vacuna se obtendrán por métodos asépticos en cultivos de células renales de mono que no se hayan propagado en serie. El medio de mantenimiento no contendrá proteínas. Si se usa suero animal para cultivar las células, la vacuna acabada no debe contener ese suero en proporción superior a una parte por millón.

Pueden emplearse antibióticos adecuados en las concentraciones mínimas necesarias para asegurar la esterilidad. Si se usa penicilina, su concentración no debe ser superior a 200 unidades internacionales por ml. Pueden añadirse indicadores del pH exentos de efectos tóxicos, como el rojo de fenol a la concentración de 0,002 %.

3.2 *Precauciones que deben tomarse en la producción*

En la fabricación de la vacuna antipoliomielítica se adoptarán las precauciones generales de producción que se indican en la sección 3 de la parte A de las Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección.¹

Teniendo en cuenta el peligro de infección a que están expuestas las personas que trabajan con virus poliomielíticos activos, se recomienda proceder, en caso necesario, a la inmunización de todo el personal con vacuna antipoliomielítica.

La infección de virus B que padecen algunos monos es también peligrosa y con objeto de limitar su propagación se recomienda reducir al mínimo el contacto con los animales y que en la medida de lo posible el personal utilice ropas y otros

¹ Véase el anexo I.

dispositivos de protección. También convendría emprender investigaciones para obtener agentes profilácticos y sueros protectores contra esa infección.

La experiencia demuestra que los monos pueden ser también fuente de infecciones por *Mycobacterium tuberculosis*, por lo que deben adoptarse las medidas de protección adecuadas contra tales procesos.

3.3 *Inspección de las fases monovalentes del producto*

3.3.1 *Tratamiento anterior a la inactivación*

Cada mezcla de virus monovalente deben filtrarse o clarificarse antes de la inactivación.

Se ha comprobado que la filtración o la clarificación de las suspensiones brutas de virus son importantes para obtener una mayor regularidad en el proceso de inactivación. Por lo general, la filtración se hace en serie, o gradualmente mediante filtros de porosidad decreciente. Como último filtro se utiliza con mucha frecuencia una almohadilla Seitz Sl, pero también se obtienen resultados satisfactorios con otras clases de filtros, o por procedimientos de clarificación distintos de la filtración.

3.3.2 *Titulación del virus*

Una vez filtrada o clarificada la suspensión y antes de proceder a la inactivación se tomará una muestra de cada lote monovalente para titular el virus poliomiéltico infeccioso por métodos de cultivo tisular. Esta titulación se hará con diluciones sucesivas de razón 10, usando diez tubos de cada dilución, o según cualquier otro sistema de tubos y diluciones que dé resultados igualmente exactos.

Todos los lotes monovalentes deben tener por lo menos un título de 10^6 DICT₅₀* por ml en un baño de cultivo de tejidos de sensibilidad normal. Este resultado se confirmará mediante una titulación paralela de una preparación de referencia de virus poliomiéltico, cuyo título se haya determinado de antemano utilizando cultivos de tejido renal de mono.

La determinación del título de los lotes de virus antes de la inactivación tiene por objeto principal la elección de los que parezcan capaces de satisfacer, después de inactivados, las normas de actividad.

Mientras no se disponga de preparaciones internacionales de referencia de virus poliomiélticos, convendría que los laboratorios nacionales de inspección facilitaran a los fabricantes preparaciones de virus de referencia.

Aunque en teoría puede ser aconsejable el uso de preparaciones de referencia para cada uno de los tipos de virus, la comprobación de la sensibilidad de los cultivos de tejidos puede hacerse con una preparación de referencia de un sólo tipo. Una

* DICT₅₀ = Dosis infectante sobre cultivo tisular 50 %

preparación de referencia de virus poliomiélfítico del tipo 1 ha resultado satisfactoria para esa comprobación.

3.3.3 Pruebas para la investigación de *M. tuberculosis* y de virus B

Antes de la inactivación se practicará, usando muestras adecuadas de cada lote monovalente, una prueba en el cobayo y en medios de cultivo apropiados, para confirmar la falta de *M. tuberculosis*. Si se demuestra la presencia de esta bacteria, deberá desecharse cualquier producto hecho a partir lotes.

Si se practican pruebas para la investigación de virus B, las muestras de lotes monovalentes se tomarán antes de empezar la inactivación y a ser posible inmediatamente después de la recogida.

3.3.4 Momento en que debe procederse a la inactivación

La inactivación se empezará lo antes posible y en ningún caso después de transcurridas 72 horas desde la filtración o la clarificación.

Es preferible iniciar la inactivación antes de las 24 horas. Como la filtración y la clarificación tienen por objeto la eliminación de las partículas y de otras sustancias perturbadoras que pueden disminuir la eficacia del proceso de inactivación, y como los agregados tienden a aumentar si se deja reposar la suspensión después de filtrarla o clarificarla, se procurará no rebasar el límite de tiempo indicado.

3.3.5 Método de inactivación

El virus de los lotes monovalentes debe inactivarse usando un agente o un método que haya dado resultados constantemente satisfactorios en el establecimiento productor.

La marcha de la inactivación se vigilará determinando a intervalos adecuados el título del virus.

El agente de inactivación actualmente usado en la producción de todas las vacunas es el formaldehído, pero la mayoría de los fabricantes han observado en el proceso de inactivación irregularidades de las que todavía no es posible dar una explicación enteramente satisfactoria. Teniendo en cuenta que la concentración de aldehído libre disminuye en el curso del proceso, se ha recomendado valorar periódicamente dicha sustancia y mantener su concentración al nivel debido mediante reajustes intermitentes.

Otro medio de uso más general para reducir eficazmente la frecuencia de esas irregularidades durante la inactivación es la práctica de una segunda filtración, lo que constituye una norma en algunos países. Con objeto de evitar la pérdida de antígeno durante esa operación, algunos fabricantes completan el tratamiento inicial con el formaldehído con otro método de inactivación.

Es de advertir que la regularidad con que se obtienen lotes satisfactoriamente inactivados es un factor importante para juzgar de la inocuidad de un preparado. Ello no obstante, no pueden formularse normas concretas a ese respecto. En algunos países, la licencia de circulación de la vacuna producida por un fabricante se supedita a la obtención de una serie de cinco lotes trivalentes consecutivos o de 15 lotes monovalentes también consecutivos, compuestos de cinco lotes de cada tipo, en condiciones satisfactorias.

3.3.6 Prueba para verificar la eficacia de la inactivación

Para excluir la presencia en la vacuna de virus poliomiélfítico infeccioso, se verificará la eficacia de la inactivación inoculando en cultivos de tejidos dos muestras de 500 ml, como mínimo de cada lote monovalente, después de la extracción o neutralización del formaldehído. Una de las muestras se tomará al terminar el periodo de inactivación y la otra durante ese periodo, y en el momento correspondiente al tiempo necesario para reducir la actividad del virus por lo menos a la millonésima parte de la inicial. Cada muestra se inoculará en varios frascos de cultivos de tejidos obtenidos como mínimo a partir de dos lotes diferentes de células. No se inocularán en cada frasco más de 100 ml. La dilución de la vacuna en el líquido nutritivo no excederá de 1 : 4, y la superficie de la capa celular será por lo menos de 3 cm² por ml de vacuna. Se usarán como testigos uno o varios frascos de cada lote de cultivo que contengan el mismo medio y que se dejarán sin inocular.

El formaldehído contenido en las muestras de vacuna destinadas a las pruebas en cultivos de tejidos se neutraliza en general con bisulfito en el momento de la toma. De ordinario, las muestras se someten después a una diálisis, operación cuya práctica se recomienda, porque en las pruebas de inocuidad conviene utilizar la vacuna en la máxima concentración posible y de preferencia sin diluir.

Aunque la diálisis no es indispensable para las pruebas en cultivos de tejidos, se ha observado con frecuencia que el producto sin dializar es tóxico para las células incluso a la dilución 1 : 4. La prueba se repetirá con material dializado si se observa una degeneración inespecífica de las células, o una disminución de la sensibilidad del cultivo de tejidos.

Los frascos de los cultivos de tejidos primarios se tendrán en observación por lo menos durante dos semanas. Con el contenido de cada uno de esos frascos se harán como mínimo dos subcultivos, uno al terminar el periodo de observación y otro una semana antes, que se tendrán también en observación por lo menos una semana.

Si en cualquiera de los cultivos se observan efectos citopatógenos, no se tomará ninguna decisión respecto al empleo ulterior de la mezcla hasta que se haya determinado la causa.

Si se aísla virus poliomiélfítico activo, el lote monovalente no se utilizará a menos que las autoridades nacionales de inspección permitan un nuevo tratamiento. Si después del nuevo tratamiento no se ha conseguido una inactivación satisfactoria, no se usará el lote para la preparación de vacuna. Si, por el contrario, el nuevo tratamiento produce una inactivación adecuada, el lote podrá utilizarse a condición de que lo autorice el Laboratorio Nacional de Inspección.

El aislamiento de virus poliomiélfítico activo en un lote monovalente debe considerarse en cualquier caso como una solución de continuidad en la constancia de los resultados.

Si se encuentran virus distintos del poliomiélfítico, se desechará el lote monovalente en ensayo a no ser que se compruebe que los virus no proceden de él.

La investigación de virus activo residual en una vacuna y la determinación del título de virus infectivo en las suspensiones no tratadas son problemas distintos. Se ha demostrado que el virus poliomiélfítico sometido a la acción del formaldehído sin llegar a inactivarse tarda mucho más que el virus no tratado en provocar alteraciones citopatógenas. En las pruebas para la investigación de virus activo residual conviene, por tanto, prolongar la observación de los cultivos de tejidos todo el tiempo que sea técnicamente factible. En esas condiciones, la obtención de un sistema de cultivo de tejidos satisfactorio para este fin depende no sólo de la sensibilidad de las células usadas para la preparación de los cultivos, sino también del líquido nutritivo.

Las células renales de algunas especies de monos, por ejemplo, las de los géneros *Macaca*, *Cercopithecus* y *Papio* son más sensibles que otras. Si se usan otros sistemas de cultivo de tejidos, debe comprobarse que su sensibilidad es por lo menos igual a la de las células renales de las especies indicadas.

Se recomienda determinar la sensibilidad de cada lote de cultivo de tejidos utilizándolo para titular una preparación de referencia de virus poliomiélfítico (véase la Sección 3.3.2) y proceder al final de la prueba de inactivación a una verificación de los cultivos usados mediante una pequeña dosis del virus de referencia.

Los cultivos pueden mantenerse en buen estado durante largo tiempo mediante la adición al medio de suero, preparaciones de albúmina, líquido amniótico, etc. No se empleará ninguno de esos aditivos sin comprobar de antemano que están exentos de sustancias inhibitoras del virus y de anticuerpos.

El mantenimiento de los cultivos en buen estado puede obligar a renovar con frecuencia el medio de cultivo. Conviene advertir, sin embargo, que la renovación prematura del líquido puede tener por resultado la extracción de virus no adsorbido y menoscabar la validez de la prueba.

3.4 *Inspección del preparado trivalente a granel*

3.4.1 *Prueba en cultivo de tejidos para investigar la presencia de virus poliomiéltico infeccioso*

Se practicará por el procedimiento indicado en la sección 3.3.6 un ensayo riguroso con una muestra de 1500 ml como mínimo para comprobar la falta de virus infeccioso. Si en esa prueba se aísla virus poliomiéltico activo, se desechará el preparado trivalente.

3.4.2 *Prueba de inocuidad en el mono*

Véase la sección 5.3.1

3.4.3 *Agentes conservadores y otros aditivos*

Los agentes conservadores y las demás sustancias que se añadan a la vacuna o se combinen con ella no deben ejercer ningún efecto perjudicial sobre el preparado.

4. **Envase y recipientes**

Además de las normas relativas al envasado y a los envases que se indican en la sección 4 de la parte A de las Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección,¹ se observarán las siguientes :

Las operaciones de envase se harán en locales totalmente separados de los destinados al trabajo con el virus activo. Los envases serán de vidrio incoloro y completamente transparente para que pueda apreciarse cualquier cambio de aspecto de la vacuna.

Pueden usarse envases de una o de varias dosis.

5. **Inspección de la vacuna acabada**

5.1 *Prueba de identificación*

Se practicará una prueba específica de identificación usando muestras de vacuna tomadas de los envases definitivos.

Puede usarse como prueba de identificación la de actividad que se describe en la sección 5.4.

5.2 *Pruebas de esterilidad*

La vacuna definitivamente envasada debe ser estéril.

En cada tanda de envase de cada lote de vacuna se tomarán al azar de los envases definitivos muestras para la prueba de esterilidad, procurando

¹ Véase el anexo 1.

que sean representativas de todas las fases del envase del producto a granel. El número de muestras ensayadas por cada tanda de envasado de un mismo lote no deberá ser inferior a diez. Si el volumen del envase definitivo no excede de 1,0 ml, se cultivará todo su contenido; en otro caso, la cantidad cultivada no será inferior a 1,0 ml.

Las muestras de vacuna se inocularán en medio líquido con tioglicolato o cualquier otro medio igualmente eficaz para la proliferación de aerobios y anaerobios y en medio de Sabouraud o cualquier otro medio igualmente eficaz para la proliferación de levaduras y hongos. La dilución final de la vacuna en el medio destinado a determinar la esterilidad debe ser suficiente para que el preservador no siga ejerciendo actividad bacteriostática. Los medios inoculados para identificar bacterias se incubarán a 30°-32°C durante una semana como mínimo o se dividirán en dos porciones, una de las cuales se incubará a 35°-37°C y la otra a 15°-22°C durante una semana como mínimo. Los medios inoculados para la identificación de levaduras y hongos se incubarán a 20-25°C durante dos semanas por lo menos. Podrán usarse otros métodos a condición de que se sepa con certeza que dan resultados iguales o mejores que el indicado.

Los requisitos generales para la esterilidad de los preparados biológicos se formularán como Requisitos para Sustancias Biológicas N^o 6.

5.3 Pruebas de inocuidad

5.3.1 Prueba de inocuidad en el mono

Se comprobará falta de virus poliomiéltico infeccioso en la vacuna definitivamente envasada, o en el producto trivalente a granel practicando una prueba en monos del género *Macaca* o de otro de igual susceptibilidad.

Es muy importante que la prueba de inocuidad en el mono se haga con vacuna tomada de los envases definitivos, pero en circunstancias especiales puede no ser aconsejable usar el contenido de esos envases. Así sucede, por ejemplo, cuando se añaden a la vacuna sustancias coadyuvantes, pues estos pueden reducir la infectividad del virus activo presente y disminuir así la precisión de la prueba. En esos casos, se puede admitir que la prueba de inocuidad en el mono se practique con producto trivalente sin envasar, siempre que se tomen precauciones especiales para evitar la contaminación de la vacuna con virus poliomiéltico durante las últimas fases de la fabricación.

Se emplearán como mínimo 20 monos que estén manifiestamente en buen estado de salud.

Antes de practicar la prueba de inocuidad, conviene preparar a los monos durante cuatro semanas por lo menos.

Una muestra de suero tomada de cada animal antes de la inoculación, diluida a 1 : 4 y ensayada con una dosis no superior a 1000 DICT₅₀ de virus, no debe contener anticuerpos neutralizantes de ninguno de los tres tipos de virus poliomiélfítico.

La inoculación de la vacuna se hará con el animal en estado de anestesia profunda por las vías intracerebral, intrarraquídea e intramuscular sucesivamente. La inyección intracerebral se hará a razón de 0,5 ml en la región talámica de cada hemisferio, la intrarraquídea con 0,5 ml en la dilatación lumbar de la médula, repartidos si se quiere en varios puntos, y la intramuscular con 1,0 ml en la extremidad posterior derecha. En el momento de inocular la vacuna, se administrarán al animal dos inyecciones intramusculares; una de 200 mg de acetato de cortisona y otra de 300 000 unidades de penicilina procaína. El acetato de cortisona puede administrarse en dosis fraccionarias, en el curso de varios días, comenzando dos días antes de la inoculación de la vacuna. Los monos se tendrán en observación por espacio de 17 a 19 días y se anotará cualquier síntoma que pudiera ser indicio de infección poliomiélfítica. Si el 60 % como mínimo de los animales sobrevive a las 48 horas siguientes a la inoculación, los animales muertos en ese tiempo pueden sustituirse por otros en igual número. Cuando la proporción de animales que sigan vivos las primeras 48 horas sea inferior al 60 %, o la de los que sobrevivan a todo el periodo de observación sin pérdida notable de peso no llegue a ser del 80 %, se repetirá la prueba.

Al terminar el periodo de observación, se tomarán muestras de tejido nervioso para las pruebas de aislamiento e identificación del virus. Se examinarán cortes histológicos de las dos dilataciones de la médula espinal.

Si el resultado del examen histopatológico ofrece dudas, será necesario a) examinar muestras de cortes practicados en varias regiones del cerebro y de la médula espinal y b) hacer pruebas de aislamiento del virus en el tejido nervioso previamente tomado del animal.

El 80 % como mínimo de los animales deben presentar señales de traumatismo intrarraquídeo debido a la inyección.

La prueba de inocuidad en el mono sólo se considerará negativa cuando el examen histológico y las demás observaciones demuestren sin lugar a dudas que no ha habido infección poliomiélfítica. En caso contrario, se desechará la vacuna.

Se ha puesto en duda la necesidad de completar la prueba de inocuidad en cultivo de tejidos con otra practicada en el mono, pero la experiencia adquirida parece indicar que esta última prueba es una parte indispensable de los procedimientos de determinación de la inocuidad, pues en los casos de infecciones achacadas a la vacunación el aislamiento del virus a partir de la vacuna se ha hecho en el mono y ha resultado muy difícil en los cultivos de tejidos.

En los laboratorios que usan cepas de virus poliomiélfíticos de escasa patogenicidad para la obtención de la vacuna se ha

observado que la especie *Macaca irus* es algo más susceptible que la *Macaca mulatta* a esas cepas.

5.3.2 Prueba de atoxicidad

La atoxicidad de la vacuna definitivamente envasada se comprobará mediante pruebas en el cobayo y en el ratón.

5.4 Pruebas de actividad

El producto final se someterá a una prueba de actividad aprobada por las autoridades nacionales de inspección.

Mientras no se disponga de una vacuna internacional de referencia estable, y no se pueda fijar un grado aceptable de actividad mediante la oportuna recomendación internacional, la acción inmunógena del producto final se investigará por un método basado en la inoculación de la vacuna a varios grupos de animales y en la determinación del título de anticuerpos resultante. El método que se use permitirá expresar numéricamente el efecto inmunizante de la vacuna contra cada uno de los tres tipos de virus poliomiélfítico.

Los valores obtenidos no deben ser sensiblemente inferiores a los promedios obtenidos por el mismo método con una vacuna de la que se haya comprobado que después de dos inoculaciones da lugar a formación de anticuerpos en una gran proporción de niños desprovistos inicialmente de anticuerpos apreciables.

Se han reunido ya numerosos datos sobre diferentes pruebas de antigenicidad efectuadas en monos, cobayos, pollos y ratas. Algunos de esos datos indican que hay una correlación entre los resultados obtenidos en los animales de laboratorio y la aptitud de la vacuna para provocar la formación de anticuerpos en el hombre.

Los dos métodos de uso más frecuente son: a) una prueba de actividad en el mono, consistente en tres inoculaciones de vacuna sin diluir a doce o más animales y en la determinación de los títulos de anticuerpos resultantes, por comparación con sueros de referencia conocidos; b) Una prueba de actividad en el cobayo consistente en dos inoculaciones de tres diluciones distintas de la vacuna a grupos de diez o más animales y en la determinación de la proporción de esos animales en los que la concentración de anticuerpos excede de un valor determinado.

En varios laboratorios se están practicando y estudiando pruebas análogas en el cobayo y en el pollo así como pruebas *in vitro* para investigar la presencia de antígeno.

No es posible por ahora proceder a una comparación satisfactoria de los criterios de aceptabilidad de la vacuna fundándose en los resultados de las distintas pruebas disponibles. Para proceder a esa comparación, es indispensable cotejar los valores de actividad relativa obtenidos por diferentes métodos, utilizando esquemas experimentales en los que intervenga un mismo antígeno de referencia estable, y los resultados prácticos de la vacunación.

5.5 *Contenido total de nitrógeno*

El contenido total de nitrógeno de la vacuna antipoliomielítica no debe exceder de 0,35 mg por ml.

6. **Datos exigidos por el laboratorio nacional de inspección**

La memoria relativa a la preparación de cada lote de vacuna y a los resultados de todas las pruebas prescritas se someterá, con el detalle requerido por el laboratorio nacional de inspección, a la aprobación de este organismo.

Se comunicarán además al laboratorio nacional de inspección los resultados de las pruebas de comprobación de falta virus en todos los lotes preparados, aun cuando no se hayan incorporado a ninguna vacuna acabada.

7. **Muestras exigidas por el laboratorio nacional de inspección**

Se enviarán al laboratorio nacional de inspección muestras de cada lote de vacuna en cantidad suficiente para que puedan repetirse todas las pruebas. En una fase de la producción tan avanzada como sea posible, pero antes del envasado y de la adición de agentes de conservación, de coadyuvantes u otras sustancias, se tomará una muestra de la vacuna a granel, neutralizando en cada muestra el formaldehído con bisulfito en el momento de la toma. Una vez definitivamente envasada la vacuna, se tomará otra muestra que sea representativa de cada tanda de envasado. Todas las muestras se conservarán a una temperatura comprendida entre 0° y 10°C.

En el caso de la vacuna antipoliomielítica las muestras tienen que ser bastante voluminosas: para las pruebas de actividad y de atoxicidad se necesitan 2500 ml de vacuna trivalente a granel y 200 ml tomados de los envases definitivos de cada lote.

Para el caso de que por accidente, contaminación, dificultad técnica u otro motivo fuera necesario repetir alguna de las pruebas prescritas, los fabricantes deberán conservar muestras adicionales.

8. **Rotulación**

En la etiqueta de cada envase deben constar los siguientes datos:

nombre y dirección del fabricante;

denominación internacional, denominación común o ambas;

número del lote y número bajo el cual se autoriza la circulación del mismo;

fecha de caducidad del preparado.

En esta etiqueta, o en la de las cajas que contienen uno o más envases, o en el folleto que acompañe a éstos, se harán constar además los siguientes extremos :

- naturaleza del preparado y método usado para matar el virus ;
- naturaleza y cantidad del agente de conservación, si lo hubiera, y cantidad de formaldehído que haya quedado sin neutralizar ;
- naturaleza y cantidades de los antibióticos usados en la preparación de la vacuna ;
- instrucciones para que la vacuna se almacene siempre a una temperatura comprendida entre 0° y 10°C, pero que durante la distribución normal puede permitirse un periodo total no superior a siete días de exposición a la temperatura ambiente ;
- dosis individual recomendada e instrucciones para la administración.

Las anteriores normas para la rotulación se han proyectado en espera de la formulación de las normas generales sobre rotulación aplicables a todos los productos biológicos.

9. Distribución y expedición

Se aplicará la sección 9 de la parte A de los Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección.

10. Almacenamiento y fecha de caducidad

10.1 Condiciones de almacenamiento

La vacuna antipoliomielítica se almacenará constantemente a una temperatura comprendida entre 0° y 10°C.

10.2 Fecha de caducidad

La fecha de caducidad de la vacuna no será posterior en más de 12 meses a aquella en que se haya practicado la última prueba de actividad con resultado satisfactorio, entendiéndose por fecha de la prueba de actividad la de inoculación de la vacuna a los animales de experimentación. La fecha de caducidad no podrá tampoco ser posterior en más de seis meses a la de expedición de la vacuna por el fabricante ni, cuando así lo acuerden las autoridades nacionales de inspección, en más de doce meses a la fecha en que se haya autorizado la circulación de la vacuna.

Parte B. Normas Nacionales de Inspección

1. Normas generales

Se observarán las normas generales para laboratorios de inspección establecidas en la parte B¹ de las Normas para Sustancias Biológicas N° 1.

2. Pruebas que debe practicar el laboratorio nacional de inspección del país donde se haya fabricado la vacuna

Se aplicará la sección 3.2 de la parte B de las Normas para Sustancias Biológicas N° 1.

3. Licencia de circulación y certificado de inspección

No se autorizará la circulación de ningún lote de vacuna antipolio-mielítica que no cumpla las normas establecidas en la parte A.

El funcionario competente del laboratorio nacional de inspección extenderá a petición del laboratorio productor un certificado que acredite si el lote de vacuna ha sido preparado con arreglo a todas las normas nacionales y a las establecidas en el presente documento. En ese certificado constarán además la fecha de la última prueba de actividad efectuada con resultado satisfactorio, el número del lote, el de la licencia de circulación y el que figure en las etiquetas de los envases. Se acompañará al certificado copia de la licencia oficial de circulación expedida por el servicio nacional competente.

La finalidad del certificado es facilitar el intercambio de sustancias biológicas entre los países.

Véase el anexo 1.

