

## ANALISIS DE LA CADENA DE FRIO DE LA VACUNA CONTRA LA FIEBRE PORCINA CLASICA <sup>a</sup>

Miguel Angel Martínez Jaúregui <sup>b</sup>

José Torres Cortés <sup>c</sup>

Angel Martínez Sosa <sup>b</sup>

David Bordier López <sup>d</sup>

Yolanda Partida Ortiz <sup>b</sup>

Antonio Morilla-González <sup>c</sup>

### RESUMEN

Se analizó la cadena de frío de la vacuna de la fiebre porcina clásica por medio de experimentos de laboratorio y observaciones de campo. Las cajas aislantes en las que se transportó la vacuna, independientemente de su tamaño tuvieron la temperatura de menos de 4 C por 28 horas cuando fueron mantenidas a temperatura ambiente y 12 horas a 37 C. Las cajas conteniendo la vacuna se siguieron desde que fueron empacadas en el laboratorio productor hasta que llegaron a la farmacia veterinaria y de ahí a la casa del dueño de los animales a los que iba a vacunar; este período tardó más de 24 horas en que la vacuna estuvo ya sea en el transporte o en la bodega, por lo que se hizo necesario cambiar los refrigerantes en un punto intermedio. En la farmacia veterinaria los refrigeradores tuvieron una temperatura entre 4 y 10 C. La vacuna fue vendida en una bolsa de plástico con cuatro cubos de hielo que mantuvieron los 4 C por dos horas a 18 C de temperatura ambiente y una hora a 37 C. La vacuna liofilizada mantuvo su potencia por dos años a 4 C, una semana a 37 C y reconstituída, por una hora a 37 C. Se concluye que la vacuna tuvo un margen de resistencia cuando se mantuvo a una temperatura sobre los 4 C, pero debido a que la cadena de frío fue deficiente es probable que con estos manejos pueda perder su potencia.

Téc. Pec. Méx. Vol. 30 No. 1 (1992)

El control de la Fiebre Porcina Clásica (FPC) en México, se ha basado en una campaña de inmunización de los cerdos susceptibles, para impedir que el virus patógeno circule en las zonas porcícolas. Sin embargo, a pesar de las amplias coberturas de inmunización, en ocasiones los animales vacuna-

dos han contraído la enfermedad sugiriendo que no siempre la vacuna protege a los animales <sup>7,8,9,16,20</sup>. Una de las posibilidades para que la vacuna no proteja es que haya perdido su potencia debido al mal manejo durante la cadena de frío <sup>5,6,18</sup>. De acuerdo con el Programa Ampliado de Inmunización de la OPS/OMS <sup>19</sup> se denomina cadena o red de frío al proceso de conservación, manejo y distribución de las vacunas y otros productos biológicos, siempre a una temperatura entre 4 a 8 C desde que salen del laboratorio hasta que se aplican a los humanos o los animales, en un tiempo establecido.

La distribución de los biológicos para uso humano en general, es hecha por los Ministerios de Salud en forma oficial; pero a

a Recibido para su publicación el 21 de junio de 1991.  
b Departamento de Inmunología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guadalajara, Jal.

c Proyecto: Inmunología Experimental del Cerdo. Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias-SARH. Carretera México-Toluca, Km. 15.5, C.P. 05110 México, D.F.

d Química Hoechst de México, Tecoyotitla 412, Col. Ex-Hacienda de Guadalupe, 01050 México, D.F.

pesar del cuidado que se ha tenido en el manejo de las vacunas se han informado deficiencias particularmente en los países en desarrollo<sup>10,11,14,17</sup>.

Por otro lado, en nuestro país, la distribución de los biológicos para animales domésticos se efectúa en cajas de poliestireno con bolsas de refrigerantes, a través de transportes comerciales. Aunque se han hecho estudios muy limitados de la cadena de frío<sup>18</sup>, se ha sugerido que tiene deficiencias y que en ocasiones no se puede tener certeza de que los animales sean inmunizados con productos que tengan la potencia adecuada<sup>15</sup> lo que fue motivo para la realización de un symposium<sup>13</sup>.

Debido a la importancia de que el veterinario disponga de una buena vacuna de FPC que inmunice a los cerdos, se hizo este trabajo en el que se anotaron los eventos que sigue el biológico en el transcurso de la cadena fría con el objeto de determinar si en alguno de ellos sufre un mal manejo que pudiera reducir su capacidad inmunizante.

En un primer experimento se trató de determinar cuanto tiempo pueden mantener la vacuna a 4 C las cajas aislantes con las que se transporta la vacuna. Para esto, se hizo un estudio de termometría en cajas de poliestireno en tres tamaños: a) de 43 x 33 x 30 cm, donde se colocó vacuna de FPC con ocho refrigerantes; b) de 39 x 30 x 32 cm con vacuna y seis refrigerantes, y c) de 36 x 29 x 24 cm con vacuna y también con seis refrigerantes. Se utilizaron refrigerantes comerciales que eran bolsas de plástico de 12 x 15 cm que contenían una mezcla de polietilenglicol, agua y colorante; se mantuvieron en congelación a -10°C hasta su uso. A cada caja se le colocó un termómetro que podía ser leído desde el exterior; las cajas fueron colocadas a la sombra, a la intemperie o en un cuarto estufa a una temperatura constante de 37 C y además, se tomó la temperatura ambiente. En cada experimento se utilizaron tres cajas de cada tamaño y se hicieron tres repeticiones.

Los resultados mostraron que la temperatura interior de las cajas que estaban a la sombra dentro de un rango de temperatura

de 10 a 19 C, se mantuvo a menos de 4 C entre 28 y 32 horas (figura 1 A) y sólo por 28 horas cuando las cajas estuvieron a la intemperie, dentro de un rango de 5 a 34 C (figura 1 B); cuando las cajas se mantuvieron a 37 C la temperatura interior pasó a más de 4 C en un promedio de 12 horas (figura 1 C). Por medio del análisis de varianza<sup>23</sup> no hubo diferencias estadísticamente significativas en la temperatura del interior de las cajas de un mismo tamaño o entre cajas de diferentes tamaños.

En un segundo experimento se trataron de simular las condiciones en las que generalmente se expende la vacuna en la farmacia veterinaria. Para esto, se colocó la vacuna en una bolsa de plástico con cuatro cubos de hielo. La bolsa se mantuvo a temperatura ambiente (18 C) o en una estufa bacteriológica a 37 C y se determinó la temperatura de la vacuna cada 30 minutos; el experimento se hizo tres veces. Se encontró que el biológico se mantuvo por debajo de 4 C por dos horas a temperatura ambiente de 18 C y sólo por una hora a temperatura de 37 C (figura 2).

Se hicieron observaciones de campo de la cadena fría para cuantificar el tiempo y la temperatura que alcanzó el interior de las cajas de poliestireno conteniendo la vacuna durante el transporte; esto se hizo desde que salieron las cajas del laboratorio productor hasta que llegaron a su destino y el biológico se colocó en el refrigerador del productor de animales.

En la primer experiencia, a dos cajas de poliestireno de 43 x 33 x 30 cm conteniendo la vacuna contra la FPC, se les colocó un termómetro de máximas y mínimas dándole seguimiento desde Guadalajara hasta Ciudad Guzmán, Jalisco (abril 1987). Se determinó que desde que se empacó en el laboratorio productor hasta que se llevó a la estación del autobús en Guadalajara tomó 21 horas; de transporte hasta la terminal de Ciudad Guzmán y en espera de ser recogida, 19 horas y finalmente cinco minutos para llegar a la farmacia veterinaria. En total el tiempo transcurrido fue de 40 horas, de las cuales una hora (2.5%) correspondió a

empaque, cuatro horas (10%) a transporte y 35 más (87.5%) a bodega. Cuando se desempacó la vacuna la temperatura interior de las cajas era de 19 C. En la farmacia se tomó la temperatura del refrigerador por cinco días y estuvo entre 4 y 9 C.

En la segunda experiencia, se utilizaron dos cajas de poliestireno de 43 x 33 x 30 cm conteniendo la vacuna a las que se colocó un termómetro de máximas y mínimas; la vacuna se siguió desde Guadalajara, Jal. hasta la Ciudad de México y de ahí hasta Ciudad Isla, Veracruz (Junio 1987). De Guadalajara, Jal. a la Ciudad de México; el transporte llevó 19 horas de las cuales una hora (5.3%) correspondió a empaque, cinco horas (26.3%) a bodega y 13 (68.4%) más a viaje; la temperatura en el interior de las cajas era de 7 C al llegar a la Ciudad de México donde el personal de una compañía privada le cambió los refrigerantes. De la Ciudad de México a Ciudad Isla, Ver., la vacuna tardó 25 horas de las cuales una hora (4.0%) correspondió a empaque, 13 horas (52%) a bodega y 11 (44%) más a transporte; la vacuna llegó con una temperatura de 9 C. En la farmacia veterinaria se tomó la temperatura del refrigerador por cinco días y estuvo entre 4 y 8 C.

En la tercer experiencia se determinó el manejo que sigue la vacuna en una granja tecnificada de aproximadamente 1600 vientres localizada en Texcoco, Estado de México. En esta granja se compran 10,000 dosis de vacuna cada tres meses directamente del laboratorio productor. El transporte tomó dos horas y la vacuna llegó con una temperatura de 2 C; posteriormente fue colocada en el refrigerador de la granja donde se mantuvo entre 5 a 10 C durante los tres meses siguientes en que se utilizó ese lote.

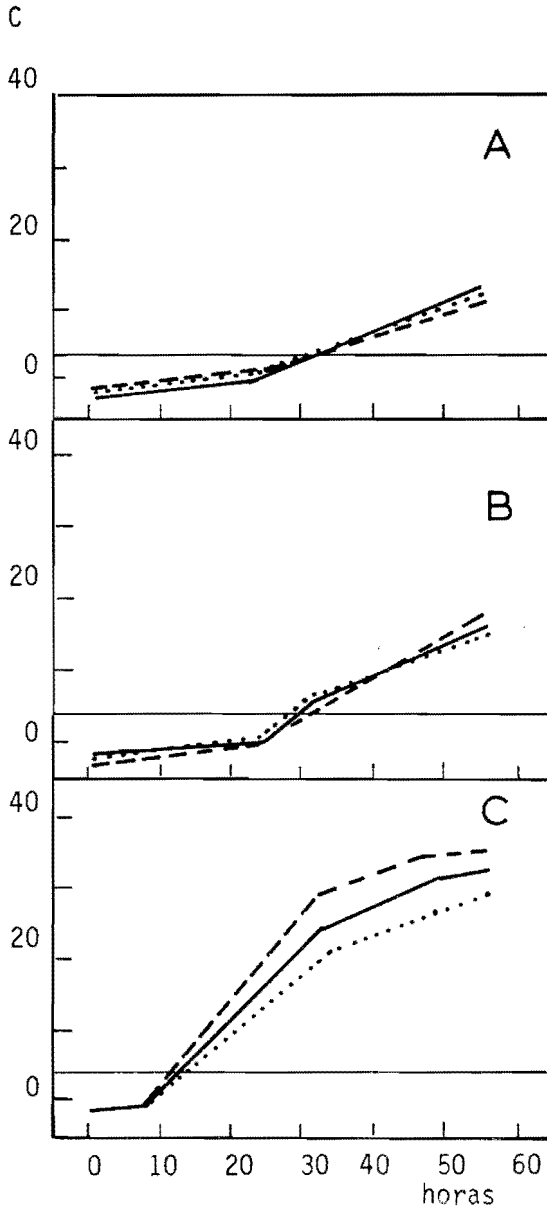
En la cuarta experiencia, se determinó la temperatura de la vacuna y el tiempo que llevó desde que el cliente compró la vacuna en la farmacia veterinaria, hasta que fue puesta en el refrigerador de su casa en espera de ser aplicada a los animales. Los clientes (A, B y C) compraron vacuna en presentación de cinco dosis y el dependiente la colocó en una bolsa de plástico trans-

parente con cuatro cubos de hielo; en todos los casos, los clientes la pusieron en una bolsa del mandado y fueron al mercado a hacer compras. El cliente A tardó aproximadamente tres horas en llegar a su casa, el B, dos y el C, dos y media; la temperatura que alcanzó la vacuna fue de 22, 20 y 21 C respectivamente; dichas vacunas fueron colocadas en el refrigerador de las respectivas casas, mismos que tenían una temperatura de 11, 12 y 9 C cada uno. La vacuna fue aplicada a los animales dentro de los tres días siguientes.

Con objeto de determinar cuanto tiempo puede mantenerse la vacuna (cepa PAV-1) liofilizada a 4 C (prueba de caducidad) se mantuvo este biológico en un cuarto refrigerado a 4 C por uno, 12 y 24 meses. Además, se mantuvo a 37 C (prueba de caducidad acelerada) en una estufa bacteriológica por siete y catorce días. Cada vacuna después del tratamiento se reconstituyó y se aplicaron 2 ml por animal por vía intramuscular a un lote de cinco cerdos susceptibles de seis semanas de edad; a los 14 días posvacunación, los cerdos vacunados y los testigos fueron desafiados por vía intramuscular con 2 ml de la cepa Lederle de FPC con un título de  $10^6$  DL50/ml de acuerdo con los lineamientos de la SARH<sup>21</sup>. Los resultados mostraron que todos los lotes de cerdos inmunizados con la vacuna mantenida a 4 C por uno, 12 y 24 meses estuvieron protegidos al desafío (cuadro 1). En la prueba de caducidad acelerada a 37 C durante siete días, todos los lotes de cerdos estuvieron protegidos, pero cuando se mantuvo durante 14 días a 37 C sólo en dos de los tres lotes la protección fue mayor del 80% (cuadro 2).

Con objeto de simular el mal manejo de la vacuna cuando se aplica a los animales, la vacuna se reconstituyó con el diluyente y se puso en baño María a 37 C. Se inmunizaron grupos de cuatro cerdos con la vacuna recién reconstituida (0 min), o mantenida 30 ó 60 min a 37 C. Todos los grupos de animales fueron desafiados a los 14 días después de la vacunación, junto con uno sin vacunar, en forma similar al experimento de caducidad. Se observó que la vacuna man-

FIGURA 1. Temperatura del interior de cajas de poliestireno de tres tamaños mantenidas a la sombra (A, 10-19 C), a la intemperie (B, 5-34 C) y a temperatura constante (C, 37 C) (a) (b).

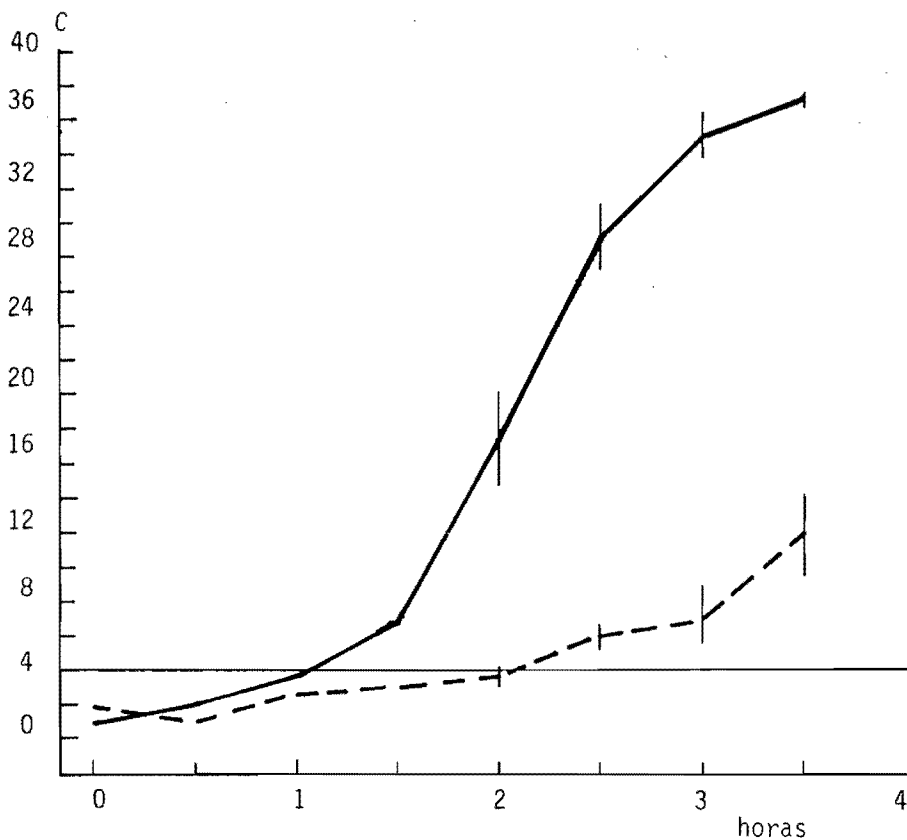


- caja de 36 X 29 X 24 cm con 6 refrigerantes
- - - caja de 39 X 30 X 32 cm con 6 refrigerantes
- ..... caja de 43 X 33 X 30 cm con 8 refrigerantes

(a) Se utilizaron 3 cajas del mismo tamaño por experimento y cada experimento se repitió tres veces.

(b) Promedio de temperatura. No hubo diferencia estadísticamente significativa en las temperaturas de cajas de un mismo o diferente tamaño.

FIGURA 2. Promedio de la temperatura que alcanzó la vacuna de fiebre porcina clásica, empacada en bolsa de plástico con 4 cubos de hielo y mantenida a 18 C (---) ó a 37 C (—).



CUADRO 1. ESTUDIO DE CADUCIDAD DE LA VACUNA CONTRA LA FIEBRE PORCINA CLASICA MANTENIDA A 4 C POR UNO O DOS AÑOS.

Tiempo a 4 C	Lotes protegidos (a) (b)/ total de lotes	Muertos/total de cerdos
un mes	10/10 (100%)	0/50
un año	11/11 (100%)	0/55
dos años	11/11 (100%)	1/55
testigos	0/6 (0%)	27/30

a) cada lote fue de cinco cerdos que fueron inmunizados con 2 ml de la vacuna y 14 días más tarde desafiados con 2 ml de la cepa patógena Lederle ( $1 \times 10^6$  DL50/ml).

b) lote con más de 80% de protección.

CUADRO 2. PRUEBA DE CADUCIDAD ACCELERADA DE LA VACUNA LIOFILIZADA DE LA FIEBRE PORCINA CLASICA (CEPA PAV 1).

Días (a)	Lotes protegidos (b) (c)/ total de lotes	Muertos/total de cerdos
0	7/7 (100%)	0/35
7	7/7 (100%)	0/35
14	2/3 (66%)	2/15
Testigos	0/7 (0%)	30/35

a) La vacuna liofilizada se mantuvo a 37 C.

b) Cada lote fue de cinco cerdos inmunizados con 2 ml de la patógena Lederle ( $1 \times 10^6$  DL50/ml).

c) Lote con más de 80% de protección.

tenida a 37 C durante 30 y 60 minutos confirió una protección del 100% en los cerdos vacunados y desafiados (cuadro 3).

Los resultados de los experimentos indican que la vacuna de FPC pudo ser mantenida liofilizada a 4 C por un año y a 37 C por una semana sin que se modificara su potencia. Estos períodos son semejantes a los que se han observado con la vacuna del sarampión<sup>12</sup> y más prolongados que con otras vacunas, como la de la encefalitis equina venezolana, que es otro togavirus<sup>4</sup>, la de la rabia cepa Flury<sup>2</sup>, rabia parálitica bovina<sup>1</sup> o poliomiélitis<sup>22</sup>. Esta variación en la susceptibilidad de las vacunas a la temperatura es debida al tipo y la cepa de virus y al protector que se le adiciona para la liofilización<sup>3</sup>.

El manejo de la vacuna a través de la cadena fría, desde que salió del laboratorio hasta que llegó a la farmacia veterinaria, no cumplió con las normas del Programa Ampliado de Inmunización de la OPS/OMS<sup>19</sup> que exige que las vacunas no pasen de 4-8 C. Sin embargo, debido a que la vacuna estuvo pocas horas a más de 4 C y nunca pasó los 19 C es posible que no se haya afectado. Es de esperar que estas temperaturas sean mayores cuando se maneje el

biológico en el verano en zonas donde la variación climática es extrema o cuando el tiempo que pase en la bodega o en el transporte sea de varios días.

Con respecto a la comercialización de la vacuna en la farmacia veterinaria, la forma como se empacó el biológico no fue la apropiada, pues rápidamente alcanzó una temperatura de 22 C y al expenderse sin caja, se vió expuesta con facilidad a los rayos solares que la inactivan. Por otra parte, los refrigeradores en las dos farmacias veterinarias, en la granja y en las casas de los tres clientes, se encontraron en un rango de 9 a 12 C que no es la temperatura adecuada para mantener las vacunas de FPC por un año, pues se requiere de 4 C como se observó en el experimento de caducidad. Se ha considerado que la temperatura de los refrigeradores es variable debido a que no se limpian con frecuencia, la energía eléctrica se interrumpe frecuentemente en algunas poblaciones y ocurren descomposuras<sup>15</sup>; esto no se constató en este estudio por la corta duración de las observaciones.

Durante la aplicación de la vacuna, se trató de simular el mal manejo manteniéndola reconstituída a 37 C pero fue aparente que el virus mantuvo su potencia hasta por

CUADRO 3. PROTECCION DE CERDOS INMUNIZADOS CON VACUNA DE FIEBRE PORCINA CLASICA RE-CONSTITUIDA CON EL DILUYENTE Y MANTENIDA A 37 C DURANTE 30 Y 60 MINUTOS.

Minutos (a) (b)	Muertos/total de cerdos	Protección (%)
0	0/6	100
30	0/3	100
60	0/3	100
Testigos	4/4	0

a) La vacuna reconstituída se mantuvo a 37 C en baño María.

b) Con cada vacuna se inmunizaron cerdos susceptibles y 14 días después fueron desafiados con 2 ml de la cepa patógena Lederle (título de  $1 \times 10^6$  DL50 ml).

una hora, siempre y cuando estuviera a la sombra. Esto es debido a que el virus es relativamente resistente a la temperatura en comparación con otros virus vacunales como el de la rabia parálitica bovina o el moquillo canino.

Es de hacer notar que los resultados de los experimentos solo son aplicables a la vacuna de la FPC cepa PAV 1 y no a vacunas elaboradas por otros laboratorios comerciales, debido a que cada laboratorio productor elabora la vacuna con su propia cepa viral y diferentes estabilizadores y diluyentes.

De este estudio se concluye que la cadena fría de la vacuna de FPC solo cumplió parcialmente con las normas del Programa Ampliado de Inmunización de la OPS/OMS. De acuerdo con las características del biológico, éste tiene un pequeño margen para que se encuentre sobre los 4 C y todavía proteja a los animales; sin embargo, debido a la falta de supervisión de la cadena fría, la vacuna puede fácilmente llegar a inactivarse en alguno de los pasos.

Para los biológicos humanos se ha desarrollado un monitor de la cadena fría que permite detectar si la vacuna ha sido calentada<sup>8</sup>; sería conveniente utilizar este monitor en los biológicos veterinarios para evitar

que ocurran las fallas vacunales en los animales debido a una cadena de frío deficiente.

#### Summary

The cold chain of the classical swine fever vaccine was followed through laboratory experiments and field observations. The isolation boxes in which the vaccine was transported, independently of their size, held a 4 C temperature for 28 hours at room temperature and 12 hours at 37 C. The vaccine was followed since it left the laboratory producer until it reached the house of the pig owner, and it was found that the vaccine spent more than 24 hours either traveling or at the storehouse, therefore it was necessary to change the coolants at an intermediate point. At the veterinary pharmacy the refrigerators had a temperature between 4 and 10 C, and the vaccine was sold in a plastic bag with four ice cubes that held the 4 C for two hours at 18 C and one hour at 37 C. The lyophilized vaccine held its potency for two years at 4 C, one week at 37 C and reconstituted it was stable for one hour at 37 C. It was concluded that the vaccine had a narrow margin of resistance to temperatures above 4 C but due to the fact that the cold chain deficient reduction of its potency could occur.

#### LITERATURA CITADA

- 1.- AVILA F, D. y MORALES R, J. 1986. Pruebas de caducidad acelerada para una vacuna antirrábica comercial de virus vivo atenuado. En, Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. p: 266.

- 2.- BATALLA C, D. 1969. Viabilidad del virus Flury de alto pasaje a diferentes temperaturas utilizando dos conservadores. *Tec. Pec. Méx.* 12-13: 33.
- 3.- BATALLA C, D. LANDEROS, M.A y MANCISIDOR, N., 1974. Viabilidad de la vacuna contra la encefalitis equina venezolana (TC-83) utilizando diferentes diluyentes. *Téc. Pec. Méx.* 27:46.
- 4.- BATALLA C, D. 1975. Modificación en la fórmula del estabilizador de la vacuna contra la encefalitis equina de Venezuela (cepa TC-83). *Tec. Pec. Méx.* 28:34.
- 5.- CAMACHO M, L. MORALES, A. CALVO, A. DIAZ J, L. VALDESPINO J, L. GONZALEZ M, S. ISLAS, R. SALCEDO R, A. y PONCE DE LEON, V. 1990. Evaluación de la cadena de frío en los días nacionales de vacunación antipoliomielítica en México, 1987-1988. *Salud. Pub. Méx.* 32:43.
- 6.- CARRASCO R, T. DISTRANE, R. MONTALDO, Y. MEDINA, E. REYES, M. VERGARA, I. PIVONKA, A. y THOMAS, E. 1983. Cadena de frío del programa ampliado de inmunización. Una experiencia de evaluación. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 94:37.
- 7.- CERVANTES, G. VELASCO, M. MARTINEZ, A. y MORILLA G, A. 1987. Encuesta sobre las vacunas y los programas de inmunización contra el cólera porcino en granjas del Estado de México. *Vet. Méx.* 18:45.
- 8.- CHEYNE, J., 1989. Vaccine delivery management. *Rev. Infect. Dis.*, 11 (suppl. 3): S617.
- 9.- CORREA G, P y OCHOA M, C. 1980. Potencia de sueros y vacunas contra el cólera porcino. *Porcírama*, 83:39.
- 10.- DE SWARDT, R. IJSSELMUIDEN, C.B. and JOHNSON, S. 1990. Vaccination status and seroprevalence of measles and polio antibodies in 1-6 year old children in the Elim health ward of Gazankulu. *S. Afr. J.*, 78; 726.
- 11.- DIAZ O, J.L. VALDESPINO G, J.L. ZARATE M, L. y CAMACHO A, M.L. 1989. Seroconversión a la vacuna Sabin trivalente en niños menores de cuatro años de edad. *Bol. Med. Hosp. Infant. Méx.* 46:517.
- 12.- HILLEMANN, M.R. 1989, Improving the heat stability of vaccines: problems needs and approaches. *Rev. Infect. Dis.*, 11 (suppl. 3):3613.
- 13.- Diferentes aspectos que afectan la inmunización de los animales. *Avirama*, 73: 1-48 (1988).
- 14.- LUGOSI, L. and BATTERSBY, A. 1990. Transport and storage of vaccines in Hungary: the first cold chain monitor study in Europe: *Bull. World Health Organ.* 68: 431.
- 15.- MAQUEDA J, J. Algunos errores frecuentes en la vacunación contra el cólera porcino y calendarios de vacunación sugeridos en la República Mexicana. En, *Avances en Enfermedades del Cerdo*, 1985. Editado por A. MORILLA, P. CORREA y A. STEPHANO. *Ediciones de la Asociación de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F., p: 105 (1985).
- 16.- MORILLA G, A. 1991. Conceptos sobre inmunización del cólera porcino. En, *Ciencia Veterinaria*, Editor por R. MORENO CHAN, Publicado por la UNAM volumen 5 p: 119 (1991).
- 17.- PABST, H.F. and TAYLOR, J. 1988, Cold-chain breaks in Africa, *Lancet*, 25 (8600):1466.
- 18.- PADILLA-SANCHEZ, J. 1988, La red fría en productos biológicos para pequeñas especies. *Avirama*, 73: 33.
- 19.- PROGRAMA AMPLIADO DE INMUNIZACION. Módulo III. Cadena de Frío. Organización Panamericana Sanitaria/OMS.
- 20.- RAMIREZ N, R. 1973, Vacunación contra el cólera porcino y fallas de vacunación. *Porcírama*, 23: 31.
- 21.- REQUERIMIENTOS MINIMOS DE CALIDAD QUE DEBERAN LLENAR LOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS DE USO VETERINARIO. Dirección General de Sanidad Animal, SARH, México, D.F. 1977.
- 22.- SOKHNEY, J. GUPTA, C.K. SHARMA, B and SINGH, H. 1988, Stability of oral polio vaccine at different temperatures. *Vaccine*, 6: 12.
- 23.- SWINSCOW, T.D.V. Statistics of square one. Publicado por *British Medical Association*. UK, 1978.