

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 327

EMPLEO DE LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS

Informe de un Comité de Expertos de la OMS

	Página
1. Introducción	3
2. Terminología	4
3. Heterogeneidad de los anticuerpos y de las inmunoglobulinas	5
4. Métodos de preparación de concentrados de inmunoglobulinas	8
4.1 Preparados intravenosos	10
4.2 Aislamiento de anticuerpos	11
5. Obtención del plasma para la preparación de inmunoglobulinas	12
6. Utilización clínica de las inmunoglobulinas humanas	14
7. Normas aplicables a las inmunoglobulinas humanas	27
8. Recomendaciones	28

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

GINEBRA

1966

COMITE DE EXPERTOS DE LA OMS EN EL EMPLEO DE LAS
INMUNOGLOBULINAS HUMANAS

Ginebra, 7-13 de septiembre de 1965

*Miembros: **

- Profesor J. C. Edozien, Department of Chemical Pathology, University College, Ibadán, Nigeria
- Dr. A. Hässig, Directeur, Service de Transfusion, Croix-Rouge suisse, Berna, Suiza (*Vicepresidente*)
- Profesor E. A. Kabat, Columbia-Presbyterian Medical Center, Nueva York, Estados Unidos de América
- Dr. S. Krugman, Chairman, Department of Pediatrics, New York University School of Medicine, Nueva York, Estados Unidos de América (*Relator*)
- Dr. J. J. van Loghem, Servicio de Transfusión Sanguínea, Laboratorio Central de la Cruz Roja Neerlandesa, Amsterdam, Países Bajos (*Presidente*)
- Dr. W. d'A. Maycock, The Lister Institute of Preventive Medicine, Elstree, Herts., Inglaterra
- Profesor M. Raynaud, Service d'immunochimie, Institut Pasteur, Annexe de Garches, Seine-et-Oise, Francia

Secretaría:

- Dr. H. G. Billaudelle, Servicio de Investigaciones Bacteriológicas, Laboratorio Nacional de Bacteriología, Estocolmo, Suecia (*Consultor*)
- Dr. H. H. Cohen, Instituto Nacional de Salud Pública, Utrech, Países Bajos (*Consultor*)
- Dr. J. Johanovsky, Instituto de Sueros y de Vacunas, Praga, Checoslovaquia (*Consultor*)
- Dr. R. B. Pennell, The Protein Foundation, Jamaica Plain, Mass., Estados Unidos de América (*Consultor*)
- Dr. J. W. G. Smith, Department of Bacteriology, The Radcliffe Infirmary, Oxford, Inglaterra (*Consultor*)
- Dr. Z. Trnka, Servicio de Inmunología, OMS, Ginebra (*Secretario*)

* El Dr. E. A. Paktoris, Departamento Clínico del Instituto de Virología, Academia de Ciencias Médicas de la URSS, Moscú, URSS, no pudo asistir a la reunión.

© Organización Mundial de la Salud 1966

Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están acogidas a la protección prevista por las disposiciones sobre reproducción de originales del Protocolo 2 de la Convención Universal sobre Derecho de Autor. Ello no obstante, los organismos gubernamentales, las sociedades culturales y científicas y las asociaciones profesionales pueden reproducir ilustraciones, datos o extractos de esas publicaciones sin necesidad de pedir autorización a la Organización Mundial de la Salud.

Las entidades interesadas en reproducir o traducir íntegramente alguna publicación de la OMS deberán solicitar la oportuna autorización de la División de Servicios de Edición y de Documentación, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. La Organización Mundial de la Salud dará a esas solicitudes consideración muy favorable.

PRINTED IN FRANCE

EMPLEO DE LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS

Informe de un Comité de Expertos de la OMS

El Comité de Expertos de la OMS en el Empleo de las Inmunoglobulinas Humanas se reunió en Ginebra del 7 al 13 de septiembre de 1965. El Dr. P. Dorolle, Director General Adjunto, abrió la reunión en nombre del Director General y explicó que la misión del Comité de Expertos sería estudiar los problemas que plantea el empleo creciente de las inmunoglobulinas humanas, examinar la situación actual, evaluar las necesidades previsibles, asesorar sobre las investigaciones más necesarias y formular recomendaciones sobre las prácticas actuales. El Comité nombró Presidente al Dr. J. J. van Loghem, Vicepresidente al Dr. A. Hässig y Relator al Dr. S. Krugman.

1. INTRODUCCION

Los preparados de gammaglobulina humana se vienen usando para prevenir diversas enfermedades infecciosas desde hace unos veinte años, a raíz de una serie de estudios en los que se vio que las preparaciones originales de gammaglobulina contenían una gran variedad de anticuerpos. Hacia 1945 se observó que esas preparaciones eran eficaces para prevenir o atenuar el sarampión y la hepatitis infecciosa. Además, por fraccionamiento del plasma obtenido de sujetos especialmente inmunizados se han conseguido preparados de gammaglobulina con títulos elevados de determinados anticuerpos.

Durante los dos últimos veinte años se han venido empleando cada vez más las gammaglobulinas de origen humano, principalmente con los tres fines siguientes :

- 1) profilaxis de determinadas virosis como el sarampión, la hepatitis infecciosa y la rubéola;
- 2) profilaxis y terapéutica del tétanos y de otras enfermedades, con objeto de evitar los inconvenientes de las preparaciones de sueros heterólogos;

3) tratamiento de los síndromes de escasez de anticuerpos, a fin de prevenir las infecciones bacterianas recurrentes.

Es posible que en el porvenir, tanto las necesidades como las aplicaciones de la gammaglobulina humana cambien considerablemente. La aparición y el empleo de vacunas inocuas y eficaces reducirá las indicaciones de la inmunización pasiva. Los resultados de los modernos estudios sobre la eficacia de la gammaglobulina en la profilaxis y el tratamiento de diversas enfermedades pueden tener profundas repercusiones prácticas, al aumentar en unos sectores y reducir en otros la demanda de ese producto.

2. TERMINOLOGIA

El Comité no ignora que la terminología empleada varía de unos países a otros y que las denominaciones en uso difieren considerablemente de las recomendadas en la nomenclatura de las inmunoglobulinas humanas publicada por la OMS.¹ Como esta nomenclatura ha tenido bastante aceptación, el Comité considera que deben emplearse las denominaciones siguientes :

El término genérico será « *inmunoglobulina humana* » (*immunoglobulinum humanum*).²

Las preparaciones hechas a partir de una mezcla cualquiera de plasma humano se designarán por la expresión « *inmunoglobulina humana normal* » (*immunoglobulinum humanum normale*),² denominación que corresponde a las previamente usadas, por ejemplo « gammaglobulina », « gammaglobulina normal » o « seroglobulina inmune ».

Las preparaciones que contienen cantidades especificadas de determinados anticuerpos se designarán por la expresión « *inmunoglobulina humana anti-* » (*immunoglobulinum humanum anti-*)² seguida del nombre del antígeno de que se trate (x). Esta regla se aplica a las preparaciones antes conocidas por el nombre de « gammaglobulina hiperinmune » o « de convaleciente ». Las inmunoglobulinas humanas anti-(x) se pueden preparar con plasma de convalecientes o de donantes inmunizados o bien de alguna otra fuente de plasma rico en anticuerpos. Este grupo de globulinas se puede designar con la expresión general de « *inmunoglobulinas humanas específicas* ».

¹ Bull. Org. mond. Santé — Bull. Wld Hlth Org., 1964, 30, 447-450.

² Esta terminología podría modificarse si se consiguiesen preparaciones de determinadas fracciones inmunoglobulínicas : v.g., inmunoglobulina humana (γ M) anti-(x).

3. HETEROGENEIDAD DE LOS ANTICUERPOS Y DE LAS INMUNOGLOBULINAS

El estudio inmunoquímico de los anticuerpos humanos ha mostrado que éstos pueden estar constituidos por uno cualquiera o por la totalidad de los tres tipos de proteínas séricas denominados inmunoglobulinas γG , γM y γA .¹ Aunque recientemente se ha descrito un cuarto tipo, la inmunoglobulina γD , por ahora no se han descubierto anticuerpos relacionados con él. Ninguno de estos tipos de inmunoglobulinas constituye una población homogénea de moléculas idénticas sino que cada uno de ellos está formado por una gran población de moléculas que difieren en sus propiedades físicas, químicas, inmunológicas y biológicas. Mientras que en esas tres clases de inmunoglobulinas se encuentran anticuerpos de especificidad conocida, en el suero normal hay cantidades importantes de inmunoglobulinas que no parecen ejercer funciones de anticuerpo. Mediante la inmunización intensiva, especialmente en animales, se pueden formar anticuerpos en cantidades tales que llegan a constituir una proporción considerable de cualquiera de las tres clases mencionadas de inmunoglobulinas.

La inmunoglobulina γG , que abunda sobre todo en el suero (aproximadamente 1 g/100 ml), está formada por cuatro cadenas de polipéptidos (dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras también idénticas), en las que puede escindirse por reducción de algunos de sus enlaces disulfuro con mercaptoetanol. Las cadenas ligeras y pesadas se pueden separar fácilmente por cromatografía en solución ácida. Se ha comprobado que las cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina γG pueden volverse a combinar con recuperación de sus propiedades físicas y químicas originales. También las inmunoglobulinas de los tipos γA y γM pueden escindirse por reducción de los enlaces disulfuro; sin embargo, los productos de esta ruptura no se han estudiado con tanto detalle.

En las inmunoglobulinas γG , γM y γA se han identificado muchos factores independientes de heterogeneidad. Los tres tipos tienen un espectro de movilidad inmunolectroforética muy amplio. Las distintas moléculas γG difieren entre sí por la movilidad de sus cadenas ligeras en la electroforesis en gel de almidón con mercaptoetanol-urea a pH alcalino; de esta forma se han podido distinguir 10 bandas diferentes de cadenas ligeras. En cambio, las proteínas γG mielomatosas obtenidas del suero de enfermos con macroglobulinemia de Waldenström han resultado mucho más homogéneas, con movilidades electroforéticas más próximas entre sí, y en general se disponen en una sola banda muy neta que comprende

¹ *Bull. Org. mond. Santé - Bull. Wld Hlth Org.*, 1964, 30, 447-450.

sus cadenas ligeras; así, pues, es muy posible que sean el producto de una sola clona de células neoplásicas.

Las proteínas de Bence-Jones no sólo difieren de unos enfermos a otros por su movilidad sino también por su especificidad antigénica. Los antisueros de conejo contra las distintas proteínas de Bence-Jones se pueden clasificar en dos grandes grupos, denominados K y L, que poseen distintos determinantes antigénicos. La proteína mielomatosa y la proteína de Bence-Jones de una misma persona son siempre del tipo K o siempre del tipo L, pero nunca de ambos a la vez. En las tres clases de inmunoglobulinas se encuentran cadenas ligeras de los tipos K y L. Hay asimismo indicios de que existe un tercer tipo antigénico de cadena ligera. Se ha demostrado que las proteínas de Bence-Jones de los enfermos de mieloma o macroglobulinemia son del mismo tipo que las cadenas ligeras de la proteína mielomatosa o de las macroglobulinas del mismo enfermo, de las que químicamente parecen ser cadenas ligeras o dímeros.

La mayor parte de los anticuerpos purificados de los tres tipos principales de inmunoglobulinas pueden asimismo aparecer en forma de inmunoglobulinas con cadenas ligeras κ o λ . No obstante, ciertos anticuerpos como las crioaglutininas γ M específicas del grupo sanguíneo I, sólo tienen cadenas ligeras κ .

Valiéndose de antisueros preparados contra distintas globulinas mielomatosas y convenientemente absorbidos, se han podido diferenciar en las inmunoglobulinas γ G cuatro tipos de cadenas pesadas que parecen diferir en ciertas propiedades biológicas, por ejemplo la capacidad de fijarse a la piel del cobayo para producir una anafilaxia cutánea pasiva e inversa.

Otro de los factores de heterogeneidad es la presencia en ciertas moléculas de inmunoglobulinas de diversos determinantes antigénicos alotípicos, entre ellos los factores Gm e Inv,¹ cuya aparición obedece a las clásicas leyes de la herencia mendeliana. El factor Gm se asocia a la cadena pesada de la globulina γ G, mientras que el Inv puede aparecer en las cadenas ligeras de toda clase de inmunoglobulinas. Los anticuerpos y las globulinas mielomatosas pueden poseer sólo uno de los factores Gm o Inv presentes en las inmunoglobulinas γ G completas de un mismo sujeto, o bien carecer de cualquier factor Gm o Inv conocido. La existencia de cierta correlación entre el Grupo Gm y el subgrupo de cadena pesada quizá nos simplifique el conocimiento de esos factores.

Estudios recientes sobre las cadenas de aminoácidos en varias proteínas de Bence-Jones de tipo K han demostrado la existencia de un sector de composición constante y de otro en el que varía la sucesión de aminoácidos y que, por consiguiente, difiere de unas proteínas de Bence-Jones

¹ *Notation for genetic factors of human immunoglobulins* (1965) *Bull. Org. mond. Santé - Bull. Wld Hlth Org.*, **33**, 721.

a otras. También hay razones para creer que las cadenas pesadas tienen una parte constante y otra variable. No se conoce la naturaleza del enlace de la parte variable con la constante y existe la posibilidad de que las inmunoglobulinas γ G posean una estructura de ocho cadenas. Se tiene noticia de casos en los que parte de la proteína de Bence-Jones de la orina estaba formada exclusivamente por la porción variable.

En un estudio sobre los anticuerpos humanos purificados y obtenidos en un mismo sujeto frente a cuatro antígenos diferentes, se ha visto que la composición de aminoácidos varía considerablemente, lo que hace suponer que, como en el caso del mieloma, esos anticuerpos constituyen productos de poblaciones seleccionadas de células sintetizadoras de inmunoglobulinas.

La digestión con papaína escinde la inmunoglobulina γ G y los anticuerpos γ G en tres fragmentos, dos de los cuales (fragmentos Fab) poseen puntos de combinación de anticuerpos, mientras que el tercero (Fc) es inactivo. Con la pepsina se forma un fragmento bivalente de anticuerpos, con digestión de un tercio aproximadamente de la molécula en pequeños fragmentos; dicho fragmento bivalente se puede dividir a su vez en fragmentos monovalentes por reducción de un solo enlace disulfuro. Los fragmentos dotados de puntos de combinación de anticuerpos están formados por la cadena ligera y la parte variable de la cadena pesada (Fd). En algunos anticuerpos el fragmento bivalente es casi tan activo como el anticuerpo γ G intacto, pero su potencia disminuye al reducirse a fragmentos monovalentes.

Además de los factores considerados hasta ahora, las poblaciones de anticuerpos se muestran también heterogéneas en lo que respecta a la especificidad de sus puntos de combinación. Incluso el anticuerpo formado frente a un antígeno bien definido es heterogéneo en el sentido de que puede englobar anticuerpos de distintas especificidades. El estudio de los anticuerpos antipolisacáridos formados en el hombre (v.g., el antidextrano) ha mostrado que pueden formarse poblaciones heterogéneas de moléculas de anticuerpo incluso contra lo que parece ser un determinante antigénico único.

Los antiseros producidos por diferentes animales pueden contener anticuerpos contra todos o sólo contra algunos de los determinantes antigénicos del antígeno, y la proporción de anticuerpos suscitada por cada determinante puede variar de unos animales a otros. Los anticuerpos correspondientes a uno solo de los determinantes pueden estar asociados a una propiedad biológica determinada, v.g., poseer propiedades anti-tóxicas. El aislamiento y el análisis estructural de los determinantes antigénicos de las distintas proteínas son empresas de gran importancia en las que en la actualidad se trabaja activamente.

Es probable que se llegue a establecer una relación entre otras propiedades biológicas de los anticuerpos y diversos factores estructurales de

heterogeneidad, y que se consigan descubrir otros nuevos factores. Así, por ejemplo, las células formadoras de inmunoglobulinas o de anticuerpos que se han podido identificar por los métodos actuales comprenden millares de tipos diferentes y cada una de ellas da lugar, por lo menos, a una clase de moléculas de inmunoglobulina. Todavía no se ha determinado con precisión ni el número de clases de moléculas de inmunoglobulina ni los tipos de moléculas de anticuerpo que es capaz de formar una célula determinada y, por otra parte, tampoco se conoce la distribución de las especificidades y de los factores de heterogeneidad del anticuerpo producido.

4. METODOS DE PREPARACION DE CONCENTRADOS DE INMUNOGLOBULINAS

Para la producción de concentrados de inmunoglobulinas se utilizan sobre todo los tres métodos siguientes : el del etanol en frío de E. J. Cohn y cols., la técnica del éter de Kekwick y Mackay, y la precipitación con sulfato amónico. Con los preparados de inmunoglobulinas que contienen 16 g de proteínas por 100 ml, esos procedimientos permiten alcanzar concentraciones de anticuerpos 10 a 20 veces mayores que las del plasma original. Las técnicas son fácilmente reproducibles y los productos obtenidos están exentos de toda contaminación vírica conocida. La investigación de pirógenos en el producto es fácil en el caso de las técnicas del etanol en frío o del éter, pero requiere más cuidado cuando se emplean técnicas de precipitación. La generalización del método del éter, hasta ahora poco usado, se ve frenada por la dificultad de mantener un sistema cerrado durante el manejo de grandes cantidades del producto y por los peligros inherentes a la manipulación del éter. La técnica del etanol en frío es, con gran diferencia, la más usada; sin embargo, tampoco es totalmente satisfactoria, ya que produce alteraciones de las proteínas plasmáticas y se considera excesivamente cara.

Se han ensayado nuevas técnicas menos costosas y más inofensivas, como la adsorción de otras proteínas plasmáticas en celulosa DEAE o Sefadex DEAE a pH 7, con lo cual las inmunoglobulinas quedan en una solución en la que se pueden concentrar con facilidad. Este procedimiento no se ha empleado mucho y además aún está por demostrar que los concentrados obtenidos de esta manera estén exentos de virus infectantes.

Probablemente, el mayor obstáculo con que tropieza la introducción de nuevos métodos de fraccionamiento es la dificultad de asegurarse de que el producto no está contaminado por el agente etiológico de la hepatitis sérica; con ese objeto pueden explorarse las siguientes posibilidades :

- 1) El cultivo de los agentes etiológicos puede facilitar el diagnóstico directo *in vitro* de los riesgos posibles de las nuevas técnicas.

2) El empleo de grupos seleccionados de donantes probablemente exentos de hepatitis vírica supondría también un progreso.

3) Otra solución sería someter a una técnica virucida aceptable las inmunoglobulinas preparadas por los nuevos procedimientos. Por desgracia, el método más generalizado (calentamiento durante diez horas a 60°C) no es aplicable a las soluciones de inmunoglobulinas, ya que aumenta tanto su viscosidad que disminuye en gran medida sus posibilidades de conservación. Hay otra técnica, el tratamiento con rayos ultravioleta y betapropiolactona descrito por LoGrippo, que no destruye los anticuerpos en el plasma total y que quizá pueda aplicarse a las soluciones de inmunoglobulinas.

4) Tal vez se pueda sacar partido de los casos en que los nuevos métodos de fraccionamiento son los únicos aplicables y las ventajas de su uso compensan los peligros de transmisión de hepatitis. Así, por ejemplo, hoy se está estudiando el uso de la inmunoglobulina antipalúdica preparada por fraccionamiento en columna y la observación cuidadosa de los sujetos así tratados está proporcionando valiosas informaciones sobre la inocuidad de este método de fraccionamiento.

Es asimismo necesario mejorar las técnicas de separación y concentración de las inmunoglobulinas γM , en las que se encuentran ciertos anticuerpos antibacterianos. Los actuales métodos del etanol en frío y del éter proporcionan productos constituidos sobre todo por inmunoglobulinas γG (los agregados que se observan son aparentemente polímeros de moléculas γG normales). Es necesario conseguir preparaciones eficaces contra las infecciones provocadas por *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y otras bacterias; para ello habrá probablemente que hallar nuevos métodos que permitan concentrar otras inmunoglobulinas distintas de las que se encuentran en las actuales preparaciones.

Las soluciones de inmunoglobulinas preparadas a partir del plasma humano por los métodos del etanol en frío o del éter se pueden conservar a 4°C durante tres a seis años sin alteración sensible. No obstante, en algunas preparaciones de inmunoglobulinas, sobre todo las de origen placentario, se ha observado que durante la conservación a 4°C puede producirse una fragmentación proteolítica que afectaría tanto a la concentración de anticuerpos como a la eficacia clínica del producto. Convendría proseguir los estudios sobre estas observaciones y sobre la posibilidad de conseguir estabilizadores químicos eficaces e ino cuos. Como criterio de estabilidad de estas soluciones podría adoptarse la falta de un aumento significativo de moléculas de 3,5 S durante un mes de conservación de las inmunoglobulinas a 37°C.

La concentración habitual de inmunoglobulinas humanas en los preparados definitivos es de 16 g/100 ml. Todas las dosis indicadas a lo

largo del presente informe se han calculado en función de esta concentración.

4.1 Preparados intravenosos

Conviene disponer de algunos preparados de inmunoglobulinas propios para la administración intravenosa, ya que esta vía permite obtener rápidamente un título elevado de anticuerpos circulantes y administrar sin dolor cantidades relativamente grandes. En general, las soluciones utilizadas de ordinario no se pueden inyectar por vía intravenosa, pues provocan reacciones en cierto número de enfermos, sobre todo entre los que padecen síndromes de escasez de anticuerpos. La inyección intravenosa de inmunoglobulinas provoca en la mayor parte de los enfermos una tolerancia transitoria a la administración de nuevas dosis intravenosas de este producto. La fase refractaria puede durar de 2 a 5 días según la dosis usada. Los preparados digeridos por enzimas proleolíticas carecen de ese efecto. No obstante, semejante pérdida de sensibilidad no está exenta de riesgos, por lo que habrá que tomar ciertas precauciones cuando se inyectan esos preparados.

Las reacciones secundarias a la administración intravenosa se atribuyen a la actividad anticomplementaria de los agregados de moléculas de inmunoglobulinas; estos conglomerados se pueden eliminar por ultracentrifugación — método impracticable en gran escala — o por descomposición enzimática, tratamiento que reduce la vida media del preparado en más de un 50%.

Más prometedor parece el método de incubación de las inmunoglobulinas a 37°C y pH 4. De esta forma se han obtenido preparados desprovistos de actividad anticomplementaria, que se toleran bien en inyección intravenosa y cuya vida media apenas es más reducida que la del producto sin tratar. Algunos de los lotes así tratados pueden conservar cierta actividad anticomplementaria, en cuyo caso hay que añadirles una pequeña cantidad de pepsina. Con este procedimiento se consigue un preparado estable exento, o casi exento, de componentes 5,5 S. El preparado definitivo contiene de un 5 a un 10% de un componente 10-11 S desprovisto de actividad anticomplementaria y una actividad de anticuerpo igual a la del producto original.¹ Antes de autorizar el uso clínico de los preparados incubados a pH 4 hay que asegurarse de que carecen de actividad anticomplementaria. Como a veces se ha observado la reaparición de sustancias anticomplementarias en algunos preparados o cierto grado de crioprecipitación durante el almacenamiento, es necesario estudiar más a fondo las posibilidades de conservación de este material.

¹ Barandum, S., Kistler, P., Jeunet, F. & Isliker, H. (1962) *Vox Sang. (Basel)*, 7, 157-174.

En Suiza se han administrado por vía intravenosa inmunoglobulinas incubadas a pH 4 a más de 250 enfermos y, por lo menos en 20 casos con síndromes de falta de anticuerpos, el tratamiento se mantuvo durante dos años sin que se observasen reacciones secundarias. Otros dos grupos de investigadores han obtenido resultados similares.

4.2 Aislamiento de anticuerpos

Las inmunoglobulinas humanas normales contienen anticuerpos eficaces en la profilaxis y la terapéutica de distintas enfermedades, y su aplicación en un determinado proceso da lugar a que se pierdan los restantes anticuerpos que contiene la dosis inyectada. Como las cantidades disponibles de inmunoglobulina humana son limitadas, es evidente que la separación de cada uno de esos anticuerpos permitiría sacar el máximo provecho de las existencias y, al mismo tiempo, recuperar los anticuerpos presentes en el plasma humano en concentraciones demasiado bajas para ser útiles. Se han ensayado algunos métodos de aislamiento de anticuerpos específicos, consistentes fundamentalmente en una adsorción específica del anticuerpo con el antígeno seguida de elución del anticuerpo integrado en el complejo antígeno-anticuerpo. Esos métodos se han utilizado para purificar una gran variedad de anticuerpos y antiseros de distintas especies animales. Cuando, acoplando el antígeno a adsorbentes insolubles mediante enlaces covalentes o uniéndole grupos que lo hagan insoluble, pueden obtenerse antígenos insolubles que conservan su capacidad fijadora de anticuerpos, es posible aislar anticuerpos prácticamente exentos de contaminación antigénica. Los adsorbentes insolubles tienen además la ventaja de que permiten la concentración y la recuperación de los anticuerpos existentes en bajas concentraciones. La extracción puede hacerse por adsorción en columnas de esos antígenos insolubles o por adsorción en lotes. Esos métodos son los que ofrecen más posibilidades para la separación y el aislamiento de los diferentes anticuerpos. También se han empleado métodos de elución basados en el empleo de haptenos específicos de escaso peso molecular o en la reducción del pH. Aunque hasta ahora no se han aplicado esas técnicas a los anticuerpos de utilidad terapéutica existentes en las inmunoglobulinas humanas, la experiencia adquirida con los anticuerpos de conejo y de caballo frente a antígenos proteínicos y con los anticuerpos humanos anti-dextrano y anti-A y anti-B puede ser muy provechosa a este respecto. Los principales problemas pendientes están relacionados con la obtención de preparaciones purificadas de antígenos, virus, toxinas, etc. en cantidades suficientes, la conservación de la capacidad fijadora de los anticuerpos al acoplar el antígeno al adsorbente, la elución correcta del anticuerpo (especialmente de la fracción de máxima capacidad fijadora del antígeno), y la comprobación de que el anticuerpo aislado conserva inalteradas sus propiedades bio-

lógicas, su capacidad neutralizante o su tasa de eliminación del organismo. Todos estos temas de investigación son muy importantes y es de esperar que cuando se llegue a disponer de los determinantes antigénicos asociados a un determinado poder neutralizante será posible aplicar los métodos a la purificación específica de los anticuerpos terapéuticamente eficaces contra los distintos agentes infecciosos.

5. OBTENCION DEL PLASMA PARA LA PREPARACION DE INMUNOGLOBULINAS

Uno de los problemas más difíciles que se plantean es la obtención de plasma en cantidad suficiente para satisfacer la demanda de inmunoglobulina humana. Ciertamente es que la dificultad no parece ser insuperable, ya que en algunos países se ha logrado producir preparaciones de inmunoglobulina humana en cantidad suficiente para cubrir las necesidades nacionales. Los métodos de obtención del plasma difieren para cada una de las dos clases de inmunoglobulina humana que a continuación se consideran.

5.1 Inmunoglobulina humana normal

En algunos países, donde la producción es ya suficiente para satisfacer las necesidades nacionales corrientes, este producto se extrae del plasma pasado de fecha facilitado por los servicios de transfusión sanguínea, del plasma especialmente recogido con este fin o de placentas humanas. No obstante, si la demanda de inmunoglobulina aumentase (como sucedería, por ejemplo, si se confirmase su acción preventiva de la hepatitis sérica), no resultaría nada fácil satisfacerla. Entre las medidas que pueden adoptarse para aumentar las reservas de plasma, el Comité considera que la más interesante es separar sistemáticamente cierta cantidad de plasma de la sangre extraída de los donantes, para lo cual podría recogerse la sangre en una bolsa con un pequeño receptáculo en el cuello, capaz de acoger unos 75-100 ml de plasma, que se llenaría comprimiendo la bolsa una vez sedimentadas las células sanguíneas. En los Estados Unidos se ha calculado que con este procedimiento podría aumentarse la producción anual de plasma para preparaciones de inmunoglobulina desde 300 000 litros a unos 750 000, es decir un incremento de un 150% aproximadamente. El Comité advierte además que en muchos países no se aprovechan suficientemente las placentas humanas.

5.2 Preparaciones de inmunoglobulinas humanas específicas

Existen diversos métodos para obtener plasma rico en anticuerpos específicos.

Ciertos anticuerpos, como los de las paperas, la rubéola, el sarampión y la viruela, pueden obtenerse de convalecientes, aunque evidentemente en cantidades limitadas. La obtención del plasma de convalecientes depende de la colaboración de los médicos generales, los hospitales, las instituciones asistenciales y las enfermerías militares, y las dificultades son sobre todo de carácter administrativo.

La obtención de plasma de personas especialmente inmunizadas se ha practicado con éxito, aunque en escala relativamente reducida, para la producción de ciertas inmunoglobulinas (v.g., en el caso del tétanos, de la tos ferina y de la rabia); es de temer, sin embargo, que la aplicación de este procedimiento en gran escala suscitaría dificultades importantes. En algunos países es una fuente interesante de antitoxina tetánica humana el plasma de voluntarios seleccionados entre grupos especiales de población (militares, mineros, determinados obreros industriales, etc.) en los que se practica habitualmente la vacunación antitetánica.

Cuando es habitual vacunar a las embarazadas, las placentas humanas pueden servir para la obtención de diversas inmunoglobulinas específicas como, por ejemplo, la antitoxina tetánica.

Se está tratando de hallar otros métodos de concentración de anticuerpos humanos específicos. Así, por ejemplo, podría resultar interesante la técnica ya citada de extracción de los anticuerpos del plasma por medio de antígenos fijados a ciertas partículas que actúan de soporte inerte. De todas formas habría que comprobar que esas preparaciones conservan toda su actividad protectora.

Se ha observado que los habitantes de ciertas zonas geográficas, sobre todo del Africa occidental, presentan elevadas concentraciones plasmáticas de inmunoglobulinas γG o γM . Ciertos datos hacen pensar que esas concentraciones elevadas pueden no deberse exclusivamente a la intensidad de la exposición al agente infeccioso, sino que pueden intervenir en ellas diferencias cuantitativas de la respuesta de anticuerpos. En consecuencia, el estudio de la capacidad productora de anticuerpos de las distintas poblaciones humanas podría proporcionar informaciones interesantes a este respecto.

Como es posible que las inmunoglobulinas de los habitantes de ciertas regiones sean especialmente ricas en anticuerpos de los que en otros lugares existe gran demanda, sería muy útil disponer de información sobre las concentraciones de los diferentes anticuerpos en las preparaciones inmunoglobulínicas obtenidas en distintos países.

En ciertos países se ha recurrido al aprovechamiento de plasmas normales pasados de fecha con el fin de obtener muestras ricas en determinados cuerpos.

La plasmaforesis permite obtener un rendimiento elevado del plasma y sin duda este procedimiento se irá empleando cada vez más, sobre todo en el caso de donantes específicamente inmunizados.

Para obtener la máxima concentración posible de anticuerpos han de tenerse en cuenta varios factores de considerable importancia : el tipo de vacuna, la pauta de inmunización y el intervalo entre la inoculación de la dosis desencadenante del antígeno y la extracción del plasma. Es necesario estudiar bien estos puntos para obtener de los donantes inmunizados el rendimiento de anticuerpos óptimo, pues es muy posible que haya que establecer pautas distintas de inmunización y de extracción para cada uno de los antígenos inmunizantes.

Quizá sea necesario prever una remuneración para conseguir un número suficiente de donantes. Este procedimiento ha resultado eficaz en ciertas regiones para la obtención de inmunoglobulinas contra el tétanos y contra las paperas.

Existe asimismo la posibilidad de solicitar voluntarios dispuestos a inmunizarse y a dar plasma después, al igual que se hace normalmente con los donantes de sangre. Sin duda, una campaña publicitaria bien enfocada permitiría conseguir gran número de voluntarios.

Por último, es importante hallar la manera de aminorar la demanda de inmunoglobulinas. En el caso del tétanos, la difteria, el sarampión, la tos ferina, etc., las campañas de vacunación serían muy útiles a este respecto. La introducción de métodos de esterilización de la sangre destinados a eliminar los virus de la hepatitis suprimiría la necesidad de añadir inmunoglobulina a las transfusiones sanguíneas. De momento, quizá sea conveniente extraer sistemáticamente sangre de los enfermos que se van a operar, a fin de que en caso de necesidad se disponga para la transfusión de sangre del propio operado; no hay que olvidar que hoy en día es fácil conservar la sangre durante mucho tiempo a baja temperatura.

6. UTILIZACION CLINICA DE LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS

6.1 Introducción

Las inmunoglobulinas humanas se utilizan tanto en la profilaxis como en el tratamiento para conferir una inmunidad pasiva gracias a los anticuerpos específicos que contienen. Aunque se han usado en muy diversos procesos, sólo están claramente indicadas en un número escaso de ellos, y de ahí la necesidad de estudiar con precisión la utilidad real de las inmunoglobulinas humanas. Durante muchos años se han utilizado los antisueros de origen animal en distintas enfermedades y en la actualidad nadie duda de la conveniencia de reemplazarlos por las inmunoglobulinas humanas correspondientes, no sólo con el fin de eliminar la reacción de hipersensibilidad al suero animal sino también con el de prolongar el tiempo de circulación sanguínea de los anticuerpos inyectados. En el presente capí-

tulo se estudian sobre todo las enfermedades en las que la inmunización pasiva está claramente indicada o parece estarlo según los datos existentes. Se examinan además algunos estados en los que, según ciertos trabajos recientes, la inmunización pasiva puede adquirir considerable importancia en el porvenir.

La fuente de la inmunoglobulina humana utilizada varía según la enfermedad de que se trate. Cuando la enfermedad está muy difundida, la mezcla de plasmas normales constituye una fuente satisfactoria de anticuerpos protectores; tal es el caso del sarampión, la hepatitis infecciosa y la rubéola. Se ha logrado incluso titular los anticuerpos requeridos en las mezclas de plasmas normales, lo cual ha permitido seleccionar los más adecuados para una determinada enfermedad, por ejemplo, el sarampión. No obstante, en la mayor parte de los casos, para obtener una concentración adecuada de anticuerpos protectores es necesario recurrir bien a convalecientes, como en el caso de las paperas, o bien, lo que es más frecuente, a donantes voluntarios vacunados contra la enfermedad en cuestión.

Las dosis de inmunoglobulinas humanas que se recomiendan para diferentes procesos se basan en los datos hasta ahora publicados; no hay que olvidar, sin embargo, que la información disponible suele ser limitada y que será necesario proseguir las investigaciones para determinar las dosis profilácticas o terapéuticas óptimas. En los trabajos con inmunoglobulinas humanas conviene expresar las dosis en UI (siempre que hayan sido establecidas), a fin de poder evaluar con exactitud la eficacia del tratamiento en diferentes lugares. En el presente informe, las dosis se indican en UI siempre que es posible y, cuando no existe la unidad internacional correspondiente, se expresan en función de una solución de inmunoglobulina humana de 16 g/100 ml, a menos que se especifique otra cosa.

La inmunoglobulina humana se suele inyectar por vía intramuscular y, aparte de ligeras molestias locales no muy frecuentes, sus efectos secundarios son raros. Las preparaciones generalmente usadas no se prestan a la administración intravenosa, pues con cierta frecuencia provocan reacciones, sobre todo en enfermos con síndromes de deficiencia de anticuerpos. Las reacciones pueden consistir en sensación de malestar, sofocos o incluso colapso circulatorio con pérdida de la conciencia. Los estudios en curso, expuestos en una sección anterior del presente informe (4.1, pág. 10), hacen esperar, por fortuna, que en un futuro próximo será posible disponer de preparaciones intravenosas.

6.2 Tétanos

Convendría reemplazar por antitoxina tetánica humana la antitoxina heteróloga actualmente utilizada en la profilaxis y la terapéutica del tétanos; por desgracia, el problema no parece fácil de resolver, en parte por las

grandes cantidades que se precisan en todo el mundo y en parte porque habría que preparar el producto con plasma de donantes inmunizados al efecto. La generalización de la vacunación antitetánica y la sustitución de la antitoxina por la quimioprofilaxis en los casos de heridas limpias tratados inmediatamente después del accidente pueden reducir en gran medida la demanda de antitoxina. De todas formas, es necesario constituir una buena reserva de antitoxina humana para el tratamiento de los enfermos de tétanos y para la seroprotección de las personas expuestas e hipersensibles al suero animal.

Profilaxis

El título de anticuerpos pasivos necesario para obtener un efecto protector pasivo varía según los autores entre 0,01 y 0,2 UI por ml, si bien la mayor parte consideran adecuada una concentración de 0,01-0,05 UI por ml. En el hombre estas concentraciones se pueden mantener durante las tres o cuatro semanas siguientes a la inyección de 250 a 500 UI de antitoxina homóloga y probablemente se encuentra dentro de esos límites la dosis profiláctica requerida en todas las edades. Hoy se suele simultanear la inmunización activa y la pasiva cuando se administra antitoxina a sujetos no inmunizados, y es probable que las pequeñas dosis de antitoxina humana interfieran menos el desarrollo de una inmunidad activa que la antitoxina heteróloga.

Tratamiento

Los estudios comparativos han hecho patente que en el tratamiento del tétanos no es necesario administrar más de 20 000 UI de antitoxina de caballo, que es la dosis generalmente empleada. Nada demuestra que la antitoxina homóloga sea más activa y con toda probabilidad la dosis óptima será la misma que la de antitoxina heteróloga. En el tratamiento del tétanos, la antitoxina se suele administrar por vía intravenosa con el fin de conseguir lo antes posible un título elevado de anticuerpos circulantes, pero la inmunoglobulina antitetánica humana que se prepara actualmente no se puede inyectar por esta vía.

6.3 Difteria

La antitoxina heteróloga utilizada en la profilaxis y el tratamiento de la difteria parece tener una eficacia considerable. La generalización de la inmunización activa ha permitido eliminar la difteria en muchos países, por lo que sólo en los raros casos en que se producen pequeños brotes de la enfermedad hay que recurrir a la inmunización pasiva. El plasma de sujetos vacunados constituye sin duda la mejor fuente de antitoxina humana.

Profilaxis

La dosis profiláctica de antitoxina heteróloga que se suele recomendar para los niños es de 500 a 1000 UI. No se dispone de datos sobre dosis de antitoxina homóloga, aunque podría pensarse que ha de ser similar a la de las preparaciones heterólogas, pues parece probable que las concentraciones plasmáticas en los días inmediatamente siguientes a la inyección de antitoxina tengan una importancia especial dada la brevedad del periodo de incubación de la difteria.

Tratamiento

La dosis terapéutica de antitoxina heteróloga suele ser de 200 a 1000 UI por kg de peso. Las dosis necesarias de antitoxina humana son probablemente las mismas, ya que nada demuestra que ésta tenga una actividad terapéutica mayor que la antitoxina heteróloga.

6.4 Viruela y vacuna

Existen dos posibles fuentes de inmunoglobulina humana antivacuna : el plasma de los convalecientes de viruela y el plasma obtenido algunas semanas después de la vacunación contra esta enfermedad. En el primer caso el antígeno es el virus circulante natural de la viruela y en el segundo es el virus de la vacuna. El título de anticuerpos del plasma de convalecientes de viruela es aproximadamente unas 50 veces mayor que el del suero de los sujetos vacunados. Como no parece haber diferencias importantes de composición antigénica entre los virus de la vacuna y de la viruela, se puede emplear cualquiera de los dos tipos de plasma.

Profilaxis

Encefalitis postvacunal. En la mayor parte de los países no es necesario hacer una profilaxis sistemática, dada la escasa frecuencia de las encefalitis postvacunales. No obstante, hay algunos donde esta complicación es más frecuente, especialmente entre los adultos, y en tales casos ha resultado eficaz la inmunoglobulina humana antivacuna a dosis de 2 ml, administrados por vía intramuscular al mismo tiempo que la vacuna.¹

Eczema postvacunal. La vacunación antivariólica está contraindicada en general en los sujetos con eczema. No obstante, hay casos en que la

¹ El patrón internacional de suero antivariólico está constituido por una preparación liofilizada obtenida a partir de una mezcla de sueros de convalecientes y envasada en ampollas de 1000 UI. En el estudio internacional en colaboración que precedió al establecimiento de este patrón se ensayaron diversas preparaciones, entre ellas una de inmunoglobulina humana postvacunal con 1000 UI por ml. En dos países se han valorado algunas de esas preparaciones, habiéndose obtenido títulos comprendidos entre 900 y 1800 UI por ml. Dichas soluciones contenían 16 g/100 ml.

vacunación puede ser necesaria, por ejemplo cuando el sujeto se va a trasladar a una zona de endemidad variólica; en esos casos se debe administrar al mismo tiempo que la vacuna una dosis de 2 ml de inmunoglobulina.

Viruela. En ensayos con testigos se ha visto que la administración de 5 a 10 ml (según la edad) de una solución al 12% de inmunoglobulina humana antivacuna durante el periodo de incubación de la viruela reduce considerablemente la incidencia de la enfermedad. Este tratamiento no excluye la vacunación previa o inmediatamente posterior al contacto y es sumamente útil en los contactos no vacunados que se descubren tardíamente durante el periodo teórico de incubación. Sin embargo, la introducción de agentes quimioterápicos eficaces puede reducir considerablemente la necesidad de una profilaxis con inmunoglobulina.

Tratamiento

La inmunoglobulina humana antivacuna ha resultado eficaz para el tratamiento de algunas graves complicaciones de la vacuna, como la vacuna generalizada, el eczema postvacunal y la vacuna gangrenosa. La introducción accidental del virus en el ojo puede ser una indicación para el tratamiento por el riesgo de graves lesiones cicatrizales e incluso de ceguera.

6.5 Sarampión

La introducción y el empleo de vacunas antisarampionosas inocuas y eficaces harán que la protección pasiva contra el sarampión por medio de la inmunoglobulina humana pierda gran parte de su importancia. Aunque generalmente se usa inmunoglobulina humana normal, desde que se pueden titular los anticuerpos específicos antisarampionosos es preferible expresar la dosis en UI.¹ La profilaxis está indicada en los lactantes considerados susceptibles y en los niños expuestos al contagio. Como la frecuencia del contagio en los sujetos expuestos oscila entre 20% y 90%, conviene inocular al mismo tiempo y en un lugar distinto del cuerpo una vacuna de virus vivos atenuados a fin de conferir una inmunidad activa a los niños que pudieran haberse librado de la infección.

Profilaxis

La dosis de inmunoglobulina humana normal es de 0,04 ml por kg de peso y debe administrarse lo antes posible después de la exposición,

¹ En un estudio de 10 preparaciones de inmunoglobulina humana normal (16 g/100 ml) se vio que la concentración de anticuerpos antisarampionosos variaba entre 70 y 300 UI por ml.

a poder ser en los cinco días siguientes. Por lo general esta dosis modifica más que evita la enfermedad, cuya forma atenuada confiere una inmunidad permanente. En los lactantes con alguna enfermedad debilitante grave, aguda o crónica, está indicada una dosis « preventiva » mayor (0,2 ml/kg). La inoculación simultánea de vacuna antisarampionosa viva sólo está indicada en los niños que reciben la dosis inferior de inmunoglobulina (0,04 ml/kg), ya que las dosis mayores pueden suprimir el efecto inmunógeno de la vacuna viva.

Tratamiento

Las preparaciones de inmunoglobulina humana no se han mostrado eficaces en el tratamiento del sarampión.

6.6 Rubéola

La rubéola es una enfermedad leve y relativamente benigna de la infancia. Incluso en los adultos las complicaciones son raras. En cambio, durante el primer trimestre del embarazo la rubéola puede causar una elevada proporción de malformaciones congénitas, muertes fetales y abortos. La epidemia de rubéola de los Estados Unidos en 1964 fue seguida del nacimiento de muchos miles de niños con malformaciones congénitas. Los niños sufrían una o varias de las siguientes anomalías : 1) retraso del desarrollo intrauterino; 2) púrpura trombocitopénica; 3) lesiones oculares, como catarata y glaucoma; 4) sordera; 5) cardiopatías congénitas; 6) lesiones cerebrales asociadas a microcefalia, hidrocefalia o meningoencefalitis; 7) hepatitis, y 8) lesiones óseas.

El cultivo en tejidos del virus de la rubéola, realizado por primera vez en 1962, proporcionó la técnica necesaria para estudiar la evolución de esta enfermedad y evaluar la eficacia de la inmunoglobulina humana antirrubéolica. Los estudios sobre la evolución de la rubéola revelaron los siguientes datos significativos :

1) El virus se puede aislar en la garganta de los enfermos desde 7 días antes hasta 21 días después del comienzo de la erupción; por consiguiente, los contactos susceptibles pueden infectarse antes de que la enfermedad se manifieste clínicamente.

2) La viremia existe desde 7 días antes del comienzo de la erupción, pero desaparece a los dos días de éste; así, la embarazada puede transmitir la infección al feto antes de que la enfermedad se manifieste clínicamente. En consecuencia, cuando aparece la erupción cualquier medida profiláctica que quiera adoptarse será probablemente inútil.

3) A los tres días del comienzo de la erupción suelen observarse anticuerpos neutralizantes, que persisten probablemente durante toda la vida

del sujeto. La presencia de estos anticuerpos en el suero revela un estado de inmunidad. En un reciente estudio de 54 niños en cuyos sueros no se pudieron encontrar anticuerpos neutralizantes se vio que 46 casos (el 85%) habían contraído la rubéola después de una exposición intensa; en cambio, entre 37 niños con anticuerpos perceptibles, ninguno había contraído la enfermedad tras una exposición comparable. Nunca se ha podido descubrir una viremia en un sujeto inmune, por lo que se puede afirmar que una embarazada inmune tiene probablemente la protección necesaria para no transmitir la rubéola al feto *in utero*.

Profilaxis

Desde hace años se discute el valor de la inmunoglobulina humana en la prevención de la rubéola. Desde 1949 se han efectuado por lo menos siete estudios controlados independientes cuyos resultados son totalmente contradictorios, pues mientras que unos indican que este producto carece de todo valor preventivo, otros muestran que confiere una protección importante contra la enfermedad clínica.

Recientemente se ha hecho un estudio detenido ¹ en el que se simuló experimentalmente las condiciones de exposición a que puede estar sometida una mujer embarazada. Se expuso a la rubéola a un grupo de niños carentes de anticuerpos y se les inyectó inmunoglobulina humana normal a dosis de 0,24-0,40 ml por kg de peso en las 24 horas siguientes a la aparición de la erupción en los casos contagiosos. La proporción de contagios en los niños tratados (el 85%) no varió significativamente de la de los niños que sirvieron de testigos (un 92%).

Durante otro estudio recientemente efectuado en el curso de una epidemia de rubéola en Alaska ² se observó una reducción significativa de la proporción de infecciones entre los niños tratados con grandes dosis de inmunoglobulina humana (0,55 ml por kg de peso). La proporción de casos fue del 44% en el grupo tratado, mientras que en el grupo testigo llegó al 86%. En esta experiencia a muchos de los niños se les administró la inmunoglobulina antes de la exposición.

No hay que olvidar que el empleo profiláctico de la inmunoglobulina en la rubéola no se funda en las mismas razones que en el caso del sarampión y de la hepatitis infecciosa. En estas dos enfermedades lo que se pretende es atenuar o prevenir un proceso que podría ser grave para la persona expuesta, mientras que en la rubéola lo esencial es evitar la infección del feto. La infección fetal se debe probablemente a la viremia materna. Sin embargo, no parece que la inmunoglobulina ejerza un efecto significativo sobre la incidencia de la infección y de la viremia en condiciones experimentales similares a las que puede estar sometida una embarazada.

¹ Green, R. H. et al. (1965) *J. dis. Child.*, **110**, 348.

² Brody, J. A., Sever, J. L. & Schiffi, G. M. (1965) *New Eng. J. Med.*, **272**, 127-129.

Se han descrito muchos casos de malformaciones congénitas en niños cuyas madres fueron tratadas con dosis de 20 ml de inmunoglobulina humana normal poco después de haber estado expuestas a la rubéola. No obstante, por ahora no se ha hecho ningún estudio comparativo serio que permita responder a la cuestión crucial, a saber, si realmente la inmunoglobulina humana reduce el riesgo de malformaciones congénitas, fetos muertos y abortos. Siempre que se pueda indicar el aborto terapéutico en caso de infección durante el embarazo debe evitarse la administración de inmunoglobulina, que podría encubrir las manifestaciones clínicas de la enfermedad. En cambio, si no es posible recurrir al aborto terapéutico, debe recomendarse la inmunoglobulina humana con la esperanza de que aminore el riesgo de rubéola congénita. Por ahora no puede recomendarse el uso de la inmunoglobulina humana como procedimiento general para la prevención de la rubéola sino que, por el contrario, habrá que estudiar su indicación en cada caso individual.

En vista de la gran importancia del problema, es esencial obtener vacunas eficaces para la inmunización activa, sobre todo de las mujeres jóvenes. También sería muy conveniente poder titular los anticuerpos de la rubéola en el suero, a fin de determinar así si una mujer expuesta se ha infectado o no.

6.7 Hepatitis infecciosa

El Comité hace suyas las siguientes recomendaciones, formuladas por el Comité de Expertos de la OMS en Hepatitis en su segundo informe :¹

« La eficacia de la globulina gamma como profiláctico de la hepatitis infecciosa clínica ha quedado confirmada en estudios efectuados en muchos países. La selección de los sujetos a los que conviene administrar en prioridad la globulina gamma ha de hacerse en función de las condiciones del país; el objetivo de todo programa debe ser la protección, con las cantidades disponibles, del mayor número posible de personas especialmente expuestas a contraer la enfermedad o, como sucede con las mujeres embarazadas, a formas particularmente graves de ésta.

La globulina gamma en dosis de 0,02 a 0,04 ml por kg de peso de una concentración del 16% impide la aparición de una hepatitis icterica después de una exposición normal de breve duración, por ejemplo, en el seno de una familia. La globulina gamma es eficaz en todos los momentos del periodo de incubación; ahora bien, cuanto antes se administra mejores resultados da. Su valor terapéutico es nulo. Las dosis de 0,06 a 0,12 ml por kg proporcionan un periodo de protección más prolongado, que puede llegar a ser hasta de 5 ó 6 meses. Por ello, y cuando las cantidades dispo-

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1964, **285**, 24.

nibles lo permiten, esas dosis altas pueden estar indicadas para proteger a los sujetos susceptibles que hayan de desplazarse a regiones con una morbilidad aparentemente elevada; en esas condiciones lo más probable es que baste con administrar dos dosis separadas por un intervalo de 5 a 6 meses, toda vez que cuando la exposición es intensa, toda infección inaparente contraída durante el periodo de protección pasiva provocará una inmunidad de carácter activo.»

6.8 Hepatitis sérica

La incidencia de las hepatitis ictericas consecutivas a la transfusión sanguínea parece oscilar entre 1 y 3 casos por mil donaciones (« unidades ») de sangre utilizadas, aunque a veces ha llegado a una proporción de 15 por mil. El riesgo es mayor en las zonas donde es más frecuente la enfermedad y no se procede a una selección cuidadosa de los donantes. La mortalidad global de la hepatitis postransfusional varía según los autores entre 0,9% y 27,5% en los casos hospitalizados de hepatitis.

Según un estudio reciente,¹ el uso de la inmunoglobulina humana normal parece reducir considerablemente la incidencia de las hepatitis ictericas postransfusionales. Las dosis administradas fueron de 10 ml en la semana siguiente a la transfusión y otros 10 ml en un mes más tarde. La incidencia de la hepatitis icterica fue de 1,55% (3,2 casos por mil « unidades » de sangre) en el grupo tratado con inmunoglobulina, mientras que en el grupo testigo ascendió a 4,04% (9,2 casos por mil « unidades »). La incidencia de hepatitis anictérica fue la misma en ambos grupos : 6,2%, o 13 casos por mil « unidades ». Este estudio ha confirmado otros anteriores, efectuados con combinaciones dosis/tiempo muy parecidas, en los que se consiguió reducir la presencia de hepatitis icterica de 8,9% en los testigos a 1,3% en los sujetos tratados con inmunoglobulina.

Las reservas de inmunoglobulina humana son insuficientes para hacer frente a la demanda que supondría el uso habitual de inmunoglobulina humana en la prevención de la hepatitis sérica postransfusional; sin embargo, su empleo puede estar justificado en los sujetos especialmente vulnerables : enfermos crónicos (sobre todo de edad avanzada), casos que requieren transfusiones repetidas, embarazadas, etc. También merece tenerse muy en cuenta la incidencia local de hepatitis sérica. La dosificación empleada es de 10 ml en los 7-10 días consecutivos a la transfusión, seguidos de una segunda dosis un mes más tarde. De todas formas, cualquier recomendación sobre el empleo profiláctico de la inmunoglobulina sólo deberá formularse una vez adoptadas todas las precauciones mencionadas en éste y otros informes para reducir el riesgo de hepatitis postransfusional.

¹ Mirick, G. S., Ward, R. & McCollum, R. W. (1965) *New Eng. J. Med.*, 273, 59-65.

6.9 Varicela

Los estudios epidemiológicos indican que la inmunoglobulina humana, administrada a grandes dosis no evita la varicela pero puede atenuarla. La profilaxis con inmunoglobulina no está indicada en los niños normales, sino que debe limitarse a los siguientes casos especialmente expuestos : 1) recién nacidos y prematuros; 2) niños débiles de menos de 6 meses de edad; 3) niños con discrasias sanguíneas, sobre todo si están sometidos a tratamiento con corticosteroides, y 4) ciertos adultos susceptibles (la neumonía varicelosa grave, a veces mortal, es muy rara en los niños, pero frecuente en los adultos).

La dosis recomendada de inmunoglobulina humana normal (0,4-1,0 ml por kg de peso) se debe administrar lo antes posible tras la exposición.

6.10 Paperas

La inmunoglobulina humana utilizada en las paperas se prepara con plasma de donantes artificialmente inmunizados. No está clara la acción preventiva de este preparado. En los niños en los que las paperas son relativamente benignas, no está indicada esa profilaxis. En cambio, se ha visto que las grandes dosis de inmunoglobulina obtenida del suero de convalecientes (20 ml intramusculares) protegen contra la orquitis a los adolescentes y adultos, a condición de administrarlas poco tiempo después del comienzo de la enfermedad.

6.11 Poliomielitis

La existencia de vacunas antipoliomielíticas inocuas y eficaces hace innecesario el empleo de inmunoglobulina en la profilaxis de esta enfermedad.

6.12 Rabia

Parece ser que la inmunización pasiva con 40 UI por lo menos de suero antirrábico de origen animal, administrado al mismo tiempo que la vacuna, evita la aparición de la rabia en las personas que han estado muy expuestas a la infección. En algunos países se ha obtenido recientemente plasma de donantes vacunados para la preparación de inmunoglobulina humana antirrábica. De momento, sin embargo, se precisa más información sobre la dosis protectora de inmunoglobulina humana antirrábica y sobre la posibilidad de que interfiera la inmunización activa.

6.13 Síndromes de deficiencia de anticuerpos (hipo y agammaglobulinemia)

Estos síndromes, caracterizados por una disminución de la capacidad de síntesis de anticuerpos, se manifiestan la mayor parte de las veces por una deficiencia o una ausencia de componentes inmunoglobulínicos en la sangre.

Tanto en las formas congénitas como en las adquiridas o sintomáticas (es decir, asociadas a una determinada enfermedad) del síndrome de deficiencia de anticuerpos, es posible proteger al enfermo de las infecciones bacterianas agudas mediante la administración intramuscular de inmunoglobulina humana normal en dosis de 1,2 a 1,8 ml/kg de peso, al menos una vez al mes. En el curso de las infecciones agudas esta misma dosis de inmunoglobulina deberá administrarse en unión del antibiótico que corresponda. Para evitar el dolor y las molestias propias de la inyección intramuscular de dosis tan elevadas convendría encontrar la manera de inyectar sin riesgos las preparaciones de inmunoglobulinas por vía intravenosa.

La inyección mensual de inmunoglobulina humana normal no parece proteger a estos enfermos contra las infecciones crónicas respiratorias o gastrointestinales. En ciertas formas de hipogammaglobulinemia (linfopenia familiar y agammaglobulinemia del tipo suizo), la terapéutica de sustitución con inmunoglobulina resulta ineficaz.

En las agammaglobulinemias o hipoglobulinemias debidas a un aumento del catabolismo o a la eliminación de inmunoglobulinas por la orina (v.g., en las enteropatías acompañadas de pérdida de proteínas), no hay una verdadera carencia de anticuerpos y, por consiguiente, no está justificada la administración de inmunoglobulinas.

6.14 Tos ferina

La inmunoglobulina antipertusis se prepara con plasma de donantes vacunados. La plasmaforesis permite obtener cantidades relativamente elevadas de anticuerpos. Aunque no es seguro que las preparaciones actuales sean eficaces para la profilaxis y el tratamiento de las tos ferina, la elevada mortalidad de esta enfermedad en los niños de menos de 6 meses autoriza a emplear en este grupo de edad la inmunoglobulina antipertusis.

6.15 Otras infecciones bacterianas

Se ha observado que la inmunoglobulina humana normal contiene anticuerpos contra diversos microorganismos y que la inmunoglobulina ejerce un efecto favorable en las infecciones experimentales del animal. La experiencia con el hombre se limita prácticamente a los enfermos que han recibido un tratamiento combinado; en estos casos, la terapéutica antimicrobiana parece resultar ineficaz hasta que se le asocia la immuno-

globulina. En los sujetos quemados, la terapéutica combinada con antimicrobianos y grandes dosis de inmunoglobulina parece reducir la incidencia de septicemias, así como la mortalidad ulterior que suele observarse cuando el tratamiento se hace exclusivamente con antibióticos. Convendría efectuar nuevos estudios comparativos a este respecto.

6.16 Protozoosis y parasitosis

Hay datos de que la inmunoglobulina preparada con plasma de adultos y con sangre del cordón umbilical de los recién nacidos del Africa occidental ejerce efectos antiparasitarios sobre el *Plasmodium falciparum* en Africa occidental y oriental. Convendría pues emprender estudios similares sobre otras enfermedades causadas por protozoos y parásitos.

Como la cantidad de inmunoglobulina que se precisa para obtener una reacción favorable en los palúdicos es bastante grande, parece poco probable que esta preparación llegue a utilizarse con carácter general en la profilaxis y tratamiento del paludismo. No obstante, no puede descartarse que acabe usándose para tratar o modificar las infecciones provocadas por variedades de plasmódios resistentes a los fármacos antipalúdicos actuales.

6.17 Enfermedad hemolítica del recién nacido

Los resultados preliminares de los estudios efectuados en varios países sobre la prevención de la enfermedad hemolítica del recién nacido mediante el empleo de inmunoglobulina preparada con plasma dotado de anticuerpos incompletos contra el antígeno Rh (D) son muy alentadores. En general se emplea inmunoglobulina preparada con plasma de voluntarios especialmente inmunizados y esta preparación de anticuerpos anti-D se administra 24 horas después del parto a las mujeres Rh negativas en cuya sangre hay una proporción apreciable de hematíes fetales. Los anticuerpos inyectados aceleran la desaparición de las células fetales y al parecer atenuan la respuesta de anticuerpos de la madre al antígeno D; es posible que de ese modo pueda evitarse la aparición de una enfermedad hemolítica en embarazos ulteriores.

6.18 Gripe y otras virosis del aparato respiratorio

El empleo de la inmunoglobulina humana para el tratamiento de la gripe y de otras virosis respiratorias ha dado resultados contradictorios. Aunque en varios ensayos epidemiológicos controlados hechos en reclutas no se ha podido demostrar que este tratamiento sea útil, el Comité no ignora que los resultados preliminares de otros estudios en los que se empleó la inmunoglobulina antigripal en la prevención y tratamiento de la gripe

han sido alentadores. El Comité recomienda que se organicen nuevos estudios debidamente controlados sobre este problema, pues de momento no considera que se pueda recomendar el uso de inmunoglobulinas para la prevención y tratamiento de las virosis del aparato respiratorio.

6.19 Gangrena gaseosa

Aún no se dispone de vacunas adecuadas para el hombre y tampoco parece que vaya a conseguirse en breve plazo una antitoxina humana contra la gangrena gaseosa. Aunque, gracias a los antibióticos, dicha preparación no resulta probablemente muy necesaria, conviene tener en cuenta la posibilidad de satisfacer esa demanda.

6.20 Botulismo

Existe sin duda una demanda, aunque pequeña, de antitoxina anti-botulínica para la profilaxis y el tratamiento de esta enfermedad. Como existen vacunas utilizables para la inmunización de voluntarios, deben fomentarse los trabajos de preparación de las inmunoglobulinas correspondientes.

6.21 Mordedura de serpientes

Aunque existen pocos venenos detoxificados que sirvan para inmunizar al hombre, en vista del interés que actualmente se manifiesta en todo el mundo por la producción de antivenenos, el Comité sugiere que se estudie la posibilidad de preparar antivenenos de origen humano.

6.22 Infecciones estafilocócicas

En algunos países se preparan inmunoglobulinas humanas sirviéndose de voluntarios inmunizados con anatoxina estafilocócica. En vista de las dudas existentes sobre la utilidad de este producto, el Comité no considera justificado recomendar su producción con carácter general, pero sí cree que deberían hacerse nuevos estudios para evaluar su eficacia.

6.23 Otras posibles aplicaciones de las inmunoglobulinas

El presente informe trata sobre todo de los efectos profilácticos y terapéuticos de las inmunoglobulinas desde el punto de vista de su función como anticuerpos específicos. No obstante, las inmunoglobulinas pueden tener otras propiedades y así parecen indicarlo ciertos fenómenos como la desensibilización consecutiva a la inyección intravenosa en el hombre y la supresión de la anafilaxia en el animal. Estas y otras observaciones

hacen pensar que estas proteínas ejercen una acción biológica en la superficie celular, acción que convendría explorar más detenidamente, pese a que por ahora no se comprende bien la base científica que pueda tener este concepto.

7. NORMAS APLICABLES A LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS

El Comité, de acuerdo con la opinión expresada en el 17º informe del Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos,¹ estima que es necesario formular normas internacionales sobre las preparaciones de inmunoglobulina humana. El Comité considera especialmente importante los siguientes puntos :

7.1 Mezclas de plasma

En el estado actual de los conocimientos, el valor de las preparaciones de inmunoglobulina humana parece depender de la presencia en ellas de diversos anticuerpos representativos que se encuentran en el plasma de las personas normales. Para obtener mezclas de inmunoglobulinas normales importa, pues, que las mezclas de plasma estén preparadas a partir de un gran número de donantes (1000 o más). El número de donantes puede ser menos elevado si se trata de inmunoglobulinas humanas específicas.

7.2 Pruebas de inocuidad

Las pruebas actualmente utilizadas para comprobar la atoxicidad de las preparaciones de inmunoglobulina humana en el animal resultan enteramente satisfactorias y de ahí que estos preparados figuren entre los productos biológicos más seguros. No obstante, convendría establecer otras pruebas de inocuidad aplicables a las inmunoglobulinas destinadas a la administración intravenosa y el Comité recomienda que se inicien los estudios pertinentes.

7.3 Pruebas de actividad

Como son muchas las enfermedades que se pueden tratar con preparaciones de inmunoglobulinas específicas, convendría precisar las dosis que deben aplicarse en tales casos. El problema merece, en efecto, una investigación muy detenida. Siempre que sea posible, las dosis terapéutica y profiláctica deben expresarse en unidades internacionales. Los datos obtenidos al respecto se utilizarán para formular normas sobre la actividad

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1964, **293**, 23.

anticuerpo de cada preparación. Es probable que acabe siendo necesario determinar la riqueza en anticuerpos IgM o IgA de las preparaciones de inmunoglobulinas, siempre y cuando se llegue a demostrar que éstos desempeñan un papel importante en determinadas enfermedades. También habría que medir la riqueza en anticuerpos de la inmunoglobulina humana normal, a ser posible en unidades internacionales. Como es probable que se observen diferencias en el título de anticuerpos de las preparaciones procedentes de diferentes países, sería interesante conocer estas variaciones para asegurarse de que la inmunoglobulina humana normal contiene siempre los anticuerpos específicos de la enfermedad para la que se prescribe.

7.4 Pruebas de estabilidad

La inspección de la calidad de las preparaciones de inmunoglobulina es sumamente importante, pues es imprescindible que las propiedades fisicoquímicas, la composición inmunoquímica y la actividad biológica de estos productos sean estables. Las normas de inspección deben ir acompañadas de una descripción de los métodos necesarios para obtener una información fidedigna sobre la calidad y la estabilidad de las preparaciones. La estabilidad se puede valorar en función de los siguientes datos : modificación de la composición por calentamiento, aparición de conglomerados y determinación de la cantidad de moléculas de 3,5 S formadas a raíz de la conservación a 37°C durante un mes. Cuando se pueda medir directamente la actividad anticuerpo es preferible adoptar como criterio de calidad la rapidez de desaparición de la sangre. Sería interesante establecer una correlación entre las modificaciones de la composición durante el almacenamiento y las variaciones del contenido en anticuerpos específicos.

7.5 Fecha de caducidad

Se considera que las inmunoglobulinas conservadas a unos 4°C son muy estables. No obstante, como las condiciones de almacenamiento del preparado, una vez fuera del laboratorio productor, no suelen ser las más convenientes, habrá que tener en cuenta esta circunstancia para fijar la fecha de caducidad.

8. RECOMENDACIONES

1. Es urgente encontrar procedimientos seguros para esterilizar la sangre y sus productos derivados sin que se alteren sus propiedades biológicas. La existencia de esas técnicas facilitaría en gran medida el desarrollo y la aplicación de las nuevas técnicas de fraccionamiento, que actual-

mente se ven dificultadas por la necesidad de recurrir a las pruebas en el hombre para comprobar que los productos están exentos de virus de la hepatitis.

2. Una medida práctica y fácil de aplicar en los casos en que no se dispone de suficiente plasma para obtener por fraccionamiento inmunoglobulina humana normal es separar sistemáticamente una pequeña cantidad de plasma, de 75 a 100 ml, por ejemplo, cada vez que se haga una transfusión de sangre. Para no poner en peligro la esterilidad de la sangre, la sangre puede recogerse en un saco de plástico a cuyo cuello va unido un pequeño saquito lateral de unos 75-100 ml de capacidad, que se llena por compresión del saco principal cuando los elementos formes de la sangre se han sedimentado.

3. Convendría buscar la manera de adaptar a la administración intravenosa algunas preparaciones de inmunoglobulina humana normal, entre ellas la antitoxina tetánica de uso terapéutico. A este respecto, los métodos sugeridos en el presente informe parecen prometedores.

4. Convendría conseguir métodos de separación y concentración aplicables a ciertos elementos (v.g., los anticuerpos γM) que se encuentran raramente en las actuales preparaciones inmunoglobulínicas.

5. Para obtener la mayor cantidad posible de anticuerpos específicos será necesario determinar, en todas las enfermedades para las que se preparan inmunoglobulinas específicas, los tipos de vacuna, las técnicas de inmunización y las pautas de extracción de sangre más convenientes.

6. Convendría determinar la riqueza de anticuerpos de las inmunoglobulinas humanas obtenidas en diferentes lugares del mundo y organizar la valoración de muestras representativas. La información así obtenida podría facilitar los intercambios entre distintos países en caso de que las preparaciones de unas zonas se revelen ricas en anticuerpos que escasean en otras.

7. Es posible que se encuentren variaciones en la reactividad de distintas poblaciones a diferentes antígenos. En este caso podrían aprovecharse dichas diferencias para la obtención de un plasma rico en anticuerpos. Esta posibilidad merece ser estudiada.

8. Para reducir al mínimo el riesgo de hepatitis sérica y no malgastar las reservas de inmunoglobulina, sería muy conveniente que todos los países adoptasen la práctica de la autotransfusión diferida, consistente en extraer plasma (por plasmáforésis), así como sangre entera de cada enfermo que vaya a sufrir una intervención quirúrgica a fin de utilizarlos luego en el propio paciente si ello se revela necesario. Convendría al mismo tiempo estudiar la posible aplicación de la conservación prolongada a baja temperatura de las muestras individuales de sangre.

9. Convendría fomentar los estudios fundamentales sobre separación y concentración de distintos anticuerpos procedentes de las muestras de plasma humano normal.

10. Aunque la rareza de las reacciones a las inmunoglobulinas humanas inyectadas intramuscularmente indica que por ahora los anticuerpos de especificidades alotípicas (v.g., de los grupos Gm e Inv), no parecen plantear un problema clínico importante, convendría obtener más datos sobre la incidencia y el título de los anticuerpos alotípicos después de la inyección de soluciones de inmunoglobulina. Estas investigaciones son tanto más importantes cuanto que la producción de inmunoglobulinas de administración intravenosa tiende a aumentar, aparte de que, si se demostrase la existencia de reacciones por anticuerpos alotípicos, éstas podrían ser más graves después de una inyección intravenosa.

11. Un problema de gran importancia y que conviene estudiar más a fondo es el valor de la inmunoglobulina humana en diferentes procesos patológicos. A este respecto ofrecen especial interés los estudios sobre el tratamiento de las infecciones bacterianas, las protozoosis y las enfermedades parasitarias.

12. Importa proseguir los estudios sobre las posibilidades que ofrece la inmunoglobulina humana para atenuar la hepatitis sérica postransfusional. A este efecto, la OMS debería fomentar la organización de ensayos controlados en las regiones donde esta complicación es especialmente frecuente.

13. En el caso de las enfermedades donde se ha *comprobado* la eficacia de las inmunoglobulinas, habrá que determinar las dosis profilácticas y terapéuticas óptimas. Estas dosis deberán expresarse en unidades internacionales a fin de poder comparar los resultados obtenidos en distintas regiones.

14. Convendría estudiar el posible efecto protector de los anticuerpos presentes en las inmunoglobulinas que no pertenecen al tipo γ G. Como no existe una transmisión transplacentaria apreciable de inmunoglobulinas γ M y γ A, se puede considerar que el recién nacido es hipogammaglobulinémico respecto a esos dos tipos. Convendría, pues, estudiar la actividad de las preparaciones de inmunoglobulinas γ M y γ A en el tratamiento de las infecciones del recién nacido. Convendría asimismo analizar las respuestas de anticuerpos de las poblaciones con concentraciones elevadas de inmunoglobulina γ G (por ejemplo, los sujetos palúdicos) o de inmunoglobulina γ M (por ejemplo, los enfermos de tripanosomiasis), así como las de los niños agammaglobulinémicos que presentan títulos normales de inmunoglobulinas γ A y γ M.

15. Sería interesante conocer mejor la acción neutralizante de toxinas y virus que ejercen los fragmentos de inmunoglobulinas obtenidos por

digestión enzimática, a fin de precisar sus posibilidades de utilización clínica.

16. Convendría obtener datos más precisos sobre las posibilidades de evitar la degradación de las inmunoglobulinas durante el almacenamiento.

NOTA

El Comité desea expresar su gratitud al Dr. H. C. Goodman, Jefe del Servicio de Inmunología de la OMS (Ginebra), por la ayuda que le ha prestado en el curso de sus debates. Da las gracias asimismo al Profesor H. Isliker, Director del Instituto de Bioquímica de Lausana, y al Dr. T. Webb, Director del Centro de Referencia de la OMS de Inmunoglobulinas (Instituto de Bioquímica de Lausana, Suiza), por los valiosos datos que le han facilitado.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

SERIE DE INFORMES TECNICOS

Informes recientes y en preparación:

Nº		Precio		
		s.d.	\$	Pr. s.
297	(1965) Cuestiones de higiene del medio relacionadas con la ordenación urbana y la urbanización Informe de un Comité de Expertos de la OMS (74 páginas)	6/8	1,25	4,—
298	(1965) Organización de servicios de higiene dental Informe de un Comité de Expertos de la OMS en Higiene Dental (48 páginas)	5/	1,00	3,—
299	(1965) Comité de Expertos de la OMS en Bilharziasis Tercer informe (62 páginas)	5/	1,00	3,—
300	(1965) Efectos del parto en el feto y el recién nacido Informe de un Grupo Científico de la OMS (34 páginas)	3/6	0,60	2,—
301	(1966) Necesidades de proteínas Informe de un Grupo Mixto FAO/OMS de Expertos (99 páginas)	6/8	1,25	4,—
302	(1965) La nutrición durante el embarazo y la lactancia Informe de un Comité de Expertos de la OMS (58 páginas)	5/	1,00	3,—
303	(1965) Mecanismo de acción de las hormonas sexuales y de las sustancias análogas Informe de un Grupo Científico de la OMS (25 páginas)	3/6	0,60	2,—
304	(1965) Neuroendocrinología de la reproducción humana Informe de un Grupo Científico de la OMS (21 páginas)	3/6	0,60	2,—
305	(1965) Fisiología de la lactancia Informe de un Grupo Científico de la OMS (24 páginas)	3/6	0,60	2,—
306	(1965) La salud pública y el uso de radiaciones ionizantes en medicina Quinto informe del Comité de Expertos en Radiaciones (42 páginas)	5/	1,00	3,—
307	(1965) Comité de Expertos de la OMS en Especificaciones para las preparaciones farmacéuticas 21º informe (35 páginas)	3/6	0,60	2,—
308	(1965) Problemas de salud de la adolescencia Informe de un Comité de Expertos de la OMS (30 páginas)	3/6	0,60	2,—
309	(1966) Normas de identidad y de pureza para los aditivos alimentarios y evaluación de su toxicidad : colores alimentarios y algunos antimicrobianos y antioxidantes Octavo informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (29 páginas)	3/6	0,60	2,—
310	(1965) Diabetes sacarina Informe de un Comité de Expertos de la OMS (46 páginas)	5/-	1,00	3,—
311	(1965) Cursos especiales para el alto personal administrativo de los servicios sanitarios nacionales Informe de un Grupo de Estudio de la OMS (36 páginas)	3/6	0,60	2,—
312	(1965) Comité de Expertos de la OMS en Drogas que causan dependencia 14º informe (17 páginas)	3/6	0,60	2,—
313	(1965) Bioquímica y microbiología de los organos genitales femeninos y masculinos Informe de un Grupo Científico de la OMS (16 páginas)	3/6	0,60	2,—
314	(1965) Nutrición e infecciones Informe de un Comité de Expertos de la OMS (34 páginas)	3/6	0,60	2,—
315	(1965) Immunología y enfermedades parasitarias Informe de un Comité de Expertos de la OMS (70 páginas)	5/-	1,00	3,—