

*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 237

# NORMAS PARA LAS SUSTANCIAS BIOLOGICAS

## 7. Normas para la Vacuna Antipoliomielítica (Oral)

### Informe de un Grupo de Estudio

	Página.
1. Consideraciones generales . . . . .	3
2. Problemas que deben ser objeto de nuevas investigaciones	5
Anexo. Normas para la vacuna antipoliomielítica (oral) (Normas para las Sustancias Biológicas Nº 7) . . . . .	9

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

GINEBRA

1962

**GRUPO DE ESTUDIO  
SOBRE NORMAS PARA LA VACUNA ANTIPOLIOMIELITICA  
(ORAL)**

*Ginebra, 7-12 de noviembre de 1960*

*Miembros :*

Dr. M. P. Chumakov, Instituto de Investigaciones sobre la Poliomieltis,  
Moscú, URSS

Dr. D. G. Evans, National Institute for Medical Research, Londres, Inglaterra (*Relator*)

Dr. S. Gard, Karolinska Institutet, Estocolmo, Suecia

Dr. J. H. S. Gear, Poliomyelitis Research Foundation, Johannesburgo,  
Africa del Sur (*Presidente*)

Dr. R. Murray, Division of Biologics Standards, National Institutes of  
Health, Bethesda, Md., Estados Unidos de América

Dr. F. P. Nagler, Laboratory of Hygiene, Department of National Health  
and Welfare, Ottawa, Canadá

Dr. F. Przesmycki, Instituto Estatal de Higiene, Varsovia, Polonia (*Vice-  
presidente*)

Dr. D. Slonim, Instituto de Sueros y Vacunas, Praga, Checoslovaquia

Dr. M. K. Voroshilova, Instituto de Investigaciones sobre la Poliomieltis,  
Moscú, URSS

*Secretaría*

Dr. N. K. Jerne, Jefe del Servicio de Patrones Biológicos, OMS (*Secretario*)

## **NORMAS PARA LAS SUSTANCIAS BIOLOGICAS**

### **7. Normas para la Vacuna Antipoliomielítica (Oral) \***

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

El Grupo de Estudio sobre Normas para la Vacuna Antipoliomielítica (Oral) se reunió en Ginebra del 7 al 12 de noviembre de 1960.<sup>1</sup>

El Dr. N. I. Grashchenkov, Subdirector General de la Organización Mundial de la Salud, declaró abierta la reunión y dió la bienvenida a los miembros del Grupo. El Subdirector General indicó que la reunión del Grupo de Estudio se había convocado con objeto de establecer normas internacionalmente aceptables sobre la preparación de la vacuna antipoliomielítica oral, a fin de que todos los productos de esta clase puedan considerarse como agentes profilácticos inmunógenos inocuos. Tales normas internacionales servirán de orientación a los encargados de la preparación e inspección de la vacuna antipoliomielítica oral en cada país y, al permitir una mayor uniformidad, facilitarán el intercambio de vacunas entre los diferentes países.

El Subdirector General señaló las dificultades que habrá de resolver el Grupo de Estudio y que representan una consecuencia del rápido progreso de las técnicas virológicas y de las medidas preventivas de salud pública. A pesar de que el empleo de la vacuna antipoliomielítica oral se ha iniciado en una fecha relativamente reciente, son ya muy numerosos los datos, tanto de laboratorio como prácticos, que habrá de tener en cuenta el Grupo de Estudio en sus deliberaciones.

#### **1. CONSIDERACIONES GENERALES**

El Grupo de Estudio ha tomado nota de los informes presentados en la Primera y en la Segunda Conferencia Internacional sobre Vacunas de Virus Poliomiéltico Vivo, celebradas en Washington, D.C., en junio de

---

\* Vacuna de virus poliomiéltico vivo.

<sup>1</sup> La publicación de este informe se ha retrasado en espera de que los miembros del Grupo de Estudio llegasen a un acuerdo sobre varias modificaciones de carácter técnico propuestas por otros expertos de treinta países.

1959 y junio de 1960 respectivamente, por iniciativa de la Organización Panamericana de la Salud y de la Organización Mundial de la Salud.<sup>1</sup> También ha tomado nota del tercer informe del Comité de Expertos en Poliomiéltis,<sup>2</sup> en el que éste recomienda a la Organización Mundial de la Salud que convoque un grupo de estudio encargado de establecer normas internacionales aplicables a la preparación y al ensayo de dicha vacuna.

Los miembros del Grupo han examinado los informes<sup>3</sup> de los anteriores grupos de estudio sobre normas para las sustancias biológicas que redactaron las Normas Internacionales N<sup>os</sup> 1 a 6, y han acordado que las normas internacionales para la vacuna antipoliomiéltica oral pueden ajustarse al modelo seguido en esos informes. También ha tenido en cuenta el Grupo de Estudio el anteproyecto de normas internacionales para la vacuna antipoliomiéltica oral, preparado por la Secretaría de la OMS, y ha examinado los reglamentos y normas<sup>4</sup> aplicables a la producción e inspección de la vacuna antipoliomiéltica oral que se han propuesto en Canadá, Checoslovaquia, Estados Unidos de América, Italia, Reino Unido, Suiza, URSS y Unión Sudafricana. Otra fuente de información del Grupo han sido diversos datos y documentos de trabajo inéditos presentados por sus miembros, así como las opiniones y datos comunicados por los Dres.

<sup>1</sup> Organización Panamericana de la Salud, *Scientific Publication*, 1959, N<sup>o</sup> 44 y 1960, N<sup>o</sup> 50.

<sup>2</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1960, 203, 40.

<sup>3</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178, 179 y 180; 1960, 200.

<sup>4</sup> Canadá, *Proposed regulations for live, oral, poliovirus vaccine* — Nagler, F. P., Laboratory of Hygiene, Ottawa, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/80; Checoslovaquia, *Proposed regulations for live poliovirus vaccine* — Skovranek, V., Departamento de Epidemiología, Ministerio de Sanidad, Praga, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/82; Estados Unidos de América, *Recommendations relating to the manufacture of poliovirus vaccine, live, oral* — Murray, R., Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/78; *Biologic products, additional standards: Poliovirus vaccine, live, oral, notice of proposed rule making*, Public Health Service (42 CFR Part 73), Department of Health, Education and Welfare, Washington, D.C.; Italia, *Proposed requirements for poliomyelitis vaccine prepared from attenuated virus strains* — Penso, G. & Balducci, D., Istituto Superiore di Sanità, Roma, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/90; Reino Unido, *Suggested methods for the preparation and testing of live attenuated poliovirus vaccine* — Evans, D. G., British Medical Research Council's Advisory Committee on Safety Tests for Poliomyelitis Vaccine, Londres, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/79, Rev. 1; Suiza, *Directions for the production and testing of live poliovirus vaccine* — Schär, M., Service de Contrôle des Sérums et Vaccins, Service fédéral de l'Hygiène publique, Berna, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/92; Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas, *Technical requirements for production, control and release of live, oral poliomyelitis vaccine from Sabin's attenuated strains* — Chumakov, M. P., Instituto de Investigaciones sobre la Poliomiéltis, Academia de Ciencias Médicas, Moscú, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/94; Unión Sudafricana, *Proposed regulations for live attenuated poliovirus vaccine* — Gear, J. H. S., Union Health Department, Pretoria, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/81, Rev. 1.

H. R. Cox, H. Koprowski, A. B. Sabin y por otros expertos.<sup>1</sup> El Grupo hizo constar su agradecimiento por esa ayuda que ha facilitado mucho su labor.

Después de un debate general sobre la prevención de la poliomiélitis, tanto por medio de la vacuna inactivada como de la vacuna oral, y de examinar los métodos de producción e inspección de la vacuna antipoliomielítica oral seguidos en varios países, el Grupo de Estudio decidió limitar sus recomendaciones a la preparación de la vacuna antipoliomielítica oral en cultivos de tejidos de riñón de mono, por considerar que sólo las vacunas así preparadas han alcanzado por ahora suficiente difusión en medicina humana.

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

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

El Grupo de Estudio ha tomado nota de las investigaciones recomendadas por el Comité de Expertos en Poliomiélitis en su tercer informe, y en particular de las relativas a la identificación de cepas, problema tratado en el párrafo (c) del apartado 6.1 de dicho documento.<sup>2</sup>

### 2.1 Preparaciones internacionales y nacionales de referencia de virus poliomiélicicos

El Grupo de Estudio ha tomado nota de las disposiciones adoptadas hasta ahora por el Comité de Expertos en Patrones Biológicos con miras al establecimiento de preparaciones internacionales de referencia de sueros antipoliomielíticos y de vacuna antipoliomielítica inactivada.

<sup>1</sup> Chumakov, M. P. *et al.*, documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/95; Cox, H. R., documento de trabajo inédito WHO/BS/INT/20; Estados Unidos de América, Division of Biologics Standards, National Institutes of Health, Bethesda, Md., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/89; Anderson, Gaylord, W., documento de trabajo inédito WHO/BS/INT/22; Koprowski, H., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/83; Koprowski, H. & Plotkin, S. A., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/85; Melnick, J. L. & Penttikokko, U., documento de trabajo inédito (presentado por Murray, R.) WHO/BS/INT/19; Murray, R., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/88; Plotkin, S. A. documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/84; Przesmycki, F. & Dobrowolska, H., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/83; Sabin, A. B., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/87; Schär, M., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/91; Slonim, D., Mareš, I., Dřevo, M., Cinnerová, O., Šturmová, H. & Michl, J., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/86.

<sup>2</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1960, **203**, 53.

Para llevar a cabo la inspección de la vacuna antipoliomielítica oral es necesario disponer de preparaciones de referencia de virus poliomiélicos; tales preparaciones resultan indispensables para comprobar los métodos de valoración y para evaluar comparativamente la constancia de la neurovirulencia y de otras propiedades.

En todos los países productores de vacuna antipoliomielítica oral, los servicios nacionales de inspección deben establecer con ese fin sus propias preparaciones de referencia. El Grupo de Estudio deja al cuidado del Comité de Expertos en Patrones Biológicos los problemas relacionados con el establecimiento de preparaciones internacionales de referencia de vacuna antipoliomielítica y de cepas de virus poliomiélicos.

## **2.2 Recogida de muestras de vacunas y de sueros**

El progreso de las técnicas virológicas tal vez permita establecer métodos mediante los cuales puedan estudiarse nuevas propiedades de las cepas de virus poliomiélicos utilizados en la preparación de vacunas y descubrirse agentes extraños, todavía desconocidos, que quizá existan en las vacunas empleadas actualmente. Por consiguiente, sería conveniente conservar algunas muestras de todos los lotes de vacunas producidas, por si fuere necesario estudiarlas más adelante.

También sería útil conservar muestras de sueros de personas vacunadas para futuros estudios comparativos.

El Grupo de Estudio opina que las autoridades de cada país deben tratar de establecer colecciones nacionales de muestras de sueros y vacunas, sin perjuicio de que se explore la posibilidad de crear otras de carácter internacional.

## **2.3 Agentes extraños**

La frecuente aparición de ciertos agentes extraños, en particular el « agente vacuolizador » y el llamado « agente productor de espuma », en el curso de la preparación y de la inspección de la vacuna antipoliomielítica oral plantea problemas muy difíciles de resolver. Si se pudiesen obtener suspensiones de virus exentas de tales agentes por métodos simples de cultivo celular, la sustitución del cultivo primario en tejido renal de mono por dichos métodos, simplificaría mucho la fabricación de vacunas y reduciría sensiblemente el costo de estos productos. La adopción de un sistema celular más adecuado que los cultivos primarios de células de mono no sólo repercutiría en la fabricación de la vacuna antipoliomielítica, sino también en la preparación de otras vacunas de virus vivos. Por consiguiente, conviene estimular en todo momento las investigaciones sobre tales sistemas celulares.

El descubrimiento de ciertos agentes que se originan en los cultivos de células renales de mono obliga a preguntarse si su presencia es admi-

sible y si es posible conseguir su eliminación. Ciertos autores se inclinan a tolerar la presencia de los agentes cuya patogenicidad para el hombre no esté demostrada. Es indudable que varios de los lotes de vacunas administradas al hombre contenían el agente vacuolizador. Los estudios relativos a la infecciosidad de ese agente en el hombre permiten suponer que el agente vacuolizador — virus símico 40 (SV40) —, puede multiplicarse al ser administrado al hombre por vía oral, aunque no se hayan apreciado síntomas clínicos de ese fenómeno. A juicio del Grupo de Estudio, convendría que todos los lotes de siembra estuvieran exentos de agentes extraños.

En lo que se refiere a la eliminación de virus contaminadores de la vacuna antipoliomielítica oral, el Grupo de Estudio ha tomado nota de los alentadores resultados experimentales obtenidos con los procedimientos de inactivación diferencial, como son el tratamiento de las suspensiones antes de la filtración a granel, con una mezcla de cloroformo y éter o con cloruro magnésico, o el empleo de métodos fotodinámicos de inactivación.<sup>1, 2</sup> La acción fotodinámica en presencia de un colorante permite inactivar eficazmente muchos virus como el virus B, el de la vacuna, el Echo-10, el agente vacuolizador, los adenovirus y varios de los llamados agentes símicos, mientras que la reducción de los virus poliomiélicos y de otros virus intestinales apenas es perceptible en las mismas condiciones. En la incubación de la suspensión a granel a 50°C durante dos horas en presencia de cloruro magnésico 1 molar, el virus poliomiélico conserva su estabilidad a diferencia de los virus que contienen ácido desoxirribonucleico, como el agente vacuolizador (SV 40), que son inactivados. Es evidente pues el considerable interés que ofrecen los estudios dirigidos a la aplicación de esos métodos de inactivación diferencial a la producción industrial.<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> Organización Panamericana de la Salud, *Scientific publication*, 1960, N° 50; Estados Unidos de América, Division of Biologics Standards, National Institutes of Health, Bethesda, Md., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/89.

<sup>2</sup> Murray, R., documento de trabajo inédito WHO/BS/IR/88.

<sup>3</sup> Wallis, C. & Melnick J. L., *Stabilization of poliovirus by magnesium chloride*. *Tax. Rep. Biol. Med.* (en prensa).



## Anexo

### NORMAS PARA LA VACUNA ANTIPOLIOMIELITICA (ORAL) (NORMAS PARA LAS SUSTANCIAS BIOLÓGICAS No. 7)

	Página
Consideraciones generales . . . . .	9
Parte A. Normas de fabricación . . . . .	11
1. Definiciones . . . . .	11
2. Normas generales de fabricación . . . . .	12
3. Inspección de las operaciones de fabricación . . . . .	13
4. Envase y recipientes . . . . .	26
5. Inspección del lote final . . . . .	26
6. Registros . . . . .	27
7. Muestras . . . . .	27
8. Rotulación . . . . .	27
9. Distribución y expedición . . . . .	28
10. Almacenamiento y fecha de caducidad . . . . .	28
Parte B. Normas para la inspección nacional . . . . .	29
1. Normas generales . . . . .	29
2. Licencia de circulación y certificado de inspección . . . . .	31
3. Eficacia e inocuidad de la vacuna en la práctica . . . . .	31

#### Consideraciones generales

Resulta difícil formular normas internacionales para la vacuna antipoliomielítica oral por las siguientes razones: *a)* existen diferentes cepas de virus poliomiélicos atenuados, todas las cuales se han empleado para la inmunización del hombre, *b)* los métodos de fabricación industrial y de inspección se basan en la experiencia adquirida en un número relativamente corto de años, y *c)* la vacuna antipoliomielítica oral difiere de las demás vacunas de gérmenes vivos en varios aspectos, como el grado de estabilidad genética de la cepa de virus utilizada, su capacidad para transmitirse de las personas vacunadas a las no vacunadas, y su preparación en tejido renal de mono, que puede contener virus símicos difíciles de descubrir y cuya patogenicidad para el hombre se desconoce. Por otra parte, los importantes progresos logrados en las técnicas de investigación de virus, progresos que han coincidido con la preparación de esta vacuna, han centrado la atención sobre la posible presencia de virus contamina-

dores no sólo en la vacuna antipoliomielítica oral sino también en otras vacunas de virus vivos.

Los servicios sanitarios de varios países han llevado a cabo en los últimos años vastas campañas de inmunización; África del Sur, Albania, Alemania, Bulgaria, Checoslovaquia, Hungría y URSS han empleado vacunas preparadas con cepas de los tipos 1, 2 y 3 suministrados por el Dr. A. B. Sabin, y Polonia, de los tipos 1 y 3 suministrados por el Dr. H. Koprowski. Además, se han empleado vacunas preparadas con esas mismas cepas, o con las obtenidas por el Dr. H. R. Cox, en grandes campañas de inmunización organizadas en muchos países, como África del Sur, Alemania, Colombia, el Congo, Costa Rica, Estados Unidos de América, Malaya, México, Nicaragua y Uruguay. Los datos hasta ahora obtenidos en esas campañas generales indican que la inmunización del hombre con vacunas de virus poliomiélicos vivos administradas por vía oral constituye un procedimiento inocuo y eficaz.

La confianza en la eficacia e inocuidad de la vacuna poliomiélica oral descansa principalmente en la experiencia adquirida en la inmunización humana, por lo que el objetivo primordial de las pruebas de laboratorio debe ser conseguir que los nuevos lotes de vacuna no difieran de los que ya han demostrado que son eficaces e inocuos para el hombre.

A pesar de esas consideraciones que demuestran la necesidad de instituir un complejo sistema de inspección, la vacuna antipoliomiélica oral se utiliza ya en gran escala en muchos países. Importa pues que se llegue a un acuerdo internacional sobre los criterios de aceptación a los que debe ajustarse esa vacuna. Las normas internacionales que aquí se formulan están tasadas en los métodos utilizados en la actualidad para la preparación de la vacuna a partir de virus cultivados en tejido renal de mono; por lo tanto, habrán de ser objeto de ulteriores revisiones a medida que los adelantos técnicos lo exijan.

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. Respecto a las recomendaciones que figuran en las secciones 3.2.3, 3.2.4 y 3.3.4 de la Parte A, impresas en caracteres pequeños y concernientes a las pruebas de investigación de virus extraños en cultivos celulares de amnios humano, conviene advertir que si bien varios autores opinan que tales pruebas en cultivos de células humanas debieran ser obligatorias en alguna fase de la fabricación de cada lote de vacuna antipoliomiélica oral, no ha sido posible llegar a un acuerdo general sobre la cuestión. Por consiguiente, en las licencias de circulación expedidas con fines internacionales, los servicios nacionales de inspección deben hacer

constar si el lote de vacuna antipoliomielítica oral en cuestión ha sido o no sometido a pruebas en cultivo de células humanas, y no limitarse a indicar que satisface las normas establecidas en el presente documento (véase Parte B, sección 2).

Convendría que los países que adopten estas normas como base de sus reglamentos nacionales sobre vacuna antipoliomielítica oral, añadieran una disposición que permitiera introducir modificaciones en los métodos de preparación siempre que, a juicio del servicio nacional de inspección, la vacuna obtenida por los nuevos procedimientos no fuera inferior desde el punto de vista de la inocuidad y la actividad 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 el que se fabrica la vacuna.

## Parte A. Normas de fabricación

### 1. Definiciones

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

La denominación internacional será « Vaccinum poliomyelitidis perorale Typus I, II, III » (según el tipo o tipos usados). 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 que se formulan a continuación.

#### 1.2 *Definición descriptiva*

Se entenderá por vaccinum poliomyelitidis perorale una preparación de *Poliovirus hominis* (tipos 1, 2 ó 3), vivo y atenuado, que contenga uno o una combinación cualquiera de esos tres tipos y cumpla todas las normas que se formulan en este documento.

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

El Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos estableció en 1958 las preparaciones internacionales de referencia de sueros antipoliomielíticos de los tipos 1, 2 y 3. El Laboratorio Internacional de Patrones Biológicos del Statens Serum-institut, de Copenhague (Dinamarca), facilita muestras de dichas preparaciones. El Comité de Expertos ha tomado las medidas oportunas para sustituir esas preparaciones internacionales de referencia por patrones internacionales de sueros

antipoliomielíticos de los tipos 1, 2 y 3, así como para establecer una preparación internacional de referencia de vacuna antipoliomielítica inactivada.

No habiéndose establecido todavía patrones o preparaciones internacionales de referencia de virus poliomielíticos vivos y atenuados ni de vacuna antipoliomielítica oral, resulta imposible por ahora fijar norma alguna basada en la comparación con material de esa clase.

#### 1.4 Terminología

*Vacuna original* : Vacuna monovalente preparada a partir del virus de siembra original del autor y que en la administración por vía oral al hombre en ensayos prácticos en gran escala ha demostrado poseer actividad inmunógena y carecer de efectos nocivos.

*Lote de siembra* : Cantidad de virus de composición uniforme obtenida en una sola operación. Los *lotes de siembra primarios* y *secundarios* no estarán separados por más de cuatro pases de una vacuna original.

*Suspensión individual* : Suspensión de virus de un solo tipo obtenida a partir de cultivos de células renales de un solo mono.

*Suspensión a granel* : Mezcla de varias suspensiones individuales del mismo tipo de virus.

Los términos *producto acabado a granel* y *lote final* se emplean en el sentido definido en la sección 2 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 6 (Normas Generales de Esterilidad para las Sustancias Biológicas).<sup>1</sup>

Un *lote final de vacuna* no estará separado por más de cinco pases de la vacuna original.

## 2. Normas generales de fabricación

Los establecimientos productores de vacuna antipoliomielítica oral, además de los requisitos expuestos en las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección),<sup>2</sup> observarán los siguientes :

La vacuna antipoliomielítica oral se fabricará en locales independientes provistos de instalaciones exclusivamente destinadas a ese fin.

Dichos locales estarán situados y ventilados de modo que se reduzca al mínimo el riesgo de contaminación.

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1960, 200.

<sup>2</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, 178, anexo 1.

No se efectuará en los locales destinados a la fabricación ninguna operación en la que se utilicen microorganismos distintos de las cepas vacunales o cultivos de tejidos distintos de los primarios.

A fin de eliminar en todas las fases de la fabricación el riesgo de la contaminación de la vacuna con microorganismos patógenos que pudieran existir previamente en los locales de fabricación, tales locales se desinfectarán sistemáticamente antes de iniciar en ellos la preparación de la vacuna antipoliomielítica oral.

En la fabricación de la vacuna antipoliomielítica oral solo deben intervenir personas en buen estado de salud, sometidas a una vigilancia médica regular y dedicadas exclusivamente a ese menester. Se adoptarán las medidas necesarias para que todas las personas empleadas en los locales de fabricación y en los destinados a los monos estén inmunizadas contra la poliomielitis y no excreten virus poliomielíticos ni otros microorganismos que puedan influir desfavorablemente sobre la inocuidad de la vacuna. Las personas empleadas en la producción que hayan trabajado con otros agentes infecciosos o con animales no deben regresar a los locales de fabricación en el mismo día, e igual precaución debe adoptarse con las personas que efectúen operaciones con monos.

En los locales de fabricación sólo se usarán vestidos y calzado de laboratorio.

No se permitirá la entrada en los locales de fabricación a personas ajenas al servicio.

Los establecimientos preparadores someterán por escrito a la aprobación del servicio nacional de inspección los métodos que hayan adoptado para la obtención de la vacuna antipoliomielítica oral. No podrá introducirse en esos métodos modificación alguna que no haya recibido la aprobación del citado servicio.

### **3. Inspección de las operaciones de fabricación**

#### *3.1 Inspección de las materias primas*

##### *3.1.1 Cepas de virus*

Las cepas de virus poliomielíticos que se usen en la producción de la vacuna antipoliomielítica oral deben identificarse por fichas de procedencia en las que se hará constar el origen de las cepas, los métodos de atenuación empleados y otras cuestiones que se enumeran en la sección 1.1 de la Parte B de este documento, donde también se formulan recomendaciones destinadas al servicio nacional de inspección. No se utilizarán más que las cepas autorizadas por este servicio.

##### *3.1.2 Monos destinados a la producción de vacuna de virus y de siembra*

El tejido renal necesario para la producción de vacuna y de virus de siembra debe obtenerse de monos de una especie apropiada, en buen

estado de salud, que no hayan servido para estudios experimentales que puedan perjudicar a la inocuidad de la vacuna, y que reúnan además todas las condiciones enunciadas en la sección 3.2.1.

De ordinario se utilizan diferentes especies de monos de los géneros *Macaca* y *Cercopithecus*.

### 3.1.3 Sistema de lotes de siembra

La preparación de la vacuna debe hacerse por el sistema de lotes de siembra. El virus de siembra utilizado para producir la vacuna se obtendrá de la vacuna original, de un lote de siembra que haya servido para la preparación de vacuna original, o de un lote de siembra preparado a partir de ésta. Los lotes de siembra se prepararán en cultivos celulares de riñón de mono y en las condiciones indicadas en la sección 3.2, y se conservarán a una temperatura inferior a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Todos los lotes de siembra deben satisfacer los requisitos enunciados en la sección 3.1.4.

Se recomienda reservar un gran lote de siembra primario que sirva al fabricante de material básico al que se pueda siempre recurrir para la preparación de los lotes de siembra secundarios. Es conveniente almacenar los lotes de siembra a una temperatura inferior a  $-60^{\circ}\text{C}$ .

### 3.1.4 Pruebas de inspección de los lotes de siembra

El lote de siembra utilizado en la preparación de la vacuna deberá estar exento de virus extraños perceptibles que puedan ser patógenos para el hombre, y se ajustará a las normas enunciadas en las secciones 3.3, 3.4, 3.5 y 3.6. No se empleará nunca un lote de siembra sin haberlo sometido a una prueba comparativa con una vacuna original en las condiciones estipuladas en el apartado 3.5.5.

Es conveniente que el lote de siembra esté exento de agentes extraños perceptibles.

Los fabricantes deben obtener toda la vacuna original que precisen para llevar a cabo los ensayos destinados a comprobar que, en las condiciones del laboratorio, existe una estrecha concordancia entre el comportamiento de los nuevos lotes de siembra y el de la vacuna original.

La prueba descrita en el apartado 3.5.5.1 deberá ejecutarse también por las vías de inyección intraespinal e intramuscular. En la prueba intramuscular se utilizarán las mismas diluciones de virus, en dosis de 5 ml, y el mismo número de monos que se estipulan para la prueba intratalámica. La prueba intraespinal se hará con cinco diluciones de virus de razón 10, empleando para cada una de ellas cinco monos como mínimo, a los que se inyectará 0,1 ml de la dilución correspondiente en la sustancia gris del engrosamiento lumbar de la médula espinal. Estas pruebas no deberán poner de manifiesto

ninguna diferencia apreciable entre el lote de siembra y la vacuna original.

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

Además de las precauciones generales que se indican en la sección 3 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección),<sup>1</sup> deberán adoptarse en la preparación de la vacuna antipoliomielítica oral las siguientes :

#### 3.2.1 *Monos destinados a la producción de vacuna*

Los monos se alojarán en locales especiales bien construidos. Las jaulas estarán cubiertas por todos los lados, salvo por delante.

Se recomienda no tener más de dos monos en cada jaula, colocar éstas lo más separadas que se pueda y procurar que la ventilación sea adecuada.

Los monos se distribuirán en grupos de cuarentena y los compañeros de jaula serán siempre los mismos. Por grupo de cuarentena se entiende una colonia de monos seleccionados, en buen estado de salud, mantenidos en una habitación con servicios de alimentación y limpieza independientes y aislados de los demás monos durante el período de cuarentena, que debe ser de seis semanas como mínimo.

Todos los monos estarán constantemente sometidos a vigilancia veterinaria. Cuando se observen síntomas de enfermedad en alguno de ellos, no se utilizará para la producción de vacuna a ninguno de sus compañeros del grupo en cuarentena hasta que se haya descubierto la causa de la enfermedad y demostrado que no puede perjudicar a la inocuidad de la vacuna.

Se recomienda adoptar las medidas más estrictas para reducir el riesgo de propagación de infecciones en el interior de cada grupo en cuarentena y de un grupo a otro.

La experiencia ha demostrado que los monos pueden estar infectados con *Mycobacterium tuberculosis*. Por consiguiente, deben adoptarse las medidas diagnósticas oportunas y las precauciones necesarias para la protección del personal.

Los monos sacrificados para la extirpación de los riñones serán cuidadosamente examinados por una persona experta en el diagnóstico de enfermedades símicas, que tratará de descubrir, entre otras cosas, si presentan signos de tuberculosis o de infección por virus B. Se desecharán todos los monos que presenten cualquier lesión anatómica que pueda repercutir en la utilización de sus riñones para la preparación de la vacuna,

---

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

y no se utilizará con este fin ninguno de los demás monos del mismo grupo de cuarentena hasta que no se tenga la certeza de que ello no representa ningún peligro para la inocuidad de la vacuna.

Todas las operaciones descritas en este apartado se efectuarán fuera de los locales de fabricación.

### 3.2.2 *Cultivos de células renales de mono para la producción de vacuna*

El virus usado en la preparación de la vacuna se cultivará por métodos asépticos en células renales de mono que no se hayan obtenido por propagación en serie. No se añadirá suero al medio de mantenimiento.

Pueden añadirse ciertos antibióticos en pequeñas concentraciones. Si se usa penicilina, su concentración no debe exceder de 200 unidades internacionales por ml. También pueden añadirse indicadores de pH que carezcan de efectos tóxicos, como el rojo de fenol a una concentración aproximada de 0,002 %.

Cada grupo de cultivos celulares procedente de un mismo mono se usa para obtener una sola suspensión individual y, en consecuencia, deberá prepararse y ensayarse por separado.

### 3.2.3 *Pruebas aplicables a los cultivos celulares destinados a la producción de vacuna*

El día de la inoculación con virus de siembra, se examinará cada cultivo celular para ver si presenta signos de degeneración. Si en el examen se observase algún cultivo contaminado por un virus citopático u otro agente microbiano cualquiera, ninguno de los cultivos del grupo en cuestión se utilizará para la producción de vacuna.

Una muestra de 10 ml de la mezcla de líquidos procedentes de los cultivos de células renales de cada mono y extraídos el día de la inoculación con el virus de siembra se inoculará, como se indica en el apartado 3.3.4, en cultivos de células renales de un mono de la misma especie del utilizado para la producción de vacuna, pero no de éste. Una segunda muestra de 10 ml se inoculará en cultivos de células renales de conejo. Si en esas pruebas se observa la presencia de algún agente extraño en un cultivo celular, la suspensión individual obtenida del grupo de cultivos en cuestión no se utilizará para la producción de vacuna. Cuando esta prueba no se ejecute inmediatamente, se conservarán las muestras necesarias para ella en las condiciones estipuladas en la sección 3.3.2.

Algunos autores opinan que el líquido extraído de los cultivos celulares el día de la inoculación con el virus de siembra debe ser objeto de otra prueba destinada a investigar si contiene agentes extraños: consiste ésta en inocular muestras

de 10 ml en cultivos de células amnióticas humanas y en cultivos de células renales de monos del género *Cercopithecus*. En caso de que esas pruebas demuestren la presencia de algún agente extraño, la suspensión individual del grupo de cultivos celulares en cuestión no se utilizará para la producción de vacuna.

#### 3.2.4 Pruebas aplicables a los cultivos celulares utilizados como testigos

El día de la inoculación con el virus de siembra se prepararán cultivos celulares con el 25 por 100 de la suspensión obtenida de los riñones de un solo mono, que se dejarán sin sembrar, para que sirvan como testigos. A ese efecto, se incubarán en las mismas condiciones que los cultivos inoculados, aunque prolongando la incubación durante dos semanas más como mínimo, y a lo largo de ese período se observará si presentan alteraciones citopáticas. La proporción de cultivos testigos desechados por razones accidentales inespecíficas no deberá nunca ser superior a un quinto de los preparados.

En el momento de la recolección del virus, o a lo sumo siete días después del de la inoculación con el virus de siembra, se procederá a preparar una serie de subcultivos mediante la inoculación de fracciones de 10 ml de la mezcla de suspensiones de cada grupo de cultivos testigos; dicha inoculación se hará: a) en cultivos de células renales de un mono de la misma especie del utilizado para la producción de vacuna, pero no de éste y b) en cultivos de células renales de conejo. Como testigos se dejarán los correspondientes cultivos celulares no inoculados. El período de observación será por lo menos de dos semanas para todos los cultivos, y las pruebas se efectuarán como se prescribe en los apartados 3.3.4 y 3.3.5.

Se comprobará además por adición de hematíes de cobayo que los cultivos testigo están exentos de virus sensibles a la hemadsorción.

Si con las pruebas estipuladas en esta sección se demuestra la presencia en un cultivo testigo de algún agente extraño que pueda ser patógeno para el hombre, se considerará que toda la suspensión individual obtenida del grupo de cultivos celulares en cuestión es inadecuada para la producción de la vacuna.

Al final del período de observación se examinarán los cultivos celulares utilizados como testigos para ver si presentan signos de degeneración. Si dicho examen muestra que un cultivo está contaminado con un virus citopático, se prescindirá del correspondiente grupo de cultivos en la producción de la vacuna.

En varios países se considera indispensable practicar otras pruebas complementarias para excluir la presencia de agentes extraños en la suspensión obtenida de los cultivos testigos; para ello, se inoculan muestras de 10 ml en cultivos de células amnióticas humanas y en cultivos de células renales de monos del género *Cercopithecus*. Las pruebas se repiten al final del

período de observación, de dos semanas como mínimo, en los cuatro sistemas de cultivos celulares. Sería conveniente excluir, sin excepción, todas las vacunas que contengan agentes extraños.

### 3.2.5 *Temperatura de incubación*

Durante el período comprendido entre la inoculación y la recolección del virus, los cultivos celulares no deben permanecer en ningún momento a una temperatura superior a 35°C.

## 3.3 *Inspección de las suspensiones individuales*

### 3.3.1 *Suspensión individual*

Las suspensiones de virus se recolectarán en los cuatro días siguientes a la inoculación del virus y nunca más tarde.

### 3.3.2 *Toma de muestras*

Inmediatamente después de la recolección del virus se tomarán las muestras necesarias para la inspección de las suspensiones individuales. Si las pruebas indicadas en los apartados 3.3.4, 3.3.5 y 3.3.6 no se ejecutan acto seguido, las muestras destinadas a ellas se conservarán a una temperatura inferior a -60°C.

Las cantidades de suspensión individual previstas para las pruebas estipuladas en los apartados de la sección 3.3 se basan en el supuesto de que las concentraciones de virus en las muestras en cuestión están comprendidas entre  $10^7$  DICT<sub>50</sub> y  $5 \times 10^7$  DICT<sub>50</sub> por ml.<sup>1</sup> Si esas concentraciones fuesen apreciablemente mayores, dichas cantidades se reducirían proporcionalmente, mientras que se procedería a la inversa si las concentraciones fuesen inferiores a  $10^7$  DICT<sub>50</sub> por ml.

### 3.3.3 *Pruebas de esterilidad*

En una muestra de 10 ml, o como mínimo del 0,5 % de cada suspensión individual, se practicarán las pruebas de esterilidad bacteriana y micótica estipuladas en las secciones 5.2.1.2 y 5.3.1.2 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 6 (Normas Generales de Esterilidad para las Sustancias Biológicas).<sup>2</sup>

### 3.3.4 *Pruebas aplicables a las suspensiones individuales neutralizadas*

Con sueros antipoliomielíticos específicos preparados en animales distintos del mono se neutralizará una muestra de 5 ml como mínimo de cada suspensión individual. Para la preparación de esos antisueros se usarán antígenos inmunizantes cultivados en células que no sean de mono.

<sup>1</sup> DICT<sub>50</sub> = dosis infectante 50 % en cultivo de tejidos.

<sup>2</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1960, 200.

La suspensión neutralizada se someterá a prueba en cultivos de células renales de un mono de la misma especie del utilizado para la producción de vacuna, pero no de éste.

Para ello, la suspensión neutralizada se inoculará en los frascos que contengan dichos cultivos celulares, cuidando de que la dilución de la suspensión en el medio nutritivo no sea superior a 1 : 4. La superficie de la capa celular debe ser como mínimo de 3 cm<sup>2</sup> por ml de suspensión neutralizada. Se dejará sin inocular, para que sirva de testigo, por lo menos uno de los frascos de cultivo celular, el cual se mantendrá con medio nutritivo que posea la misma concentración de suero específico utilizada para la neutralización. Los cultivos se incubarán a 37°C y se tendrán en observación durante dos semanas como mínimo. Cuando se observen alteraciones citopáticas en alguno de ellos se investigará la causa de las mismas. En caso de comprobarse que dichas alteraciones se deben a la presencia de virus poliomiélticos no neutralizados, se repetirá la prueba. Si se demuestra que las alteraciones citopáticas no son debidas a una infección vírica procedente de la suspensión individual, o si no se producen tales alteraciones, se considerará que ésta ha pasado satisfactoriamente la prueba.

Algunos autores estiman necesario ensayar además la suspensión individual neutralizada en cultivos de células renales de monos del género *Cercopithecus*, así como en cultivos de células amnióticas humanas.

### 3.3.5 Pruebas en cultivos de células renales de conejo

Una muestra de 20 ml como mínimo de cada suspensión individual se ensayará en cultivos de células renales de conejo. A ese efecto, se inoculará la muestra en los frascos que contengan dichos cultivos celulares, cuidando de que la dilución de la suspensión en el medio nutritivo no sea superior a 1 : 4. La superficie de la capa celular debe ser como mínimo de 3 cm<sup>2</sup> por ml de suspensión. Se dejará sin inocular, para que sirva de testigo, por lo menos uno de los frascos de cultivo celular. Los cultivos se incubarán a 37°C y se tendrán en observación durante dos semanas como mínimo. Cuando se observen alteraciones citopáticas en alguno de ellos se investigará la causa de las mismas. Si se demuestra que las alteraciones citopáticas no son debidas a una infección vírica procedente de la suspensión individual, o si no se producen tales alteraciones, se considerará que ésta ha pasado satisfactoriamente la prueba. Antes de iniciar la prueba, habrá que comprobar que el suero utilizado en el medio nutritivo de los cultivos de células renales de conejo está exento de inhibidores del virus B.

Si en esta prueba, o en la estipulada en el apartado 3.4.3, se demuestra la presencia de virus B, se interrumpirá la fabricación de la vacuna anti-poliomiéltica oral y no se reanudará hasta que se haya efectuado una cuidadosa investigación, se hayan adoptado las precauciones necesarias

y se haya obtenido la autorización del servicio nacional de inspección.

Sería conveniente que fuese otro laboratorio el encargado de comprobar la ausencia de inhibidores del virus B en el suero añadido al medio nutritivo utilizado en estas pruebas, a fin de evitar la manipulación de virus B en el establecimiento productor de la vacuna.

### 3.3.6 *Pruebas en animales*

Las suspensiones individuales se ensayarán en animales, como se indica en los apartados de la sección 3.4, a menos que estas pruebas se ejecuten ulteriormente con la suspensión a granel.

### 3.3.7 *Agentes conservadores y estabilizadores*

Los agentes de conservación o de estabilización que se añadan eventualmente a las suspensiones individuales o a la suspensión a granel, y las operaciones destinadas a eliminar o inactivar agentes extraños, deberán carecer de efectos perjudiciales sobre la inocuidad y la actividad de la vacuna.

Todas las pruebas descritas en las secciones 3.3 y 3.4 se practicarán en muestras tomadas antes de la adición de agentes de conservación o de estabilización.

## 3.4 *Inspección de la suspensión a granel antes de la filtración*

### 3.4.1 *Suspensión a granel*

La suspensión a granel se preparará mezclando varias suspensiones individuales del mismo tipo de virus.

### 3.4.2 *Toma de muestras*

Las muestras destinadas al ensayo de la suspensión a granel antes de la filtración se tomarán inmediatamente después de preparar dicha suspensión. Si las pruebas indicadas en los apartados 3.4.3, 3.4.4, 3.4.5 y 3.4.6 destinadas a excluir la presencia de microorganismos extraños no se ejecutan acto seguido, las muestras correspondientes se conservarán a una temperatura inferior a  $-60^{\circ}\text{C}$ . Las cantidades de suspensión a granel previstas para las pruebas estipuladas en dichos apartados se basan en el supuesto de que las concentraciones de virus en las muestras en cuestión están comprendidas entre  $10^7$  DICT<sub>50</sub> y  $5 \times 10^7$  DICT<sub>50</sub> por ml. Si esas concentraciones fuesen apreciablemente mayores, los volúmenes totales de las muestras sin diluir se reducirían proporcionalmente, pero sin disminuir el número total de animales necesarios para estas pruebas. Si la concentración fuese inferior a  $10^7$  DICT<sub>50</sub> por ml, se aumentarán proporcionalmente los volúmenes totales utilizados para las pruebas.

La suspensión a granel se someterá a todas las pruebas indicadas en los apartados de la sección 3.4, a excepción de aquellas que hayan sido practicadas anteriormente con muestras proporcionales de cada una de las suspensiones individuales que componen la suspensión a granel (véase el apartado 3.3.6).

El fabricante cuidará de conservar la esterilidad bacteriana y micótica de la vacuna durante todas las fases de la fabricación, y de comprobar su persistencia mediante las pruebas apropiadas.

#### 3.4.3 *Pruebas en el conejo*

Para excluir la presencia de virus B, se inyectará una muestra de 100 ml de la suspensión a granel a 10 conejos, por lo menos cuyo peso esté comprendido entre 1,5 y 2,5 kg. Cada conejo recibirá, en puntos diferentes, a lo sumo 10 ml de la suspensión a granel, 1 ml de los cuales se inyectará por vía intradérmica, y los restantes por vía subcutánea. Los conejos se tendrán en observación durante 4 semanas como mínimo; al cabo de ese período deberá sobrevivir por lo menos el 80 % de los animales. Si algún conejo muere o presenta síntomas de enfermedad se investigará la causa de ello, y en caso de no obtenerse una explicación satisfactoria, se repetirá la prueba. Si se demuestra que la muerte o la enfermedad no han sido debidas a una enfermedad vírica procedente de la suspensión a granel, o si ninguno de los conejos muere ni presenta síntomas patológicos, se considerará que dicha suspensión ha pasado satisfactoriamente la prueba. En caso de que la muerte se deba al virus B, se adoptarán las medidas indicadas en el apartado 3.3.5.

#### 3.4.4 *Prueba en el ratón adulto*

La suspensión a granel se ensayará como mínimo en 20 ratones adultos de peso comprendido entre 15 y 25 g; a cada uno de ellos se le inyectarán 0,03 ml de la suspensión por vía intracerebral y por lo menos 0,5 ml por vía intraperitoneal. Los ratones se tendrán en observación durante 3 semanas, al cabo de las cuales debe sobrevivir el 80 % de ellos como mínimo. Si algún ratón muere después de las primeras 24 horas se investigará la causa de la muerte, y en caso de no obtenerse una explicación satisfactoria, se repetirá la prueba. Si se demuestra que la muerte no ha sido debida a una infección vírica procedente de la suspensión a granel, o si no muere ningún ratón, se considerará que dicha suspensión ha pasado satisfactoriamente la prueba.

Si la cepa vacunal de virus poliomiélfítico es patógena para el ratón, quizá sea necesario neutralizar con suero antipoliomiélfítico la muestra de la suspensión a granel empleada en esta prueba.

### 3.4.5 Prueba en el ratón lactante

La suspensión a granel se ensayará como mínimo en 10 ratones de menos de 24 horas de edad, a cada uno de los cuales se le inyectarán 0,01 ml de la suspensión por vía intracerebral y por lo menos 0,1 ml por vía intraperitoneal. Los ratones se tendrán en observación durante 2 semanas, al cabo de las cuales deberá sobrevivir el 80 % de ellos como mínimo. Si algún ratón muere después de las primeras 24 horas, se investigará la causa de la muerte, y en caso de no obtenerse una explicación satisfactoria, se repetirá la prueba. Si se demuestra que la muerte no ha sido debida a una infección vírica procedente de la suspensión a granel, o si no muere ningún ratón después de las 24 horas, se considerará que dicha suspensión ha pasado satisfactoriamente la prueba.

Si la cepa vacunal de virus poliomiélico es patógena para el ratón, quizá sea necesario neutralizar con suero antipoliomiélico la muestra de la suspensión a granel empleada en esta prueba.

### 3.4.6 Prueba en el cobayo

La suspensión a granel se ensayará como mínimo en 5 cobayos de peso comprendido entre 300 y 500 g, a cada uno de los cuales se le inyectarán por lo menos 5 ml de la suspensión por vía intraperitoneal. Los cobayos se tendrán en observación durante 6 semanas, al cabo de las cuales deberá sobrevivir el 80 % de ellos como mínimo. Todos los animales, tanto los muertos como los supervivientes al final del periodo de observación, se examinarán para ver si presentan signos de infección por virus o por *Myco. tuberculosis*. Si se descubre una infección por virus o por *Myco. tuberculosis* procedente de la suspensión a granel, se desechará ésta. En caso de que muera algún cobayo durante el periodo de observación y no se explique satisfactoriamente la causa de su muerte, se repetirá la prueba.

Muchos autores son partidarios de una prueba más sensible para descubrir el *Myco. tuberculosis* y, en ese sentido, recomiendan emplear el depósito obtenido centrifugando un gran volumen de la suspensión a granel diluido en una pequeña cantidad de suero salino fisiológico o del líquido sobrenadante.

Durante el periodo de observación, se registrará a diario la temperatura de los cobayos.

Algunos autores administran también al cobayo en esta prueba una inyección intracerebral de 0,1 ml de la muestra.

## 3.5 Inspección de la suspensión a granel después de la filtración

### 3.5.1 Filtración de la suspensión a granel

La suspensión a granel se pasará a través de un filtro de poros suficientemente pequeños para retener las bacterias y otros microorganismos relativamente grandes.

### 3.5.2 *Toma de muestras de la suspensión a granel filtrada*

Inmediatamente después de la filtración se tomarán muestras de la suspensión, que se conservarán a una temperatura inferior a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de practicar las pruebas indicadas en los apartados siguientes.

### 3.5.3 *Prueba de identificación*

El tipo del virus poliomiéltico contenido en la suspensión a granel filtrada será identificado por métodos serológicos.

Como ya se ha señalado en la sección 1.3, pueden obtenerse preparaciones internacionales de referencia de sueros anti-poliomiélticos de los tipos 1, 2 y 3.

### 3.5.4 *Concentración del virus*

La determinación de la cantidad de virus poliomiéltico infectante que existe en un ml de la suspensión a granel filtrada se efectuará en cultivos celulares; el resultado obtenido se expresará en UFP<sup>1</sup> por ml o en  $\text{DICT}_{50}$  por ml por comparación con la concentración vírica de una preparación de referencia conocida del mismo tipo de virus poliomiéltico. La determinación del número de UFP por ml se basará en el recuento total de un mínimo de 100 placas claramente definidas, observadas por lo menos en 5 capas celulares diferentes. La determinación del número de  $\text{DICT}_{50}$  se hará por medio de diluciones de razón 10, usando 10 tubos por dilución, o por cualquier otro sistema de diluciones y tubos que ofrezca la misma precisión.

No se dispone todavía de preparaciones internacionales de referencia de virus poliomiélticos para la valoración de las suspensiones de virus. En espera de que se establezcan estas preparaciones internacionales de referencia, se recomienda que los laboratorios nacionales de inspección proporcionen a los fabricantes preparaciones de virus de referencia.

### 3.5.5 *Pruebas para verificar la constancia de la calidad de la vacuna*

El virus poliomiéltico de la suspensión a granel filtrada se someterá a las pruebas comparativas con el virus de siembra indicadas en los apartados siguientes, a fin de verificar alguna de sus características.

Tienen por objeto estas pruebas cerciorarse de que el virus no ha sufrido modificaciones en el curso de su multiplicación durante la preparación de la vacuna. Puesto que el virus de siembra puede ser una vacuna original o un lote de siembra controlado por comparación con una vacuna original, estas pruebas también permiten comprobar si el virus de la vacuna preparada posee las mismas características que el de la vacuna

---

<sup>1</sup> UFP = unidad de formación de placa.

original, cuya inocuidad y eficacia en el hombre deben estar perfectamente establecidas.

Las pruebas en el mono servirán también para investigar la posible contaminación con virus poliomiélicos salvajes.

#### 3.5.5.1 *Pruebas en el mono*

La patogenicidad de la suspensión a granel para los monos de los géneros *Macaca* o *Cercopithecus* se determinará por comparación con la del virus de siembra mediante inyección intratálamica, una vez comprobado que los monos carecen de anticuerpos para los tres tipos de virus poliomiélicos. El volumen de la suspensión a granel filtrada se ajustará a una concentración de virus de  $10^7$  DICT<sub>50</sub> por ml como mínimo. Se inyectarán 0,5 ml de la suspensión en el tálamo de cada hemisferio de 10 monos por lo menos, y se practicará una inyección semejante, pero con suspensión diluida a 1 : 10, a otros tantos animales.

El volumen del virus de siembra se ajustará también a una concentración de  $10^7$  DICT<sub>50</sub> por ml y se procederá como anteriormente con otros dos grupos de 10 monos. Durante 18 días por lo menos se tendrán todos los animales bajo observación de personas competentes, que registrarán todos los síntomas indicativos de poliomiélitis o de otras infecciones víricas. El 80 % como mínimo de los animales de cada grupo debe sobrevivir al final del periodo de observación; una vez concluido éste, se efectuarán exámenes histológicos de los segmentos lumbar y cervical de la médula, de las partes inferior y superior del bulbo, y del mesencéfalo de cada mono. No se tendrá en cuenta la ausencia de alteraciones histológicas en los monos que presenten indicios de haber sido inyectados de una manera defectuosa.

Se considerará que la suspensión de virus filtrada ha pasado satisfactoriamente esta prueba si las observaciones clínicas e histológicas no revelan diferencias de importancia entre el virus de la suspensión y el virus de siembra.

No hay todavía suficientes datos experimentales para establecer el margen de seguridad de la prueba descrita en este apartado. La interpretación de los resultados obtenidos en ella requiere, por lo tanto evaluar con ponderación la información disponible.

Algunos autores recomiendan que además de las pruebas antedichas, la suspensión a granel filtrada se ensaye comparativamente con el virus de siembra mediante inyección al mono por las vías intramuscular e intraespinal, según lo indicado en la sección 3.1.4.

#### 3.5.5.2 *Pruebas in vitro*

La capacidad de reproducción del virus poliomiélico de la suspensión a granel filtrada se determinará a las temperaturas de 36°C y de 40°C (marcador crt/40) por comparación con la del virus de siembra y con la

de cepas de referencia apropiadas de virus poliomiélfítico del mismo tipo.

Es conveniente que los laboratorios nacionales de inspección proporcionen virus de referencia para esta prueba.

Las temperaturas de incubación deben estar rigurosamente reguladas durante la prueba.

Se considerará que la suspensión a granel ha pasado satisfactoriamente la prueba si tanto la concentración del virus contenido en ella como la del virus de siembra dan a 36°C una cifra 100.000 veces mayor por lo menos que a 40°C. Si las concentraciones obtenidas para los virus de referencia no coinciden con las previstas, se repetirá la prueba.

Se recomienda con el mayor interés a los fabricantes que practiquen por lo menos otra prueba con un marcador genético, en previsión de que pueda ocurrir una modificación genética imposible de descubrir únicamente por la prueba del marcador crt/40. Las otras pruebas con marcadores utilizadas corrientemente se basan: *a*) en el estudio del carácter antigénico de la cepa, *b*) en la sensibilidad de la reproducción a diferentes concentraciones de bicarbonato sódico (marcador *d*), y *c*) en la capacidad de reproducción en tejidos de distinto origen, como la llamada estirpe símica estable (marcador *MS*).

### 3.6 *El producto acabado a granel*

El producto acabado a granel puede consistir en una suspensión a granel filtrada, en una mezcla de varias suspensiones de esta clase o en una dilución de dicha suspensión o mezcla. Las operaciones necesarias para la preparación del producto acabado a granel se efectuarán con las precauciones necesarias para evitar su contaminación.

#### 3.6.1 *Prueba de esterilidad del producto acabado a granel*

El producto acabado a granel deberá pasar satisfactoriamente las pruebas de esterilidad bacteriana y micótica establecidas en la sección 5 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 6 (Normas Generales de Esterilidad para las Sustancias Biológicas).<sup>1</sup>

#### 3.6.2 *Prueba para excluir la presencia del agente vacuolizador o virus símico 40 (SV40)*

Una muestra de 5 ml como mínimo del producto acabado a granel se someterá a la prueba que a continuación se indica, a fin de excluir la presencia del agente vacuolizador (SV40), a menos que todos los componentes de dicho producto hayan pasado satisfactoriamente esta prueba en una fase anterior de la fabricación.

<sup>1</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1960, 200.

La muestra no deberá contener ningún aditivo capaz de perturbar el desarrollo del agente vacuolizador (SV40) en los cultivos de tejidos, por lo que, si alguno ha sido empleado en la preparación, habrá que eliminarlo por completo.

La muestra se neutralizará con sueros antipoliomielíticos específicos en los que se haya comprobado que no existen anticuerpos neutralizantes del agente vacuolizador (SV40).

La muestra neutralizada se ensayará en cultivos de células renales de monos del género *Cercopithecus*, con arreglo a la técnica y a los criterios de aceptación expuestos en la sección 3.3.4.

#### **4. Envase y recipientes**

La vacuna envasada en forma líquida deberá satisfacer los requisitos relativos al envase y a los recipientes establecidos 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> La vacuna incorporada a un medio sólido, como caramelos u otras golosinas, se preparará de conformidad con las normas que regulan la producción de tabletas y cápsulas en la industria farmacéutica.

#### **5. Inspección del lote final**

Se tomarán muestras de cada lote final para someterlas a las pruebas indicadas en los apartados siguientes :

##### *5.1 Prueba de identificación*

El tipo o los tipos de los virus poliomiélicos se identificarán mediante pruebas serológicas.

##### *5.2 Titulación del virus*

La determinación del título de virus poliomiélico se efectuará como se indica en la sección 3.5.4.

##### *5.3 Prueba de esterilidad*

De cada lote final de vacuna líquida se tomarán muestras para someterlas a las pruebas de esterilidad bacteriana y micótica estipuladas en la sección 5 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 6 (Normas Generales de Esterilidad para las Sustancias Biológicas).<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1960, 200.

#### 5.4 Pruebas de inocuidad

La inocuidad de cada lote final se verificará mediante pruebas basadas en la inyección parenteral de la vacuna al ratón, al cobayo y al conejo.

### 6. Registros

Además de los requisitos enunciados en la sección 6 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección),<sup>1</sup> se observarán los siguientes:

Se llevará un registro de todos los lotes de siembra, cultivos celulares destinados a la producción de vacunas, suspensiones individuales, suspensión a granel y vacunas acabadas y envasadas que haya preparado el establecimiento productor, así como de todas las pruebas practicadas, cualquiera que haya sido su resultado; los registros se llevarán con arreglo a un modelo aprobado al efecto por el servicio nacional de inspección.

### 7. Muestras

Se observarán los requisitos establecidos en la sección 7 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas N° 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección).<sup>2</sup>

### 8. Rotulación

En los rótulos impresos directamente sobre los envases, 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 poliomyelitides perorale, Typus I, II, III » (según el tipo o tipos usados), la denominación común del producto, o ambas cosas;
- el número del lote final;
- la dosis recomendada para el hombre;
- la temperatura a que debe conservarse el producto y la fecha de caducidad cuando se conserva a esa temperatura o a otra inferior;
- la indicación de que la vacuna está destinada exclusivamente a la administración por vía oral.

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

<sup>2</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, **178**, anexo 1.

La especificación relativa a la dosis recomendada para el hombre se someterá a la aprobación del servicio nacional de inspección.

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:

Designación de la cepa o cepas de virus poliomiélicos contenidas en la vacuna;

declaración de que la vacuna reúne las condiciones estipuladas en el presente documento;

declaración de que la vacuna ha sido preparada en tejido renal de mono;

naturaleza y cantidad de los agentes de estabilización y de conservación añadidos a la vacuna;

naturaleza y cantidad de los antibióticos empleados en la preparación de la vacuna;

cantidad de virus de cada tipo contenida en la dosis recomendada para el hombre (dato basado en la titulación del virus estipulada en la sección 5.2);

condiciones en que ha de almacenarse y expedirse la vacuna y las alteraciones que puede sufrir si se la conserva a temperaturas superiores a las que se indiquen en la etiqueta.

## 9. Distribución y expedición

Se observarán los requisitos establecidos en la sección 9 de la Parte A de las Normas para las Sustancias Biológicas Nº 1 (Normas Generales para Fábricas y Laboratorios de Inspección).<sup>1</sup>

## 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 de este documento, deben figurar en las etiquetas y en los prospectos, estarán basadas en pruebas experimentales y se someterán a la aprobación del servicio nacional 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

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

almacenes o depósitos de vacunas, todas las vacunas deberán conservarse a una temperatura constantemente inferior a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Se tomarán las precauciones necesarias para que durante el transporte la vacuna se conserve a una temperatura inferior a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

La vacuna líquida, una vez descongelada para su empleo, puede conservarse en condiciones satisfactorias hasta 7 días si la temperatura está comprendida entre  $+2^{\circ}\text{C}$  y  $+10^{\circ}\text{C}$ .

Se ha demostrado que la vacuna incorporada a caramelos y otras golosinas se conserva satisfactoriamente durante 30 días por lo menos si se conserva a  $+4^{\circ}\text{C}$ , y durante 5 días por lo menos si se conserva a la temperatura ambiente.

## 10.2 Fecha de caducidad

La fecha de caducidad de la vacuna no será posterior en más de dos años a la fecha en que se haya practicado la última titulación del virus en la forma descrita en la sección 5.2, siempre que la vacuna se haya conservado constantemente a una temperatura inferior a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Una vez expedida por el fabricante, la fecha de caducidad no será posterior en más de un año a la fecha de expedición, siempre que la vacuna se almacene a menos de  $0^{\circ}\text{C}$ .

## 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>

El servicio nacional de inspección dará instrucciones a los establecimientos preparadores en relación con las cepas de virus poliomielíticos que han de usar y con la dosis recomendada para el hombre.

#### 1.1 Cepas de virus<sup>2</sup>

En la producción de vacuna antipoliomielítica oral se utilizarán cepas que hayan demostrado su idoneidad para dar vacunas dotadas de actividad inmunógena y exentas de efectos nocivos al ser administradas por vía oral a niños y a adultos susceptibles.

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

<sup>2</sup> En el tercer informe del Comité de Expertos en Poliomielitis (*Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1960, **203**) se hace un análisis más detallado de las cuestiones tratadas en esta sección. En la *Scientific publication* N° 44 (1959) y en la N° 50 (1960) editadas por la Organización Panamericana de la Salud, pueden encontrarse muchos datos fundamentales en relación con esa cuestión.

Son varias las cepas atenuadas<sup>1</sup> obtenidas por varios investigadores con esa finalidad en los últimos años. En el siguiente cuadro figuran las que han sido ensayadas en el hombre en campañas de vacunación de gran amplitud.

	A. B. Sabin	H. Koprowski	H. R. Cox
Tipo 1	L. Sc. 2ab	Wistar-Chat	Lederle SM
Tipo 2	P712 Ch 2ab	—	Lederle MEF
Tipo 3	Leon 12ab	Wistar-Fox	Lederle Fox

Se recomienda a los servicios nacionales de inspección que deseen emprender la producción de vacuna antipoliomielítica oral que reúnan todos los datos disponibles sobre las propiedades de las cepas que se propongan utilizar. Los datos relativos a cada cepa deben permitir apreciar: *a)* la experiencia adquirida en las investigaciones sobre el terreno y en las campañas de vacunación tanto en relación con la ausencia de efectos nocivos cuando la vacuna se administra a niños y a adultos susceptibles como en lo que se refiere a la eficacia inmunógena de la cepa, determinada por la comprobación de que ésta, administrada en forma de vacuna monovalente, provoca una multiplicación del virus en el intestino e induce la formación de anticuerpos, así como por las pruebas de la eficacia epidemiológica de la vacuna; *b)* la estabilidad genética de la cepa al pasar por el hombre, determinada mediante pruebas practicadas con virus procedentes de personas vacunadas y de sus contactos; *c)* la aptitud de la cepa para propagarse de las personas vacunadas a las no vacunadas; *d)* el grado de viremia durante la primera semana que sigue a la administración oral; *e)* la neuropatogenicidad de la cepa para el mono, estudiada mediante inyección periférica y mediante inyección directa en el sistema nervioso central; y *f)* los marcadores genéticos de la cepa.

No ignora el Grupo de Estudio que puede ser necesario aceptar una determinada cepa aun cuando no todos los datos relativos a los extremos citados sean igualmente favorables. El criterio decisivo al hacer la elección

<sup>1</sup> Las solicitudes para la obtención de esas cepas pueden dirigirse directamente, o a través de la Organización Mundial de la Salud, al Dr. A. B. Sabin, Children's Hospital, Research Foundation, Cincinnati, Ohio, Estados Unidos de América, o al Dr. H. Koprowski, Wistar Institute, Philadelphia, Pennsylvania, Estados Unidos de América.

debe ser, sin embargo, la demostración inequívoca de que la cepa es inocua y eficaz para el hombre. Las cepas elegidas deben poseer además caracteres que se puedan apreciar con gran seguridad mediante pruebas de laboratorio, a fin de facilitar el establecimiento de un sistema adecuado de inspección de la vacuna en el laboratorio.

### 1.2 *Dosis para el hombre*

La cantidad de virus poliomiélico que debe contener una dosis humana dependerá de la cepa en cuestión y de las condiciones de administración de la vacuna. La elección de dosis para las campañas de vacunación se hará en función de que haya o no una epidemia, de que la vacuna vaya a administrarse en dosis monovalentes repetidas o en forma polivalente, así como de la edad de las personas vacunadas y de lo frecuentes que sean los virus perturbadores.

En el caso de las cepas utilizadas corrientemente se ha comprobado que una dosis comprendida entre 50 000 y un millón de  $DICT_{50}$  ó de UFP resulta adecuada y, que, en las condiciones óptimas, provoca una respuesta inmunitaria demostrable en más del 90 % de las personas susceptibles y exentas de anticuerpos.

## 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 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 determinación de la concentración del virus 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 son inocuas y eficaces.

---

**ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD**  
**SERIE DE INFORMES TECNICOS**

Nº	Informes recientes y en preparación :	Precio		
		s.d.	\$	Fr. s.
215	(1961) <b>La planificación de los servicios de salud pública</b> Cuarto informe del Comité de Expertos en Administración Sanitaria (53 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
216	(1961) <b>Normas recomendadas para las escuelas de sanidad</b> Décimo informe del Comité de Expertos en Formación Profesional y Técnico del Personal Médico y Auxiliar . . . . .	1/9	0,30	1,—
217	(1961) <b>La insuficiencia ponderal del recién nacido desde el punto de vista sanitario</b> Tercer informe del Comité de Expertos en Higiene Materno-infantil (19 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
218	(1961) <b>Comité de Expertos en Estadística Sanitaria</b> Séptimo informe (31 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
219	(1961) <b>Virus transmitidos por artrópodos</b> Informe de un Grupo de Estudio (79 páginas) . . . . .	5/-	1,00	3,—
220	(1961) <b>Evaluación de la acción carcinógena de los aditivos alimentarios</b> Quinto informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios . . . . .	3/6	0,60	2,—
221	(1961) <b>Reunión científica sobre la rehabilitación de los leprosos</b> Informe (40 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
222	(1961) <b>Comité de Expertos en Patrones Biológicos</b> 14º informe (54 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
223	(1961) <b>Preparación de programas de higiene mental</b> 10º informe del Comité de Expertos en Salud Mental (64 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
224	(1961) <b>Comité Mixto OIT-OMS de Higiene de los Marinos</b> Tercer informe (14 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
225	(1961) <b>Comité de Expertos en Higiene de la Vivienda</b> Primer Informe (65 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
226	(1961) <b>Quimioterapia del paludismo</b> Informe de una reunión técnica (100 páginas) . . . . .	5/-	1,00	3,—
227	(1962) <b>Toxicidad de los plaguicidas para el hombre</b> 12º informe del Comité de Expertos en Insecticidas (36 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
228	(1962) <b>Evaluación de la toxicidad de diversas sustancias antimicrobianas y antioxidantes</b> 6º informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios . . . . .			<i>En preparación</i>
229	(1962) <b>Comité de Expertos en Drogas Toxicomanígenas</b> 12º informe (16 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
230	(1962) <b>Necesidades de Calcio</b> Informe de un Grupo Mixto FAO/OMS de Expertos (56 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
231	(1962) <b>Hipertensión arterial y cardiopatía isquémica: Problema de prevención</b> Informe de un Comité de Expertos (30 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
232	(1962) <b>Quimioterapia del Cáncer</b> Primer informe de un Comité de Expertos (55 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
233	(1962) <b>Comité de Expertos en Filariasis (Infecciones por Wuchereria y por Brugia)</b> Informe (53 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—