

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFICIENCIA DE LOS TOXOIDES TETANICOS*

LOUIS GREENBERG, Ph.D.

Jefe de los Laboratorios de Control Biológico, Laboratorio de Higiene, Departamento Nacional de Sanidad y Asistencia Social, Ottawa, Canadá

Los toxoides tetánicos que se utilizan actualmente presentan una gran variedad, pero en cambio se sabe muy poco acerca de la actividad de las diferentes preparaciones. Un estudio sobre toxoides diftéricos permitió comprobar que existen importantes diferencias de actividad entre los productos preparados en distintos laboratorios y países. Los resultados indicaron la necesidad de emplear procedimientos de control más exactos que los generalmente en uso para tener la seguridad de que sólo se ofrecen al público toxoides diftéricos uniformes y de alta actividad. El presente informe se refiere a un estudio similar de los toxoides tetánicos, efectuado al mismo tiempo que el de los toxoides diftéricos.

Se obtuvieron toxoides de 16 fabricantes de 10 países, y para el examen de todos ellos se emplearon técnicas que se detallan en otro lugar (2), y se utilizó como control el patrón líquido canadiense de referencia V. Todos los ensayos de este estudio se hicieron con cobayos en vista de que los ensayos con ratones dan algunas veces resultados desorientadores (1).

RESULTADOS

Se efectuaron ensayos completos con 47 toxoides. Los resultados aparecen en el Cuadro, en el que, sobre cada una de las preparaciones, se indican los siguientes datos: actividad, expresada en función del patrón canadiense de referencia, número de Lf por ml., número de Lf necesarios para producir el efecto de "una unidad protectora", dosis recomendada por el fabricante, número de unidades protectoras de la inyección inicial y número total de unidades para la inmunización primaria completa. Los datos relativos al valor Lf y a la dosis reco-

mendada fueron facilitados por el fabricante (columnas 5 y 7). La unidad a que se hace referencia en este informe es la Unidad Internacional (UI). (9). Los resultados obtenidos con dos lotes de toxoide de un determinado laboratorio no aparecen en el cuadro, porque ambas preparaciones eran de tan baja actividad que no llegaron a responder a la prueba de identidad¹.

En el curso del estudio se hicieron las siguientes observaciones sobre los resultados de estos ensayos:

1. *Toxoides adsorbidos o precipitados*

Bajo este epígrafe quedan comprendidos el toxoide precipitado con alumbre (TPA), el toxoide purificado precipitado con fosfato de aluminio (TPFA) (3), el toxoide de fosfato (TF) (8) y el toxoide purificado adsorbido en hidróxido de aluminio (TPHA) (6, 7). En el estudio sobre toxoides diftéricos mencionado en la introducción, se pudieron valorar los diversos tipos de preparaciones adsorbidas por su orden de actividad, pero desgraciadamente, en el estudio a que se refiere este artículo no se dispuso de suficientes lotes de cada tipo para poder realizar una diferenciación semejante. Sin embargo, los pocos resultados de que se dispone sugieren que, si existen algunas diferencias en los valores de actividad de los tipos

¹ La prueba de identidad del Laboratorio de Higiene, Departamento de Sanidad y Asistencia Social, Ottawa, Canadá, consiste en inocular en 5 cobayos normales 5,0 ml. de toxoide tetánico y efectuar, dos semanas más tarde, la contraprueba con 20 dosis letales mínimas (DLM) de toxina tetánica. Todos los animales sometidos a la prueba deben soportar la contraprueba sin presentar síntoma alguno del tétano. Esta prueba no es de uso corriente en las pruebas de control de los toxoides tetánicos que practica el Laboratorio de Higiene, pero se llevó a cabo esta vez en vista de que ninguno de los animales había sobrevivido a las dosis regularmente empleadas en el ensayo primitivo.

* Publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 12, No. 5, 1955.

RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE TOXOIDES TETANICOS

| País | Laboratorio y No. del lote | Toxoide | Actividad en función del patrón canadiense | Lf por ml. | Actividad básica* | Dosis recomendada (ml) | Dosis | |
|---------|--|---------------|--|------------|-------------------|------------------------|--------------|------------|
| | | | | | | | Inicial (UI) | Total (UI) |
| I | A 1 2 3 | T-A-B-T (TFL) | 3,2 | 10 | 0,06 | 3 × 1,0 | 178 | 534 |
| | | D-T-P (TPFA) | 6,9 | 5 | 0,01 | 3 × 1,0 | 384 | 1.149 |
| | | T (TFL) | 1,7 | 10 | 0,11 | 3 × 1,0 | 95 | 285 |
| | B 4 5 6 | D-T-P (TFL) | 5,1 | — | — | 3 × 1,0 | 283 | 849 |
| | | T (TFL) | 2,2 | — | — | 3 × 1,0 | 122 | 366 |
| | | T-A-B-T (TFL) | 3,1 | — | — | 3 × 1,0 | 172 | 516 |
| II | C 7 8 9 | D-T-P (TPA) | 12,2 | 50 | 0,07 | 3 × 0,5 | 339 | 1.017 |
| | | D-T (TPA) | 7,2 | 50 | 0,13 | 2 × 0,5 | 200 | 400 |
| | | T (TFL) | 1,2 | 50 | 0,75 | 3 × 0,5 | 33 | 99 |
| | D 10 11 12 13 | D-T (TFL) | 0,8 | 15 | 0,34 | 3 × 0,5 | 22 | 66 |
| | | D-T-P (TFL) | 1,0 | 15 | 0,27 | 3 × 0,5 | 28 | 84 |
| | | D-T (TFL) | 0,6 | 15 | 0,45 | 3 × 0,5 | 17 | 51 |
| | | T (TFL) | 0,3 | 15 | 0,90 | 3 × 0,5 | 8 | 24 |
| | E 14 15 16 | T (TFL) | 3,3 | 20 | 0,11 | 3 × 0,5 | 92 | 276 |
| | | D-T-P (TPA) | 11,5 | 20 | 0,03 | 3 × 0,5 | 320 | 960 |
| | | D-T (TPA) | 6,8 | 20 | 0,05 | 2 × 0,5 | 189 | 378 |
| | F 17 18 | D-T-P (TPA) | 8,3 | 8 | 0,02 | 3 × 0,5 | 231 | 693 |
| | | D-T (TPA) | 4,8 | 12 | 0,05 | 2 × 0,5 | 134 | 268 |
| | G 19 20 21 22 23 | D-T-P (TPA) | 4,0 | 14 | 0,06 | 3 × 0,5 | 111 | 333 |
| | | T (TPA) | 10,8 | 14 | 0,02 | 2 × 0,5 | 300 | 600 |
| | | T (TFL) | 0,9 | 14 | 0,28 | 3 × 0,5 | 25 | 75 |
| | | T (TPFA) | 4,3 | 14 | 0,06 | 2 × 0,5 | 119 | 238 |
| | | D-T (TFL) | 0,9 | 14 | 0,28 | 3 × 0,5 | 25 | 75 |
| | III | H 24 25 | T (TFL) | 0,6 | 8,5 | 0,26 | 2 × 1,0 | 33 |
| T (TFL) | | | 0,9 | 8,0 | 0,16 | 2 × 1,0 | 50 | 100 |
| IV | I 26 | T (TFL) | 0,7 | 28 | 0,73 | 3 × 1,0 | 39 | 117 |
| | J 27 | T (TFL) | 0,3 | 65 | 3,9 | 3 × 1,0 | 17 | 51 |
| V | K 28 29 | D-T (TF) | 5,4 | 10 | 0,03 | 2 × 0,5 | 150 | 300 |
| | | T (TF) | 3,9 | 10 | 0,05 | 2 × 0,5 | 108 | 216 |
| VI | L 30 31 32 33 | D-T (TPHA) | 3,0 | 12,5 | 0,08 | 2 × 1,0 | 167 | 334 |
| | | D-T (TPHA) | 0,7 | 12,5 | 0,32 | 2 × 1,0 | 39 | 78 |
| | | D-T (TPHA) | 3,1 | 12,5 | 0,07 | 2 × 1,0 | 172 | 344 |
| | | D-T (TPHA) | 2,1 | 12,5 | 0,11 | 2 × 1,0 | 117 | 234 |
| VII | M 34 35 36 | T (TFL) | 0,13 | — | — | 3 × 1,0 | 7 | 21 |
| | | T (TFL) | <0,001 | — | — | 3 × 1,0 | — | — |
| | | T (TPA) | 0,07 | — | — | 3 × 1,0 | 4 | 12 |
| VIII | N 37 38 | T (TFL) | 0,07 | 50 | 12,86 | 2,0 y 2,5 | 8 | 18 |
| | | T (TPA) | 0,007 | 30 | 78,26 | 2 × 1,0 | 0,04 | 0,08 |
| IX | O 39 40 41 42 43 44 45 | T (TFL) | 0,1 | 14 | 2,50 | 3 × 1,0 | 6 | 18 |
| | | T (TFL) | 0,2 | 66 | 5,90 | 3 × 1,0 | 11 | 33 |
| | | T (TFL) | 0,2 | 16 | 1,44 | 3 × 1,0 | 11 | 33 |
| | | T (TFL) | 0,2 | 5 | 0,45 | 3 × 1,0 | 11 | 33 |
| | | T (TFL) | 0,8 | 25 | 0,58 | 3 × 1,0 | 43 | 129 |
| | | T (TFL) | 1,5 | 50 | 0,60 | 3 × 1,0 | 83 | 249 |
| | | T (TFL) | 0,9 | 10 | 0,21 | 3 × 1,0 | 47 | 141 |

* Número de Lf requerido para producir el efecto de "una unidad protectora" (UI)

T: Toxoide tetánico

D-T: Toxoide diftérico combinado con toxoide tetánico

D-T-P: Toxoide diftérico combinado con toxoide tetánico y vacuna pertúsica

T-A-B-T: Vacunas tifoideas y paratifoideas A y B combinadas con toxoide tetánico

estudiados, tales diferencias son de escasa importancia. En general, los toxoides adsorbidos fueron considerablemente más activos que los líquidos. Si no se toman en consideración los resultados conseguidos con los toxoides 36 y 38, puesto que difieren tan acentuadamente de los demás, las actividades básicas de las preparaciones adsorbidas—es decir, el número de Lf requerido para producir el efecto de una unidad internacional (UI) (indicado en la columna 6 del Cuadro)—oscilan entre 0,01 y 0,13 Lf, con un promedio de 0,04 Lf por UI.

2. *Toxoides de formol, crudo y purificado (toxoides líquidos) (TFL)*

Se efectuaron ensayos completos con 29 toxoides líquidos. No se dispuso del contenido Lf en el caso de 5 preparaciones: los lotes 4, 5, 6, 34, 35. Los dos últimos fueron de actividad sumamente baja. Otros siete lotes de toxoides resultaron muy débiles; la actividad básica de cinco de ellos fué superior a 1,0 Lf por UI, y 2, mencionados anteriormente, no respondieron a la prueba de identidad. La actividad básica de los 17 toxoides restantes osciló entre 0,06 y 0,9 Lf, con un promedio de 0,65 Lf por UI.

El número de unidades "protectoras" de la primera inyección y el número administrado para la totalidad del tratamiento de inmunización primaria, aparecen, respectivamente, en las columnas 8 y 9 del Cuadro. Estas cifras se basan en la actividad, tal como quedó determinada por los ensayos en cobayos, y en las dosis recomendadas por los fabricantes. Las dosis de las distintas preparaciones varían de 0. a 384 UI para la inyección inicial, y de 0. a 1,149 unidades para la inmunización primaria completa.

COMENTARIO

El toxoide tetánico se considera como uno de los agentes inmunizadores más eficaces, pero de los resultados que se consignan en el Cuadro se desprende que existen considerables diferencias de actividad entre las diversas preparaciones en venta. Algunos de los productos no pudieron, por demasiado

débiles, responder a la prueba de identidad, y la actividad de otros era, en cambio, 12 veces mayor que la del patrón de referencia del Laboratorio de Higiene. En general, las preparaciones adsorbidas que se ensayaron fueron mucho más activas que las líquidas, pero también entre ellas hubo dos, los lotes 36 y 38, de actividad inferior al 10% de la actividad del patrón líquido canadiense. Es de deplorar que no se dispusiera en esta serie de un número de muestras de cada uno de los tipos de preparaciones adsorbidas suficiente para establecer una valoración comparativa de su actividad.

La variación del número de unidades protectoras (de 0. a 1,149 para la inmunización primaria completa) contenida en las dosis de las diferentes preparaciones recomendadas por el fabricante es bastante sorprendente. Es muy improbable que las preparaciones incapaces de responder a la prueba de identidad tengan valor inmunizante alguno y es, asimismo, dudoso que las preparaciones de potencia inferior al 30% del patrón canadiense puedan considerarse como antígenos especialmente eficaces. Nueve toxoides quedaron en esta última categoría, y por lo tanto, 11 (24%) de las preparaciones ensayadas hubo que clasificarlas como inútiles o de muy dudoso valor.

Se desprende de los datos que figuran en el Cuadro que algunos laboratorios están en condiciones de producir uniformemente toxoides de un elevado nivel de actividad, y que otros no lo están. Como ocurre con los toxoides diftéricos, la mayoría de los países controlan la actividad de los toxoides tetánicos mediante pruebas de actividad mínima. Se desprende de los resultados obtenidos que los procedimientos en uso son totalmente defectuosos en algunos casos y que hace falta establecer métodos más precisos de control. Es indispensable, en efecto, que las pruebas se contrasten con un patrón estable conocido, y se conciben de manera que el grado de seguridad que ofrezcan los resultados se pueda calcular a base de dichas pruebas. La adopción del Patrón Internacional para el toxoide tetánico y el estableci-

miento de la Unidad Internacional (9) serán, sin duda, sumamente útiles para el logro de esta finalidad. Por desgracia no se ha determinado aún exactamente la relación entre los ensayos de laboratorios hechos con animales y los resultados obtenidos en el hombre, y mientras no se dé este paso previo no podrán establecerse límites de actividad de las preparaciones que se lancen al mercado. Ciertas indicaciones parecen probar la existencia de una correlación entre los ensayos en animales y la actividad del toxoide tetánico en el hombre. Maclean y Holt (5) descubrieron que la adición de vacuna TAB al toxoide tetánico multiplica aproximadamente por cinco su actividad en el hombre y se ha dado cuenta de haberse obtenido resultados similares en ratones y en cobayos (2). Gracias a un estudio muy bien planeado, Ipsen (4) descubrió que la aptitud relativa de cuatro toxoides para producir una inmunidad primaria era la misma por individuo (dentro del margen de error experimental) tanto si se aplicaba a seres humanos como a ratones o cobayos. Sin embargo, estos resultados no pueden considerarse, por sí solos, como concluyentes.

En Canadá no se exige a los fabricantes de toxoides tetánicos que controlen la actividad de sus productos mediante una valora-

ción apropiada, pero esas pruebas se realizan normalmente en el Laboratorio de Higiene. De este modo han sido identificados los fabricantes de toxoides de baja actividad y se les ha negado la autorización de venderlos en el mercado canadiense hasta que, debidamente puestos a prueba, demostraran poseer una potencia por lo menos igual a la del patrón líquido canadiense; de este modo se cuenta con una razonable garantía de que los productos son de suficiente actividad. El valor de este procedimiento se refleja en los resultados que figuran en el Cuadro. Por ejemplo, las muestras de los laboratorios canadienses A y B no fueron especialmente elegidas para figurar en este informe; se trata de muestras ordinarias ensayadas en el curso del estudio. Todas ellas resultaron ser de elevada actividad y ambos laboratorios han mantenido ese elevado nivel por espacio de más de cuatro años.

Por último, para conseguir una inmunización realmente eficaz (máxima) del hombre contra el tétanos, será necesario determinar la dosis efectiva óptima (en unidades) en el hombre, y exigir del fabricante que valore cada lote mediante un procedimiento de eficacia reconocida y declare en la etiqueta la actividad expresada en unidades.

ANEXO I

LABORATORIOS QUE ENVIARON MUESTRAS PARA EL ESTUDIO

Canadá

Dr. A. Frappier
 Institut de Microbiologie et d'Hygiène
 Universidad de Montreal
 Montreal, Quebec

Dr. P. J. Maloney
 Connaught Medical Research Laboratories
 Universidad de Toronto
 Toronto, Ontario

Dinamarca

Dr. Inga Scheibel
 Statens Seruminstitut
 Copenhague

España

Dr. J. Megías
 Instituto Llorente
 Madrid

Estados Unidos

Dr. G. D. Brigham
 Parke Davis and Co.
 Detroit, Michigan

Dr. E. G. Gerwe
 Eli Lilly and Co.
 Indianápolis, Indiana

Mr. R. P. Knerr
 The National Drug Co.
 Swiftwater, Pensilvania

Dr. H. D. Piersma
Lederle Laboratories Division
American Cyanamid Co.
Pearl River, Nueva York

Dr. Walter E. Ward
Cutter Laboratories
Berkeley, California

Francia

Dr. L. P. Delpy
Institut Merieux
Marcy-l'Etoile (Ródano)

Italia

Dr. D. d'Antona
Istituto Sieroterapico e Vaccinogeno Toscano
Siena

Países Bajos

Dr. A. Tasman
Instituto Nacional de Salud Pública
Utrecht

Reino Unido

Srta. Mollie Barr
Wellcome Research Laboratories
Beckenham, Kent

Dr. J. E. Crofts
Glaxo Laboratories Ltd.
Greenford, Middlesex

Turquía

Dr. Nusrat Fisek
Instituto Central de Higiene
Ankara

RECONOCIMIENTO

El autor agradece al Dr. R. H. Regamey, del Institut Sérothérapique et Vaccinal Suisse, Berna, Suiza, su concurso en la tarea de conseguir especímenes para este estudio. También da las gracias al Dr. E. T. Bynoe por su asesoramiento

y por las observaciones críticas formuladas durante la preparación de este artículo, y a los Srs. J. Naubert y E. J. Hamilton por la asistencia técnica prestada.

REFERENCIAS

- (1) Greenberg, L.: *Bol. Org. Mund. Salud*, 9:337, 1953.
- (2) Greenberg, L.; Gibbard, J., y Morrell, C. A.: *Bull. Hlth Org. L.o.N.*, 12:365, 1946.
- (3) Holt, L. B.: *Developments in diphtheria prophylaxis*, Londres, 1950.
- (4) Ipsen, J. jr.: *Jour. Immunol.*, 70:426, 1953.
- (5) Maclean, I. H., y Holt, L. B., *Lancet*, 2:581, 1940.
- (6) Scheibel, I. F.: *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 21:130, 1944.
- (7) Schmidt, S., y Hansen, A.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Supl.* 16, p. 407, 1933.
- (8) Tasman, A., y Ramshorst, J. D. van: *Leeuwenhoek ned. Tijdschr.*, 17:153, 1951.
- (9) Organización Mundial de la Salud, Comité de Expertos en Estandarización Biológica: *Wld. Hlth. Org. Tech. Rep. Ser.*, 56:5, 1952.