

Su implementación contribuirá efectivamente a mejorar el proceso de toma de decisiones por los responsables de niveles gerenciales y beneficiará a la población a nivel nacional.

CALIDAD DE LA VACUNA BCG EMPLEADA EN EL PROGRAMA DE INMUNIZACIONES EN LOS AÑOS 2005 Y 2006 EN LIMA, PERÚ

Fernando Alva.¹

Las vacunas empleadas por el Programa de Inmunizaciones en nuestro país, son adquiridas e importadas a través de un fondo rotatorio internacional, coordinado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS). La cobertura de vacunación en el Perú supera el 90% en todos los casos, para la vacuna derivada del cultivo del bacilo de Calmette y Guérin, conocido como BCG su cobertura fue de 92% en el 2002, 94% en el 2003 y 91% en el 2004¹.

Es responsabilidad de cada Estado garantizar la eficacia y seguridad de estos biológicos, a través del control de calidad integral a cargo de un organismo nacional regulador (ONR) y un laboratorio nacional de control (LNC)². En el Perú, la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID) del Ministerio de Salud es el equivalente a la ORN y el Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud (CNCC/INS), al LNC.

En este sentido, desde hace dos años la DIGEMID realiza el registro sanitario de estos productos. El control de calidad de las vacunas está en proceso de implementación, siendo necesario mejorar la infraestructura, capacitar al personal y, sobre todo, desarrollar una estrategia gubernamental.

El 21 de septiembre de 2001 fue conformado el Comité de Control de Calidad de Vacunas del

INS³, con el objetivo de implementar el control de calidad de las vacunas usadas en el programa de inmunizaciones. Desde entonces tuvo un gran impulso el control de calidad de vacunas en el CNCC/INS; predominando los ensayos fisicoquímicos, de esterilidad e inocuidad, en casos como la vacuna contra la fiebre amarilla se realizan también ensayos para evaluar su potencia.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional para el control de calidad de la vacuna BCG usada en el programa anual de inmunizaciones 2005-2006, sometiendo a los ensayos de esterilidad, viabilidad, termoestabilidad, identidad y de reactividad cutánea en cobayos.

Se evaluaron 45 ampollas de la vacuna BCG viva liofilizada del 2005, y 25 ampollas del 2006, seleccionadas por métodos no probabilísticos, ingresadas al CNCC/INS para su análisis, provenientes del Ministerio de Salud del Perú durante los años 2005 y 2006. Estas vacunas son importadas y el lote de semilla para su producción es la BCG subcepa Moscow.

En las muestras de las vacunas del 2005 fueron evaluados los indicadores de identidad, viabilidad, estabilidad térmica, esterilidad y reactividad cutánea, mientras que en las del 2006 se evaluó la identidad, viabilidad y esterilidad.

Resultados

Ensayo de identidad

La identidad fue positiva en las muestras de las vacunas evaluadas del 2005 y 2006; macroscópicamente, en medio sólido, se observó colonias típicas de coloración cremosa pálida de *Mycobacterium bovis*, en medio Lowenstein Jensen comercial, las colonias fueron crateriformes y elevadas; casi planas y más opacas en el medio Ogawa. Microscópicamente, con

¹ Centro Nacional de Control de Calidad / INS.

la coloración Ziehl-Nielsen, se observó bacilos rojizos.

Ensayo de viabilidad

En el caso de las vacunas BCG del 2005, evaluadas, en ninguno de los tres ensayos con el medio Lowenstein Jensen comercial se observó un valor cercano a 7 UFC/tubo durante los primeros 28 días, por lo que el recuento se realizó al siguiente intervalo de días; 36-40, 41-45, 46-50 y 51-55. No se tomó en cuenta la lectura cuyo recuento fue similar a la anterior. Las lecturas finales fueron de $1,52 \times 10^6$ UFC/mL, $1,48 \times 10^6$ UFC/mL, y $1,6 \times 10^6$ UFC/mL en el primero, segundo y tercer ensayo respectivamente (Figura 1).

Al comparar los resultados obtenidos con este medio frente a los otros medios de cultivo se observó a los 45 días $2,2 \times 10^5$ UFC/mL en el medio Lowenstein Jensen preparado por componente y $5,6 \times 10^5$ UFC/mL en el medio Ogawa, a los 45 días. No fue posible recuperar microorganismos viables en el medio Stondrick.

En un cuarto ensayo, con el método estandarizado, se pudo leer a los 28 días $2,27 \times 10^6$ UFC/mL. En el caso de las muestras de las vacunas BCG del 2006, evaluadas en el medio Lowenstein Jensen comercial, a los 28 días de incubación se obtuvieron $5,65 \times 10^6$ UFC/mL (s = 3,5).

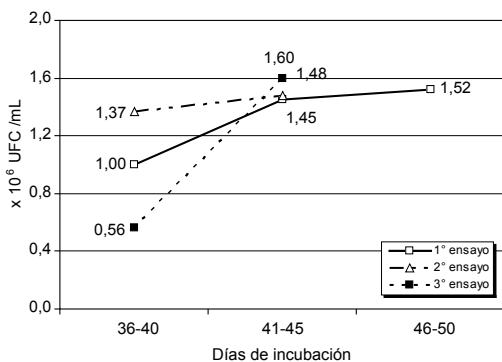


Figura 1. Viabilidad de las vacunas BCG del 2005, evaluadas en el medio Lowenstein Jensen comercial.

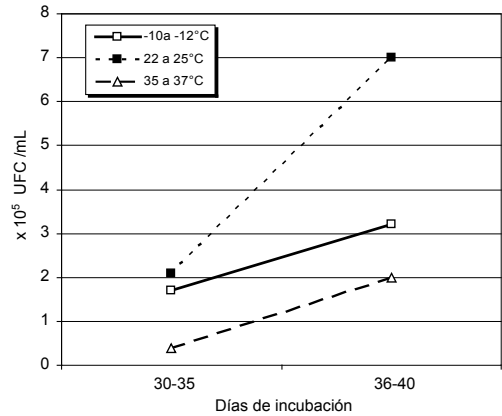


Figura 2. Efecto de la temperatura en el desarrollo de microorganismos viables de BCG en medio Lowenstein Jensen comercial.

Ensayo de termoestabilidad

En el medio Lowenstein Jensen se detectó el desarrollo de $3,2 \times 10^5$ UFC/mL a una temperatura por debajo de cero grados centígrados entre -10 y -12 °C, $7,0 \times 10^5$ UFC/mL entre 22 y 25 °C, y $2,0 \times 10^5$ UFC/mL entre 35 y 37 °C (Figura 2). Tendencias de crecimiento similares se observaron con el medio Ogawa.

Ensayo de esterilidad

No se observó turbidez en los medios de cultivo, thioglicolato fluido y TSB; es decir, las vacunas BCG analizadas del 2005 y 2006 muestran ausencia de microorganismos contaminantes.

Ensayo de reactividad cutánea

No se observó ningún tipo de reacción cutánea en los animales empleados en el ensayo de reactividad cutánea. Al término del ensayo la ganancia de peso de los cobayos inoculados fue 158 ± 30 g y de los controles 57 ± 16 g. Al examen macroscópico durante la necropsia de los animales empleados, no se observaron signos de lesiones en los órganos internos.

Discusión

A diferencia del ensayo de reactividad cutánea en cobayos, los resultados obtenidos en este estudio respecto a la identidad, viabilidad y esterilidad de la vacuna BCG evaluada coinciden con los del protocolo de análisis del laboratorio fabricante de la vacuna evaluada.

Sin embargo, la viabilidad de la vacuna BCG evaluada, del 2005 se obtuvo a más de 40 días de incubación, la OMS ⁴⁻⁶, las farmacopeas americana ⁷ y británica ⁸ recomiendan que la lectura se realice a los 28 días. En el caso de la vacuna del 2006 este requisito pudo ser cumplido.

Las entidades antes mencionadas, también recomiendan realizar los siguientes ensayos para evaluar la calidad de la vacuna BCG: identificación, ausencia de microorganismos contaminantes (esterilidad), pruebas de inocuidad (comprobación de la ausencia de micobacterias virulentas y reactividad cutánea en el cobayo), determinación del contenido bacteriano total (peso seco u opacidad), viabilidad (determinación del número de partículas cultivables o bioluminiscencia), estabilidad, uniformidad del producto (uniformidad de los resultados obtenido en lotes consecutivos) y humedad, sin embargo, en este estudio sólo se evaluó los ensayos de identidad, viabilidad, esterilidad y de reactividad cutánea en cobayos.

El limitado número de muestras no permitió que se estandarice el ensayo de viabilidad antes de evaluar la calidad de la vacuna BCG del 2005 analizada. Además, no pudieron ser evaluadas en paralelo con el estándar de la vacuna BCG, como control positivo.

Este estudio es un esfuerzo por estandarizar el ensayo de viabilidad de la vacuna BCG en el Centro Nacional de Control de Calidad (INS), tal como lo recomienda la OMS para este caso. Existen otros métodos indirectos para determinar el número de partículas viables como el

de bioluminiscencia y el polarográfico que aún se vienen estandarizando ⁹⁻¹⁵ y no han sido incorporados en las farmacopeas americana ⁷ y británica ⁸.

El procedimiento seguido para el ensayo de reactividad cutánea ^{4-6, 7,8} no pudo ser reproducido experimentalmente en las instalaciones del CNCC/INS. Estos resultados no se pudieron confirmar con los estándares biológicos de la vacuna de BCG ni de la PPD.

Los efectos nocivos de la temperatura sobre la viabilidad de la vacuna BCG, obtenidos en este estudio, son mayores a los referidos por la OMS en 1998 ¹⁶. Del 55% de pérdida de viabilidad a temperaturas de 22 a 25 °C y de 85% a temperaturas de 35 a 37 °C. Esta referencia señala que temperaturas entre -20 y -30 °C no afectan la viabilidad de la vacuna BCG, pero no evalúa temperaturas entre 0 y -20 °C (temperaturas promedio de la nevera de una refrigeradora), en este estudio se encontró que temperaturas de -10 a -12 °C pueden reducir 80% de la viabilidad en 28 días.

Finalmente, se concluye que las muestras evaluadas de las vacunas de BCG que han sido empleadas en los programas de inmunización en el Perú durante el 2005 y 2006, cumplen con ensayos mínimos de identidad, viabilidad y esterilidad.

Se recomienda continuar con la estandarización de los demás ensayos recomendados por la OMS ⁴⁻⁶ y las farmacopeas americana ⁷ y británica ⁸ para evaluar la calidad de esta vacuna con el propósito de comprobar la ausencia de micobacterias virulentas y la reactividad cutánea en cobayos.

Agradecimientos

Agradecimiento al médico veterinario Alberto Tejada por su colaboración en la necropsia de los cobayos, a la Bióloga. Esther Loo por las facilidades brindadas para la realización de este estudio.

Referencias Bibliográficas

1. Organización Panamericana de la Salud. Vacunas e inmunización. Washington DC: OPS; 2005. [Fecha de acceso: enero 2006]. Disponible en: www.paho.org/english/ad/fch/im/Coverage1990-2004_BCG.pdf.
2. Organización Mundial de la Salud. Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos. Prácticas adecuadas para la fabricación de productos biológicos/Pautas para los servicios nacionales de control sobre el control de la calidad de los productos biológicos. Ginebra: OMS; 1992. Serie de informes Técnicos N° 822.
3. Instituto Nacional de Salud. Formación del Comité Institucional de Vacunas. Resolución Jefatural N° 0275-2001-J-OPD/INS (21 de Setiembre del 2001). Lima: INS; 2001.
4. World Health Organization. Manual of details of tests required on final vaccine used in the WHO expanded programme of immunization. BLG/UNDP/82.1. rev.1. Geneva: WHO; 1982.
5. Organización Mundial de la Salud. Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos. 36° Informe. Ginebra: OMS; 1987. Serie de informes Técnicos N° 745.
6. Organización Mundial de la Salud. Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos. 38° Informe. Ginebra: OMS; 1988. Serie de informes Técnicos N° 771.
7. The United States Pharmacopeial Convention. Pharmacopeia United States. 28TH Ed. Washington, DC: The United States Pharmacopeial Convention; 2005.
8. Health Ministries. Medicines Commission. British pharmacopoeia 2003. Incorporating the requirements of the 4th Edition of the European Pharmacopoeia 2002 [CD-ROM]. Version 7,0. London. Index+© System Simulation Ltd.2003.
9. Askgaard DS, Gottschau A, Knudsen K, Bennedsen J. Firefly luciferase assay of adenosine triphosphate as a tool of quantitation of the viability of BCG vaccines. *Biologicals* 1995; 23(1): 55-60.
10. Malucelli MI, Niero R, Lucchiari PH, Souza MD, Bruzzo D, Alves RC, et al. Evaluation of the polarographic technique for assay of the viability of freeze-dried BCG vaccine: II. Viability of the vaccine assessed by polarography, warburg respirometry and colony counting. *Vaccine*. 1995; 13(3): 273-5.
11. Malucelli MI, Niero R, Lucchiari PH, Bacila M. Evaluation of the polarographic technique for assay of the viability of freeze-dried BCG vaccine: I. The polarographic technique. *Vaccine*. 1995; 13(3): 268-72.
12. World Health Organization. Thermostability of vaccines. Global Program for Vaccines and Immunization. Geneva: WHO; 1998. WHO/GPV/98.07.
13. Organización Mundial de la Salud. Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos. 25° Informe. Ginebra: OMS; 1973. Serie de informes Técnicos N° 530.
14. Organización Mundial de la Salud. Informe suplementario sobre seguridad de las vacunas. Parte 2. Tasas basales de incidentes adversos consecutivos a la vacunación. Ginebra: OMS; 2000. WHO/V&B/00.36.
15. Carceller A, Lebel MH. Prevención de la tuberculosis en España en el siglo XXI. *An Pediatr* 2005; 62(3): 207-9.
16. World Health Organization. Discussion on the improvement of quality control of BCG vaccines. WHO Quality Assurance and Safety of Biologicals. Pasteur Institute. Paris: WHO; 2005.