

24/122



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"Variación de la Potencia de la Vacuna
Antipolio (Producto Terminado) con res-
pecto a diferentes Temperaturas."

T E S I S

Que para obtener el Título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

Ma: Elena Ovalle Morales



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
METODOLOGIA	7
RESULTADOS	15
DISCUSION	26
CONCLUSIONES	30
APENDICE	31
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	34

I.- INTRODUCCION.-

La poliomiелitis, llamada también Parálisis infantil, enfermedad de Heine Medin ó Polio, es una infección viral, aguda, trasmisible, que se presenta esporadicamente ó en epidemias. Aún cuando se considera un proceso encefálico, la afección fundamental y selectiva es la de un síndrome de neurona motora inferior parálisis atónica, arreflexia proximal, sin trastornos de la sensibilidad ó de esfínteres y con secuelas permanentes de tipo refracciones tendinosas y atrofia de los segmentos afectados. (2)

Underwood, médico inglés, publicó en 1710, la primera descripción de esta enfermedad y Heine, ortopedista alemán, en 1840 realiza la primera monografía. (3)

Medin, médico sueco, en 1890 destaca el carácter -- contagioso y epidémico de la poliomiелitis y Wickman en 1908 establece los principios epidemiológicos de la enfermedad. (3)

Landsteiner y Popper en 1909, postularon su etiología viral y los primeros antecedentes de inmunización contra la poliomiелitis, los publicó Kolmer en 1934. (3)

Fue un año después en 1935, en que Brodie Parke, desarrolla una vacuna al inocular poliovirus en médula de mono

e inactivarlos con formol al 0.1% durante 8-12 horas a 37 °C y fue aplicado a más de 9 000 personas, (la mayoría niños y enfermeras) y se presentaron doce casos de polio paralítica, seis de ellos mortales en un tiempo que variò de 6 a 14 días después de la inyección y bajo circunstancias especiales que el Gobierno de los Estados Unidos de América, suspendió los ensayos. (2)

Años después, tres puntos permitieron el desarrollo de las vacunas actuales:

1) Kassel y Pait en 1948 y Bodiam en 1949, reconocen la existencia de tres tipos serologicamente distintos - de poliovirus para los cuales se requiere generar inmunidad.

2) Enders, Weller y Robbin en 1949, lograron el - aislamiento y el cultivo de ciertos poliovirus en tejidos no neuronales (riñón de mono) con rendimientos muy elevados libres de impurezas tisulares que evitarían la encefalitis alérgica desmielinizante y que además los virus eran susceptibles de inactivación con agentes como el formol sin alterar la - capacidad inmunogénica.

3) Horstman y Rodian en 1950 demuestran que el período virémico es preliminar a la localización en el Sistema Nervioso Central y que la neutralización del virus en la

sangre puede evitar la aparición de la parálisis.

Los primeros ensayos con virus atenuados, fueron de Koprowski en 1950, Sabin y Koprowski en 1956 y Cox en 1959; los cuales coronaron con éxito sus esfuerzos al obtener cepas, de poliovirus atenuados mediante pases de cultivo con células renales de mono y seleccionando mutantes de los cultivos que no eran neuropatògenos y que son actualmente utilizados para la elaboración de las vacunas de virus atenuados.

Los poliovirus pertenecen al Grupo de los Enterovirus y a la Familia de los Picorna-Virus; son virus de RNA, pequeños de 28 micras, resistentes al èter; estables a 4 °C durante meses y a -20 °C durante años. Los detergentes no los afectan sensiblemente, el cloro los inactiva en agua pura pero los afecta poco en agua con sustancias orgànicas.

Existen tres tipos antigènicos diferentes: el Tipo I (Brunhilda). Tipo II (Lancing) y Tipo III (leòn). Los poliovirus son patògenos solo para los primates, es decir, para el hombre y los monos. Se cultivan sin grandes dificultades en tejidos de la correspondiente procedencia y en ellos desarrollan fuertes efectos citopàticos, los cuales consisten en la completa degeneraciòn de las células. Los poliovirus se identifican generalmente con ayuda de sueros inmunes y de

tejidos ya que se basa en el hecho de que el virus actúa como citopatógeno, es decir, lesiona las células, mientras que en presencia del correspondiente anticuerpo, el virus se neutraliza y no ocurre el efecto citopático. (4)

La aplicación de esta vacuna es por vía oral y su ingestión remedia la infección natural, los virus aún capaces de replicarse no hacen al fijarse en los tejidos linfoides del tubo digestivo y conducen posteriormente a una viremia transitoria que cursa sin sintomatología alguna para el huésped.

Entre los factores más importantes que influyen en la baja de potencia de las vacunas antipoliomielíticas de virus atenuados están sin lugar a duda, las condiciones de almacenamiento y manejo durante las campañas de vacunación. La temperatura a la cual se maneja o se almacena la vacuna determinará que la potencia del producto se pierda o se preserve. (5)

Así mismo, los problemas de vacunación en los países con climas cálidos, como es el caso de algunos Estados de la República Mexicana, se ven obstaculizados por el problema de conservar dicha potencia y actividad óptima de los productos vacunales hasta el preciso momento de

su aplicación. Cabe mencionar, que todas las vacunas pierden potencia cuando se exponen al calor y la mayoría se inactivan por efectos de la exposición directa a la radiación solar (6, 7 y 8). Problemas que son de importancia - considerable en las regiones desérticas y tropicales. Por otro lado, si se les mantiene continuamente a una temperatura cercana al punto de congelación del agua se mantiene la potencia cuando menos por dos años.

La baja de potencia de las vacunas es un proceso acumulativo e irreversible, es decir, si al principio de la cadena fría, la cual consiste en el manejo que reciben las vacunas desde su producción hasta su aplicación, se permite que sean expuestas al calor se perderá potencia, aún cuando posteriormente sean enfriadas satisfactoriamente; y si en su lugar de distribución se exponen a otro calentamiento, la pérdida de potencia será muchísimo mayor. (9)

Para prevenir muchos de los problemas antes mencionados y con el objeto de conservar la actividad inmunizante al nivel mínimo óptimo necesario, en la producción de la vacuna de virus atenuados contra la poliomiélitis (Sabin), se han empleado diferentes agentes estabilizado-

res más efectivos, como son el Cloruro de Magnesio ($MgCl_2$) en concentración 1M, la Sacarosa en concentración de 50% y el -- Sorbital también al 50% (10 y 11).

El uso de estos estabilizadores provee al producto gran ventaja, ya que de esta manera es relativamente fácil de congelar, y así se puede vigilar el exacto funcionamiento de la cadena fría, pero los poliovirus no resisten la congelación y descongelación repetidas que destruyen la cápside proteínica y desde luego inactivan al virus; por esta razón lógica nunca debería permitirse que un lote de vacuna sufriera más de dos descongelaciones como máximo y -- cuando hayan sido tres es necesario analizar la potencia residual antes de usar la vacuna.

El propósito del presente trabajo ha sido el de determinar, en condiciones adecuadas experimentales, el grado de variación de la potencia de la vacuna antipoliomielítica trivalente, cuyo compuesto químico estabilizante es el $MgCl_2$ 1M, con respecto a diferentes tiempos y rangos de temperatura.

II.- METODOLOGIA.-

Para la realización del presente trabajo se utilizaron 50 frascos de Vacuna Antipoliomielítica Trivalente tipo Sabin, con fecha de caducidad Diciembre 1983, producida en el Instituto Nacional de Virología de la S.S.A. Las muestras se obtuvieron congeladas.

Dichas vacunas fueron sometidas a tres temperaturas diferentes: 4 °C, 22.5 °C y 35 °C, con intervalos de tiempo de 0 hasta 2 meses (Cuadro # 1), después de cada tiempo de exposición a las temperaturas indicadas se llevó a cabo el análisis de potencia por medio de diluciones de la vacuna, para determinar su estabilidad por el método de microtitulación en placa (23).

TEMPERATURA	4 °C	22.5 °C	35 °C
TIEMPO	0.16	1	0.25
(DIAS)	1	3	0.50
	3	5	1
	7	8	3
	14	14	7
	21	21	14
	30	30	-
	45	45	-
	60	-	-

CUADRO # 1.- Temperaturas y tiempos a que estuvo expuesta la Vacuna Antipoliomielitica Trivalente (Sabin).

El análisis de potencia de la vacuna se llevó a cabo de la siguiente manera:

Para la preparación de la suspensión celular se tomó una botella de plástico con una superficie de fondo de 75 cm², la cual contenía una capa confluyente de células Hep-2C (Cincinatti), se descartó el medio de mantenimiento y se agregaron 10 ml de una solución de versenotripsina*, con el objeto de desprender las células, la solución se dejó en contacto con la capa celular durante tres minutos, la cual se descartó a continuación y se incubó la botella a 37 °C, durante 10 minutos, con el fin de acelerar el desprendimiento de las células. El contenido de la botella se resuspendió con 10 ml de medio de mantenimiento Eagle-Diploid*, al que se agregaron 5% de suero fetal de ternera previamente inactivado a 56 °C durante 30 minutos, 2.5% de bicarbonato de sodio (NaHCO₃)*y 1% de anti-bac*, esta mezcla fue homogeneizada mediante un pipeteo suave. Para determinar la concentración de células en la botella, se tomó una alícuota de 0.1 ml a la que se añadieron 0.9 ml de la solución azul de tripano* al 0.5%, y posteriormente se contaron las células en la cámara de Newbauer.

* La fórmula de la solución se presenta en el apéndice de este trabajo.

El conteo para obtener el número de células deseado para posteriormente sembrarlas en la microplaca para la titulación de la vacuna, se hizo de la siguiente manera:

Después de que se efectuó la mezcla de las células con el colorante se dejaron reposar durante 2 minutos, posteriormente se agitó perfectamente la suspensión y con ella se cargó el hematecitómetro. Una vez que las células se habían sedimentado, se procedió a contarlas como si fueran eritrocitos, todas las células comprendidas en los cuatro cuadros grandes de la cámara.

El volumen final al cual debe llevarse la suspensión celular para tener una determinada concentración celular por unidad de volumen, y con la cual sea capaz de darse el efecto virus-célula, se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{NUMERO DE CELULAS X DILUCION X 10 000}}{\text{VOL. FINAL}}$$

NUMERO DE CEL/ML

En el procedimiento de titulación para medir la potencia de la vacuna, se prepararon por duplicado diluciones logarítmicas de 0.3, así como para el virus de referencia, - el cual tenía un título conocido y se utilizó como "punto de referencia" para las condiciones de trabajo. Las diluciones se hicieron en medio de cultivo Earle-Lacto, al 0.45% conteniendo bicarbonato de sodio al 5% y anti-bac al 1%.

Para la vacuna se usaron diluciones de $10^{-4.6}$ a $10^{-6.7}$.

La siembra de las diferentes diluciones de la vacuna y de las células se llevó a cabo de la siguiente manera:

En la microplaca de titulación se sembraron 5 pozos por dilución, todos por duplicado, cada pozo con 0.1 ml de la dilución de la vacuna y 0.05 ml de la suspensión celular con una concentración de 250 000 células por mililitro, - a cada dilución se le puso su testigo correspondiente, un pozo únicamente con células y medio de cultivo, las microplacas se incubaron a 35 °C durante 7 días, después de este tiempo se observaba el efecto citopático, llevándose a cabo lecturas en el microscopio invertido y obteniéndose de esta manera títulos correspondientes.

Este procedimiento se llevaba a cabo cada vez que

se titulaba una muestra que habia estado expuesta a determinada temperatura cierto tiempo.

Los cálculos de los resultados se hicieron por el método de Spearman-Kärber (12, 13 y 15), por medio de la fórmula siguiente:

$$\log_{10} \text{ de la dilución final} = -(x_0 - \frac{d}{2} + d \frac{\sum r_i}{n_i})$$

x_0 = \log_{10} del recíproco de la dilución mínima con la que todos los pozos son positivos.

d = \log_{10} del factor de dilución.

n_i = número de pozos empleados en cada dilución.

r_i = número de pozos positivos.

Según la fórmula dada anteriormente, cada indicador positivo aumenta el logaritmo del punto final del 50% en un valor numérico constante, siempre que permanezcan constantes el factor de dilución y el número de pozos inoculados con cada dilución.

Por consiguiente, el \log_{10} de la dilución final del 50% se obtiene por simple adición de dos valores, calcu

lados el primero a partir de la dilución mínima de la vacuna a la que todos los pozos responden positivamente, y el segundo relacionado con el número total de pozos que dan una respuesta positiva ("positivos") con esa dilución y con todas las diluciones superiores.

La expresión "dilución final de 50%" ó simplemente "dilución final" se refiere a la dilución que realmente corresponde al 50%, también puede utilizarse en ese sentido la expresión "dosis eficaz media".

Para que sea aplicable la fórmula de Spearman--Karber, es preciso utilizar una serie de diluciones tan amplias que incluye la dilución con la que el 100% de los pozos serán positivos, y diluciones inferiores a ella, y la dilución con la que el 100% de los pozos serán negativos y diluciones superiores a ella.

Los resultados fueron reportados en ml por dosis infectiva en cultivo de tejidos: ml/DICT_{50}

El título oficial de la Vacuna Antipoliomielítica Trivalente tipo Sabin propuesto por la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) es de $10^{-6.15} \text{ ml/DICT}_{50}$, basándose en dicho dato fueron valorados los resultados obtenidos en las diferentes titulaciones de la vacuna (17).

La cuantificación del efecto de la temperatura, del tiempo y de la interacción de ambos, se efectuó por medio de un Análisis de Varianza Factorial, en el cual se plantean tres hipótesis nulas:

- 1) H_{0_1} = no hay diferencia en el título de la vacuna por efecto de la temperatura.
- 2) H_{0_2} = no hay diferencia en el título de la vacuna por efecto del tiempo.
- 3) H_{0_3} = no hay diferencia en el título de la vacuna por efecto de la interacción de la temperatura y el tiempo.

III.- RESULTADOS.-

En los resultados que se presentan en la Tabla # 1 y que corresponden a una temperatura de 4°C, se puede observar que la variación en el título de la vacuna a lo largo del tiempo fue de $0.1 \log_{10}$; ó sea que dicho título tendió a mantenerse sin cambios significativos.

TIEMPO (DIAS)	TITULO (ml/DICT ₅₀)
0.16	10 ^{-6.70}
1	10 ^{-6.71}
3	10 ^{-6.71}
7	10 ^{-6.65}
14	10 ^{-6.69}
21	10 ^{-6.62}
30	10 ^{-6.70}
45	10 ^{-6.67}
60	10 ^{-6.71}

TABLA #1.- Valores de los titulos de la Vacuna Antipolio-
mielítica Trivalente tipo Sabin, tras haber si
do expuesta a una temperatura de 4°C.

(Promedio de dos mediciones.)

En la Tabla # 2 se puede observar que donde la temperatura de exposición de la vacuna fue de 22.5°C, hubo un descenso en el título a través del tiempo, observándose que a los 21 días la potencia de la vacuna perdió su efecto totalmente.

TIEMPO (DIAS)	TITULO (ml/DICT ₅₀)
1	10 ^{-6.50}
3	10 ^{-6.53}
5	10 ^{-6.45}
8	10 ^{-6.44}
14	10 ^{-6.27}
21	10 ^{-6.11}
30	10 ^{-5.72}
45	NO HAY EFECTO

TABLA # 2.- Valores de los títulos de la Vacuna Antipoliomielítica Trivalente tipo Sabin, tras haber sido de expuesta a una temperatura de 22.5°C.
(Promedio de dos mediciones.)

A 35°C el efecto de la temperatura fue mayor en un plazo de tiempo más corto, en los resultados que se muestran en la Tabla #3 se puede apreciar la decadencia del título de la vacuna, observamos que el producto a una temperatura de 22.5°C mantuvo un título de $10^{-6.27}$ ml/DICT₅₀, donde todavía era capaz de inmunizar, a los 14 días de exposición, mientras que en el mismo lapso a 35°C el efecto fue nulo.

TIEMPO (DIAS)	TITULO (ml/DICT ₅₀)
0.25	$10^{-6.56}$
0.50	$10^{-6.50}$
1	$10^{-6.35}$
3	$10^{-6.29}$
7	$10^{-5.93}$
14	NO HAY EFECTO

TABLA # 3.- Títulos de la Vacuna Antipoliomielítica Trivalente tipo Sabin, tras haber sido expuesta a una temperatura de 35°C. (Promedio de dos mediciones)

Lo anteriormente expuesto significa que el tiempo de exposición a determinada temperatura disminuye la potencia de la vacuna, una evidencia de esto está representada por los valores promedio y la desviación estándar de los títulos obtenidos a los 4°C, 22.5°C y 35°C. (tabla # 4)

TEMPERATURA T°C	PROMEDIO \bar{X} (ml/DICT ₅₀)	DESVIACION ESTANDAR (\pm)
4	$10^{-6.684}$	0.0316
22.5	$10^{-4.901}$	2.791
35	$10^{-3.514}$	3.338

TABLA # 4.- Valores promedio y desviación estándar de los títulos obtenidos a 4°C, 22.5°C y 35°C.

Cuantificación del efecto de la temperatura, del tiempo y de la interacción de ambos, por medio de un Análisis de Varianza Factorial.

Los datos de la Tabla # 5 se ajustan al siguiente modelo matemático utilizado en el análisis de varianza factorial (16):

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{k(ij)}$$

Donde:

- μ = constante
- A_i = Temperatura
- B_j = Tiempo
- k = numero de repeticiones
- AB_{ij} = interacción de la temperatura y el tiempo
- i = 1, 2, 3 (Temperaturas)
- j = 1, 2, 9 (tiempos)
- E = error tecnico

FACTOR B

FACTOR A

(TIEMPO)

(TEMPERATURA)

	4°C	22.5°C	35°C
1	$10^{-6.71}$	$10^{-6.59}$	$10^{-6.59}$
	$10^{-6.69}$	$10^{-6.59}$	$10^{-6.53}$
2	$10^{-6.65}$	$10^{-6.71}$	$10^{-6.59}$
	$10^{-6.77}$	$10^{-6.35}$	$10^{-6.41}$
3	$10^{-6.77}$	$10^{-6.59}$	$10^{-6.35}$
	$10^{-6.65}$	$10^{-6.32}$	$10^{-6.35}$
4	$10^{-6.59}$	$10^{-6.65}$	$10^{-6.35}$
	$10^{-6.71}$	$10^{-6.23}$	$10^{-6.29}$
5	$10^{-6.79}$	$10^{-6.35}$	$10^{-5.93}$
	$10^{-6.59}$	$10^{-6.19}$	$10^{-5.93}$
6	$10^{-6.59}$	$10^{-5.99}$	0
	$10^{-6.65}$	$10^{-6.23}$	0
7	$10^{-6.71}$	$10^{-5.63}$	0
	$10^{-6.69}$	$10^{-5.81}$	0
8	$10^{-6.50}$	0	0
	$10^{-6.75}$	0	0
9	$10^{-6.65}$	0	0
	$10^{-6.77}$	0	0

TABLA # 5.- Datos duplicados del experimento, completamente aleatorizado y de dos factores. (ml/DICT₅₀)

Las hipótesis a probar con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ son:

1) H_{0_1} : no hay diferencias en el título por efecto de la tempe
ratura.

$$H_0 : A_i = 0$$

H_{A_1} : sí hay diferencias en el título por efecto de la tempe
ratura.

$$H_A : A_i \neq 0$$

2) H_{0_2} : no hay diferencias en el título por efecto del tiempo.

$$H_0 : B_j = 0$$

H_{A_2} : sí hay diferencias en el título por efecto del tiempo.

$$H_A : B_j \neq 0$$

3) H_{0_3} : no hay diferencias en el título por efecto de la inte
racción de la temperatura y el tiempo.

$$H_0 : AB_{ij} = 0$$

H_{A_3} : sí hay diferencias en el título por efecto de la inte
racción de la temperatura y el tiempo.

$$H_A : AB_{ij} \neq 0$$

Donde:

H_0 : Hipótesis nula.

H_A : Hipótesis alternativa.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA
A_i	(i-1)	SCA=90.91	SCA/i-1	CMA/CME
	2		=45.45	=3787.5
B_j	(j-1)	SCB=167.01	SCB/j-1	CMB/CME
	8		=20.87	=1739.16
AB_{ij}	(i-1)(j-1)	SCAB=136.02	SCAB/(i-1)(j-1)	CMAB/CME
	16		=8.5	=708.33
RESIDUAL				
Error	k-1(ij)	$SC_E=0.33$	SCE/k-1(ij)	
$E_{k(ij)}$	27		=0.012	
TOTAL	N-1	SC_{total}		
	53	394.27		
	(ijk-1)			

TABLA # 6.- Tabla ANOVA obtenida del experimento completamente aleatorizado de los factores temperatura y tiempo.

Por medio de los datos presentados en la Tabla # 5, se elaboró la Tabla ANOVA, con la cual se obtuvieron los valores de "F" calculados, los cuales fueron comparados con los valores teóricos de la distribución de probabilidad, con una significancia de 0.05, tomados de las tablas establecidas(16).

A partir de que:

- 1) las vacunas muestreadas fueron tomadas aleatoriamente
- 2) las muestras obtenidas se distribuyen normalmente y
- 3) todos los efectos a comprobar presentan la misma varianza:

Se comparan los valores calculados de cada efecto con los valores teóricos de la distribución de probabilidad de "F" para evaluar las hipótesis.

	F 0.05 (Tablas)		"F" calculado	
TEMPERATURA (2,27)*	5.49	<	3787.5	Per lo tanto se rechaza H_0
TIEMPO (8,27)*	3.26	<	1739.16	Per lo tanto se rechaza H_0
INTERACCION TEMPERATURA-TIEMPO (16,27)*	2.74	<	708.33	Per lo tanto se rechaza H_0

POR LO TANTO SE ACEPTAN LAS HIPOTESIS ALTERNATIVAS(H_A).

*Grados de libertad.

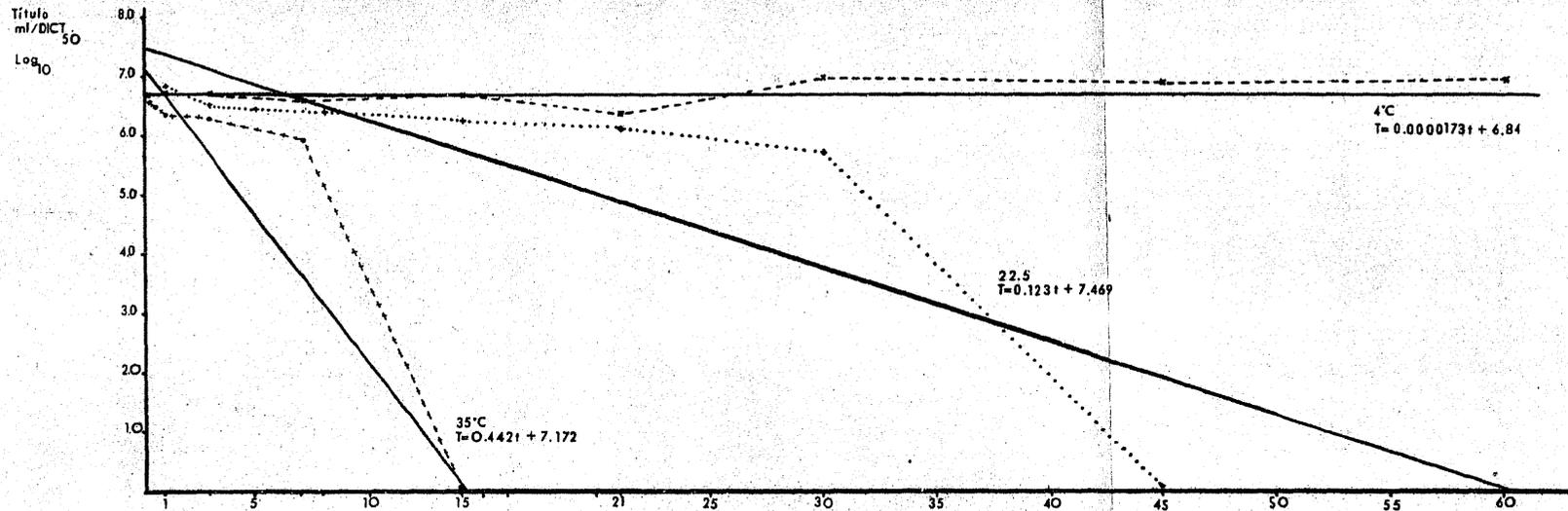
Comparación entre las curvas obtenidas y esperadas del experimento por Análisis de Regresión Lineal Simple. (16)

Experimentalmente el decrecimiento del título de la vacuna en el tiempo es exponencial; la recta teórica ajustada por mínimos cuadrados muestra un comportamiento similar expresado por el valor de la pendiente (gráfica).

Podemos observar que a pesar de las diferencias de pendiente, los valores del título inicial (T_0) calculados -- son muy semejantes al título de la vacuna cuya potencia fue medida inmediatamente que se descongeló. (TPD = título del - producto descongelado), Tabla # 7.

TPD ml/DICT ₅₀	T_0 ml/DICT ₅₀	T°C
	$10^{-6.68}$	4
$10^{-6.71}$	$10^{-7.46}$	22.5
	$10^{-7.17}$	35

TABLA # 7.- Títulos del producto descongelado (TPD) y títulos iniciales calculados (T_0).



Gráfica.- Curvas experimentales (---) y teóricas (—) donde se muestra el decrecimiento del título de la Vacuna Antipoliomielítica Trivalente tipo Sabin, en el tiempo a diferentes temperaturas.

IV.- DISCUSION.-

En los últimos años se ha dado importancia relevante en nuestro país al sector salud, el cual ha considerado - como uno de sus objetivos primordiales, la erradicación de la Poliomielitis en la población infantil (22), contando actualmente con medidas preventivas para ello, siendo la principal la aplicación de la vacuna estudiada en este trabajo; es necesario hacer referencia al manejo que se le proporciona a la vacuna, ya que es adquirida en su mayoría por grandes instituciones de salud para su aplicación, esto involucra que por diversos factores, como la temperatura, el manejo, etc... influyan en la efectividad de la vacuna, así mismo al adquirirla en grandes cantidades puede verse afectada por el tiempo que se mantiene almacenada, antes de su aplicación, es - por ello que se tomaron dos alterantes (factores) principales para el estudio del grado de variación de la potencia.

Los alterantes ó factores considerados para observar si la vacuna sufría cierta variación en su potencia fueron la temperatura y el tiempo, elaborándose tres hipótesis sobre el efecto de la variación que estos factores producen en el producto. Los resultados obtenidos a lo largo del experimento dieron a conocer que tanto la temperatura, el -

tiempo y la interacción de ambos son significativos a un nivel de significancia (α) 0.05 al ser analizados los datos por el método estadístico de Análisis de Varianza Factorial (16), con el cual puede estudiarse la variación de los factores individualmente y además la interacción entre ambos factores que en este caso eran, como ya se mencionó, temperatura y tiempo (Ver secc. III).

En cuanto a la gráfica obtenida mediante el método de regresión lineal se observa el decaimiento del título de la vacuna a la temperatura de 22.5°C y 35°C en relación lineal inversa con el tiempo, creándose una dependencia entre ambas variables (temperatura y tiempo), mientras que a 4°C mantiene su potencia a través del tiempo.

El estudio se realizó mediante la técnica de microtitulación en placa (23), considerándose esta técnica como la óptima porque nos reporta datos muy aproximados a la realidad, y porque además es fácilmente observable el efecto citopático. El tiempo para la determinación de la potencia (7 días) es reducido, además la utilización de las diluciones sucesivas de un factor constante determinado, nos permite realizar un ensayo cuantitativo (15). Las ventajas anteriores son consideradas por la Organiza

ci6n Mundial de la Salud (O.M.S.) (23), y es por estas razones que se recomienda el empleo de este m6todo y por lo cual fue utilizada para la elaboraci6n de este trabajo.

En el presente trabajo las vacunas utilizadas contenian $MgCl_2$ 1M como agente estabilizador y por lo tanto - los resultados obtenidos a trav6s del experimento solo pueden inferirse para aquellas vacunas que contengan dicho estabilizador. Por otra parte cabe mencionar, que no se sabe si la constancia de la potencia de las vacunas almacenadas a 4°C se deba a la presencia de $MgCl_2$ 1M como estabilizador 6 que a esta temperatura la potencia de la vacuna no sufrira ning6n cambio, para ello, aunque exista literatura (11, 13) donde se prueba el efecto de la presencia 6 ausencia de este estabilizador faltaria por probar el efecto de estos factores en vacunas que carezcan del mismo.

Debido a que el $MgCl_2$ 1M act6a como agente bacteriost6tico y micost6tico no es necesario agregar otro agente preservativo en la producci6n de la vacuna (11); sin embargo, la funci6n primordial del $MgCl_2$ 1M es actuar como inactivador t6rmico protegiendo al producto contra la p6rdida de infectividad.

De lo expuesto anteriormente cabe mencionar la ne

cesidad de que las condiciones de almacenamiento de la vacuna sean las requeridas, para que de esta forma pueda de una manera efectiva cumplirse la meta trazada, La erradicación definitiva de la Poliomielitis en la República Mexicana.

V.- CONCLUSIONES.-

De lo anteriormente expuesto colegimos la importancia que tiene el seguimiento de una cadena fría continua entre el fabricante y el niño receptor para el manejo de la Vacuna Antipoliomielítica Trivalente tipo Sabin; cabe mencionar que al no proporcionarle una temperatura adecuada, aún cuando contenga una sustancia química estabilizador se producirá en la vacuna una baja ó pérdida total de potencia, lo cual afectará su capacidad inmunizante.

El manejo de la vacuna es un factor primordial que debe tenerse en cuenta para contar con un óptimo rendimiento, ya que el principal objetivo de su uso es la población infantil.

VI.- APENDICE.-

Fórmulas de las soluciones empleadas en la elaboración de este trabajo: (12)

BENZAL AL 10%

- Cloruro de benzalconio ----- 100 ml
- Alcohol de 96° ----- 900 ml

VERSENATO DE SODIO AL 0.05%

- Versenato de sodio (E.D.T.A.) ----- 0.5 g
- Solución A de PBS 10x ----- 100 ml
- Agua destilada -----c.b.p.- 900 ml
- Rojo fenol ----- 0.05ml
- Hidróxido de sodio 1N -----pH 7.5

TRIPSINA AL 5%

- Solución A de PBS ----- 100 ml
- Tripsina ----- 50 g
- Rojo fenol ----- 1 ml
- Agua destilada -----c.b.p. 1000 ml

ANTI-BAC

- Penicilina sódica -----	1 millón de U.I.
- Sulfato de estreptomicina -----	1 g de base
- Agua destilada -----	100 ml

BICARBONATO DE SODIO

- NaHCO_3 -----	4.4 g
- Rojo fenol -----	0.01 ml
- Agua destilada ----- c.b.p.	100 ml

MEDIO EARLE-LACTO

- NaCl -----	68.0 g
- KCl -----	4.0 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -----	2.0 g
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -----	1.44 g
- Glucosa -----	10.0 g
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -----	2.65 g
- Rojo fenol -----	10.0 ml
- Agua destilada ----- a 1000	ml

AZUL DE TRIPANO AL 0.05%

- Azul tripano en polvo -----	5 g
- Agua destilada -----	1000 ml
- Cloruro de sodio -----	8.5 g

MEDIO EAGLE-DIPLOID. Eagle (1955)

(Componentes en mg/l)

- NaCl	-----	6 800.0
- KCl	-----	400.0
- NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	-----	140.0
- MgCl ₂ ·6H ₂ O	-----	200.0
- CaCl ₂ (Anhidro)	-----	200.0
- NaHCO ₂	-----	2 200.0
- Glucosa	-----	1 000.0
- L-Arginina HCl	-----	21.0
- L-Cistina	-----	12.0
- L-Tirosina	-----	18.0
- L-Isoleucina	-----	26.0
- L-Histina	-----	8.0
- L-Leucina	-----	26.0
- L-Licina	-----	29.0
- L-Metionina	-----	7.5
- L-Fenilalanina	-----	16.5
- L-Treonina	-----	24.0
- L-Triptofano	-----	4.0
- L-Valina	-----	23.5
- L-Glutamina	-----	292.0
- Biotina	-----	1.0
- Acido fólico	-----	1.0

VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.-

1. Calderón, J.E. 1979. Conceptos clínicos de Infectología. 5ª ed. Editorial Francisco Méndez Cervantes: 167-177.
2. Armijo, R.P. 1976. Epidemiología aplicada. Editorial Inter-Médica: 279-288.
3. Kumate, J. 1979. Inmunidad, inmunización vacunas. 2ª ed. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México: 85-104.
4. Wisman, H. 1974. Microbiología Médica. Salvat.
5. Kado, B.G. 1979. Estabilidad a temperatura de la Vacuna Antipoliomielítica de Virus atenuados elaborados en el Instituto Nacional de Virología. Revista Salud Pública-Méx. XXI, No.3: 223-269.
6. Workshop on evaluation of immunization programmes. 1976. Caribbean Epidemiology Center/ CAREC Surveillance Report, 2. No.11.
7. Perkins, F.T., y Col. 1977. Documentos Publicados por la unidad de Biológicos de la O.M.S.
8. International Immunobiological Symposium 10th. 1976. - Yugoslav Academy of Sciences and Arts. 29.
9. Carrada, B.T. 1977. Nota breve sobre el manejo práctico de algunas vacunas en los climas cálidos. Revista Salud Pública Méx. XIX, No.6: 787-790.

10. Martín, S.S. 1978. Curso Interregional sobre Titulación de Vacunas contra Poliomiélitis, Sarampión y Fiebre Amarilla en Cultivo de Tejidos. O.M.S., S.S.A., O.P.S. Noviembre-Diciembre.
11. Melnick, J.L. 1963. Effect of pH on Thermal Stabilization Poliovirus Vaccine by Magnesium Chloride. P.S.E.B.M., V:112.
12. Lennete, E.H. et al. 1964. Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Diseases. 3th. edition. American Public Health Association, Inc., New York: 152-170.
13. Kado, B.G. 1976. Relative Sensivity of the Cell Substrates to the Sabin Poliovirus Strains. Develop. Biol. Standards, V:37: 261-264.
14. Reed, L.J. & Muench, H. 1938. American Journal of Hygiene, V:27: 493.
15. Cunningham, C.H. 1971. Virología Práctica. Editorial Acribia: 221-244.
16. Wayne, W.D. 1980. Bioestadística. Editorial Limusa: 222-230.
17. C.F.R., 1982. Code of Federal Regulations Title 21 Subpart A Poliomyelitis Vaccine. Secciones 630.1 to 630.17. Food Department of Health Education and Welfare.

18. Peetermans, J., Colinet, G. 1976. Activity of attenuated poliomyelitis and measles vaccines exposed at different temperatures. Proc. Symposium on Stability and Effectiveness of Measles, Poliomyelitis and Pertussis Vaccines. Zagreb. September: 61-66.
19. Mauler, R. 1978. On stability of oral poliovirus vaccines. Develop. Biol. Standards, V:41: 267-270.
20. Mirchamsky, Y. 1978. Stabilizing effect of magnesium -- chloride and sucrose and Sabin live polio vaccine. Develop. Biol. Standards, V:41: 255-257.
21. Magrath, D.I. 1976. Factors affecting the storage of live oral poliovaccine. In: Proc. Symposium on Stability and Effectiveness of Measles, Poliomyelitis and Pertussis -- Vaccines. Zagreb. September.
22. Sabin, B.A. 1979. Vacunación contra la Poliomiélitis en países económicamente subdesarrollados. Revista Salud Pública. Méx. XXI, No.3: 237-260.
23. Pan American Health Organization Pan American Sanitary Bureau, Regional Office of the World Health Organization. 1981. Manual de Laboratorio para la valoración de vacunas elaboradas de virus vivos por la técnica -- del cultivo celular. Washington, D.C. Agosto.