

*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 180

# **NORMAS PARA LAS SUSTANCIAS BIOLOGICAS**

## **5. Normas para la Vacuna Antivariólica**

### **Informe de un Grupo de Estudio**

	Página
1. Consideraciones generales . . . . .	3
2. Problemas que deben ser objeto de nuevas investigaciones . . . . .	4
Anexo. Normas para la vacuna antivariólica (Normas para las Sustancias Biológicas Nº 5) . . . . .	9

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

PALAIS DES NATIONS

GINEBRA

1959

**GRUPO DE ESTUDIO  
SOBRE NORMAS PARA LA VACUNA ANTIVARIOLICA**

*Ginebra, 3-8 de noviembre de 1958*

*Miembros :*

- Dr. J. Desbordes, Directeur du Contrôle bactériologique, Laboratoire national de la Santé publique, Ministère de la Santé publique et de la Population, Paris, Francia
- Dr. D. G. Evans, Director, Department of Biological Standards, National Institute for Medical Research, Londres, Inglaterra (*Presidente*)
- Dr. R. Gispén, Director, Instituto Nacional de Salud Pública, Utrecht, Países Bajos
- Dr. L. Greenberg, Chief, Biologics Control Laboratories, Laboratory of Hygiene, Department of National Health and Welfare, Ottawa, Canadá
- Dr. E. Krag Andersen, Statens Seruminstitut, Copenhagen, Dinamarca
- Dr. U. Krech, Jefe del Departamento de Virología, Instituto de Sueros y Vacunas, Berna, Suiza (*Relator*)
- Dr. A. Lafontaine, Director, Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruselas, Bélgica
- Dr. R. Muckenfuss, Technical Director, Naval Medical Research Institute, Bethesda, Md., Estados Unidos de América
- Dr. C. Puranananda, Director, Queen Saovabha Memorial Institute, Bangkok, Tailandia
- Dr. G. Renoux, Director del Instituto Pasteur de Túnez, Túnez
- Dr. R. Sanjiva Rao, Assistant Director, Virus Research Centre, Poona, India (*Vicepresidente*)

*Secretaría :*

- Dr. B. K. Bhattacharya, Médico, Servicio de Patrones Biológicos, OMS
- Dr. N. K. Jerne, Jefe del Servicio de Patrones Biológicos, OMS (*Secretario*)
- Dr. M. Kaplan, Jefe del Servicio de Veterinaria de Salud Pública, OMS (en representación, además, de la Organización para la Agricultura y la Alimentación)
- Dr. S. S. Marennikova, Instituto Metchnikov, Moscú, Unión Soviética (*Consultor*)
- Dr. D. McClean, The Lister Institute of Preventive Medicine, Elstree, Herts., Inglaterra (*Consultor*)
- Dr. A. M.-M. Payne, Jefe del Servicio de Enfermedades Endemoepidémicas, OMS
- Dr. A. C. Sáenz, Médico, Servicio de Enfermedades Endemoepidémicas, OMS

## **NORMAS PARA LAS SUSTANCIAS BIOLOGICAS**

### **5. Normas para la Vacuna Antivariólica**

#### **Informe de un Grupo de Estudio**

El Grupo de Estudio sobre Normas para la Vacuna Antivariólica se reunió en Ginebra del 3 al 8 de noviembre de 1958.

El Dr. M. G. Candau, Director General de la Organización Mundial de la Salud, declaró abierta la reunión y dio la bienvenida a los miembros del Grupo.

El Director General indicó que la reunión del Grupo de Estudio se había convocado para preparar una recomendación internacional sobre las condiciones que debe reunir una preparación de vacuna antivariólica para que se la pueda considerar como un agente profiláctico seguro, inocuo y eficaz. Una recomendación internacional de esa clase facilitaría el intercambio de vacunas entre diferentes países y serviría de orientación a los encargados de la preparación de vacuna antivariólica en las dificultades que pudieran tener para elegir los métodos de ensayo y verificación más adecuados.

Después de aludir a las nuevas técnicas que se están adoptando como consecuencia de los últimos adelantos de la biología, el Director General encareció la gran importancia práctica que tienen los métodos de obtención de vacuna antivariólica en embrión de pollo y en cultivos de tejidos, y los de preparación de vacunas desecadas, e hizo constar que en sus deliberaciones el Grupo debería tener en cuenta, además de esos métodos modernos, los que vienen usándose desde hace varias generaciones.

### **1. CONSIDERACIONES GENERALES**

El Grupo de Estudio ha tomado nota del informe del Grupo de Estudio sobre Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección y Normas para la Vacuna Antipoliomielítica<sup>1</sup> y convino en que las normas para la vacuna antivariólica podrían enunciarse siguiendo un orden parecido.

En el curso de sus debates sobre las normas susceptibles de recomendación internacional, el Grupo de Estudio ha examinado el anteproyecto

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178

de pliego de normas para la vacuna antivariólica<sup>1</sup> preparado por la Secretaría y las secciones de los informes décimo,<sup>2</sup> undécimo<sup>3</sup> y duodécimo<sup>4</sup> del Comité de Expertos en Patrones Biológicos que tratan de la normalización de la vacuna antivariólica. El Grupo de Estudio revisó los reglamentos y las normas en vigor en varios países acerca de la fabricación y la inspección de la vacuna,<sup>5</sup> varios documentos de trabajo y comunicaciones inéditas presentadas por miembros del Grupo.<sup>6</sup>

Después de un debate general sobre la vacunación contra la viruela y sobre los métodos de preparación e inspección de vacuna antivariólica seguidos en varios países, el Grupo de Estudio ha llegado a la conclusión de que las vacunas preparadas con arreglo a los métodos tradicionales, es decir, en la piel de animales vivos, han resultado de gran eficacia para eliminar la viruela en extensas regiones del mundo y que, en consecuencia, no conviene sustituirlas por preparaciones nuevas mientras no haya pruebas suficientes de que éstas tienen, por lo menos, el mismo poder profiláctico e idéntica inocuidad.

Fundándose en los documentos mencionados y teniendo presentes las expuestas consideraciones, el Grupo de Estudio ha procedido a redactar el proyecto de pliego de Normas para la Vacuna Antivariólica, cuyo texto se reproduce en el anexo al presente informe.

## 2. PROBLEMAS QUE DEBEN SER OBJETO DE NUEVAS INVESTIGACIONES

### 2.1 Preparaciones internacionales y nacionales de referencia de vacuna antivariólica

El Grupo de Estudio ha tomado nota de que el Comité de Expertos en Patrones Biológicos había organizado un estudio comparativo internacional de diferentes preparaciones de vacuna antivariólica desecada, con objeto de establecer una preparación internacional de referencia.<sup>2, 3, 4</sup> El Grupo ha convenido en que la preparación internacional de referencia que en definitiva se adoptara tendría que ser de reconocida eficacia para

<sup>1</sup> Secretaría de la OMS, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/65

<sup>2</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1957, 127, 7

<sup>3</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, 147, 13

<sup>4</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 172, 13

<sup>5</sup> Desbordes, J., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/61 (*Examen des normes actuellement en vigueur dans 19 pays*); Inglaterra y Gales: Therapeutic Substances Regulations, 1952, Third Schedule, Part IV, and Therapeutic Substances Amendment Regulations, 1957, Regulation 8; Gispén, R., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/64 (Normas vigentes en los Países Bajos); Japón, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (1957) *Minimum requirements of biologic products, smallpox vaccine*, pág. 177;

proteger al hombre contra la viruela sin ocasionar complicaciones post-vacunales. Como sería imposible distribuir muestras de ese preparado en cantidad suficiente para que se las utilice como preparaciones nacionales de referencia en la verificación de los distintos lotes de vacuna, los servicios de inspección de los países deberán seguir preparando sus vacunas nacionales de referencia para los ensayos comparativos sobre la producción de vacunas. En la obtención de esos preparados nacionales de referencia podrían utilizarse como virus de siembra los de la preparación internacional. Los que se obtengan a partir de otras cepas tendrán que ser de eficacia comprobada en el hombre. La titulación y la comparación de todas las preparaciones nacionales de referencia se harán con relación a la preparación internacional.

## 2.2 Patrón internacional de globulina gamma antivacuna

En opinión del Grupo de Estudio urge disponer de una preparación internacional de referencia de globulina gamma antivacuna y sería muy conveniente que la Organización Mundial de la Salud organizara las investigaciones previas necesarias para establecer ese patrón.

En esas investigaciones se deberán realizar ensayos prácticos sobre la utilidad de la globulina gamma antivacuna, preparada con sueros humanos o de animales, en la profilaxis y el tratamiento de la viruela y de las complicaciones postvacunales. Para la primera clase de ensayos se escogerán zonas donde la viruela sea todavía endémica. Además, deberán emprenderse estudios en colaboración entre varios laboratorios sobre la utilidad de los distintos métodos de titulación de los anticuerpos específicos contra los virus de la vacuna y de la viruela y sobre su posible generalización. Esos estudios de laboratorio son indispensables para la recta interpretación de los resultados de los ensayos clínicos.

## 2.3 Cepas de virus

El Grupo de Estudio ha tomado nota de que el número de cepas de virus de vacuna empleadas por diferentes laboratorios en la producción de vacuna antivariólica es muy elevado y de que apenas hay datos disponibles sobre la eficacia de cada una de esas cepas.

---

Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/60; United States, Department of Health, Education and Welfare (1951) *Minimum requirements: smallpox vaccine* tercera revisión (También otras propuestas, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/69)

<sup>6</sup> Fisek, N. H., documentos de trabajo inéditos WHO/BS/381 y WHO/BS/IR/67; Krag Andersen, E., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/66; Lafontaine, A., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/19; Marrenikova, S. S., Ponomaryova, N. A., Ogorodnikova, Z. I. y Durasova, M. N., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/63, Rev. 1; Soloviev, M. D. y Mastjukov, U. N., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/68; Wang, S. P. y Grayston, J. T., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/62; Secretaría de la OMS, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/27

Al enunciar las condiciones que deben reunir los virus de siembra destinados a la preparación de vacunas, el Grupo de Estudio se ha visto en la imposibilidad de recomendar el empleo de determinadas cepas o de dar una descripción adecuada del criterio que debe seguirse para su elección. En consecuencia, el Grupo ha llegado a la conclusión de que era necesario emprender un estudio sobre las propiedades de las distintas cepas de virus de vacuna, con objeto de escoger las que reúnan condiciones satisfactorias. Para que ese estudio de alcance limitado permita obtener la mayor cantidad de datos útiles, convendría que las cepas seleccionadas para la comparación fueran pocas y presentaran caracteres estables y fácilmente diferenciables. Debería investigarse la protección que esas cepas confieren al hombre y a los animales de laboratorio, utilizando distintas vías de administración con objeto de establecer una correlación entre los resultados de las pruebas de laboratorio y la eficacia práctica de las inoculaciones. También sería conveniente determinar la virulencia de las cepas y sus propiedades en lo que se refiere a las reacciones vacunales, comparando las respuestas suscitadas en los animales de laboratorio y los resultados de las observaciones clínicas. Entre otras investigaciones de laboratorio deben emprenderse estudios sobre la actividad inmunógena relativa de las diferentes cepas del virus de la vacuna en pruebas de protección activa y pasiva practicadas mediante técnicas distintas con inclusión de la inoculación intracerebral del virus neurovacunal o varioloso a conejos o ratones inmunizados.

En el programa de investigaciones también podría incluirse un estudio acerca de la estructura antigénica de los diferentes virus del grupo.

#### **2.4 Tejidos adecuados para la preparación de vacuna antivariólica**

Aun reconociendo que sería necesario seguir durante mucho tiempo reuniendo datos sobre la eficacia de las vacunas antivariólicas obtenidas en embriones de pollo y en cultivos de tejidos *in vitro*, el Grupo de Estudio opina que en las normas que se adopten no debiera excluirse el uso de dichas vacunas y recomienda que se hagan ensayos prácticos en las zonas donde la viruela es endémica con objeto de ampliar los datos disponibles sobre la utilidad profiláctica de esos preparados.

El Grupo recomienda asimismo que se emprendan estudios comparativos sobre las ventajas y los peligros que presenta el empleo de tejidos de origen ectodérmico y no ectodérmico para los cultivos primarios y para las resiembras en serie.

#### **2.5 Pruebas de actividad**

Los resultados de las pruebas de escarificación en el conejo y de las de actividad en el embrión de pollo son los únicos que, a juicio del Grupo

de Estudio, han sido objeto de estudios adecuados de comparación con los porcentajes de éxitos obtenidos en la vacunación humana. En consecuencia el Grupo ha decidido no incluir de momento ningún otro método en las normas y, aun reconociendo que la inoculación intracutánea en el conejo ha dado resultados excelentes en varios laboratorios, hace constar que en el caso de ciertas cepas de virus de la vacuna usadas en otros centros, la eficacia de esa técnica era discutible, por lo que recomienda que su empleo se considere facultativo y adicional al de uno de los métodos de uso obligatorio, con objeto de obtener nuevos datos sobre su utilidad general.

También es necesario seguir investigando la posibilidad de emplear cultivos de tejidos para determinar la actividad de la vacuna antivariólica.

## **2.6 Pruebas de termoestabilidad de la vacuna antivariólica**

El Grupo de Estudio ha tomado nota del extenso programa de estudios sobre la estabilidad de las preparaciones deshidratadas y líquidas de vacuna antivariólica emprendido por la OMS<sup>1</sup> y ha examinado otros datos sobre la estabilidad de las vacunas líquidas. Sin embargo, el grupo encarece la necesidad de obtener nuevas informaciones y recomienda que se emprendan estudios sistemáticos de laboratorio sobre los coeficientes de deterioración de las vacunas líquidas y deshidratadas conservadas a diferentes temperaturas. Los resultados de esos estudios permitirán establecer una prueba de termoestabilidad más útil que la actualmente recomendada por el Grupo de Estudio, y formular recomendaciones más fundadas sobre las condiciones de almacenamiento y de transporte y sobre las normas relativas a la fecha de caducidad.

## **2.7 Complicaciones postvacunales**

El Grupo de Estudio recomienda que se establezca un sistema de declaración internacional con objeto de obtener información completa sobre las complicaciones postvacunales que se registren en los distintos países y de aumentar los datos de base disponibles para futuros estudios experimentales y epidemiológicos sobre la prevención de esas complicaciones.

---

<sup>1</sup> *Bull. Org. mond. Santé — Bull. Wld Hlth Org.*, 1957, **16**, 63 y 1958, **19**, 123; Secretaría de la OMS, documentos de trabajo inéditos WHO/Smallpox/3, WHO/Smallpox/4, WHO/Smallpox/6 y WHO/Smallpox/7



## Anexo

### NORMAS PARA LA VACUNA ANTIVARIOLICA (NORMAS PARA LAS SUSTANCIAS BIOLÓGICAS Nº 5)

	Página
Consideraciones generales . . . . .	9
Parte A. Normas de fabricación	
1. Definiciones . . . . .	10
2. Normas generales de fabricación . . . . .	12
3. Inspección de las operaciones de fabricación . . . . .	12
4. Envase y recipientes . . . . .	20
5. Inspección de la vacuna acabada . . . . .	21
6. Registros . . . . .	23
7. Muestras . . . . .	23
8. Rotulación . . . . .	24
9. Distribución y expedición . . . . .	24
10. Almacenamiento y fecha de caducidad . . . . .	25
Parte B. Normas para la inspección nacional	
1. Normas generales . . . . .	25
2. Licencia de circulación y certificado de inspección . . . . .	25
3. Eficacia e inocuidad de la vacuna en la práctica . . . . .	26

#### Consideraciones generales

Resulta difícil recomendar normas internacionales para la vacuna antivariólica por la diversidad de los métodos de preparación y de ensayo seguidos en los países. Las cepas de virus vacunal, los agentes conservadores, la forma de la vacuna (líquida o desecada), las pruebas de actividad y los tejidos usados para cultivar los virus cambian, en efecto, de unos países a otros.

Las vacunas antivariólicas preparadas en la piel de animales vivos vienen usándose en el mundo entero desde hace muchos años, y su eficacia profiláctica está demostrada por innumerables observaciones. En fecha más reciente han empezado a utilizarse vacunas preparadas por cultivo del virus en embrión de pollo, que presentan ciertas ventajas evidentes, pero son muy escasos los datos disponibles sobre su eficacia y su inocuidad en la práctica y sobre la duración de la inmunidad que confieren. Los perfeccionamientos introducidos en las técnicas del cultivo en tejidos han dado lugar a un interés cada vez mayor por el empleo de esos cultivos para la obtención de vacuna antivariólica y sería muy conveniente intensificar las investigaciones sobre las vacunas preparadas por ese procedi-

miento con objeto de recoger datos relativos a un periodo de tiempo suficientemente largo que permiten proceder a una evaluación definitiva de su eficacia y de su inocuidad.

No obstante las consideraciones expuestas, parece posible formular ciertas normas esenciales relativas a la preparación y a la inspección de vacunas antivariólicas. Las recomendaciones que siguen se basan en los métodos actualmente empleados, por lo que será necesario someterlas a revisiones ulteriores.

Cada una de las secciones siguientes constituye una recomendación. Las partes de cada sección que van impresas en caracteres de mayor tamaño se han redactado 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 antivariólica añadieran una disposición que permitiera modificar las normas de preparación siempre que, a juicio de las autoridades nacionales de inspección, la vacuna obtenida por los nuevos procedimientos no fuera inferior desde el punto de vista de la actividad y de la inocuidad a la preparada con arreglo a las normas que se formulan a continuación. En esos casos, la decisión adoptada debe ponerse en conocimiento de la Organización Mundial de la Salud.

Los términos «servicio nacional de inspección» y «laboratorios nacionales de inspección» se referirán siempre al país en que se fabrica la vacuna.

## Parte A. Normas de fabricación

### 1. Definiciones

#### 1.1 *Denominación internacional y denominación común*

La denominación internacional será *vaccinum variolae*. 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 reúnan las condiciones que se formulan más adelante.

#### 1.2 *Definición descriptiva*

Se entiende por *vaccinum variolae* una preparación líquida o desecada de virus vacunal, cultivado en la piel de animales vivos, en membranas de embrión de pollo o en cultivos *in vitro* de tejidos apropiados.

La preparación deberá ajustarse a las normas que se formulan más adelante.

### 1.3 *Patrones o preparaciones internacionales de referencia y unidades internacionales*

No habiéndose adoptado todavía patrones internacionales o preparaciones internacionales de referencia de virus vacunal, no se dispone de un término de comparación para establecer normas de actividad.

El Comité de Expertos en Patrones Biológicos ha emprendido un estudio internacional en colaboración, con objeto de establecer una preparación internacional de referencia de virus vacunal desecado. Con motivo de ese estudio se están comparando por distintos métodos de ensayo varias vacunas antivariólicas liofilizadas, entre ellas la propuesta como preparación internacional de referencia.<sup>1</sup>

Una vez adoptada, la preparación internacional de referencia de vacuna antivariólica se depositará en el Laboratorio Central de Patrones Biológicos del Statens Seruminstitut de Copenhague (Dinamarca), que enviará muestras gratuitamente a los laboratorios nacionales de patrones biológicos de los países que las soliciten. La preparación internacional de referencia se empleará para contrastar las preparaciones nacionales de referencia, operación que podrá efectuarse usando como virus de siembra el de la preparación internacional.

### 1.4 *Terminología*

*Lote de siembra* : Cantidad de virus de composición uniforme obtenida en una sola operación. En los establecimientos de preparación se entiende por *lote de siembra primaria* el que sirve para preparar los *lotes de siembras ulteriores*. Los lotes de vacuna se obtienen sometiendo a un nuevo pase los lotes de siembra.

*Vacuna acabada (sin envasar)* : Vacuna ya recogida, pero no envasada todavía en los recipientes definitivos.

*Lote de vacuna* : Cantidad de vacuna acabada y definitivamente envasada que, a partir de alguna fase de la preparación, ha pasado por las mismas operaciones y cuya composición es, por tanto, uniforme.

*Lote final* : Lote o parte de un lote de vacuna uniforme en cuanto a sus posibilidades de haberse contaminado durante las operaciones de envasado y deshidratación. Por tanto, el lote final debe haberse envasado en una sola sesión de trabajo y, si procede, haberse deshidratado de una sola vez.

---

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, **147**, 13 ; 1959, **172**, 13

$DL_{50}$  : Se entiende por  $DL_{50}$  la cantidad de vacuna que normalmente mata el 50 % de los embriones de pollo por la acción específica del virus vacunal.

## 2. Normas generales de fabricación

Los establecimientos dedicados a la preparación de vacuna antivariólica se atenderán a las normas generales de preparación que se establecen en las Normas para las Sustancias Biológicas Nº 1.<sup>1</sup>

La vacuna antivariólica se preparará en locales y con materiales exclusivamente destinados a ese fin. No deben introducirse en los locales de preparación más cepas de virus vacunal que las usadas para la obtención de vacunas antivariólicas.

La descripción de los métodos que vayan a usarse para la preparación de vacuna antivariólica 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.

## 3. Inspección de las operaciones de fabricación

### 3.1 *Inspección de las materias primas*

#### 3.1.1 *Cepas de virus*

Se llevará un registro que permita identificar todas las cepas y subcepas de virus usadas para la obtención de lotes de siembra. Las autoridades nacionales de inspección deberán comprobar que esas cepas y subcepas permiten preparar vacunas inmunógenas que provoquen en la piel del hombre la aparición de lesiones vacunales típicas seguidas de pérdida de la susceptibilidad para cualquier vacunación ulterior practicada con una cepa de reconocida aptitud inmunógena contra la viruela humana. La cepa que se use deberá provocar una erupción vesicular característica en la piel del conejo o lesiones pustulosas características en las membranas del embrión del pollo.

Para la obtención de la vacuna se usará una cepa que nunca haya manifestado una tendencia a provocar en el hombre o en los animales lesiones generalizadas o del sistema nervioso mayor que otras cepas de virus vacunal que se hayan empleado durante muchos años con carácter general y con resultados satisfactorios. Las cepas de la llamada «neurovacuna» no deben usarse.

Las muestras debidamente comprobadas de virus de siembra que hagan falta para preparar los lotes de siembra primaria usados en la obtención de la vacuna pueden pedirse a un labo-

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959; 178, anexo 1

ratorio especializado, directamente o por conducto de la Organización Mundial de la Salud.<sup>1</sup>

### 3.1.2 *Animales o tejidos para la obtención de virus de siembra y de vacuna*

Para la obtención de vacuna se emplearán exclusivamente animales sanos o tejidos de animales sanos, susceptibles a la inoculación ectodérmica de virus vacunal, o embriones de pollo procedentes de aves sanas. El material deberá reunir además todas las condiciones que se especifican más adelante en la sección 3.2.

En la preparación de la vacuna o en la obtención del virus de siembra podrán emplearse varias especies de animales. En algunos países se han obtenido buenos resultados con terneras, corderos, búfalos, asnos y conejos.

También se obtiene una multiplicación satisfactoria del virus en la membrana corioalantoidea del embrión del pollo y en los tejidos de embriones o animales jóvenes de especies susceptibles.

### 3.1.3 *Sistema de lotes de siembra*

Los lotes de *siembra primaria* se obtendrán cultivando el virus vacunal en la piel de un animal vivo. Si en la obtención de los lotes de *siembra ulterior* se utilizan embriones de pollo o cultivos de tejidos, el número de pases efectuados a partir del lote de siembra primaria debe reducirse en todo lo posible, sin exceder en ningún caso de diez. Todos los lotes de vacuna se prepararán a partir de un lote de siembra sin someterlo a pases intermedios.

Mientras no se disponga de conocimientos más completos, parece conveniente emplear exclusivamente lotes de siembra preparados en la piel de animales vivos con objeto de evitar los pases en otros tejidos que podrían modificar las propiedades inmunógenas del virus.

Todos los lotes de siembra deberán conservarse desecados, congelados o en glicerina. Si se usa un lote de siembra glicerinado, hay que mantenerlo continuamente a una temperatura inferior a 0°C.

### 3.1.4 *Pruebas para la investigación de microorganismos extraños en los lotes de siembra*

Cuando la vacuna se prepare en la piel de un animal, los lotes de siembra, a la dilución empleada para el inóculo, deberán reunir todas las

<sup>1</sup> Los siguientes laboratorios están dispuestos a facilitar con ese objeto muestras de cepas: Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruselas, Bélgica; Statens Seruminstitut, Copenhague, Dinamarca; Rijks Instituut voor de Volksgezondheid, Utrecht, Países Bajos; Institut Pasteur, Túnez, Túnez; The Lister Institute of Preventive Medicine, Elstree, Hertfordshire, Inglaterra; Instituto de Inspección de Sueros, Vacunas y Antibióticos (L. A. Tarasevich), Moscú, Unión Soviética; División of Biologics Standards, National Institutes of Health, Bethesda, Md., Estados Unidos de América.

condiciones enunciadas en los diferentes apartados de la sección 3.3.4 (página 17).

Cuando la vacuna se prepare en membranas de embrión del pollo o en cultivos de tejidos, los lotes de siembra, rehidratados cuando así proceda, deberán reunir las condiciones enunciadas en la sección 3.3.5 (página 19).

### 3.2 *Precauciones que deben tomarse en la fabricación*

Además de las precauciones generales que se indican en las normas de la sección 3 de la parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas Nº 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección)<sup>1</sup> deberán adoptarse en la preparación de vacuna antivariólica las siguientes :

#### 3.2.1 *Vacunas obtenidas en la piel de animales vivos*

Cuando se les inocule el virus de siembra, los animales, limpios de ectoparásitos, deberán llevar por lo menos dos semanas en cuarentena bajo la vigilancia de un veterinario. Antes de la inoculación se les someterá a una limpieza y después se les tendrá en jaulas perfectamente limpias hasta la recogida del material vacunal.

Deberá evitarse el empleo de camas de paja, a menos que se esterilicen y se renueven con frecuencia. Las jaulas y sobre todo los pesebres se dispondrán de modo que puedan limpiarse con facilidad y se evitará dar a los animales alimentos que puedan ensuciar de polvo los locales.

Durante los cinco días anteriores a la inoculación y durante la incubación, los animales estarán bajo la vigilancia de un veterinario ; no deben presentar ningún signo de enfermedad y su temperatura rectal se anotará diariamente. Siempre que en un grupo de animales se observe una elevación anormal de la temperatura o cualquier signo clínico de enfermedad, se suspenderá la recogida de vacuna en el grupo hasta averiguar la causa de esas irregularidades. Los métodos de profilaxis y de diagnóstico que vayan a adoptarse para evitar la presencia de animales con enfermedades infecciosas deberán someterse a la aprobación de las autoridades nacionales de inspección.

Las técnicas de profilaxis y de diagnóstico que se empleen variarán según la especie de que se trate y según las enfermedades que pueda contraer el animal en el país donde se vaya a preparar la vacuna. Esas técnicas deberán impedir que la vacuna pueda servir de vehículo para la propagación de cualquier enfermedad en el país donde se prepare ; también se tendrá

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178, anexo 1

en cuenta el peligro de propagación de enfermedades a los países o continentes a que la vacuna pueda exportarse.

La posible aparición de casos de glosopeda, brucelosis, fiebre Q, tuberculosis y dermatomicosis será objeto de especial atención en todos los casos; y en algunas zonas deberán tenerse en cuenta además otras enfermedades como la dermatitis pustulosa (ectima terebrante infantil), riñón pulposo (*pulpy kidney disease*), la viruela ovina, el carbunco, la peste bovina, la septicemia hemorrágica, la fiebre del valle del Rift y otras muchas.

La inoculación del virus de siembra se hará en las partes de la piel que no estén expuestas a ensuciarse de orina y de heces, después de afeitarlas y limpiarlas procurando seguir en lo posible las normas de la asepsia quirúrgica. Si se emplea para la limpieza alguna sustancia antiséptica que pueda perjudicar al virus, será necesario eliminarla antes de la inoculación lavando cuidadosamente la zona con agua esterilizada. Las partes expuestas de la piel que no vayan a usarse para la inoculación deberán estar tapadas con un tejido esterilizado mientras dure esta operación.

Muchos especialistas prefieren hacer la inoculación en la superficie ventral de las hembras. Cuando se utilizan animales machos, esa parte del cuerpo está más expuesta a ensuciarse de orina y de heces que los flancos, que tienen la misma susceptibilidad al virus de la vacuna que el vientre y además son más fáciles de mantener limpios, sobre todo porque el animal acostumbra descansar sobre el costado contrario al de la inoculación.

Se recomienda el uso de narcóticos o anestésicos para evitar al animal molestias o dolores inútiles durante las operaciones de afeitado, limpieza e inoculación, y durante la recogida de la vacuna si ésta se hace en el animal vivo.

Antes de recoger el material vacunal, se procederá a una nueva limpieza de la zona inoculada, cubriendo también con un tejido estéril las partes que no se hayan inoculado.

El material recogido de cada animal no se mezclará con el de ningún otro y la operación de recogida se hará en las debidas condiciones de asepsia.

Todos los animales sacrificados para la obtención de vacuna deberán ser objeto de un examen post mortem. Si en el curso de ese examen se observan síntomas de cualquier enfermedad generalizada distinta de la vacuna, se desechará todo el material vacunal procedente del animal en cuestión y, si la enfermedad descubierta se considera muy contagiosa, se desechará todo el material recogido del lote de animales expuestos.

La recogida se hará después de dar muerte al animal por un procedimiento indoloro. Inmediatamente después de la muerte se procederá al desangramiento para evitar que se mezcle una gran cantidad de sangre al material vacunal.

Cuando la recogida se haga en un animal vivo, se le someterá previamente a vigilancia veterinaria durante dos semanas por lo menos. Las autoridades nacionales de inspección determinarán las medidas que deban adoptarse en caso de enfermedad o de muerte natural del animal.

### 3.2.2 *Vacunas preparadas en embrión de pollo*

Sólo se emplearán huevos procedentes de gallineros en los que se haya comprobado que no hay ninguna enfermedad.

La posible aparición de casos de salmonelosis, tuberculosis, enfermedad de Newcastle, peste aviar, enfermedades respiratorias crónicas o del grupo de la linfomatosis aviar se vigilará con especial atención en todos los casos; en algunas zonas acaso sea necesario tener en cuenta además otras enfermedades.

Después de un periodo adecuado de incubación se inoculará a los embriones de pollo vivos un virus de siembra que reúna las condiciones enunciadas en las secciones 3.1.3 y 3.1.4 (página 13) y después de otro periodo de incubación de duración apropiada, se recogerá el material vacunal en las debidas condiciones de asepsia.

### 3.2.3 *Vacunas obtenidas en cultivos de tejidos*

Sólo se emplearán cultivos primarios en tejidos de animales sanos. Los tejidos de origen humano no se usarán en ningún caso. El cultivo y la recogida del virus se hará en las debidas condiciones de asepsia.

Pueden emplearse antibióticos apropiados en las concentraciones mínimas necesarias para obtener la esterilidad.

## 3.3 *Inspección de la vacuna antes del envase*

### 3.3.1 *Tratamiento inicial*

El material vacunal recogido en la piel de cada animal deberá ser objeto de un tratamiento destinado a reducir su contenido de microorganismos extraños vivos, siempre que ello sea necesario para que se cumplan las condiciones establecidas en la sección 3.3.4.

Cuando la vacuna vaya a expendirse en estado líquido, el tratamiento puede consistir en la adición de glicerina con o sin sustancias antibacterianas y un periodo de almacenamiento a temperatura adecuada.

Si antes de la expedición la vacuna va a ser desecada, el tratamiento puede consistir en la adición de una sustancia antibacteriana apropiada, en la eliminación de los microorganismos por centrifugación o en ambas operaciones.

No es necesario someter a este tratamiento el material vacunal obtenido en embrión de pollo o en cultivos de tejidos,

pero convendrá añadirle glicerina, una sustancia antibacteriana o ambas cosas, con objeto de evitar cualquier contaminación ulterior.

La práctica actualmente seguida de usar antibióticos para la obtención de vacuna en cultivos de tejidos es, en general, poco recomendable.

El material tratado deberá conservarse a temperatura inferior a 0°C si contiene glicerina y a 5°C si no la contiene, y podrá almacenarse en forma de concentrado.

### 3.3.2 *Vacuna acabada sin envasar*

Después del tratamiento inicial, podrá diluirse cierta cantidad de material vacunal (procedente, si es preciso, de distintas operaciones de recogida) mediante la adición de glicerina, de otro diluyente adecuado o de ambas sustancias a la vez. Ese material, cuya concentración deberá ser la misma de la vacuna lista para el envase definitivo, recibirá en las secciones siguientes la denominación de *vacuna acabada sin envasar*.

Antes de dar por acabada esa vacuna, es conveniente someter el material procedente de cada operación de recogida a una serie de pruebas preliminares para determinar su actividad y para investigar la presencia de microorganismos extraños vivos.

### 3.3.3 *Pruebas de actividad de la vacuna acabada sin envasar*

La vacuna acabada sin envasar deberá dar resultados satisfactorios en una de las pruebas de actividad descritas en los apartados de la sección 5.2 (página 21).

### 3.3.4 *Pruebas para la investigación de microorganismos extraños vivos en la vacuna acabada sin envasar obtenida en la piel de animales vivos*

La vacuna acabada sin envasar deberá dar resultados satisfactorios en las pruebas que se describen en los párrafos siguientes para la investigación de microorganismos extraños vivos, a menos que dichas pruebas se hayan practicado de antemano y con resultado satisfactorio en cada una de las tomas de material que compongan la vacuna acabada.

#### 3.3.4.1 *Pruebas para determinar el contenido total de bacterias*

Después de preparar las diluciones convenientes de la vacuna acabada sin envasar, utilizando un diluyente apropiado e inocuo para las bacterias vivas, se sembrará un ml de cada dilución en tres o más placas de agar con caldo nutritivo, que se incuban primero 72 horas a una temperatura comprendida entre 18° y 22° y después 48 horas a una temperatura comprendida entre 32° y 37°C. El número de bacterias vivas por ml de vacuna acabada se calcula por el de colonias visibles en las placas. Si pasa de 1000, se desechará la vacuna o se la someterá a un nuevo tratamiento.

La operación se repetirá con varias placas testigo sembradas con mayores diluciones de vacuna acabada, para tener la seguridad de que la acción inhibitoria de las agentes conservadores contenidos en el preparado no ha influido en el número de colonias visibles en las placas de prueba.

#### 3.3.4.2. Prueba para la investigación de *Escherichia coli*

Siémbrense muestras de 1 ml de una dilución al 1 % de vacuna acabada sin envasar en tres placas, por lo menos, de un medio de cultivo adecuado para diferenciar la *E. coli* de otras bacterias, e incúbense las placas durante 48 horas a una temperatura comprendida entre 32° y 37°C. Si se descubre la presencia de *E. coli*, se desechará la vacuna o se la someterá a un nuevo tratamiento.

La presencia de *E. coli* verificada por esta prueba podría ser indicio de una intensa contaminación fecal.

#### 3.3.4.3 Pruebas para la investigación de *estreptococos hemolíticos, estafilococos coagulasa-positivos o cualquier otro microorganismo patógeno cuya inoculación al hombre en la vacunación pueda ser nociva*

Siémbrense muestras de un ml de una solución al 1 % de vacuna acabada sin envasar en tres o más placas de agar-sangre, incúbense las placas durante 48 horas a una temperatura comprendida entre 32 y 37°C y examínense las colonias que aparezcan en las placas.

Si se encuentra alguno de los microorganismos mencionados, se desechará la vacuna o se la someterá a un nuevo tratamiento.

#### 3.3.4.4 Prueba para la investigación de *Bacillus anthracis*

Examínense todas las colonias que se observen en cualquiera de las placas usadas para las pruebas descritas en los párrafos 3.3.4.1, 3.3.4.2 y 3.3.4.3 y que presenten semejanzas morfológicas con las de *Bacillus anthracis*. Si no se observa ningún movimiento en los microorganismos de la colonia, háganse nuevos cultivos para la investigación de *B. anthracis*, y practíquense pruebas de patogenicidad en animales. Si se comprueba la presencia de *B. anthracis*, se desechará inmediatamente la vacuna.

En los países donde el peligro de carbunco sea considerable, se practicará esa prueba en mayor número de colonias.

#### 3.3.4.5 Prueba para la investigación de *Clostridium tetani* y de otros anaerobios patógenos esporulados

Repártase por igual en diez tubos un volumen total de 1 ml cuando menos de vacuna acabada sin envasar. Cada tubo deberá contener por lo menos 10 ml de un medio de cultivo adecuado para la multiplicación de los microorganismos anaerobios. Incúbense los tubos durante una hora

a una temperatura de 65°C a fin de reducir su contenido de microorganismos no esporulados, y ténganse después una semana por lo menos a una temperatura comprendida entre 32° y 37°C.

Con el contenido de cada tubo en el que se observe desarrollo de gérmenes siémbrense placas de un medio adecuado, que se incubarán en anaerobiosis a la misma temperatura. Procédase a un examen morfológico de todas las colonias anaerobias que aparezcan y, si se encuentra algún microorganismo semejante a los del grupo *Clostridium*, invéstiguese la patogenicidad del contenido del tubo de origen mediante inoculación en animales con arreglo al siguiente método: por cada tubo de cultivo que sea preciso ensayar, se usará un grupo de animales formado cuando menos por dos cobayos y cinco ratones. Se mezclan 0,5 ml de los cultivos con 0,1 ml de una solución recientemente preparada de cloruro de calcio al 4 % y se inyecta la mezcla por vía intramuscular a cada uno de los cobayos; con 0,2 ml de cultivo y 0,1 ml de la citada solución de cloruro de calcio se prepara otra mezcla que se inyecta también por vía intramuscular a cada ratón. Los animales deben estar en observación una semana y si alguno de ellos presenta síntomas de tétanos, o muere de una infección por gérmenes anaerobios esporulados, se desechará la vacuna.

No se practicará esta prueba por ningún otro método que, a juicio de las autoridades nacionales de inspección, no sea por lo menos tan eficaz como el expuesto para descubrir la presencia de *C. tetani* y de otros anaerobios patógenos esporulados.

Debe identificarse cualquier microorganismo patógeno del género *Clostridium* cuya presencia se observe. Para que la investigación resulte más fácil puede usarse un grupo testigo de animales protegidos por la administración de antitoxinas específicas.

### 3.3.5 Pruebas para comprobar la esterilidad bacteriológica de la vacuna acabada sin envasar obtenida en embrión de pollo o en cultivo de tejidos

La vacuna acabada sin envasar deberá dar resultados satisfactorios en la prueba de esterilidad siguiente:

Siémbrense en un medio líquido de tioglicolato o en cualquier otro igualmente eficaz para el cultivo de aerobios y anaerobios y en medio de Sabouraud o en cualquier otro igualmente eficaz para el crecimiento de hongos y levaduras, dos o más muestras de 0,1 ml de vacuna acabada sin envasar, de manera que la dilución de la vacuna en el medio de cultivo sea tal que quede anulada la actividad bacteriostática del producto preservador. El medio sembrado para la demostración de bacterias se debe incubar a 30°-32°C durante una semana por lo menos. También se puede dividir en dos partes, una de las cuales se incubará a 35°-37°C y otra a 15°-22°C durante una semana como mínimo. El medio cultivado para

la demostración de levaduras y hongos debe incubarse a 20°-25°C durante dos semanas por lo menos. Si en alguno de los cultivos aparecen colonias puede repetirse la prueba. Si aparecen gérmenes del mismo tipo en más de una prueba se desechará la vacuna; para darla por buena es preciso que no se observe el menor crecimiento microbiano durante toda la prueba final.

La prueba no podrá practicarse por otros métodos, a menos que se demuestre a las autoridades nacionales de inspección que son por lo menos tan eficaces como el descrito.

Las normas generales de esterilidad para preparados biológicos se publicarán en Normas para las Sustancias Biológicas N° 6.

#### 4. Envase y recipientes

Se aplicarán las normas establecidas para el envase y para los recipientes en la sección 4 de la parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección),<sup>1</sup> con las modificaciones y adiciones siguientes:

Todos los recipientes que se vayan a utilizar para envasar la vacuna acabada deben esterilizarse antes de usarlos. Si se usan envases de vidrio, éste deberá ser neutro y de primera calidad, sobre todo en lo que se refiere a la resistencia a la rotura y a los cambios de temperatura. Si los envases son de metal o de otros materiales, será necesario demostrar a las autoridades nacionales de inspección que el material empleado no tiene efectos perjudiciales para la vacuna.

Los recipientes de vacuna líquida deberán tener un cierre hermético, u otro sistema que haya recibido la aprobación de las autoridades nacionales de inspección.

Los recipientes de vacuna desecada deberán cerrarse herméticamente después de practicar el vacío o de llenarlos con nitrógeno puro, seco y exento de oxígeno, o con otro gas que no tenga efectos perjudiciales para la vacuna.

Todos los envases de cierre hermético deberán someterse a una prueba de impermeabilidad después de cerrados. Todos los que resulten defectuosos se desecharán.

Pueden utilizarse recipientes de una o de varias dosis. Todos los envases de vacuna desecada deberán ir acompañados de una ampolla de líquido estéril para preparar la suspensión. El líquido podrá contener glicerina, una sustancia antiséptica adecuada o ambas cosas. Los envases deberán tener una forma que simplifique todo lo posible la preparación de la suspensión de vacuna.

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178, anexo 1

## 5. Inspección de la vacuna acabada

### 5.1 Prueba de identificación

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

Pueden servir para la identificación las pruebas de actividad descritas en la sección 5.2.

### 5.2 Pruebas de actividad de la vacuna en el envase definitivo

Las vacunas líquidas definitivamente envasadas deben dar resultados satisfactorios cuando menos en una de las pruebas de actividad que se describen en los párrafos siguientes.

Después de reconstituidas en la forma prevista para la inoculación al hombre, las vacunas secas definitivamente envasadas deben dar resultados satisfactorios en una de las pruebas de actividad que se describen en los apartados siguientes.

#### 5.2.1 Prueba de actividad por escarificación cutánea en el conejo

Prepárese una doble serie de diluciones de razón 10 con la vacuna que vaya a ensayarse y con otra aprobada para este fin por las autoridades nacionales de inspección. Se utilizarán las diluciones al 1/1000 y al 1/10 000, tanto de la vacuna que se ensaya como de la vacuna de referencia, que se aplicarán a zonas escarificadas de la piel del lomo o del flanco de dos conejos por lo menos. Se puede utilizar, bien un volumen de 0,1 ml en una zona de unos 5 cm<sup>2</sup>, bien 0,2 ml en una zona de unos 10 cm<sup>2</sup>. Después de un periodo de tiempo comprendido entre cuatro y siete días, la vacuna que se ensaye y la de referencia habrán producido las lesiones confluentes características de la infección en las zonas en que se haya aplicado la dilución de 1/1000 y más de una vesícula discreta en las de la dilución de 1/10 000.

A fin de determinar con más precisión la actividad de la vacuna, muchos laboratorios aplican varias diluciones además de las indicadas en otras zonas escarificadas.

Conviene usar conejos de piel blanca esquilados con maquinilla. Si en vez de esquilar los animales se los afeita o depila, esas operaciones deberán hacerse por lo menos un día antes de la prueba.

#### 5.2.2 Prueba de actividad basada en la aplicación de vacuna a la membrana corioalantoidea del embrión de pollo y en el recuento ulterior de las unidades pustulantes

Para esta prueba se utilizan cuando menos diez embriones de pollo incubado por espacio de unos 12 días y repartidos en dos grupos iguales.

Aplíquense 0,1 ó 0,2 ml de una dilución adecuada de la vacuna a la membrana corioalantoidea de cada embrión del primer grupo e igual cantidad de otra dilución a la de cada embrión del segundo grupo. Una vez transcurrido el tiempo óptimo de incubación, cuéntense todas las lesiones específicas discretas de la membrana de cada embrión. Las diluciones se harán de manera que por lo menos en uno de los grupos el número de lesiones específicas aceptables para el recuento sea superior a diez. A partir del número de lesiones descubiertas en ese grupo y de la dilución y volúmenes empleados, se calculará el número de unidades pustulantes por ml de vacuna sin diluir. El número debe ser superior a  $5 \times 10^7$ .

### 5.2.3 *Prueba de actividad basada en la aplicación de vacuna en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo y en la determinación ulterior de la $DL_{50}$*

Se emplean para esta prueba cuatro grupos de seis o más embriones de pollo incubados durante unos 12 días. Se prepara una serie adecuada de diluciones progresivas de la vacuna y se aplican 0,2 ó 0,3 ml de cada dilución a la membrana corioalantoidea de cada uno de los embriones de un grupo. Los huevos inoculados vuelven a incubarse durante un periodo de tiempo adecuado, desechándose todos los que mueren en las primeras 24 horas. La  $DL_{50}$  se calcula con arreglo al número de embriones que mueren después de las primeras 24 horas y que presenten lesiones específicas, y a las diluciones y volúmenes empleados. Un ml de vacuna sin diluir debe contener por lo menos  $7 \times 10^7$   $DL_{50}$ .

Las diluciones que se elijan deben abarcar una serie de tasas de mortalidad comprendidas entre 0 por 100 y 100 por 100.

### 5.3 *Pruebas para investigar la presencia de microorganismos extraños vivos en las vacunas definitivamente envasadas*

Elíjanse al azar cuatro o más recipientes de cada lote final, procurando que sean representativos de todo el material extraído del depósito de la vacuna a granel. Si se trata de vacunas deshidratadas, la reconstitución se hará del modo prescrito para la inoculación al hombre. Se mezcla el contenido de los recipientes elegidos teniendo en cuenta que el volumen total no debe ser inferior a 0,25 ml.

Un volumen de 0,1 ml de la vacuna así obtenida debe dar resultado satisfactorio en la prueba descrita en el apartado 3.3.4.1 (página 17) o, en su caso, en la descrita en la sección 3.3.5 (página 19).

### 5.4 *Pruebas de inocuidad*

Quizá sea conveniente comprobar la inocuidad de la vacuna definitivamente envasada. Esa comprobación puede hacerse mediante ensayos en cobayos y ratones.

### 5.5 Prueba de termoestabilidad de la vacuna desecada

Tómese por lo menos un envase de vacuna de cada lote final y téngase en la estufa a una temperatura de 37°C o más durante cuatro semanas como mínimo. Al cabo de ese tiempo, la vacuna debe dar resultado satisfactorio en una de las pruebas de actividad descritas en los diferentes apartados de la sección 5.2 (página 21).

### 5.6 Agentes de conservación y otros aditivos

La vacuna líquida definitivamente envasada y el líquido empleado para la reconstitución de la vacuna desecada no deberán contener agentes de conservación u otros aditivos en concentraciones que excedan de los límites establecidos por las autoridades nacionales de inspección. Si se añade ácido fénico, su concentración no deberá ser superior al 0,5 por 100.

No es aconsejable la adición de antibióticos a la vacuna antivariólica.

### 5.7 Contenido de proteínas

La vacuna definitivamente envasada no deberá contener proteínas humanas.

## 6. Registros

Se observarán los requisitos establecidos en la sección 6 de la parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 sobre Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección.<sup>1</sup>

Se llevará además un registro de todos los lotes de siembra y de todos los lotes de vacuna preparados en el establecimiento, cualesquiera que sean los resultados de las pruebas de inocuidad y de actividad.

Los registros se ajustarán a las condiciones que establezcan las autoridades nacionales de inspección.

Convendría llevar tres clases de registros : a) para los lotes de siembra, b) para el material vacunal recogido en cada animal (en los casos en que así proceda), y c) para los lotes de vacuna. Los lotes de cada clase deben ir numerados consecutivamente, método que es de recomendar, porque permite comprobar más fácilmente la uniformidad de todos los lotes que se preparen.

## 7. Muestras

Se observarán los requisitos establecidos en la sección 7 de la parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 sobre Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178, anexo 1

## 8. Rotulación

En los rótulos impresos directamente sobre los envases o en las etiquetas pegadas a éstos o a las envolturas en que se expenden, se harán constar por lo menos las indicaciones siguientes :

- La razón social y la dirección del establecimiento preparador ;
- la expresión *vaccinum variolae*, la denominación común del preparado o ambas cosas ;
- el número del lote de vacuna ;
- la temperatura a que debe conservarse el preparado y la fecha de caducidad cuando se conserve a esa temperatura o a otra inferior.

Además de esas indicaciones, en los rótulos de los envases y en las etiquetas de las cajas de varios envases, o en los prospectos que acompañen a los envases, se harán constar los siguientes datos complementarios :

- Declaración de que la vacuna reúne las condiciones aquí establecidas ;
- tejido o animal empleado en la preparación de la vacuna ;
- agentes de conservación utilizados y su concentración ;
- antibióticos empleados en la preparación de la vacuna ;
- instrucciones para el uso de la vacuna ;
- las condiciones en que ha de almacenarse y expedirse y las alteraciones que pueden producirse en la vacuna si se la conserva a temperaturas superiores a las que se indiquen en la etiqueta ;
- si se trata de vacunas deshidratadas, se añadirá que la actividad del preparado sólo puede garantizarse durante las 24 horas siguientes a la rehidratación.

En las instrucciones para el uso de las vacunas desecadas que se expendan en recipientes cerrados en el vacío, deberán indicarse las precauciones que hay que tomar al abrir la ampolla, a fin de evitar que el producto se derrame.

También se deberán hacer constar en el prospecto las contraindicaciones de la vacuna y las posibles reacciones posvacunales.

Las normas que anteceden se han establecido con carácter provisional en espera de que se publiquen las normas generales de rotulación aplicable a todos los productos biológicos.

## 9. Distribución y expedición

Se observarán los requisitos establecidos en la sección 9 de la parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 sobre Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178, anexo 1

## 10. Almacenamiento y fecha de caducidad

Las instrucciones referentes a las temperaturas de almacenamiento y a las fechas de caducidad que, según lo previsto en la sección 8 (página 24) deben figurar en las etiquetas y en los prospectos, estarán basadas en pruebas experimentales y se someterán a la aprobación de las autoridades nacionales de inspección.

### 10.1 Condiciones de almacenamiento

Una vez envasadas definitivamente y hasta el momento de su distribución por los establecimientos preparadores o de su expedición por los depósitos de reservas de vacuna, las vacunas líquidas deberán conservarse a una temperatura constantemente inferior a  $-10^{\circ}\text{C}$  y las deshidratadas a menos de  $+10^{\circ}\text{C}$ .

Se tomarán las precauciones necesarias para que durante el transporte la vacuna se conserve a una temperatura inferior a  $+10^{\circ}\text{C}$ .

### 10.2 Fecha de caducidad

La fecha de caducidad de la vacuna no será posterior en más de 12 meses a la fecha en que se haya practicado la última prueba de actividad ni en más de tres o seis meses al momento en que la vacuna haya salido del establecimiento preparador o del depósito, según que se trate de vacuna líquida o desecada.

## Parte B. Normas para la inspección nacional

### 1. Normas generales

Se observarán las normas generales sobre laboratorios de inspección establecidas en la parte B de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección).<sup>1</sup>

### 2. Licencia de circulación y certificado de inspección

No se autorizará la circulación de ningún lote de vacuna que no reúna las condiciones establecidas en la parte A de las presentes normas.

A petición del establecimiento preparador, el funcionario competente del laboratorio nacional de inspección extenderá un certificado que acredite

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178, anexo 1

si el lote de vacuna ha sido preparado con arreglo a todas las normas nacionales y a las establecidas en la parte A de las presentes normas. En ese certificado constarán, además, la fecha de la última prueba de actividad practicada 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.

El certificado tiene por objeto facilitar el intercambio de sustancias biológicas entre los distintos países.

### **3. Eficacia e inocuidad de la vacuna en la práctica**

Las autoridades sanitarias competentes deben comprobar, basándose en los resultados de la vacunación, que las vacunas de los lotes cuya circulación se haya autorizado «prenden» en una proporción de casi el 100 % cuando se administran a niños susceptibles a la infección, y no dan lugar a complicaciones.