

# ESTABILIDAD DE LA VACUNA ANTIRRABICA DE CEREBRO DE RATON LACTANTE ALMACENADA A DISTINTAS TEMPERATURAS<sup>1</sup>

— Ana María O. Díaz,<sup>2</sup> Graciela N. Perdomo<sup>2</sup> y Oscar Becco<sup>2</sup> —

## INTRODUCCION

La rabia en el hombre y los animales continúa siendo un grave problema para la salud pública y la economía pecuaria de la mayoría de los países de América Latina y el Caribe (1). Entre 1980 y 1985, en estos países se registraron 1 744 casos de rabia en seres humanos, 83 858 en perros, 6 876 en gatos y 28 800 en bovinos, si bien en esta última especie no se notifica una proporción muy considerable de los casos (2).

América Latina y el Caribe elaboraron durante 1985 más de 5 200 000 dosis de vacuna de cerebro de ratón lactante (CRL) en 19 laboratorios productores oficiales para la vacunación de los tres millones de personas que anualmente requieren tratamiento antirrábico, según la información enviada por los países al Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO). Las vacunas de uso

veterinario son elaboradas por laboratorios oficiales y algunos privados. En 1985, los primeros produjeron alrededor de 25 millones de dosis, de las cuales 87% fueron de vacuna CRL. (Datos inéditos. Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS, 1986.)

La vacunación masiva de perros y el tratamiento oportuno de las personas expuestas constituyen las medidas más eficaces de control (3), que exigen disponer de vacunas potentes, inocuas, estables y económicas. La vacuna antirrábica CRL para uso humano y animal se caracteriza por su bajo costo de producción y su buena potencia antigénica (4, 5). Sin embargo, en la literatura no se mencionan estudios sistemáticos acerca de su estabilidad. En consecuencia, nos propusimos evaluar la capacidad de la vacuna CRL de mantener su poder inmunógeno a diferentes temperaturas y durante distintos períodos de tiempo.

<sup>1</sup> Se publica en el *Bulletin of the Pan American Health Organization* Vol. 22, No. 3, 1988, con el título "Stability of the rabies suckling mouse brain vaccine stored at different temperatures".

<sup>2</sup> Organización Panamericana de la Salud, Centro Panamericano de Zoonosis. Dirección postal: Casilla 3092, 1000 Buenos Aires, Argentina.

# MATERIALES Y METODOS

## Vacunas CRL experimentales líquidas

Se prepararon seis lotes de vacuna CRL para uso humano (CRL-H) y otros seis para uso canino (CRL-C), según la técnica descrita por Fuenzalida (6). Los valores antigénicos estuvieron dentro de los intervalos observados con mayor frecuencia cuando se determinaron por medio de la prueba de potencia de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (prueba de NIH) (7).

Asimismo, se preparó un lote de vacuna CRL para uso bovino (CRL-B), de acuerdo con lo descrito por Díaz y Lombardo (8).

## Vacunas CRL experimentales liofilizadas

En el laboratorio de CEPANZO se elaboraron seis lotes de vacuna CRL experimental para uso humano y para uso canino, los cuales se liofilizaron en un equipo Virtis de tal manera que tuvieran una humedad residual de 2 a 3%. El ciclo de liofilización fue el siguiente: los frascos con 2 ml del producto se colocaron en los estantes de la cámara del liofilizador hasta que alcanzaron  $-50^{\circ}\text{C}$  y se desecaron en una atmósfera de 5 micras de vacío durante 72 horas. La temperatura final del producto fue de  $18^{\circ}\text{C}$ . Los frascos fueron cerrados al vacío. Se prepararon otros seis lotes de CRL-H con una humedad residual de 5 a

7%. Como estabilizadores de la liofilización se usaron sacarosa (7,5%) y gelatina (0,5%).

Se preparó un lote de vacuna CRL-B liofilizada que se reconstituyó con un diluyente que contenía  $(\text{OH})_3\text{Al}$  al 2% (8). La humedad residual se determinó por el método de Karl Fisher (9).

## Pruebas de estabilidad

Se almacenaron muestras de cada lote de vacunas a distintas temperaturas: 4, 25 y  $37^{\circ}\text{C}$ . Periódicamente se determinó la potencia antigénica mediante la prueba de NIH (7). Se utilizaron ratones CF-1 de 10 a 14 g y la vacuna de referencia CPZ-10, cuyo requisito mínimo de potencia era de 0,2. Las vacunas se probaron en bloque en cada una de las fechas programadas.

Los cálculos de regresión para todos los lotes de vacuna preparados se hicieron por el método de los cuadrados mínimos (10).

# R RESULTADOS

## Vacunas líquidas

Los valores antigénicos iniciales (VA-i) para las vacunas CRL-H líquidas fueron: lote 1 = 0,8; lote 2 = 0,95; lote 3 = 0,9; lote 4 = 0,7; lote 5 = 0,8, y lote 6 = 0,8. En cuanto a las vacunas CRL-C líquidas, los VA-i fueron: lote 1 = 5,0; lote 2 = 4,6; lote 3 = 6,7; lote 4 = 1,5; lote 5 = 1,5, y lote 6 = 1,5.

El cuadro 1 muestra la estabilidad de los distintos tipos de vacuna CRL líquida almacenada a diferentes temperaturas. El 100% de los seis lotes de vacuna CRL-H con valor antigénico promedio inicial ( $\bar{\text{VA}}\text{-i}$ ) de 0,8 mantuvo su potencia por encima del requisito mínimo durante 15 meses de almace-

**CUADRO 1.** Número de lotes de distintos tipos de vacuna antirrábica CRL líquida con requisitos mínimos de potencia aceptables, según la temperatura y los meses de almacenamiento

Almacenamiento (meses)	Vacuna CRL líquida								
	Para uso humano			Para uso canino			Para uso bovino		
	4 °C	25 °C	37 °C	4 °C	25 °C	37 °C	4 °C	25 °C	37 °C
1	6	6	4	6	6	1	1	1	1
3	6	0	0	6	1	0	1	1	1
6	6	0	0	6	0	0	1	1	0
12	6	0	0	6	0	0	1	1	0
15	6	0	0	6	0	0	1	1	0

miento a 4 °C (valor antigénico promedio final ( $\overline{VA-f}$ ) = 0,5) y durante 30 días a 25 °C ( $\overline{VA-f}$  = 0,4). El 66,7% (cuatro de seis lotes) mantuvo su capacidad inmunógena durante 30 días a 37 °C ( $\overline{VA-f}$  = 0,3).

El 100% de los seis lotes de vacuna CRL-C mantuvo la potencia por encima del requisito mínimo durante 15 meses de almacenamiento a 4 °C ( $\overline{VA-i}$  = 4,5;  $\overline{VA-f}$  = 1,5) y durante 30 días a 25 °C; un lote cumplió con el requisito mínimo de potencia después de tres meses a 37 °C ( $\overline{VA-i}$  = 3,5;  $\overline{VA-f}$  = 0,4).

La figura 1 muestra la caída de potencia de los seis lotes de vacuna CRL-H durante todo el período de observación. La regresión lineal, calculada por el método de los cuadrados mínimos, tuvo una pendiente de -0,032, que permitió estimar una pérdida de potencia de 41,7% después de 12 meses de almacenamiento y de 52,3% al finalizar los 15 meses del período de observación.

La figura 2 muestra la disminución de potencia de los seis lotes de vacuna CRL-C durante todo el período

de observación. La pendiente de la regresión lineal fue de -0,201. Se estimó que la potencia antigénica disminuyó en 47,7% al cabo de 12 meses de almacenamiento y en 59,6% al finalizar los 15 meses de observación.

En tres de los 12 lotes de vacuna líquida estudiados (CRL-H, lotes 5 y 6, y CRL-C, lote 2) la potencia disminuyó en forma menos acentuada, con una mediana de 21% a los 12 y 15 meses de almacenamiento a 4 °C.

El lote de CRL-B líquida mantuvo la potencia por encima del requisito mínimo exigido por la prueba de NIH durante 15 meses cuando se almacenó a 4 °C ( $\overline{VA-i}$  = 5,3;  $\overline{VA-i}$  = 1,2) y 25 °C ( $\overline{VA-f}$  = 0,3), y perdió su capacidad antigénica entre los 90 y 180 días de almacenamiento a 37 °C ( $\overline{VA-f}$  = 1,6).

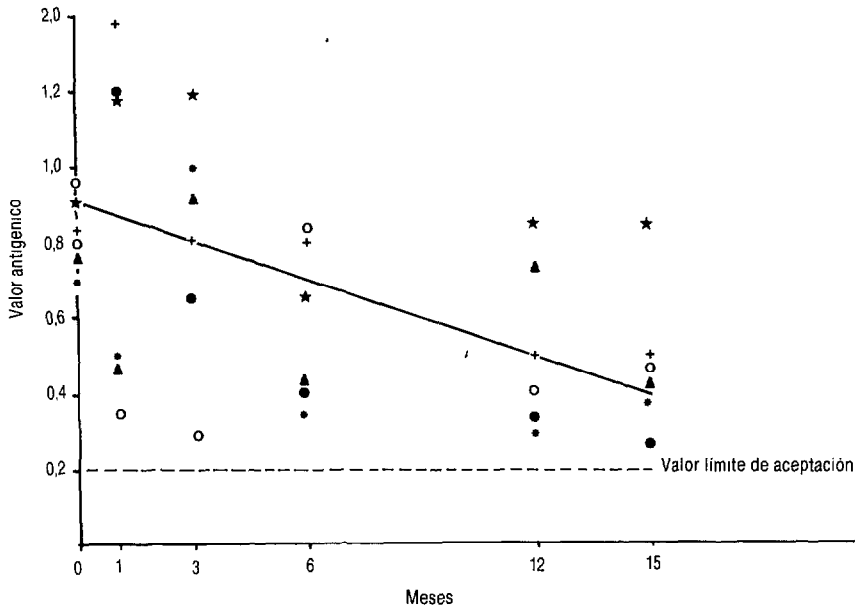
## Vacunas liofilizadas

Las vacunas CRL-H liofilizadas tuvieron los siguientes  $\overline{VA-i}$ : lote 1 = 1,5; lote 2 = 2,3, y lote 3 = 1,4. En cuanto a las vacunas CRL-C: lote 1 = 2,9; lote 2 = 3,8, y lote 3 = 1,0.

En los seis lotes con una humedad residual de 5 a 7%, los  $\overline{VA-i}$  fueron: lote 1 = 0,9; lote 2 = 0,6; lote 3 = 0,4; lote 4 = 0,4; lote 5 = 0,3, y lote 6 = 0,5.

El valor antigénico de la vacuna CRL-B liofilizada fue de 8,9. Esta

**FIGURA 1. Estabilidad de la vacuna CRL para uso humano líquida, almacenada a 4 °C durante 15 meses<sup>a</sup>**



Lote 1 (+); lote 2 (●); lote 3 (★); lote 4 (◆); lote 5 (▲); lote 6 (○)

<sup>a</sup> Regresión lineal  $y = 0,919 + (-0,032) x$

vacuna mantuvo su potencia durante 15 meses a las tres temperaturas de observación (cuadro 2).

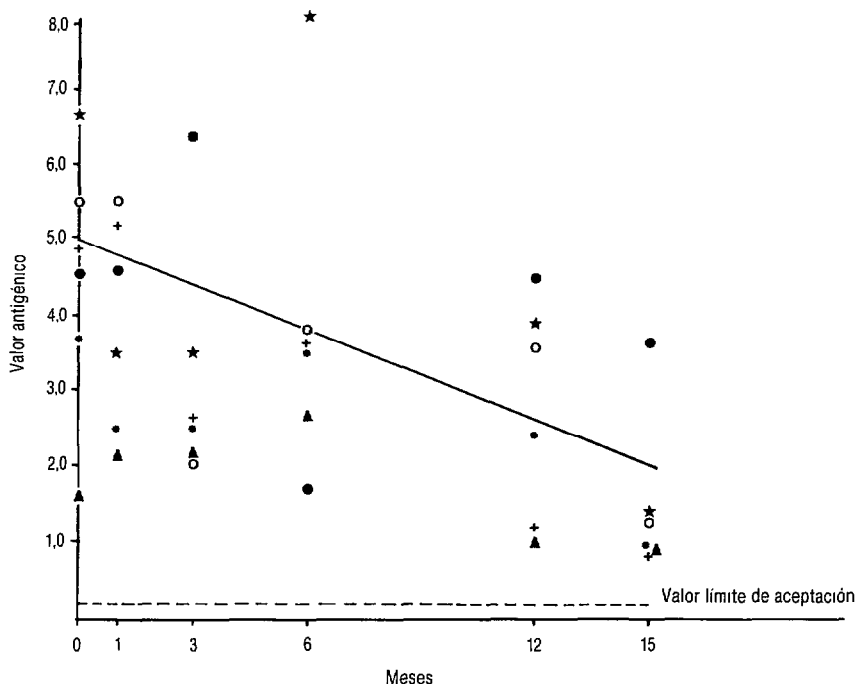
En el cuadro 3 se observa la estabilidad de 12 lotes de vacunas CRL liofilizadas con distinta humedad residual, almacenados a 4, 25 y 37 °C. Las vacunas con una humedad residual de 2 a 3% mantuvieron la potencia por encima del requisito mínimo exigido por la prueba de NIH durante 24 meses a las tres temperaturas de observación. Las vacunas con una humedad residual de 5 a 7% solo fueron estables cuando se almacenaron a 4 °C. Los valores antigénicos hallados fueron inferiores en relación con el primer grupo.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio demuestran que la vacuna CRL en sus tres formulaciones —humana, canina y bovina— mantiene el poder inmunógeno durante períodos de tiempo prolongados.

La vacuna CRL es una de las vacunas antirrábicas que se usan actualmente porque induce una respuesta inmunitaria rápida y confiere protección tanto al hombre como a los animales contra la infección viral (11-16). La situación de la rabia en los países en desarrollo obliga a disponer de vacunas seguras, eficaces, económicas y estables (17). Esto es particularmente importante si se tiene en cuenta que 94,2% de los tratamientos

**FIGURA 2. Estabilidad de la vacuna CRL para uso canino líquida, almacenada a 4 °C durante 15 meses<sup>a</sup>**



Lote 1 (+); lote 2 (●); lote 3 (★); lote 4 (◐); lote 5 (▲); lote 6 (○)

<sup>a</sup> Regresión lineal:  $y = 5,053 + (-0,201) x$

**CUADRO 2. Valores antigénicos de la vacuna antirrábica CRL para uso bovino líquida y liofilizada, según la temperatura y los meses de almacenamiento<sup>a</sup>**

Almacenamiento (meses)	Vacuna CRL para uso bovino					
	Líquida			Liofilizada		
	4 °C	25 °C	37 °C	4 °C	25 °C	37 °C
1	4,1	2,1	2,7	14,0	5,7	6,1
3	3,0	4,6	1,6	5,5	7,8	10,0
6	6,8	0,9	0	11,0	8,8	5,8
12	0,6	0,4	0	5,3	6,2	3,2
15	1,2	0,3	0	6,6	5,2	3,6

<sup>a</sup> Requisito mínimo de potencia = 0,2.

**CUADRO 3. Número de lotes y valores antigénicos promedios de la vacuna antirrábica CRL liofilizada, según su humedad residual y la temperatura y los meses de almacenamiento<sup>a</sup>**

Almacenamiento (meses)	Humedad residual					
	De 2 a 3%			De 5 a 7%		
	4 °C	25 °C	37 °C	4 °C	25 °C	37 °C
1	6 (3,2) <sup>b</sup>	6 (2,2)	6 (1,8)	6 (0,5)	0 (<0,2)	0 (<0,2)
3	6 (3,2)	6 (2,2)	6 (0,6)	6 (0,8)	0	0
6	6 (2,9)	6 (2,9)	6 (1,5)	6 (1,1)	0	0
12	6 (2,7)	6 (3,5)	6 (1,1)	6 (1,6)	0	0
24	6 (3,9)	6 (1,6)	6 (2,0)	6 (0,6)	0	0

<sup>a</sup> Requisito mínimo de potencia = 0,2.

<sup>b</sup> Los números entre paréntesis corresponden al valor antigénico promedio.

antirrábicos se administran en regiones tropicales (18).

En un estudio (19) sobre la estabilidad de dos lotes de vacuna antirrábica líquida para uso humano elaborada a partir de células diploides y almacenada a 4 °C se observó que los  $\overline{VA}$ -i 13,2 y 18,5 disminuyeron a 2,9 y 7,2, respectivamente, al cabo de 12 meses. A su vez, en otro estudio (20) sobre la estabilidad de un lote de vacuna antirrábica experimental elaborada en cultivo de células BHK-21 para uso animal, el  $\overline{VA}$ -i fue de 3,9 y disminuyó a 2,3 al cabo del mismo tiempo de almacenamiento a idéntica temperatura que la investigación anterior.

La disminución de la potencia antigénica de los 12 lotes de vacunas líquidas experimentales CRL-H y CRL-C del presente estudio, almacenados a la misma temperatura, fue similar a la observada en las vacunas de cultivos celulares arriba mencionadas. Estos datos confirmarían que la potencia de las vacunas antirrábicas inactivas en estado líquido disminuye durante su período de vida útil. Sin embargo, en otro trabajo (21) en el que se estudió la estabilidad de dos lotes de vacuna elaborada a partir de células NIL-2 y almacenadas durante 12 meses a 4 °C, no se observó variación

de la potencia antigénica, lo que indicaría una mayor estabilidad de este tipo de vacuna. Corresponde recordar que la estimación de la potencia de estas vacunas mediante la prueba de NIH está sujeta a gran variabilidad (22, 23). Por ello, no conviene generalizar acerca de la estabilidad de un determinado tipo de vacuna antirrábica cuando se estudia un número muy limitado de lotes. El comportamiento diferente de tres de los 12 lotes estudiados de vacunas CRL líquidas podría explicarse por esa misma variabilidad.

Es importante la comprobación de que las vacunas CRL líquidas para uso humano y animal conservan su capacidad antigénica durante 15 meses de almacenamiento a la temperatura recomendada (4 °C), porque en América Latina y el Caribe no existe un criterio uniforme acerca del período de su validez, que varía entre 6 y 12 meses, con excepción de Colombia donde es de 24 meses. Los resultados de este estudio indicarían que un período de validez de un

año sería adecuado, habida cuenta de que después de 12 meses a 4 °C el valor antigénico de las vacunas CRL-H disminuyó entre 16 y 65,5% y a los 15 meses, entre 18 y 82%. La disminución de la potencia de las CRL-C varió a los 12 meses entre 21 y 70% y a los 15 meses, entre 24 y 87%. Se ha comprobado que la vacuna CRL-C con un VA de 0,3 protegió al 100% de los perros expuestos al virus de la rabia un año después de haber sido vacunados y al 80% a los tres años (13). La adopción de una validez de 12 meses evitaría que se desecharan lotes de vacunas de calidad comprobada por haberseles fijado límites de validez más breves.

En su 31° informe, el Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos recomienda que las fechas de expiración de las vacunas antirrábicas se fijen a partir del último ensayo de actividad con resultado satisfactorio (24). Sin embargo, si se tiene en cuenta la disminución gradual de la potencia de las vacunas antirrábicas líquidas con el tiempo, parecería adecuado que la fecha de expiración de la vacuna CRL se fijara a partir del momento de su producción. Este criterio es el mismo que el estipulado por el código de regulaciones sobre sustancias biológicas de los Estados Unidos para los períodos de validez de tales sustancias con licencia en ese país (25).

Si se liofilizan las vacunas antirrábicas, el período de validez puede ampliarse a 18 o 24 meses (24). Para evaluar la estabilidad de las vacunas liofilizadas se utilizan principalmente pruebas para determinar la potencia antigénica y la humedad residual (26). En este trabajo, la estabilidad de las vacunas CRL-H liofilizadas fue comparable a la observada en un estudio (27) de 127 lotes de vacunas liofilizadas elaboradas en un cultivo de células diploides de origen humano y, más recientemente, en otra investigación (28) en que se demostró que los lotes de vacuna purificada

obtenida a partir de células Vero mantenían su potencia durante 24 meses a 4 °C y durante más de 6 meses a 37 °C. Las vacunas CRL-C y CRL-B liofilizadas fueron tan estables como las elaboradas en cultivos de células NIL-2 (21) y de células BHK-21 (29, 30).

El Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos recomienda que las vacunas antirrábicas liofilizadas contengan no más de 1% de humedad residual (24); en el código de regulaciones sobre sustancias biológicas de los Estados Unidos se utiliza el mismo valor excepto para algunos productos como la vacuna BCG y otras vacunas virales (31). Sin embargo, la naturaleza de algunos de estos productos y los aditivos que contienen pueden impedir que se logre una humedad residual de 1%. Por eso, cada productor debería determinar el nivel más satisfactorio de humedad residual que permite mantener la estabilidad del producto durante todo el período de validez del mismo (26). Así, por ejemplo, en el caso de las vacunas CRL-H y CRL-C, los seis lotes que tenían una humedad residual de 2 a 3% mantuvieron su capacidad antigénica durante 24 meses a 4, 25 y 37 °C.

En un estudio anterior (32), se obtuvieron resultados similares cuando se evaluó la estabilidad de cinco lotes de vacunas liofilizadas elaboradas a partir de células diploides de origen humano que tenían una humedad residual de entre 2,6 y 3,3%. Todas las vacunas mantuvieron su potencia después de una incubación de cuatro semanas a 37 °C y un lote, durante 12 meses a 4 y 22 °C, así

como durante seis meses a 37 °C. Las vacunas CRL-H y CRL-C con una humedad residual mayor de 5% solo mantuvieron su capacidad antigénica cuando se almacenaron a 4 °C. Si bien la sacarosa y la gelatina se han usado como estabilizadores de distintos tipos de vacunas antirrábicas (33, 34), queda por estudiar la composición del estabilizador inocuo y más conveniente para liofilizar la vacuna CRL para uso en seres humanos.

Finalmente, conviene añadir que la buena estabilidad de la vacuna CRL no debe inducir a los usuarios a descuidar la temperatura óptima de conservación (de 4 a 8 °C) y correr el riesgo de que disminuya la actividad de la vacuna durante su almacenamiento y aplicación en condiciones de campo.

## RESUMEN

Habida cuenta de que anualmente mueren de rabia alrededor de 300 personas en América Latina y el Caribe, es indispensable para la Región disponer de vacunas antirrábicas potentes, inocuas, estables y de bajo costo. La más común, tanto para uso humano como animal, es la vacuna preparada con cerebro de ratón lactante (CRL). Para demostrar la estabilidad de la vacuna CRL en distintas condiciones ambientales, se realizó el siguiente estudio: se prepararon varios lotes de vacuna experimental para uso humano (CRL-H) y canino (CRL-C), líquida y liofilizada; se mantuvieron grupos de muestras a 4, 25 y 37 °C, y periódicamente se controló su potencia antigénica por medio de la prueba de NIH.

Se comprobó que la potencia de los lotes de vacuna CRL-H almacenados a 4 °C, con un valor antigénico promedio de 0,8, disminuyó gradualmente hasta que este valor fue 52,3% inferior al inicial. No obstante, 100% de los lotes cumplieron con el requisito mínimo de potencia de la prueba de NIH y mantuvieron su potencia durante 30 días a 25 °C, mientras que 66% la conservaron durante un mes a 37 °C.

Los lotes de vacuna CRL-C almacenados durante 15 meses, con un valor antigénico promedio de 4,5, disminuyeron su potencia en 59,6% al final del período de observación. El 100% de estos lotes superaron el requisito mínimo de potencia al cabo de 30 días a 25 °C y ninguno cumplió con este requisito después de un mes a 37 °C.

En cuanto a las vacunas liofilizadas, tanto para uso humano como canino, se encontró que todos los lotes con una humedad residual de 2 a 3% mantuvieron su poder antigénico durante 24 meses a 4, 25 y 37 °C de almacenamiento.

Estos datos indican que el período de validez adecuado para la vacuna CRL líquida almacenada a 4 °C sería de un año. Si se liofilizan las vacunas antirrábicas, el período de validez puede ampliarse a 18 o 24 meses. Se sugiere que este período se establezca desde que finaliza la producción de la vacuna y no a partir de la realización de la última prueba de potencia con resultado satisfactorio. □

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a los Dres. Casimiro García Carrillo y Emilio Coltorti, a la Sra. Nelly Bonomini, la Lic. Susy Albertelli y el Sr. Carlos Larrañaga su colaboración en la preparación de este trabajo.



# REFERENCIAS

- 1 Honigman, M. N. *La rabia en las Américas, 1970-1979. Análisis y comentarios*. Buenos Aires, Centro Panamericano de Zoonosis, 1981. Publicación Especial 3.
- 2 *Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en las Américas (CEPANZO)* 12:7-12, 1986.
- 3 Organización Mundial de la Salud. *Rabia. Comité de Expertos de la OMS*. Ginebra, 1984. Serie de Informes Técnicos 709.
- 4 Larghi, O. P. Improvement of post and pre-exposure immunization in Latin America. In: Kuwert, E. K., Wiktor, T. J. y Koprowski, H., eds. *Cell culture rabies vaccines and their protective effect in man*. Ginebra, Cruz Verde Internacional, 1981, pp. 283-287.
- 5 Nicholson, K. G. Improving rabies post exposure treatment in developing countries. Some suggestions. In: Kuwert, E. K., Wiktor, T. J. y Koprowski, H., eds. *Cell culture rabies vaccines and their protective effect in man*. Ginebra, Cruz Verde Internacional, 1981, pp. 288-293.
- 6 Fuenzalida, E. y Palacios, R. Un método mejorado para la preparación de la vacuna antirrábica. *Bol Inst Bacteriol Chil* 8(1-4):3-10, 1950.
- 7 Seligman, E. B. Prueba de potencia NIH. In: Kaplan, M. M. y Koprowski, H., eds. *La rabia. Técnicas de laboratorio*, 3a. ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1976, pp. 294-302. Serie de Monografías 23.
- 8 Díaz, A. M. O. y Lombardo, R. A. Inmunización de terneros con vacuna antirrábica de cerebro de ratón lactante. *Rev Asoc Argent Microbiol* 13(2):45-48, 1981.
- 9 United States Pharmacopeial Convention. *The United States Pharmacopeia. XIX Revision*. Rockville, Maryland, 1975, pp. 668-669.
- 10 Dixon, W. S. y Massey, F. J. *Introducción al análisis estadístico*. México, DF, McGraw-Hill, 1980.
- 11 Held, J. R., Fuenzalida, E., López Adaros, H., Arrossi, J. C., Poles, N. O. R. y Scivetti, A. Inmunización humana con vacuna antirrábica de cerebro de ratón lactante. *Bol Of Sanit Panam* 72(6):565-575, 1972.
- 12 Díaz, A. M. O., González Resigno, G., Fernández Munilla, A., Larghi, O. P., Marchevsky, N. y Arrossi, J. C. Vacuna antirrábica de cerebro de ratón lactante. Esquemas reducidos de inmunización post-exposición. *Rev Asoc Argent Microbiol* 11(1):42-44, 1979.
- 13 Sikes, R. K., Peacock, G. V., Acha P. N., Arko, R. J. y Dierks, R. Rabies vaccine. Duration of immunity study in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 159(11):1491-1499, 1971.
- 14 Serufo, J. C., Gonçalves de Lima, M., Hayashi, Y., Montañó, J. A., Mora, E. y Belotto, A. J. Reduced schedule for the prophylactic treatment of rabies in man with the suckling mouse brain vaccine. *Arq Biol Tecnol* 28(2):227-243, 1985.
- 15 Schlogel, F., Monteiro, T. M., Wartelsteiner, E. M. y Kurowski, V. M. Canine and feline rabies in the state of Parana (Brasil). *Arq Biol Tecnol* 28(2):265-276, 1985.
- 16 Fuenzalida, E., Díaz, A. M. O. y Rivenson, S. Vacuna antirrábica de cerebro de ratón lactante suplementada con adyuvante. Su aplicación en bovinos. *Rev Asoc Argent Microbiol* 10(1):47-53, 1973.
- 17 Organización Mundial de la Salud. World Survey of Rabies XXII (for years 1984/85). Ginebra, 1987. Documento WHO/Rabies 87/198.
- 18 Acha, P. N. y Arambulo, P. V. Rabies in the tropics. History and current status. In: Kuwert, E. K., ed. *Rabies in the Tropics*. Berlín, Springer Verlag, 1984.
- 19 Nicolas, A. J., Patet, J., Vincent-Falquet, J. C., Branche, R., Delati, P., Montagnon, B., Peyron, L. y Soulebot, J. P. Production of inactivated rabies vaccine for human use on W138 diploid cells. Results of potency test, stability of vaccine in liquid and freeze-dried forms. *Dev Biol Stand* 40:17-24, 1978.
- 20 Larghi, O. P., Savy, V., Nebel, A. E. y Rodríguez, A. Ethylenimine-inactivated rabies vaccine of tissue culture origin. *J Clin Microbiol* 3(1):26-33, 1976.
- 21 Précausta, P. Vaccine antirabique inactivé à usage vétérinaire préparé à partir de culture cellulaire. *Symp Ser Immunobiol Stand* 21:162-178, 1974.

- 22 Wiktor, T. J., Atanasiu, P., Bahmanyar, M., Bogel, K., Cox, J. H., Díaz, A. M., Fitzgerald, E. A., Kuwert, E. K., Netter, R., Selimov, M., Turner, G. y Van Steenis, G. Comparison studies on potency tests for rabies vaccines. *Dev Biol Stand* 40:171-178, 1978.
- 23 Barth, R., Grob-Albenhausen, E., Jaeger, O. y Milcke, L. The antibody-binding-test, a useful method for quantitative determination of inactivated rabies virus antigen. *J Biol Stand* 9(1):81-89, 1981.
- 24 Organización Mundial de la Salud. *Patrones biológicos. 31° informe del Comité de Expertos de la OMS*. Ginebra, 1981. Serie de Informes Técnicos 658.
- 25 Estados Unidos de América, Administración de Alimentos y Medicamentos. Dating periods for licensed biological products (21 CFR 610.53). *Federal Register* 50:4134, 29 de enero de 1985.
- 26 Seligman, E. B. Review of United States requirements for residual moisture in drugs. *Dev Biol Stand* 36:175-179, 1977.
- 27 Roumiantzeff, M., Ajjan, N., Branche, R., Fournier, P., Montagnon, B., Trotemann, P. y Vincent-Falquet, J. C. Rabies vaccine produced in cell culture: production, control and clinical results. In: Kurstak, E., ed. *Applied Virology*. New York, Academic Press, 1984, pp. 241-296.
- 28 Fournier, P., Montagnon, B., Vincent-Falquet, J. C., Ajjan, N., Drucker, J. y Roumiantzeff, M. A new vaccine produced from rabies virus cultivated on Vero cells. In: Vodopija, I., Nicholson, K. G., Smerdel, S. y Bijok, U., eds. *Improvements in rabies post-exposure treatment*. Zagreb, Zagreb Institute of Public Health, 1985.
- 29 Larghi, O. P. y Nebel, A. E. Rabies virus inactivation by binary ethylenimine: new method for inactivated vaccine production. *J Clin Microbiol* 11(2):120-122, 1980.
- 30 Larghi, O. P. y Nebel, A. E. Duration of immunity afforded to cattle by a binary-ethylenimine inactivated rabies vaccine. *Zbl Vet Med [B]* 32:609-615, 1985.
- 31 Estados Unidos de América, Administración de Alimentos y Medicamentos. Test for residual moisture (21 CFR 610.13(a)). *Federal Register* 50:4134, 29 de enero de 1985.
- 32 Majer, M., Herrmann, A., Hilfenhaus, J., Reichert, E., Mauler, R. y Hennessen, W. Freeze-drying of a purified human diploid cell rabies vaccine. *Dev Biol Stand* 36:285-289, 1977.
- 33 Hoskins, J. M. Vacuna de embrión de pato. In: Kaplan, M. M. y Koprowski, H., eds. *La rabia. Técnicas de laboratorio*, 3a. ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1976, pp. 256-269. Serie de Monografías 23.
- 34 Karakujumcan, M. K., Patriz, B. M. y Soloviev, D. V. Vacuna de encéfalo de rata lactante. In: Kaplan, M. M. y Koprowski, H., eds. *La rabia. Técnicas de laboratorio*, 3a. ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1976, pp. 226-228. Serie de Monografías 23.

# SUMMARY

## STABILITY OF THE RABIES SUCKLING MOUSE BRAIN VACCINE STORED AT DIFFERENT TEMPERATURES

Considering that every year some 300 people die of rabies in Latin America and the Caribbean, it is indispensable for the Region to have rabies vaccines that are high in potency, innocuous, stable, and low in cost. The vaccine most widely used for both human and animal purposes is the one prepared in suckling mouse brain (SMB). To demonstrate the stability of the SMB vaccine under different environmental conditions, the following study was carried out: experimental batches of liquid and lyophilized vaccine were prepared for human (SMB-H) and canine (SMB-C) use; samples were kept at 4 °C, 25 °C, or 37 °C and their antigenic potency checked periodically using the NIH test.

It was determined that the potency of the batches of SMB-H stored at 4 °C, with an average antigenic value of 0.8, decreased gradually, falling to a level 52.3% below the initial figure. Nevertheless, 100% of the batches met the minimum potency requirement of the NIH test and kept their potency for 30 days when stored at 25 °C, while 66% maintained it for a month at 37 °C.

The potency of the batches of SMB-C vaccine stored for 15 months, with an average antigenic value of 4.5, had fallen by 59.6% at the end of the observation period. All the batches (100%) met the minimum potency requirement after 30 days' storage at 25 °C, but none met it after a month at 37 °C.

Regarding the lyophilized vaccines prepared for human and canine use, all of the test lots with a residual moisture level of 2 to 3% retained their antigenic potency for 24 weeks when stored at 4 °C, 25 °C, and 37 °C.

These findings indicate that the validity period for liquid SMB vaccine stored at 4 °C would be one year. If rabies vaccines are lyophilized, their validity period can be extended to 18 or 24 months. It is suggested that the period be counted starting from the moment the vaccine is produced and not from the last test showing satisfactory potency.

### Congreso Nacional de Salud Mental

Del 10 al 12 de junio de 1988, se llevará a cabo en Campinas, Brasil, el Congreso Nacional de Salud Mental patrocinado por el Departamento de Psicología Médica y Psiquiatría de la Universidad Estatal de Campinas y la Fundación de Salud Mental de Campinas. Las personas interesadas en asistir a este congreso pueden obtener más detalles si escriben a: Secretaria do Congresso, Departamento de Psicología Médica e Psiquiatría/FCM/UNICAMP, Caixa Postal 6064, 13.081 Campinas, SP, Brasil; o si llaman al teléfono (0192) 39-4819.