

Rev. Chil. Pediatr. 56 (4) 234 - 237, 1985

## Estudio de Campo de una Vacuna B.C.G. Liofilizada

Q.F. Ivana Azzini B.<sup>1</sup>; Dra. Raquel Carrasco T.<sup>2</sup>; Dra. María de la Fuente H.<sup>2</sup>;  
E.U. Ximena Ferrer S. G.<sup>3</sup>; E.U. Cecilia Latrach A.<sup>3</sup>; Matr. Pilar Rius F.<sup>4</sup>.

### Field Study of a Freeze-Dried B.C.G. Vaccine

Results from a field study performed on 116 infants 4 month old inoculated at birth with freeze-dried BCG vaccine produced by Rhodia Merieux Institute, France, are presented. This study was carried out by the same investigators of a previous research<sup>6</sup> done with freeze dried BCG vaccine produced by Connaught Laboratories Canadá, applying the same methods. The vaccine under study produced a scar similar to that of other strains previously tested in Chile. PPD response is small with a mean diameter of 4.8 mm  $\pm$  3.5 mm S.D. A statistically significant difference was found ( $p < 0.001$ ) when compared with the liquid BCG vaccine produced by the Public Health Institute of Chile. No differences were found between the freeze dried BCG vaccine produced by Rhodia Merieux and that from Connaught Laboratories: both showed weaker effects on tuberculin response than liquid BCG.

(Key words: BCG. Freeze-dried preparation. Field Study. Liofilized versus liquid BCG. Quality Control. Tuberculin response).

La Tuberculosis (TBC) continúa siendo un importante problema de salud pública en los países en vía de desarrollo.

La morbilidad por TBC es aún alta en Chile: 6.941 casos nuevos fueron notificados en 1982, a pesar del descenso de 21% experimentado por su Tasa, que de 76,9 por 100.000 hb. en 1978, bajó a 60.4 en 1982<sup>1</sup>. La morbilidad se concentra en los mayores de 15 años, con 93,9% de los casos; sin embargo, en 1982, se produjo un número absoluto no despreciable de 420 casos notificados en menores de 15 años.

La mortalidad por TBC ha bajado en 47.4% en los últimos 5 años, observándose una Tasa de Mortalidad de 8.1 en 1983. Dentro de las enfermedades infecciosas transmisibles, la TBC es responsable de 72% de las muertes<sup>2</sup>, lo que acentúa la importancia de afirmar los mecanismos de control de la enfermedad.

En 1926 el Dr. Fontecilla introdujo en Chile la vacuna BCG<sup>3</sup> la que protege, aproximadamente, a 78% de los vacunados<sup>4</sup>. Actualmente se ha alcanzado una cobertura de 91% de vacunación en los Recién Nacidos del país, y de 83,1% en la revacunación de escolares de primer año básico<sup>2</sup>.

El Instituto de Salud Pública de Chile, proporcionó hasta 1982 la vacuna BCG líquida que se emplea en el país en recién nacidos<sup>5</sup>. Posteriormente se introdujo el uso de vacunas BCG liofilizadas, una de las cuales (Connaught) fue objeto de un estudio de campo realizado por este mismo grupo<sup>6</sup>. Siguiendo recomendaciones de la OMS<sup>7</sup>, presentamos esta investigación realizada con otra vacuna BCG liofilizada, del Instituto Rhodia Merieux, Francia, con el propósito de contribuir al conocimiento de algunos aspectos de ella en su aplicación en terreno y compararla con la vacuna liofilizada de Laboratorios Connaught y la vacuna BCG líquida producida en Chile<sup>6-9</sup>.

Los objetivos del estudio fueron determinar la presencia o ausencia de cicatriz BCG producida por la vacuna del Instituto Rhodia Merieux y compararla con la cicatriz producida por la vacuna BCG de Laboratorio Connaught; conocer la media del tamaño de la reacción tuberculínica provocada por la vacuna en estudio y compararla con la encontrada después de usar vacunas de Laboratorios Connaught y BCG líquida del antiguo Instituto Bacteriológico de Chile empleada antes de Octubre de 1982; realizar el control de calidad del lote de vacuna liofilizada del Instituto Rhodia Merieux que se empleó en esta investigación.

### MATERIAL Y METODO

El estudio se efectuó en la Maternidad del Hospital del Salvador, Servicio de Salud Metropo-

1. Químico Farmacéutico, Instituto de Salud Pública de Chile.
2. Pediatra Docente, Escuela Salud Pública, Universidad de Chile.
3. Enfermera Docente, Carrera de Enfermería, Universidad de Chile.
4. Matrona Maternidad Hospital del Salvador, S.S.M. Oriente.

litano Oriente (SSM.OR), en niños nacidos entre el 28 de Mayo y 13 de Julio de 1984. Se estudiaron 116 niños captados en el período de recién nacido, que fueron vacunados por la matrona participante. La madre de cada niño vacunado fue citada por escrito, especificando fecha y lugar de control a los 4 meses de edad, en el Consultorio Santa Julia, SSM.OR. Se reforzó la citación 15 días antes de la fecha con una carta al domicilio recordando el lugar y hora de control.

La vacunación se realizó mediante inyección intradérmica, con jeringa Omega, de 0,1 ml. de la vacuna BCG liofilizada del Instituto Rhodia Merieux, Francia, preparada con una cepa tipo Londres F10 y presentada en frasco-ampollas incoloros con 20 dosis.

El control se realizó en dos etapas; en la primera se efectuó la prueba tuberculínica, la lectura de la cicatriz BCG y se buscó la existencia de reacción ganglionar local. En la segunda, 72 horas después, efectuó la lectura de la reacción tuberculínica, en su diámetro transverso, una persona experta en técnica y lectura de PPD.

Para la prueba tuberculínica se usó el PPD Rt23 con Tween 80 del Instituto Estatal del Suero de Copenhagen, diluido por el Instituto de Salud Pública de Chile. Se utilizó la vía intradérmica colocando 0.1 ml. equivalente a 2 Unidades de Tuberculina, en el tercio medio del antebrazo izquierdo.

El control de calidad con respecto al contenido de partículas cultivables de la vacuna, se efectuó en el Departamento de Control Nacional del Instituto de Salud Pública de Chile. Se analizaron 2 muestras de vacunas retiradas del centro de vacunación de la Maternidad del Salvador, al comienzo y al final del período de estudio y además una muestra mantenida en refrigeración en el Laboratorio de Control Nacional.

Se debe señalar que la técnica empleada en relación a la colocación del BCG y PPD y la lectura del PPD, como asimismo los procedimientos para el control de calidad, fueron los mismos empleados al estudiar la vacuna BCG liofilizada de Laboratorios Connaught<sup>6</sup>.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los resultados del tamaño de la cicatriz BCG, el 33,6% de los niños tuvieron cicatriz 4 a 5 mm, el promedio fue de 4,6 mm. con una D.S. de 2,4. Si comparamos estos resultados con la cicatriz obtenida con la vacuna BCG Connaught, se puede apreciar que son similares (Tabla 2).

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la reacción tuberculínica, el 36% de los niños tuvieron un PPD entre 4 y 7 mm., el promedio

obtenido fue de 4,8 mm. con una D.S. de 3,5. Esta ha sido la respuesta PPD más débil observada por los autores.

Tabla 1.

Tamaño de cicatriz en niños de 4 meses Vacuna BCG Liofilizada Rhodia Merieux S.S.M. Oriente, Santiago 1984.

| Cicatriz BCG mm. | Nº  | %     |
|------------------|-----|-------|
| 0-1              | 8   | 6.9   |
| 2-3              | 32  | 27.6  |
| 4-5              | 39  | 33.6  |
| 6-7              | 23  | 19.8  |
| 8-9              | 10  | 8.6   |
| 10-11            | 4   | 3.5   |
| Total            | 116 | 100.0 |

Media 4.6 D.S. 2.4 mm.

Tabla 2.

Tamaño medio de la cicatriz con 2 vacunas BCG Liofilizadas

| Tipo de Vacuna BCG       | D. Standard en mm. | Tamaño cicatriz promedio en mm. |
|--------------------------|--------------------|---------------------------------|
| Liofilizada L. Connaught | 2.13               | 5.27                            |
| Liofilizada L. Merieux   | 2.36               | 4.62                            |

Tabla 3.

Reacción tuberculínica en niños de 4 meses Vacuna Liofilizada Rhodia Merieux S.S.M. Oriente, Santiago 1984.

| PPD mm. | Nº  | %     |
|---------|-----|-------|
| 0-1     | 28  | 26.7  |
| 2-3     | 13  | 12.5  |
| 4-5     | 18  | 17.1  |
| 6-7     | 18  | 17.1  |
| 8-9     | 16  | 15.2  |
| 10-11   | 10  | 9.5   |
| 12-13   | 2   | 1.9   |
| Total   | 105 | 100.0 |

Media 4.8 mm. D.S. 3.5 mm.

El comparar la reacción tuberculínica obtenida con la vacuna BCG líquida del Instituto Bacteriológico de Chile y las vacunas liofilizadas Connaught y Merieux encontramos mayor respuesta con vacuna BCG líquida (Tabla 4). La aplicación del método estadístico de la varianza para comparar promedios<sup>9-10</sup> permitió concluir que había diferencias significativas entre los valores de reacción tuberculínica observados

( $p < 0.001$ ). Estas diferencias se establecen al comparar la vacuna líquida con cada una de las liofilizadas entre sí.

Tabla 4.

Tamaño de PPD en niños de 4 meses con 3 Vacunas BCG S.S.M. Oriente, Santiago.

| Tipo de Vacuna BCG    | Tamaño PPD mm. | ± D.S. mm. | Sujetos (N) |
|-----------------------|----------------|------------|-------------|
| Líquida Inst.         |                |            |             |
| Bacteriolog. Chile    | 11.1           | 5.5        | 76          |
| Liofilizada Connaught | 5.5            | 3.5        | 74          |
| Liofilizada Merieux   | 4.8            | 3.5        | 105         |

F = 71,95

F crit. = 3,00  $p < 0.001$

En la Tabla 5 se expresa la calidad de la vacuna "in vitro" según el contenido de partículas cultivables<sup>11</sup>. La vacuna estudiada demostró buena estabilidad durante el período de observación. Las variaciones observadas son las propias de las determinaciones biológicas.

### COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Motivados por la introducción de una vacuna BCG liofilizada de un laboratorio diferente y por el hecho de haber realizado ya otras evaluaciones de Vacuna BCG, pareció interesante estudiar en terreno esta vacuna y compararla con otras empleadas en Chile. El hecho de haber utilizado el mismo método y PPD, permite comparar las vacunas controlando las variables que intervienen en el proceso de respuesta.

No encontramos diferencias apreciables en el tamaño de la cicatriz obtenida, al comparar ésta, con la vacuna BCG liofilizada Connaught, y otros tipos de vacuna utilizados en Chile y en el extranjero<sup>12-13</sup> señalando, como lo hicimos antes, que no parece haber correlación entre el

tamaño de la cicatriz y la protección conferida por la vacuna: hay experiencias que demuestran que un alto contenido de gérmenes muertos puede dar buenas cicatrices sin buena reacción tuberculínica<sup>14</sup>.

Las respuestas de la reacción tuberculínica provocada por las vacunas Merieux y Connaught son bastantes similares y en ambos casos menores que las obtenidas con la líquida. Si consideramos que una buena manera de evaluar la calidad de la vacuna es esta respuesta, podríamos decir que las primeras son considerablemente más débiles que la última y semejantes entre sí.

Debemos considerar que al estimar, por medio del PPD, la respuesta inmunitaria inducida por la vacuna estamos haciéndolo indirectamente. En Chile es conocida la baja respuesta al PPD en comparación con otros países<sup>15</sup> y no creemos que la población infantil de 0 a 4 m. hubiese cambiado tanto entre 1976 y 1984 como para explicar diferentes respuestas al PPD por variaciones del huésped. De este modo podemos concluir, que por razones hasta ahora desconocidas las vacunas BCG liofilizadas estudiadas inducen reacciones tuberculínicas más pobres que la vacuna líquida aplicada en Chile hasta 1982. Lo anterior podría significar que estas vacunas otorgan menor protección que otras empleadas con anterioridad en Chile.

No ocurre lo mismo al estudiar la calidad de la vacuna BCG Merieux "in vitro". Los controles indican que es estable si se mantiene en buenas condiciones en la Cadena de Frío y promisoría desde el punto de vista operacional, a pesar del frasco incoloro y de fallas ocasionales de vacío.

### RESUMEN

Se realiza un estudio de campo con 116 niños de 4 meses, vacunados al nacer con la vacuna

Tabla 5.

Control de calidad de las muestras de Vacuna BCG Liofilizada Rhodia Merieux\*

| Muestra Nº | Origen                                     | Fecha      | Resultados (partículas cultivables mil/ml.) |
|------------|--|------------|---|
| 1          | Central Abastecimiento<br>Control de Serie | Enero 1984 | 7.6   |
| 2          | Maternidad del Salvador                    | Junio 1984 | 9.8   |
| 3          | Laboratorio Control Nacional               | Junio 1984 | 7.8   |
| 4          | Maternidad del Salvador                    | Julio 1984 | 11.2  |

(\*) Realizados de acuerdo a Guía Técnica 77.9 de la OMS, utilizando el medio de Lowenstein Jensen<sup>11</sup>.

BCG Liofilizada del Instituto Rhodia Merieux, importada de Francia y sometida a control de calidad por el Instituto de Salud Pública de Chile. En el presente trabajo se empleó el mismo método y observadores que en un trabajo anterior sobre la vacuna BCG Liofilizada de Laboratorios Connaught (Canadá).

La vacuna en estudio deja una cicatriz semejante a las utilizadas anteriormente en Chile; la respuesta Tuberculínica es débil: media 4.8 mm. D.S. 3.5 mm., y se encontró una diferencia significativa al compararla con la vacuna BCG Líquida fabricada por el Instituto de Salud Pública de Chile la que aparece dando una mucho mejor respuesta tuberculínica ( $p < 0.001$ ).

Al comparar las dos vacunas BCG Liofilizadas, no se advierten diferencias importantes, demostrándose ambas considerablemente más débiles en su respuesta tuberculínica que la vacuna BCG Líquida.

Los controles de calidad "in vitro" de la vacuna BCG Liofilizada del Instituto Rhodia Merieux demostraron que es estable y promisorio desde el punto de vista operacional.

#### REFERENCIAS

1. *Ministerio de Salud, Departamento de Planificación:* Enfermedades de Notificación Obligatoria. Anuario 1982-1983.
2. *Toro J.:* Epidemiología de la Tuberculosis en Chile. *Bol. Vigil. Epidemiol.* 11: 3, 1984.
3. *Arayz, Ch. P.:* Historia de la vacunación antituberculosa con BCG en el ser humano en Chile. *Bol. Médico-Social* N° 164 a 168, 1948.
4. *Anónimo:* Fourth report. *Br. Med. Research Council Bull WHO* 46: 371, 1972.
5. *Anónimo:* Uso de Vacuna BCG liofilizada para Recién Nacidos Rep. de Chile, Ministerio de Salud, Depto. de apoyo a los programas, circular 117, Julio 1982.
6. *Azzini, I., Carrasco R. y cols.:* Reacción Tuberculínica y Cicatriz BCG en lactantes vacunados con BCG liofilizado. *Rev. Chil. Pediatr.* 55: 313, 1984.
7. *Anónimo:* Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos. 30° Informe. *Ser. Inf. Tec. OMS* 638: 156, 1979.
8. *Rojas, L., Azzini, I., Ferrer, X. y cols.:* Vacunación BCG en recién nacidos con vacuna preparada de cultivos de 10 y 14 días 2as. Jornadas de Microbiología U.C.V. Octubre 1976.
9. *Zuwayyif, H.:* Estadística General Aplicada. Fondo Educativo Interamericano. 1977.
10. *Anónimo:* *The American Statistician* 35: 136, 1931.
11. *Anónimo:* "In vitro" essays of BCG products. *WHO TB Tech. Guide* 9: 3, 1977.
12. *Ferrer, X., Latrach, C. y cols.:* Presencia de cicatriz BCG y reacción tuberculínica en escolares de 1º Año Básico, S.S.M. Oriente. *Bol. Vigil. Epidemiol. Ministerio de Salud, Chile* 10: 7, 1983.
13. *Edwards, L.B., Gelting, A.S.:* Effects of age of vaccine and variation in storage temperature and dosage on allergy production and vaccination lessons 10 weeks after vaccination. *Bull WHO* 3: 279, 1950.
14. *Nissen Mayer S., Palmer C.E.:* Field Studies of the significance of dead Bacilli in BCG vaccine. *Bull WHO* 7: 201, 1952.
15. *Botteselle O., Rojas L.:* Consideraciones sobre 6.045 pruebas tuberculínicas en Santiago. Estudio cooperativo del Comité de lucha Anti-TBC de la V Zona de salud SNS SERMENA Material impreso. Campaña Anti-TBC. Servicio de Divulgación 1969-1970.