



***Avaliação e Otimização do Processo de Distribuição de  
Vacinas***

**Miguel Jorge Lourenço Domingos**

Dissertação

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**Trabalho efetuado sob a orientação de: Prof<sup>a</sup> Doutora Isabel Maria Pires Sebastião Ramalhinho**

**2016**



***Avaliação e Otimização do Processo de Distribuição de  
Vacinas***

**Miguel Jorge Lourenço Domingos**

Dissertação

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**Trabalho efetuado sob a orientação de: Prof<sup>a</sup> Doutora Isabel Maria Pires Sebastião Ramalhinho**

**2016**



**2016**

## **Avaliação e Otimização do Processo de Distribuição de Vacinas**

### **Declaração de autoria do trabalho**

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

(Miguel Jorge Lourenço Domingos)

©A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## ÍNDICE

Agradecimentos .....	i
Resumo.....	ii
Abstract .....	iii
Introdução .....	1
1. Enquadramento Teórico.....	3
1.1 A cadeia de frio.....	3
1.2 Vacinação .....	3
2. Transporte de Vacinas.....	7
2.1 Legislação, Normas Nacionais e Internacionais .....	7
2.2 Quebras na rede de frio e possíveis soluções .....	13
2.3 O Futuro da Cadeia de Frio.....	20
3. A estabilidade das Vacinas .....	24
3.1 Toxoides da Difteria e Tétano (Td) .....	24
3.2 Vacina contra a Hepatite B (VHB).....	25
3.3 Vacina contra a Tosse Convulsa e Vacina contra Difteria, Tétano e Tosse Convulsa (DTPa) .....	26
3.4 Vacina Meningocócica (MenC).....	26
3.5 Vacina contra <i>Haemophilus influenzae</i> do tipo b (Hib) e Vacina Tetravalente contra Difteria, Tétano, Tosse Convulsa e <i>Haemophilus influenzae</i> do tipo b (DTPa – Hib) .....	27
3.6 Vacina Pneumocócica.....	27
3.7 Vacina BCG (BCG) .....	28
3.8 Vacina contra o Sarampo e Vacina trivalente contra o Sarampo, Parotidite e Rubéola (VASPR).....	29
3.9 Vacina contra a Febre Amarela .....	30
3.10 Vacina Inativada contra a Poliomielite (VIP) .....	30
3.11 Vacina contra a Encefalite Japonesa .....	31
3.12 Vacina contra a Febre Tifoide.....	31
3.13 Vacina antirrábica.....	31
3.14 Vacinas contra a Gripe Sazonal .....	32
3.15 Resumo sobre a Sensibilidade das Vacinas ao Aquecimento e Congelamento .....	32
4. Projeto de Investigação .....	34
4.1 Introdução .....	34
4.2 Objetivo .....	37
4.3 Materiais e Métodos .....	37
4.3.1 Materiais.....	37
4.3.2 Procedimento .....	37
4.4 Cronograma.....	39
4.5 Recolha, Análise e Tratamento dos Dados.....	40

4.6	Conclusão .....	41
5.	Considerações Finais .....	42
	Referências Bibliográficas .....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Esquema representativo do funcionamento de um VVM e forma de interpretação .....	19
Figura 3.1 Esquema em ordem crescente da sensibilidade das diferentes vacinas ao aquecimento .	33
Figura 3.2 Esquema em ordem crescente da sensibilidade das diferentes vacinas ao congelamento	33
Figura 4.1 Esquema de acondicionamento pretendido no interior da caixa à base de polistireno .....	39

## INDICE DE QUADROS

Quadro 2.1 Tempos de preparação dos termoacumuladores de gel para condicionamento consoante o seu peso e a temperatura ambiente .....	11
Quadro 2.2 Guidelines sobre a Manutenção da Cadeia de Frio .....	12
Quadro 2.3 - Estudos sobre a manutenção das condições de cadeia de frio durante o transporte e armazenamento de vacinas. ....	16
Quadro 4.1 Vacinas habitualmente distribuídas pelas ARS, respetivo nome comercial e condições de conservação recomendadas pelo fabricante. ....	36
Quadro 4.2 Representação esquemática do cronograma e respetiva duração em meses de cada uma das etapas.....	40

## LISTA DE SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ARS – Administração Regional de Saúde

ARSLVT – Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo

BCG – Vacina contra a Tuberculose

CTC – Cadeia a Temperatura Controlada

DGS – Direcção-Geral de Saúde

DTPa – Vacina contra a difteria, tétano e tosse convulsa

DTPa-Hib – Vacina contra a difteria, tétano, tosse convulsa e *Haemophilus influenzae* do tipo b

DTPa-Hib-VIP - Vacina contra a difteria, tétano, tosse convulsa, *Haemophilus influenzae* do tipo b e poliomielite

DTPa-VIP – Vacina contra a difteria, tétano, tosse convulsa e poliomielite

EMA – European Medicine Agency

FDA – Food and Drug Administration

Hib – Vacina contra *Haemophilus influenzae* do tipo b

INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

MenC – Vacina contra o meningococo do grupo C

OMS – Organização Mundial de Saúde

PNV – Programa Nacional de Vacinação

RSI – Regulamento Sanitário Internacional

SF – Serviços Farmacêuticos

Td – Vacina contra a difteria e tétano

UNICEF – United Nations Children's Fund

VASPR – Vacina Trivalente contra o sarampo, parotidite e rubéola

VIP – Vacina inativada contra a poliomielite

VVM – Vaccine Vial Monitor

VHB – Vacina contra a hepatite

## AGRADECIMENTOS

A entrega desta dissertação representa o encerrar de uma etapa que em termos pessoais tem um valor impossível de quantificar. É inevitável que durante este percurso hajam pessoas a quem cabe agradecer pelo apoio prestado quer do ponto de vista pessoal quer académico ou ambos.

Agradeço aos meus colegas de curso que quer durante estes anos de forma direta me incentivaram a continuar, quer pela sua resiliência me mostraram que por mais duro que possa parecer é possível atingir os nossos objetivos e olhar para trás com orgulho pelo trabalho que desenvolvemos. Destaco alguns que me acompanharam mais de perto e de quem guardo um carinho especial. À Jéssica Vairinhos, à Catarina Dias e à Teresa Silva pela receção sincera numa altura em que isso teve mais importância que as próprias possam ter percebido. Ao Jorge Pontes pela disponibilidade, incentivo e amizade. À Alexandra Pontes, Jürgen Branco, Miguel Viegas e Susana Viegas que pela igualdade de circunstâncias nos permitiu entender-nos nos momentos em que era preciso paciência e cooperação. Ao David Estêvão pelo esforço, apoio e dedicação incansável que serviu como inspiração. Ao Pedro Faustino, à Daniela Brás, à Cátia Marques e à Ana Lúcia pela amizade.

À Marisa Hilário e à Cláudia Santos pelo companheirismo, amizade e paciência durante o tempo em que como profissional e amigo nem sempre pude estar à altura durante este percurso. Ainda assim, tive sempre das duas a amizade sincera e uma palavra de apoio que agradeço muito.

À Farmácia Baptista, onde estagiei durante 6 meses. Encontrei sempre união, compreensão e companheirismo nesta equipa. Um agradecimento enorme a cada um de vocês: Patrícia, Rui, Tina, Stephany, Tânia, Cláudia, Ângela, Bruna, Vanda e Carlos. Ao Ricardo Ferreira, a quem me sinto muito grato pelo esforço, compreensão, disponibilidade e dedicação. À minha orientadora de estágio Dr.<sup>a</sup> Sandra Costa. À minha companheira de estágio Sara Sousa pela partilha de tantos momentos de desabafo sobre este período tão importante e preenchido.

Um agradecimento sincero ao Diogo Lopes e ao Rui Estevas cuja distância física nunca os impediu de me mandar uma mensagem e/ou um telefonema com uma palavra de entusiasmo e incentivo, mesmo nos últimos meses em que fui um amigo distante e ausente, porque às vezes são esses gestos simples, desinteressados e genuínos que fazem a diferença.

Um agradecimento muito especial à Dr.<sup>a</sup> Simone Ferreira que ao longo destes anos me ajudou a descobrir e proteger o que de mais precioso tenho. Nunca vou conseguir agradecer-lhe o suficiente mas levo-a sempre comigo para me lembrar o que construímos juntos. Esta vitória também é sua.

À minha família, ao Celso e aos meus amigos de sempre Daniela Faria e Cláudia Santos, um agradecimento e um eventual pedido de desculpa pela falta de paciência e disponibilidade cujas consequências recaem sobre quem mais gostamos e nos acompanham no dia-a-dia.

Por fim, obrigado à Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Abreu dos Serviços Farmacêuticos da ARSLVT pelo tão importante apoio inicial à realização desta tese. À Dr.<sup>a</sup> Ana dos Serviços Farmacêuticos da ARS Algarve. À Prof.<sup>a</sup> Doutora Isabel Ramalinho por me ter aceitado como seu orientando e pela revisão desta dissertação e apoio durante a sua realização.

## RESUMO

A vacinação é considerada um método eficaz no combate a doenças infectocontagiosas. Ainda que haja implementação de um programa de vacinação, um dos aspectos mais importantes para que esse plano cumpra os objetivos pretendidos é assegurar a estabilidade e poder imunológico das vacinas administradas, pelo que a manutenção de um sistema eficaz de cadeia de frio é fundamental. O objetivo desta tese é efetuar uma revisão bibliográfica no âmbito do tema referido, tendo em conta a legislação e as guidelines existentes sobre a distribuição de vacinas, perceber em que extensão são cumpridas as guidelines e possíveis soluções para os problemas documentados e apresentar um projeto com vista à introdução de um procedimento de distribuição de vacinas com base nas guidelines mais atualizadas, que poderá ser implementado pelos Serviços Farmacêuticos das Administrações Regionais de Saúde. Para garantir a eficácia desse procedimento de distribuição elabora-se um procedimento experimental que pretende monitorizar a temperatura no interior dos contentores de transporte durante a distribuição de vacinas e compará-lo com o procedimento de acondicionamento utilizado. A realização desta tese permitiu concluir que, de acordo com a literatura, a maior estabilidade das vacinas confere-lhes maior resistência às temperaturas elevadas do que a temperaturas de congelamento. Assim, assiste-se a uma mudança de paradigma verificando-se não só que o congelamento das vacinas é muito prevalente durante o transporte e armazenamento, mas também que tem um impacto mais significativo que o aquecimento. Neste sentido, pretende-se que futuramente se utilize informação sobre a estabilidade real das vacinas na gestão da cadeia de frio do ponto de vista logístico e financeiro.

**Palavras-chave:** vacinas; cadeia de frio; procedimento de distribuição; guidelines

## **ABSTRACT**

Vaccination is considered an effective method in the combat of infectious diseases. Even when the implementation of a vaccination program is a reality, one of the most important aspects for that program meets the objectives is to ensure the stability and immunogenicity of the administered vaccines. Therefore the maintenance of an effective cold chain system it's an important issue. The aim of this thesis is to review the data from this issue based in the existing guidelines and legislation about the vaccine distribution, analyze how often the guidelines is followed and solutions for the documented problems and present an investigation project to introduce a new vaccine distribution procedure in the pharmaceutical services of the Regional Health Administrations based in the most recent guidelines. The new procedure efficacy should be guaranteed after the measurement of the temperature inside the vaccine containers during the distribution of the vaccines comparing with the packaging procedures applied. In conclusion, as the data suggest, the improved vaccine stability exhibit a better resistance to high temperatures than to freezing temperatures. Thus, there is a new paradigm showing that the vaccine freezing is a common event during the vaccine distribution and storage and even has a most significate impact than the heating. Then, in the future, the aim is to use the real vaccine stability information available to ensure a better cold chain management.

**Keywords:** vaccines; cold chain; distribution procedure; guidelines

## INTRODUÇÃO

Este trabalho tem como objetivo a revisão bibliográfica sobre as boas práticas da manutenção da cadeia de frio na distribuição de vacinas com vista à elaboração de procedimentos que permitam o seu cumprimento para utilização nos Serviços Farmacêuticos (SF) das Administrações Regionais de Saúde (ARS).

São exploradas as diversas normas e guidelines encontradas na literatura, bem como uma análise da estabilidade das vacinas quando mantidas em condições normais da cadeia de frio e o futuro da cadeia de frio.

Por outro lado, pretende-se apresentar um projeto de investigação que terá como objetivo avaliar a manutenção das condições da cadeia de frio durante a distribuição de vacinas através da aplicação de um procedimento criado com base nas guidelines selecionadas, sendo elas as guidelines elaboradas pelos SF da Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo (ARSLVT), denominadas por Manual da Rede de Frio, e as guidelines elaboradas pelo Governo Australiano denominadas por Strive for 5 comparando-o posteriormente com o procedimento atualmente utilizado pelos SF de algumas ARS.

A metodologia utilizada incidu na revisão bibliográfica na base de dados PUBMED, consulta dos sítios na Internet de instituições de saúde nacionais e internacionais (Direção-Geral de Saúde – DGS, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. – INFARMED, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - INSA, Food and Drug Administration - FDA, European Medicine Agency - EMA, Organização Mundial de Saúde - OMS, entre outras).

As palavras-chave utilizadas na base de dados PUBMED incluíram: vaccine e cold chain sendo posteriormente efetuada a triagem dos estudos de interesse pelo tema e/ou conteúdo. Foram selecionados os artigos que referiam procedimentos relacionados com a manutenção da cadeia de frio e análise sobre a estabilidade de vacinas cujo texto integral e/ou resumo se encontravam disponíveis para consulta.

Durante a análise individual dos artigos foram verificadas as fontes utilizadas pelos mesmos e utilizados os artigos originais citados, quando disponíveis, sempre que revelassem interesse no âmbito do trabalho.

O trabalho encontra-se dividido em quatro capítulos. O primeiro capítulo é constituído pelo enquadramento teórico do tema em que são descritos os conceitos básicos sobre o tema

em análise, nomeadamente o conceito de cadeia de frio, de vacinação e de distribuição de vacinas. O segundo capítulo é constituído pela análise das boas práticas na manutenção da cadeia de frio na distribuição de vacinas, pela análise das quebras na cadeia de frio e o futuro da mesma. O terceiro capítulo refere-se à análise sobre a estabilidade das vacinas constantes no Programa Nacional de Vacinação (PNV) e administradas no âmbito da consulta do viajante. Por fim, o quarto capítulo refere-se ao projeto de investigação.

## 1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

### 1.1 A cadeia de frio

A cadeia de frio é constituída pelos profissionais, procedimentos e equipamentos que permitem assegurar a manutenção da temperatura dos medicamentos que necessitam de refrigeração, garantindo a sua qualidade, segurança e eficácia ao longo de todo o seu percurso, em que se inclui: fabrico, armazenamento, distribuição e administração. A cadeia de frio deve assegurar que são escrupulosamente cumpridas as condições de conservação definidas pelo produtor no sentido de garantir que o mesmo mantém as características iniciais e conseqüentemente cumpre a função a que se destina (1,2).

A cadeia de frio inicia-se durante o armazenamento nas instalações do fabricante e continua durante o processo de transporte para o fabricante, a entrega e armazenamento nos centros de vacinação e termina com a administração da mesma ao utente, pelo que as condições durante todo o processo devem ser mantidas (3).

### 1.2 Vacinação

Segundo a United Nations Children's Fund (UNICEF) mais de 100 milhões de crianças são imunizadas anualmente resultando num total de 2 a 3 milhões de vidas salvas por ano. Estima-se que desde o ano de 2000 cerca de 15,5 milhões de mortes foram evitadas devido à imunização contra a varíola. Desde 1999, o tétano materno e neonatal foi eliminado em 35 dos 59 países de alto risco através da vacinação. A prevalência de poliomielite decresceu significativamente desde 1988 mantendo-se endémica em apenas três países (4).

Devido ao reconhecimento sobre a importância da vacinação na saúde das populações tem havido um esforço para garantir a disponibilidade de vacinas para as crianças de todo o mundo (5).

Segundo a DGS, "uma vacina é uma substância que possui a propriedade de imunizar o organismo contra uma doença infecciosa". As vacinas podem ser preparadas através de microrganismos inativados (mortos), vivos atenuados, toxoides ou subunidades moleculares purificadas que ao serem reconhecidas pelo sistema imunitário do indivíduo vacinado

provocam uma resposta que o protege contra as doenças associadas a esse agente tal como se tivesse sido exposto ao mesmo (6).

A vacinação é considerada como um método eficaz no combate a doenças infectocontagiosas de forma direta, por prevenir a infeção no indivíduo vacinado, e de forma indireta por reduzir a disseminação do agente infeccioso (7).

Os programas de vacinação contribuíram para a diminuição do número de casos de doenças evitáveis pela vacinação em todo o mundo. Através da vacinação foi possível erradicar a varíola em 1980 e num futuro próximo poderá ser erradicada a poliomielite e o sarampo. Em 1974 é criado o Expanded Programme on Immunisation pela OMS quando os programas de imunização apenas existiam nos países industrializados ainda que com cobertura vacinal insuficiente. O sucesso da iniciativa levou a que em 1991 a OMS considerasse alargar a cobertura vacinal a outras doenças. Ainda que os programas de vacinação sejam uma potente arma contra as doenças infectocontagiosas com cobertura vacinal disponível, existem grupos populacionais que por variadas razões (sobretudo culturais e religiosas) não aceitam vacinar-se criando zonas de indivíduos suscetíveis ou parcialmente suscetíveis com surtos de doenças potencialmente evitáveis pela vacinação (7).

A vacinação em Portugal remonta a 1793 onde existem referências sobre a imunização contra a varíola ainda que a administração universal de vacinas apenas tenha acontecido a partir de 1965 com o PNV (7).

A OMS considera que existem sete razões para que a vacinação seja uma das prioridades na área da saúde, sendo elas (8):

1. A vacinação salva vidas. Segundo uma estimativa da OMS em 2009, a vacinação salva mais de 3 milhões de vidas a nível mundial e outros tantos milhões de sofrerem de doenças e de eventuais incapacidades permanentes. Antes de vacinação ser uma prática de rotina, as doenças infectocontagiosas eram a primeira causa de morte na infância. Dados de 2005 da OMS referem que 13,2% das mortes mundiais em crianças menores de cinco anos são causadas por doenças evitáveis pela vacinação, entre elas infeções por *Haemophilus influenzae* do Tipo B, tosse convulsa e tétano.
2. A vacinação é um direito básico e um ponto estratégico dos programas de redução da pobreza. O acesso a cuidados de saúde primários deve ser uniforme para toda a população e deve ser uma prioridade nas políticas de saúde. Uma boa cobertura vacinal

da população reduz a mortalidade e a incapacidade permanente, pelo que a vacinação deve ser proporcionada e incentivada em toda a população.

3. Doenças evitáveis pela vacinação constituem ainda um risco para a saúde pública. Em países desenvolvidos, a cobertura vacinal conferiu uma menor visibilidade de algumas doenças infectocontagiosas induzindo na população a sensação de que essas doenças já não constituem uma ameaça. Em certos países, a população abandonou os planos de vacinação devido a este fator, acrescido pela convicção de que a vacinação é perigosa, o que levou à diminuição da cobertura vacinal e ao conseqüente ressurgimento de doenças infectocontagiosas como a infeção por *Haemophilus influenzae* tipo b, tosse convulsa, difteria e rubéola.
4. As doenças podem ser controladas e eliminadas. Uma cobertura vacinal eficaz pode diminuir significativamente a incidência das doenças evitáveis por vacinação. Um dos exemplos de sucesso na eliminação de agentes infecciosos, foi a erradicação do agente causador da varíola em 1978. Outro exemplo recai sobre a eliminação do agente da poliomielite na região europeia em 2002, que se manteve até 2009, quebrada pela entrada do vírus no espaço europeu aliada a falhas na cobertura vacinal.
5. A vacinação é financeiramente mais efetiva. A vacinação previne mortes e incapacidades permanentes a um baixo custo comparativamente com o tratamento de indivíduos, bem como garante a produtividade laboral e contributo social do indivíduo e conseqüente desenvolvimento económico.
6. As crianças dependem dos serviços de saúde do seu país para terem acesso a uma vacinação segura, efetiva e gratuita. O sistema de saúde deve garantir um programa de vacinação eficiente e sustentável para garantir que todas as crianças têm acesso à vacinação na altura certa.
7. Todas as crianças devem ser vacinadas. Acredita-se que apenas se atinge uma imunidade de grupo se 95% da população estiver vacinada, pelo que cada pessoa não vacinada aumenta a probabilidade de contrair a infeção bem como a restante comunidade. Além disso, existem casos como tétano, que por ser uma doença não-contagiosa, depende apenas se o indivíduo está vacinado.

Ainda que haja implementação de um programa de vacinação, um dos aspetos mais importantes para que esse plano cumpra os objetivos pretendidos é assegurar a estabilidade e poder imunológico das vacinas administradas, pelo que a manutenção de um eficaz sistema

de cadeia de frio é fundamental. As vacinas são medicamentos termolábeis e, por isso, são sensíveis a temperatura fora do intervalo ao qual os seus componentes se mantêm intactos. A degradação dos componentes da vacina inativa-os comprometendo a sua eficácia.

## 2. TRANSPORTE DE VACINAS

### 2.1 Legislação, Normas Nacionais e Internacionais

A 5 de Novembro de 2013, o Official Journal of European Union criou Guidelines relativas às Boas Práticas de Distribuição de Produtos Medicinais para Uso Humano. O Capítulo 9 refere-se ao Transporte de Produtos Medicinais para Uso Humano dedicando um subcapítulo aos Produtos com Requisitos Especiais de Transporte onde se incluem os psicotrópicos, estupefacientes, compostos radioativos e produtos que requerem refrigeração (9).

De uma forma geral e para qualquer tipo de produto medicinal para uso humano, estas guidelines referem que é da responsabilidade do distribuidor a proteção dos produtos no que se refere aos danos, adulteração ou roubo e assegurar que são mantidas as condições de temperatura nos limites aceitáveis durante o transporte (e que são definidos pelo fabricante ou mencionados no acondicionamento) e que é possível demonstrar que os mesmos não foram expostos a condições que possam comprometer a sua qualidade e integridade. Caso hajam desvios às condições de transporte ou danos no produto durante o transporte, estes devem ser comunicados ao distribuidor e ao destinatário dos produtos afetados. Devem haver procedimentos escritos no local de distribuição sobre o funcionamento e manutenção dos veículos e equipamentos envolvidos no processo incluindo precauções de limpeza e de segurança. Os equipamentos de monitorização de temperatura utilizados dentro dos veículos e/ou caixas de transporte devem ser verificados e calibrados em intervalos regulares de pelo menos um ano. Os veículos e equipamentos utilizados devem ser dedicados exclusivamente ao processo de distribuição de produtos medicinais e, caso isso não seja possível, deve ser assegurado que a qualidade dos produtos medicinais não é afetada. Quando o transporte é subcontratado, o prestador do serviço deve ser avisado pelo fabricante das condições de transporte necessárias do produto medicinal a transportar. As caixas de transporte de produtos medicinais devem garantir a qualidade dos produtos medicinais transportados e assegurar a proteção dos mesmos contra influências externas incluindo a contaminação. A sua seleção deve ter em conta os requisitos associados ao produto a transportar, a quantidade de produto e as temperaturas externas extremas previstas e o tempo estimado de transporte. As caixas devem ser rotuladas de forma a fornecer informação sobre o armazenamento,

manuseamento e precauções associadas ao produto, identificação do conteúdo e a sua fonte (9).

Quanto ao transporte de produtos com requisitos especiais, as Guidelines relativas às Boas Práticas de Distribuição de Produtos Medicinais para Uso Humano elaboradas pelo Official Journal of European Union referem a necessidade de utilizar equipamento qualificado, em que se incluem o acondicionamento térmico e equipamento/veículo de transporte com temperatura controlada, por forma a garantir as condições corretas de transporte entre o fabricante, o distribuidor e o consumidor. Se forem utilizados veículos de transporte com temperatura controlada, os equipamentos utilizados na monitorização de temperatura devem ser verificados e calibrados em intervalos regulares. O registo de temperaturas deve ser mantido nas condições representativas e deve ter em conta as variações sazonais. No caso de serem utilizados termoacumuladores nas caixas de transporte, estes devem ser distribuídos por forma a garantir que não há contacto dos mesmos com o produto a ser transportado. Os meios humanos envolvidos devem ter formação quanto aos procedimentos de acondicionamento nas caixas de transporte e na utilização dos termoacumuladores. É referido ainda a importância na implementação de um sistema de controlo na reutilização de termoacumuladores que assegure que termoacumuladores já utilizados não são novamente reencaminhados para transporte, pelo que é sugerida a segregação entre termoacumuladores congelados e termoacumuladores descongelados. Estas guidelines referem que deve ser entregue aos clientes uma prova que demonstre que os produtos foram transportados nas temperaturas de acondicionamento adequadas e que deve existir um procedimento escrito de distribuição de produtos termolábeis e de controlo das variações sazonais de temperatura (9).

Ainda que as guidelines do Official Journal of European Union determinem as normas para as Boas Práticas de Distribuição de Produtos Medicinais para Uso Humano, estas apenas referem as condições gerais de distribuição pelo que é necessário estabelecer procedimentos que garantam que são cumpridas as condições estabelecidas nessas guidelines.

O Manual da Rede de Frio elaborado pelos SF da ARSLVT estabelece as normas relacionadas com a manutenção da cadeia de frio adotadas nesta unidade cujos pontos essenciais são referidos de seguida. O processo deve ser efetuado rapidamente para que as vacinas sejam expostas à temperatura ambiente o menor tempo possível. As caixas de esferovite ou malas térmicas devem ser previamente arrefecidas. Os termoacumuladores

devem ser congelados pelo menos durante 24 horas antes da utilização e cobrir todas as faces da caixa/mala. Retirar do frigorífico primeiro as embalagens que já estiveram fora do frigorífico seguidas das embalagens com prazo de validade mais curto ou armazenadas há mais tempo. A arrumação das vacinas nas caixas/malas deve garantir que:

- A vacina contra a tuberculose (BCG) e a vacina trivalente contra o sarampo, parotidite e rubéola (VASPR) estejam na zona mais fria (junto aos termoacumuladores);
- A vacina trivalente contra a difteria, tétano e tosse convulsa (DTPa) e restantes combinações com componentes contra *Haemophilus influenzae* do tipo b (DTPa – Hib), contra *Haemophilus influenzae* do tipo b e poliomielite (DTPa-Hib-VIP) e contra a poliomielite (DTPa-VIP); vacina contra o *Haemophilus influenzae* do tipo b (Hib); vacina contra o meningococo do grupo C (MenC); vacina contra a difteria e tétano (Td); vacina contra a hepatite B (VHB) e a vacina inativada contra a poliomielite (VIP) na zona central garantindo que estas não contactam diretamente com os termoacumuladores.

Todas as caixas devem ter monitorização da temperatura. As viaturas de transporte devem seguir o trajeto com a mais curta duração possível e evitar estacionamentos expostos ao sol. Após a chegada ao destino, devem ser imediatamente armazenadas no frigorífico e registadas a hora de saída, hora de chegada e respetivas temperaturas (1).

Por outro lado, existem vários outros manuais elaborados pelas entidades nacionais responsáveis pelo armazenamento e distribuição de vacinas noutros países em todo o mundo. Entre eles encontram-se o Strive for 5, as guidelines nacionais de armazenamento de vacinas elaborado pelo Governo Australiano. Estas guidelines estão na sua segunda edição e foram publicadas no ano de 2013. Neste manual é apresentada uma descrição detalhada sobre o transporte e armazenamento de vacinas, bem como sobre os equipamentos envolvidos em todo o processo adaptados aos serviços de saúde nacionais. Segundo este manual os termoacumuladores utilizados são um dos pontos essenciais no transporte de vacinas estabelecendo diferenças nos tipos de termoacumuladores e as suas especificações de desempenho dadas pelo fabricante, bem como o equipamento utilizado para o seu acondicionamento. Segundo estas guidelines, a escolha dos termoacumuladores e o equipamento de transporte devem ajustar-se às necessidades do serviço, pelo que podem ser escolhidos equipamentos de transporte cuja constituição das paredes seja à base de polistireno (esferovite), com menor tempo de manutenção da refrigeração (cerca de 4 horas), ou que seja à base de plástico, com maior tempo de manutenção da refrigeração. Podem

ainda ser utilizadas malas térmicas específicas quando nenhuma das alternativas anteriores permitiu a manutenção da temperatura de refrigeração adequada. Quanto ao tipo de termoacumuladores, poderão ser com preenchimento de água ou de gel obtendo-se desempenhos diferentes conforme o preenchimento do termoacumulador escolhido. A acompanhar o termoacumulador estão as especificações do fabricante quanto ao desempenho do mesmo (1).

De uma forma geral, as vacinas vivas atenuadas são mais sensíveis ao aquecimento enquanto as vacinas mortas são mais sensíveis ao congelamento (10).

O Strive for 5 afirma que os termoacumuladores de gelo (preenchidos com água) podem sair do frigorífico até aos  $-18^{\circ}\text{C}$ , uma temperatura muito inferior à sua temperatura de congelação e, por isso, se esta temperatura for atingida proporciona-se um maior tempo de manutenção da refrigeração. Por outro lado, os termoacumuladores de gel são constituídos por produtos químicos que diminuem a temperatura de congelamento do equipamento e permitem que este se mantenha abaixo dos  $0^{\circ}\text{C}$  mais tempo do que aquele conseguido com termoacumuladores de gelo (2).

A preparação dos termoacumuladores para acondicionamento das vacinas sugerido pelo Strive for 5 depende do tipo de termoacumulador utilizado. Neste sentido, para a preparação dos termoacumuladores de gelo, deve-se seguir o seguinte procedimento (2):

- Retirar os termoacumuladores de gelo do frigorífico;
- Dispor os termoacumuladores numa fila, lado a lado e conservando um espaço de 5 cm à volta de cada termoacumulador para permitir uma máxima exposição ao ar o reduzindo-se o período de preparação;
- Esperar até que os termoacumuladores “comecem a suar” (aproximadamente uma hora a  $20^{\circ}\text{C}$ );
- Os termoacumuladores estão prontos quando a água conseguir movimentar-se ligeiramente no seu interior.

A preparação dos termoacumuladores de gel demora mais tempo. Nestes casos, devem ser seguidas as instruções de preparação fornecidas pelo fabricante. Apesar de não existirem procedimentos padronizados para este tipo de termoacumuladores, existem padrões industriais que podem ser usados como guia caso tenham sido acondicionados num frigorífico a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante um período de tempo mínimo de 36 horas. Os tempos de

preparação em função do peso e temperatura ambiente, nas condições referidas acima, encontram-se no Quadro 2.1 (2).

Quadro 2.1 Tempos de preparação dos termoacumuladores de gel para condicionamento consoante o seu peso e a temperatura ambiente (adaptado de Australia Government, 2013 (2)).

		Peso	
		> 750g	< 750g
Temperatura Ambiente	> 15°C	60 min	45 min
	< 15°C	90 min	60 min

As guidelines australianas reforçam muitos procedimentos referidos nas normas presentes no Manual de Rede de frio da ARSLVT referindo as normas de preparação dos termoacumuladores antes do seu uso nos equipamentos de transporte; a monitorização da temperatura de hora em hora e a utilização de plástico-bolha ou, preferencialmente, partículas de polistireno (por permitirem a circulação de ar) para evitar o contacto direto das vacinas com os termoacumuladores (2).

Outras guidelines menos exaustivas estão disponíveis referindo os pontos essenciais já descritos nas guidelines supracitadas. O Quadro 2.2 compila as guidelines referentes à manutenção da cadeia de frio no transporte de vacinas encontradas durante a pesquisa.

Quadro 2.2 Guidelines sobre a Manutenção da Cadeia de Frio

<b>País/Instituição</b>	<b>Ano de Publicação</b>	<b>Título</b>	<b>Referência</b>
<b>Africa do Sul/Western Cape Government</b>	2003	Minimum Standards: Cold Chain Managements	(11)
<b>Austrália/Australian Government</b>	2013	National Vaccine Storage Guidelines – Strive for 5	(2)
<b>Brasil/Ministério de Saúde do Brasil</b>	2013	Manual de Rede de Frio do Programa Nacional de Imunizações	(12)
<b>Canadá/ Ministry of Health and Long-term Care of Canada</b>	2013	Vaccine Storage and Handling Guidelines	(13)
<b>Canadá/Centre for Disease Control</b>	2015	Vaccine Storage and Handling	(14)
<b>Canadá/Communicable Disease Control</b>	2013	Cold Chain Protocol	(15)
<b>Espanha/Dirección General de Salud Pública</b>	2013	Logística Vacunal – Cadena de Frio	(16)
<b>Estados Unidos da América/U.S. Department of Health and Human Services</b>	2014	Vaccine Storage & Handling Toolkit	(3)
<b>Inglaterra/National Health Service of England</b>	2015	Policy and Procedure for Maintaining the Vaccine Cold Chain	(17)
<b>Irlanda/Health Service Executive</b>	2014	HSE Guidelines for maintaining the vaccine cold-chain including maintenance of vaccine fridges and management of vaccines	(18)
<b>Nova Zelândia/Ministry of Health</b>	2014	Immunization Handbook	(19)
<b>União Europeia/Comissão Europeia</b>	2013	Guidelines of 5 November 2013 on Good Distribution Practice of Medicinal Products for Human Use	(9)

Atualmente, o acondicionamento das vacinas depende de vários fatores, tais como: o tamanho do acondicionamento primário e secundário da vacina e as dimensões das caixas utilizadas para agrupar um conjunto de vacinas iguais, cuja dimensão varia conforme as especificações de acondicionamento do fabricante. Esta variação no acondicionamento das vacinas pode dificultar a sua distribuição dentro das caixas de transporte, pelo que é

necessário adequar a largura, o comprimento e a altura das caixas por forma a garantir o espaço necessário para o volume de vacinas a transportar. Um acondicionamento ineficiente das caixas de transporte pode condicionar o transporte das vacinas necessárias para os serviços a que se destinam. A estimativa sobre o espaço necessário no transporte de vacinas torna-se mais difícil com tamanhos não estandardizados e pode mesmo inviabilizar o transporte caso hajam limitações nos recursos disponíveis. Por outro lado, a estandardização no acondicionamento também torna o procedimento mais simples para os profissionais devido à maior facilidade no acondicionamento e estimativa do espaço necessário. O chamado acondicionamento modular é uma forma de otimizar este processo aumentando a sua eficiência devido à redução de espaço necessário e ao número de transportes para reposição. Um estudo de 2015 realizado nos Estados Unidos da América, criou um sistema de acondicionamento modular, tendo em conta o programa de vacinação aplicado na República do Benin em África, que permite um acondicionamento mais eficiente. Neste estudo é criada uma folha de Excel que avalia o impacto de diferentes esquemas de acondicionamento. As vacinas utilizadas no estudo foram a BCG, tétano, poliomielite, sarampo, febre amarela, a DTPa, Hib, pneumocócica conjugada e contra rotavírus. Após conhecidas as dimensões dos acondicionamentos e das caixas de transporte é possível determinar a melhor forma de organizar a caixa otimizando o espaço disponível. Neste estudo, o acondicionamento modular proporcionou uma eficiência de 94,1% na ocupação do espaço disponível em comparação com uma eficiência de 81.93% do acondicionamento tradicional (20).

## 2.2 Quebras na rede de frio e possíveis soluções

O compromisso de garantir o acesso à vacinação pelas populações conduziu a uma sobrecarga na já insuficiente cadeia de frio e de todos os equipamentos e procedimentos necessários para a manutenção da qualidade das vacinas desde o fabricante até ao consumidor (5). Neste sentido estão publicados muitos estudos relacionados com as quebras na cadeia de frio e a consequente diminuição da eficácia das vacinas.

A quebra da rede de frio no transporte e armazenamento de vacinas consiste na exposição das mesmas a temperaturas fora do intervalo de temperaturas entre os 2°C e os 8°C.

Durante muito tempo, a preocupação no que se refere à conservação das vacinas incidiu exclusivamente na prevenção do seu aquecimento em detrimento do seu congelamento. Os estudos recentes e a experiência de campo têm demonstrado que o congelamento das vacinas é um problema comum durante o transporte e armazenamento de vacinas e conseqüentemente a potencial distribuição de vacinas cuja potência poderá estar comprometida, quando o adjuvante é o alumínio, devido à dissociação entre o antigénio e este metal (21,22).

O congelamento não afeta parâmetros como o pH, a capacidade de floculação, o rácio entre alumínio e fosfato de alumínio ou formaldeído livre) no entanto afeta a imunogenicidade e a textura. O congelamento conduz à alteração da estrutura e morfologia de vacinas adsorvidas com alumínio. O mecanismo envolvido parece estar relacionado com os cristais de gelo formados no processo de congelamento que forçam as moléculas de alumínio a sobrepor-se à natural repulsão intermolecular originando partículas de alumínio que sedimentam. A perda de textura e homogeneidade da vacina compromete de forma decisiva a potência da vacina. O tamanho das partículas de alumínio aumentam em função do número de ciclos de congelamento e descongelamento (22).

A importância na manutenção da cadeia de frio tem sido pouco considerada nos países com temperaturas amenas. Apesar de ser dada como garantida a adequada refrigeração das vacinas, os erros relacionados com o manuseamento de vacinas ocorrem com maior frequência do que se presume. Existem estudos que referem quebras acentuadas na potência de vacinas devido a condições de distribuição e armazenamento pouco satisfatórias. As falhas mais frequentes relatadas nos países desenvolvidos relacionam-se com as altas temperaturas durante o transporte e armazenamento, exposição das vacinas a temperaturas de congelamento, frigoríficos sem termómetros, falha nas leituras e registos periódicos das temperaturas, armazenamento de fármacos, bebidas, comidas e amostras biológicas junto com as vacinas e falha na rejeição de vacinas não usadas nas sessões de vacinação já expostas à temperatura ambiente (23).

Um estudo de 1992 realizado em cinquenta consultórios de pediatria na área metropolitana de Los Angeles relatou que apenas 16% dos responsáveis pelo armazenamento de vacinas conseguiam referir a temperatura apropriada de armazenamento de vacinas e que 18% desconheciam que o calor poderia degradar algumas vacinas. O mesmo estudo refere que a temperatura era verificada pelo menos uma vez por semana em apenas 20% dos

consultórios, 22% dos frigoríficos apresentavam temperaturas demasiado elevadas e que as vacinas eram rotineiramente armazenadas fora do frigorífico sem refrigeração durante as consultas em 16% dos consultórios (24).

Em 1993, um estudo escocês analisou a temperatura durante o transporte de vacinas entre uma farmácia local para os frigoríficos de armazenamento local e posteriormente para as clínicas onde decorre a imunização. Neste estudo foi pedido ao pessoal encarregue do transporte das vacinas para registar os tempos de transporte das vacinas e o tipo de contentor utilizado. Depois do trajeto, os data loggers que acompanharam as vacinas foram descarregados por forma a obter os gráficos e tabelas de registo de temperaturas. Verificou-se que nos transportes da farmácia para os frigoríficos locais com tempo de duração superior a 35 minutos, registaram-se valores de temperatura superiores ao intervalo de temperatura adequado e que nos transportes entre os frigoríficos locais e as clínicas, haviam frigoríficos que registavam temperaturas acima e abaixo do intervalo adequado e que independentemente do tempo de transporte e tipo de contentor quase todos estavam fora do intervalo de temperatura (25).

Num estudo realizado no norte da Austrália em que foram analisadas as temperaturas a que foram sujeitas vacinas orais contra a poliomielite e VHB durante o transporte e armazenamento, registou-se que 23% das vacinas orais contra a poliomielite foram expostas durante 48 horas a temperaturas superiores a 10°C e que 47,5% das vacinas contra a hepatite B foram expostas a 3°C negativos ou menos a maioria durante o armazenamento nas unidades de saúde ou nas clínicas. O estudo revela que as vacinas foram frequentemente expostas a temperaturas fora do intervalo de temperatura adequado e que vacinas sensíveis ao congelamento foram expostas a temperaturas abaixo de 0°C (26).

Outro estudo realizado em 1996 no Oeste Australiano monitorizou a temperatura nos frigoríficos de armazenamento de vacinas demonstrando que 36% destes tinham valores de temperatura fora do intervalo desejado que poderiam conduzir ao congelamento das vacinas (27).

Em 1993, foi realizado o primeiro estudo europeu sobre a monitorização da cadeia de frio e decorreu na Hungria. Neste estudo foi analisado o transporte e armazenamento de vacinas no país. As principais conclusões resultantes do estudo referem que pelo menos 6% da vacina trivalente contra a difteria, tétano e tosse convulsa e 30% da BCG foram expostas a

calor excessivo durante o transporte no Verão e que 38% da vacina trivalente contra a difteria, tétano e tosse convulsa foi exposta a temperaturas de congelamento durante o Inverno (28).

Estudos mais recentes têm demonstrado que os dados provenientes dos estudos supracitados ainda constituem um problema atual verificando-se que o congelamento de vacinas ainda é um acontecimento frequente quer em países em vias desenvolvidos quer em países desenvolvidos. O Quadro 2.3 resume os artigos encontrados com data de publicação igual ou superior a 2000 e as principais conclusões obtidas.

Quadro 2.3 - Estudos sobre a manutenção das condições de cadeia de frio durante o transporte e armazenamento de vacinas.

Ano	Local	Objetivo	Conclusões	Referência
2000	<b>Etiópia</b>	Análise da cadeia de frio na armazenagem periférica de vacinas	57,8% dos centros de armazenagem visitados com registo de temperatura, 6,3% sem termómetro disponível, 10,9% com temperaturas fora dos intervalos pretendidos.	(29)
2001	<b>Nova Zelândia</b>	Avaliação do cumprimento das guidelines sobre armazenagem de vacinas	Entre 25% e 36% dos centros de armazenagem, observaram-se temperaturas abaixo dos 0°C.	(30)
2002	<b>Espanha</b>	Monitorizar a cadeia de frio e o conhecimento dos profissionais de saúde	Em 43 dos pontos de vacinação analisados, 3 apresentavam temperaturas fora do intervalo pretendido (6,97%)	(31)
2002	<b>Estados Unidos da América</b>	Determinação da qualidade de armazenagem em consultórios médicos.	88,9% têm termómetro no frigorífico de armazenagem. 83,3% com temperaturas no intervalo apropriado.	(32)
2004	<b>Indonésia</b>	Monitorização do Transporte de Vacinas	Analisados 193 transportes. 75% dos transportes com temperaturas de congelamento.	(33)
2007	<b>Bolívia</b>	Monitorizar as temperaturas da cadeia de frio durante o transporte	Nos 11 transportes monitorizados em todos houve exposição a temperaturas de congelamento em um ou mais momentos	(21)
2007	<b>Índia</b>	Avaliação da cadeia de frio em zona rural	<i>Apenas 58% dos transportadores de vacinas mantiveram a temperatura adequada ao nível dos serviços periféricos. Quanto mais longe do ponto de vista organizacional está a instituição dos serviços centrais menor o cumprimento das condições da cadeia de frio. O cumprimento é de 100% nos serviços centrais e de 48% nos serviços mais periféricos</i>	(34)

Quadro 2.3 Estudos sobre a manutenção das condições de cadeia de frio durante o transporte e armazenamento de vacinas (continuação).

Ano	Local	Objetivo	Conclusões	Referência
2007	<b>Tailândia</b>	Avaliação da exposição de vacinas a temperaturas inapropriadas na cadeia de frio	Tempo mínimo de uma hora a mais de 8° com uma temperatura máxima de 22° num período máximo de 72 horas. A análise laboratorial revelou potência aceitável. Tempo mínimo de uma hora a menos de 2°C com uma temperatura mínima de -5° num período máximo de aproximadamente 10 dias. Maior exposição das vacinas a temperaturas de congelamento.	(35)
2008	<b>Camboja</b>	Avaliação da cadeia de frio no setor privado	31% dos transportes da vacina contra a hepatite B e 24% para a vacina contra o tétano, não são feitos em caixas apropriadas. 90% das instituições usam frigoríficos elétricos para o armazenamento das vacinas mas apenas 1/3 monitoriza a temperatura.	(36)
2013	<b>Africa (Gana, Quênia e Uganda)</b>	Análise da qualidade do armazenamento de vacinas na cadeia de frio	16,6% das instituições com temperaturas de armazenamento fora do intervalo pretendido.	(37)
2013	<b>Etiópia</b>	Análise da cadeia de frio nas instituições de saúde	Visitadas 116 instituições. Em 27,3% os frigoríficos apresentavam temperaturas fora do intervalo desejado.	(38)
2013	<b>Índia</b>	Monitorização da temperatura das vacinas durante o armazenamento e transporte em 10 estados.	Entre 11% a 63% das caixas de transporte de vacinas foram expostas a temperaturas inferiores a 0°C e entre 42% a 89% foram expostas a temperaturas superiores a 8°C durante o armazenamento. Entre 18% e 39% das caixas de transporte de vacinas foram expostas a temperaturas inferiores a 0°C e entre 0% a 67% foram expostas a temperaturas superiores a 8°C durante o transporte.	(39)
2013	<b>República dos Camarões</b>	Monitorizar a qualidade da cadeia de frio	25,9% dos frigoríficos apresentava temperaturas fora do intervalo pretendido	(40)
2015	<b>República dos Camarões</b>	Identificar os fatores associados a temperaturas fora dos limites desejados	Em 20% das instituições que possuem termómetros, registaram-se temperaturas fora dos limites desejados. Em 12% dos casos registaram-se temperaturas foram superiores a 8°C enquanto 8% foram a temperaturas inferiores a 2°C.	(41)

Uma revisão sistemática da literatura efetuada em 2007 teve como objetivo a revisão e análise dos dados mundiais sobre as temperaturas de congelamento de vacinas na cadeia de frio, bem como identificar as situações em que o congelamento ocorre e explorar as fatores

associados ao congelamento entre os vários estudos. Os resultados demonstraram que durante o transporte a ocorrência de temperaturas de congelamento foi de 16,7% nos países desenvolvidos e de 35,3% nos países em desenvolvimento. O estudo atribui como causa na ocorrência de temperaturas de congelamento a inexistência de preparação dos termoacumuladores para utilização nos equipamentos de transporte (5).

Um estudo publicado em 2016 revela que 48% dos profissionais envolvidos nos vários procedimentos de armazenamento, transporte e manipulação de vacinas consideram mais preocupante a exposição das vacinas ao calor, 32% consideram que a exposição ao aquecimento ou congelamento são igualmente importantes, enquanto 3% afirmam não saber e 4% não respondem. Quando perguntado se o congelamento era um problema no programa de vacinação, 35% responderam afirmativamente. 64% dos participantes afirmaram que os termoacumuladores não sofriam preparação antes de colocados em contacto com as vacinas e/ou afirmaram que havia formação de gelo dentro do frigorífico ou temperaturas abaixo de 0°C no seu interior. 35% dos participantes relataram um ou mais episódios nos últimos anos que resultaram em desperdício de vacinas estando como segunda causa a exposição ao calor (seguida da exposição ao congelamento) por falhas energéticas, falhas no equipamento, atrasos no transporte e chegada da mercadoria em períodos de férias ou fora do expediente (42). Outro estudo realizado nos Estados Unidos da América e publicado em 2002, revelou que a principal razão para o desperdício de vacinas está relacionado com o prazo de validade da vacina sendo a segunda razão as quebras na cadeia de frio (43).

Ainda que seja previsto que o intervalo de temperaturas a que são expostas as vacinas seja entre os 2°C e os 8°C, existem estudos que garantem que algumas vacinas podem manter a sua potência mesmo quando expostas a temperaturas fora deste intervalo de temperaturas. Um desses exemplos é um estudo realizado em Chad no continente africano com vacinas contra a poliomielite. Neste estudo as vacinas da poliomielite foram expostas a 1 ou 2 dias fora das condições de temperaturas adequadas atingindo até aos 47,1°C num período até às 86,9 horas sendo posteriormente avaliada a sua potência recorrendo a ensaios laboratoriais. Os ensaios efetuados demonstraram que a potência da vacina se mantinha mesmo naquelas cujo tempo de exposição foi maior (44).

A OMS efetuou testes laboratoriais em ambiente controlado e estudos em condições reais no sentido de perceber se a utilização de termoacumuladores à base de água entre os 2°C e os 8°C poderiam ser uma alternativa aos termoacumuladores sujeitos a congelação para

utilização no transporte de vacinas (22). Os resultados mostraram que a temperaturas ambientais extremas de 43°C o uso de termoacumuladores à base de água entre os 2°C e os 8°C atingiam por volta dos 20°C em 48 horas dentro das caixas de transporte de vacinas. Se esta exposição fosse repetida quatro vezes, o impacto do histórico de temperaturas na diminuição da validade das diferentes vacinas variou entre 2,4% e os 36% com maior impacto na vacina oral contra a poliomielite. Considerando as condições reais, a redução do prazo de validade foi entre os 0,4% e os 4,6% para caixas de transporte sujeitas a temperaturas entre os 11,7°C e os 39,8°C ao longo de 98 horas (45).

Neste sentido, os dados sugerem que a exposição das vacinas a temperaturas de congelamento parece produzir mais danos nas vacinas que a exposição das vacinas a aquecimento moderado (22).

Por outro lado, desde 1996 que foi introduzido a utilização de Vaccine Vial Monitors (VVM) para a vacina oral da poliomielite que permite controlar se as vacinas foram expostas a uma combinação de temperaturas de aquecimento cumulativas ao longo do tempo e que possam ter causado a sua degradação. Estes dispositivos são concebidos de forma a identificar a curva de estabilidade da vacina pelo aquecimento e indica aos profissionais de saúde se a vacina pode ou não ser utilizada. Desde 1999 que o mesmo sistema está disponível para as restantes vacinas e é extensamente utilizada pelos fabricantes na monitorização das temperaturas a que são expostas as vacinas (22). A Figura 2.1 representa um esquema de interpretação do VVM.

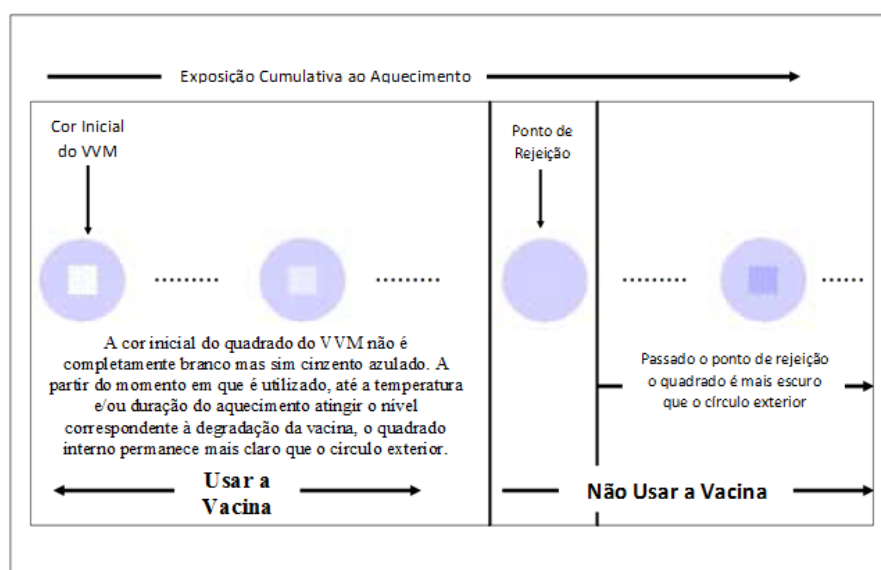


Figura 2.1 Esquema representativo do funcionamento de um VVM e forma de interpretação (adaptado de Milstien, 2006 (22))

### 2.3 O Futuro da Cadeia de Frio

Segundo a OMS, nos últimos anos os sistemas de cadeia de frio foram construídos e mantidos baseados num conjunto de regras de transporte e armazenamento de vacinas sem considerar as condições ambientais e o tipo de vacinas envolvidas. Apesar da simplicidade da metodologia adotada ter tornado a cadeia de frio fácil de entender, implementar e gerir e estar associada à necessidade de garantir a potência das vacinas, esta abordagem dogmática da cadeia de frio levou a que os profissionais de saúde não pudessem tirar partido da estabilidade das vacinas ao aquecimento, resultando na manutenção de uma cadeia de frio mais fria do que o desejável (22,46).

Os regulamentos que estipulam o armazenamento e transporte refrigerado das vacinas não tem em conta que atualmente muitas vacinas e os seus constituintes já são bastante estáveis ao aquecimento. A manutenção destas guidelines obriga à manutenção rigorosa da cadeia de frio que encarece o processo de imunização em cerca de 14% (22,42,46).

Os atuais programas de imunização são mais evoluídos e diversificados e envolvem áreas de difícil acesso, campanhas de vacinação que abrangem grandes populações-alvo e o compromisso de atingir cada uma das crianças desprotegidas. Por outro lado, as vacinas tornaram-se mais estáveis existindo a evidência de uma estabilidade aumentada ou até absoluta ao aquecimento. Assim, a manutenção destes procedimentos na gestão e manutenção da cadeia de frio podem revelar-se um gasto excessivo e um fator restritivo nas operações de vacinação no terreno (22).

A utilização de VVM poderá funcionar como uma alternativa nas estratégias de distribuição de vacinas ajudando os programas de vacinação a explorar até ao limite a estabilidade das vacinas, minimizar os custos de distribuição e aumentar a flexibilidade no transporte de vacinas no terreno tornando os programas de imunização mais efetivos (22,46).

A OMS refere a utilização dos VVM numa nova abordagem denominada a cadeia a temperatura controlada (CTC). A CTC consiste em manter as vacinas a temperaturas fora do intervalo de temperaturas tradicional da cadeia de frio, por períodos de tempo limitados, sob condições controladas e monitorizadas e que garantam a estabilidade do antigénio da vacina. Este método geralmente envolve a exposição da vacina a temperaturas até aos 40°C durante um período específico de dias antes da administração. A OMS definiu os critérios para que a vacina seja elegível para o uso de CTC e que incluem: a vacina é para ser utilizada em

campanhas de vacinação, nunca para o transporte rotineiro; a vacina deve suportar temperaturas até aos 40°C por um período mínimo de 3 dias e deve ser acompanhada por um VVM e um indicador do limite de temperatura admissível e deve estar autorizada a sua utilização em CTC pelas autoridades reguladoras (47,48).

Um estudo de 2013 realizado na República de Benin, na África Ocidental, realizou uma campanha de vacinação com uma vacina contra a meningite A cujo nome comercial é MenAfriVac. Esta vacina é constituída por um polissacárido conjugado e utiliza como adjuvante o alumínio, pelo que é sensível ao congelamento. A vacina vem acompanhada de um VVM. As informações do fabricante informam que a vacina deve ser mantida sempre entre os 2° e os 8°C até à altura da administração. Em Outubro de 2012, as indicações sobre a conservação da vacina foram revistas numa decisão conjunta entre o fabricante e a OMS estabelecendo que a vacina poderia ser armazenada até aos 40°C durante 4 dias. Esta vacina tornou-se a primeira vacina pré-qualificada pela OMS com autorização para utilização num sistema de CTC (49–51). Tendo em conta esta nova atualização sobre as condições de conservação, numa campanha de vacinação foram utilizados VVM na monitorização de todas as caixas de transporte de vacinas para que fossem monitorizadas as condições de armazenamento das vacinas e eventualmente estas fossem descartadas quando se registassem temperaturas diferentes das especificadas pelo fabricante. No final da campanha de vacinação, foram utilizados 15.570 frascos da vacina em que apenas foram descartados nove frascos, devido ao limite dos 4 dias, sem que qualquer VVM tenha registado os limites de temperatura admitidos. O estudo demonstra que a exploração da estabilidade das vacinas à temperatura com um controlo da temperatura a que as mesmas foram expostas, poderá ser uma alternativa à manutenção das condições tradicionais da cadeia de frio sem comprometer a eficácia da imunização (50).

Um outro estudo publicado em 2014, analisou os custos associados à distribuição da mesma vacina (MenAfriVac) quando mantida nas condições habituais da cadeia de frio em comparação com os custos associados em CTC. Os resultados dos estudos referem que os custos associados decrescem cerca de 50% se a vacina for distribuída em CTC em vez de nas condições da cadeia de frio convencional (52).

Diversos estudos descrevem a utilização da CTC como uma alternativa às condições tradicionais da cadeia de frio. Um estudo de 2010 realizado no Mali, na África Ocidental, utilizou uma vacina oral contra a poliomielite que não foi mantida nas condições habituais da

cadeia de frio sendo apenas monitorizada com recurso a VVM (53). Neste estudo, as vacinas foram transportadas em caixas próprias para vacinas, no entanto, não foram utilizados termoacumuladores. O estudo relata que em nenhuma das caixas os VVM que as acompanharam atingiram o ponto de descarte. Outro estudo de 2007 realizado em zonas rurais na China refere a utilização de vacinas contra a hepatite B armazenadas fora das condições tradicionais da cadeia de frio cuja temperatura foi apenas controlada com recurso a VVM. Neste estudo, do total de 15 000 doses distribuídas da vacina apenas 50 (0.33%) foram rejeitadas devido à passagem do ponto de descarte assinalado pelo VVM (54).

A OMS considera que a CTC reduz: o espaço necessário na cadeia de frio, a necessidade de utilização de termoacumuladores, o desperdício devido a danos causados pela humidade e o tempo e fundos gastos pelos profissionais e instituições no transporte e acondicionamento das vacinas. No entanto, refere também que a CTC tem desvantagens, entre elas, por ser uma nova prática pode gerar confusão entre os profissionais de saúde sobretudo entre vacinas elegíveis para uso de CTC e aquelas que não o são e haver a probabilidade de níveis elevados de desperdício de vacinas devido a exposições a temperaturas superiores a 40°C (47).

Ainda que a CTC seja considerada uma boa alternativa à cadeia de frio convencional, a OMS refere a importância de distinguir as condições associadas à CTC em oposição às condições fora da cadeia de frio, dado que não são sobreponíveis. Neste sentido, enquanto as condições consideradas na CTC implicam limites de temperatura e de tempo de exposição das vacinas e a pré-qualificação pela OMS para a utilização de CTC na distribuição da vacina, no caso da referência à designação fora da cadeia de frio significa que as condições aplicadas não sofreram uma pré-qualificação da OMS para a vacina exposta (47). Um exemplo de um estudo com uma vacina sem a utilização de condições de conservação definidas no âmbito de uma CTC foi realizado na China em 2009 com uma vacina contra a hepatite B em que as temperaturas a que a vacina foi exposta oscilaram entre os -5,5°C e os 24,4°C. Neste estudo verificou-se uma diminuição da potência da vacina superior à permitida pela OMS, pelo que as condições a que foram sujeitas as vacinas não são compatíveis com a garantia da eficácia da mesma (55). Este estudo prova que não basta assumir que a maior estabilidade das vacinas atuais a temperaturas fora da cadeia de frio permite que a sua exposição a oscilações de temperatura não afete a potência da vacina. É necessário garantir condições específicas de temperatura e tempo de exposição da vacina a condições previamente estudadas que

garantam variações de potência sem significado, como é definido quando uma vacina é pré-qualificada para a utilização de CTC.

Por outro lado, a utilização de termoacumuladores constituídos por água refrigerada à temperatura entre os 2°C e os 8°C poderá vir a revolucionar as guidelines associadas à cadeia de frio. Muitos países já introduziram alterações tendo como base a evidência já apresentada por estes novos métodos (22).

A distribuição de vacinas sem uma cadeia de frio simplificaria o processo de transporte de vacinas e tornaria mais fácil a sua integração com a distribuição de medicamentos nos países desenvolvidos. Ainda que esta meta possa parecer aliciante, estas mudanças implicam que os profissionais de saúde responsáveis pelo armazenamento, distribuição e administração de vacinas tenha em conta que é necessário: conhecer as características das vacinas; melhorar as práticas de gestão das vacinas; ajustar a cadeia de frio às necessidades particulares do armazenamento e/ou transporte necessário; ter atenção ao frequente problema do congelamento acidental de vacinas e o impacto financeiro da sua perda relacionado com a exposição das mesmas a aquecimento ou arrefecimento excessivo (22).

### 3. A ESTABILIDADE DAS VACINAS

A OMS resumiu toda a informação relevante sobre a estabilidade de vacinas disponível até 2006 num documento que é uma referência neste âmbito. Estes dados ajudam a definir quais os limites de temperatura e tempo de exposição toleráveis para cada vacina para que, futuramente, sejam utilizados na elegibilidade de administração de vacinas expostas a temperaturas fora do intervalo previsto para a cadeia de frio ou até mesmo vir a prescindir da mesma em situações não justificáveis.

Segundo a OMS, as vacinas podem ser organizadas pela sua resistência ao aquecimento, em que as vacinas contra a difteria, tétano e hepatite B são as que têm maior estabilidade; a vacina do sarampo, febre amarela e BCG ocupando uma posição intermédia e a vacina oral contra a poliomielite a mais frágil (22).

No entanto, é importante salientar que ainda que hajam muitas vacinas resistentes às variações de temperaturas, existem outras mais sensíveis cuja exposição a variações de temperatura levam à degradação da vacina mesmo que possa não comprometer a potência mínima recomendada pela OMS. Neste sentido, é também necessário considerar que o impacto da exposição à temperatura fora do intervalo estabelecido tem um efeito cumulativo, pelo que, algumas vacinas podem já não suportar eventuais variações de temperatura se eventualmente já tiverem sido sujeitas a exposições anterior a temperaturas fora do intervalo requerido pela cadeia de frio (22).

Este capítulo tem como objetivo resumir os aspetos importantes sobre a estabilidade das vacinas constantes no PNV português e das vacinas administradas no contexto das consultas do viajante, constantes no documento da OMS, sempre que possível utilizando as referências originais citadas quando disponíveis para consulta.

#### 3.1 Toxoides da Difteria e Tétano (Td)

Os toxoides da difteria e tétano e as formas inativadas parcialmente purificadas das toxinas correspondentes têm estabilidade semelhante a um polipéptido simples, pelo que não são afetados até que seja atingida a temperatura em que há perda da estrutura secundária, geralmente acima dos 50°C. As vacinas constituídas por estes toxoides são apresentações monovalentes ou combinadas adsorvidas em adjuvantes de alumínio. Neste sentido, estes

toxoides são estáveis a temperaturas elevadas por longos períodos de tempo. No entanto, devido à sua composição em alumínio, a estrutura do gel adjuvante é destruído pelo congelamento.

Estudos revelam que os toxoides das vacinas contra a difteria, tétano e tosse convulsa demonstram uma diminuição insignificante da sua potência quando armazenados a 18°C durante um ano e meio, durante 2 a 6 meses a 37°C (22) e durante 6 a 12 meses a 24°C (56). Algumas vacinas DTP revelam alterações mais acentuadas de 0,5% e de 1% de perda de potência diária a 22°C e 35°C respectivamente segundo um estudo citado pela OMS (22).

Outro estudo publicado em 2014 revelou que a vacina contra o tétano constituída por toxoides tetânicos mantém a sua imunogenicidade e segurança quando exposta a temperaturas inferiores a 40° em períodos inferiores a 30 dias (57).

Segundo a mesma fonte da OMS, existem poucos dados disponíveis no que se refere à estabilidade das vacinas combinadas de toxoides e componentes contra a hepatite B e contra *Haemophilus influenzae* do tipo b (22).

### 3.2 Vacina contra a Hepatite B (VHB)

A vacina contra a hepatite B é constituída por um antigénio de superfície purificado do vírus da hepatite B (HBsAg) produzido por tecnologia de ADN recombinante e adsorvida em sais de alumínio.

A vacina tem uma estabilidade semelhante aos toxoides da difteria e tétano sendo também o seu maior problema o congelamento.

Um estudo demonstrou que o efeito do aquecimento na imunogenicidade da vacina após uma semana a 37°C não se alterou de forma significativa quando comparada com vacinas armazenadas a 4°C (58). Outro estudo semelhante mostrou que utilizar vacinas armazenadas a 4°C ou a 45°C durante um mês não influenciou a imunogenicidade da vacina (59).

Outro estudo citado pela OMS relata que analisadas várias vacinas de diferentes fabricantes não identificados, o tempo mínimo de estabilidade entre os 20°C e os 26°C para qualquer um dos fabricantes é de 30 dias (22).

Estudos citados pela OMS verificaram que indivíduos vacinados com a VHB exposta a congelamento não desenvolveram a seroconversão esperada para que seja garantida a

proteção conferida pela mesma, pelo que se reforça a premissa de que a vacina é sensível ao a temperaturas de congelamento (22,60).

### 3.3 Vacina contra a Tosse Convulsa e Vacina contra Difteria, Tétano e Tosse Convulsa (DTPa)

Os estudos de estabilidade para a vacina contra a tosse convulsa são difíceis devido à inexistência de um teste de análise da sua potência que seja simples, pouco dispendioso e reprodutível. O teste de análise da potência da vacina recomendado pela OMS é tecnicamente difícil, requer profissionais muito qualificados e um grande número de ratos específicos, os resultados sofrem uma grande variação interindividual e é difícil obter dados precisos de degradação da vacina a menos que esta demonstre alterações significativas (22).

Estudos citados pela OMS descrevem vários fatores que influenciam a potência da vacina para além da temperatura e que são: a forma da vacina (monovalente ou combinada), o método de inativação e a natureza do adjuvante ou conservante (22).

Um estudo realizado em 2001, testa a potência de vacinas contra a tosse convulsa expostas a temperaturas inferiores a 0°C durante 24 horas em comparação com vacinas corretamente armazenadas. Foram analisadas vacinas contra a tosse convulsa com composição acelular e outra que utiliza a célula inteira. Os ratos imunizados com as vacinas incorretamente armazenadas revelaram menor resposta do sistema imunitário em comparação com as vacinas corretamente armazenadas (61).

Na sua forma habitual de apresentação, a DTPa com tiomersal e alumínio como adjuvante é suscetível ao congelamento mas relativamente estável durante alguns meses entre os 22°C e os 25°C e durante algumas semanas a 37°C e menos de uma semana a 45°C. Tal como maior parte das vacinas com constituição proteica, a vacina é inativada a temperaturas superiores a 56°C.

### 3.4 Vacina Meningocócica (MenC)

As vacinas meningocócicas são constituídas por polissacáridos meningocócicos. Estes polímeros são instáveis à temperatura ambiente despolimerizando-se (22).

As vacinas liofilizadas meningocócicas contra meningococos do grupo A e do grupo C demonstraram baixo grau de despolimerização quando armazenadas a 22°C durante 18 meses

enquanto que uma vacina meningocócica contra meningococo do grupo C manteve-se estável durante 8 a 10 semanas a 45°C (22).

Um estudo de 2007 analisou a potência de uma vacina contra o meningococo do Grupo C (Menjugate®) armazenada em condições diferentes. Num dos grupos (Grupo W), a vacina administrada foi armazenada durante seis meses à temperatura ambiente de 25 ± 2°C enquanto no outro grupo (Grupo C) a vacina foi armazenada à temperatura recomendada entre os 2°C e os 8°C. Os resultados mostraram que ambos os grupos revelaram valores similares de resposta à vacina pelo que a potência da mesma não sofreu alterações significativas (62).

### 3.5 Vacina contra *Haemophilus influenzae* do tipo b (Hib) e Vacina Tetravalente contra Difteria, Tétano, Tosse Convulsa e *Haemophilus influenzae* do tipo b (DTPa – Hib)

Estudos preliminares sugerem que a Hib liofilizada é estável durante 24 meses à temperatura de 25°C e durante um mês a 37°C (22).

A DTPa – Hib é mais sensível ao aumento da temperatura pelo que os limites de temperatura devem ser os mesmos que para a DTPa. A DTPa – Hib é suscetível ao congelamento tal com a DTPa (22).

### 3.6 Vacina Pneumocócica

A vacina pneumocócica tem duas formulações, uma de um polissacárido não-conjugado e outra de um polissacárido conjugado (22). Em Portugal, a vacina contém 7, 13 ou 23 serotipos dissolvidos numa solução salina isotónica com fenol ou tiomersal e não pode ser congelada.

A única formulação composta por 13 serotipos diferentes (Prevenar 13®) tem uma estabilidade de 4 dias à temperatura de 25°C declarada pelo fabricante (63). Para as duas formulações compostas por 23 serotipos diferentes (Pneumo 23® e Pneumovax 23®), os fabricantes não relatam nenhuns ensaios de estabilidade a temperaturas fora das condições tradicionais da cadeia de frio (64,65).

### 3.7 Vacina BCG (BCG)

A padronização da estabilidade da vacina BCG é complicada devido a diversos fatores: são utilizados diferentes subestirpes de BCG em vários níveis de atenuação na produção das vacinas; há diferenças na produção e testes aplicados pelos fabricantes (a técnica e tempo de cultivo e a natureza do estabilizador são fatores importantes), há diferenças no conteúdo bacteriano e no número de partículas cultiváveis nos produtos e não há um método laboratorial aprovado para avaliação da potência da vacina.

O fator mais importante no controle de qualidade entre lotes envolve determinar o número de partículas cultiváveis através da contagem de colônias em meio de cultura sólido.

O teste estabelecido pela OMS é o teste da degradação acelerada e deve ser realizado em cada lote da vacina. Neste teste, a vacina deve ser incubada a 37°C durante 38 dias ao final dos quais o número de partículas cultiváveis deve ser menor que 20% daquelas que estão presentes na vacina armazenada a 4°C.

Em 1890, Albert Calmette e Camille Guérin iniciaram a investigação no sentido desenvolver uma vacina contra a tuberculose no Instituto Pasteur em Lille. Calmette e Guérin cultivaram *Mycobacterium bovis*, o bacilo responsável pela tuberculose bovina, num meio de cultura constituído por batata, glicerina e bÍlis de boi, verificando uma diminuição da virulência do microrganismo e que, por isso, não desenvolvia tuberculose progressiva em animais. A esta estirpe denominaram Bacille Calmette-Guérin de onde vem a designação habitual de BCG para a vacina contra a tuberculose. Todas as estirpes atuais utilizadas na BCG são derivadas da que foi obtida por Calmette e Guérin (66). As diferenças entre as estirpes atualmente existentes advêm das transferências entre os meios de cultura utilizados. As estirpes são classificadas como fortes, tais como a estirpe francesa 1172 e a estirpe dinamarquesa 1331, ou fracas, tais como a estirpe japonesa 172, a estirpe brasileira Moreau e a estirpe britânica 1077. As distinções são feitas com base nas características de crescimento, virulência residual em animais e reatogenicidade em crianças (22).

São conhecidas diferenças na estabilidade da vacina BCG ao aquecimento dependendo da estirpe utilizada pelo fabricante. A estirpe japonesa 172 tem uma estabilidade maior que a estirpe francesa 1172, estirpe dinamarquesa 1331 e estirpe Moreau. A uma temperatura de 37°C são precisos 56 dias para que a viabilidade (partículas cultiváveis por mililitro) reduza

para metade na estirpe japonesa enquanto para as restantes foi de 28 a 35 dias. A 54°C a vacina japonesa reteve mais de 50% da sua viabilidade por mais de 9 dias em oposição a um ou três dias para as restantes estirpes (67,68). No entanto, não é claro se as diferenças se devem à estirpe ou se devem às técnicas de liofilização e de estabilização do fabricante, ainda que se acredite tratar-se da segunda hipótese (22).

Num estudo citado pela OMS, a estirpe Moscow demonstrou uma perda de viabilidade de 22% a 41% durante o armazenamento durante 18 meses a 4°C. À temperatura ambiente a mesma estirpe não perdeu mais do que 54% a 66% da sua viabilidade depois de estar armazenada durante seis meses e manteve as especificações no armazenamento a 37°C durante um mês (22).

Tal como já referido, a estirpe não é o único fator que contribui para a estabilidade da vacina, fatores como as condições de liofilização, estabilizador e a humidade relativa dentro do frasco, pelo que é necessário adaptar o tipo de VVM utilizado (22).

Assim, e tendo em conta as diferenças verificadas entre as formulações de vacina BCG existentes, considera-se que de uma forma geral, a perda de estabilidade após alguns meses de armazenamento é expectável rondar os 30%. A perda diária de viabilidade para vacinas mantidas durante poucas semanas à temperatura de 37°C varia entre os 1% e os 2% (22).

### 3.8 Vacina contra o Sarampo e Vacina trivalente contra o Sarampo, Parotidite e Rubéola (VASPR)

Sendo estudos citados pela OMS, a vacina contra o sarampo na sua forma seca é extremamente estável a temperaturas abaixo de 0°C. A vacina mantém-se estável se estiver arrefecida e não é degradada com o congelamento e recongelamento (22).

Um estudo realizado na República dos Camarões avaliou a capacidade de seroconversão de vacinas contra o sarampo armazenadas a 37°C até aos 13 dias em crianças seronegativas para o sarampo. Os resultados mostraram que estas vacinas possuíam capacidade de seroconversão com percentagens de 86% e 94% para duas vacinas de fabricantes diferentes (69).

Outro estudo citado pela OMS mostram uma potência aceitável de vacinas contra o sarampo na sua forma liofilizada de 10 doses exposta a 37°C durante 21 dias. É ainda referenciado pela OMS um estudo que reporta que a vacina contra o sarampo comercializada

pela Merck conserva a sua potência durante 8 meses à temperatura ambiente e durante quatro semanas a 37°C (22).

A vacina é inativada rapidamente entre os 54°C e os 56°C (22).

A VASPR tem a estabilidade da vacina contra o sarampo visto que a menor estabilidade dos três componentes é do componente que confere imunidade contra esta doença (22).

### 3.9 Vacina contra a Febre Amarela

Um estudo de estabilidade realizado em 2000 analisou um total de 19 lotes consecutivos da vacina contra a febre amarela mantida a 4°C durante três anos comparativamente com os mesmos lotes mantidos a -20°C durante o mesmo período. Após os três anos, o estudo verificou que o armazenamento a 4°C induziu numa maior perda de atividade que o armazenamento a -20°C ou que o teste de degradação acelerada de vacinas mantidas a 37°C durante 14 dias. Qualquer uma das condições de armazenamento (a 4°C e a -20°C) manteve os níveis de atividade requeridos pela OMS (70).

Estudos citados pela OMS referem que o tempo de semivida de infecciosidade da vacina é de 3 a 10 meses à temperatura ambiente, de 10 a 20 dias a 37°C e de aproximadamente dois dias a 46°C (22).

Um estudo de 1987 a 11 vacinas contra a febre amarela realizado pelos fabricantes mostrou uma grande estabilidade entre as vacinas analisadas. No entanto, todas as vacinas analisadas mantinham a estabilidade mínima requerida pela OMS depois de uma exposição de 14 dias a uma temperatura de 37°C (22).

### 3.10 Vacina Inativada contra a Poliomielite (VIP)

As vacinas contra a poliomielite são formuladas com três serotipos de poliovírus diferentes. A capacidade do poliovírus para produzir anticorpos é destruída pelo calor e congelamento (22).

Segundo um estudo citado pela OMS, aparentemente há diferenças na estabilidade ao calor dos vários serotipos diferentes de poliovírus inativados sendo o serotipo 1 o mais vulnerável. O serotipo 1 sofre uma degradação lenta se armazenado durante dois anos à temperatura de 4°C enquanto os outros dois serotipos se mantêm intactos durante 20 anos. A composição em antígeno D no serotipo 1 decresce significativamente a 24°C passado 20

dias e é indetetável em exposições a 32°C durante o mesmo número de dias. No entanto, o serotipo 2 não apresenta variações na composição em antigénio D nas mesmas condições. O serotipo 3 mantém-se estável durante 20 dias a 24°C mas tem uma queda significativa na composição em antigénio D aos 36°C (22).

Outro estudo citado pela OMS relata uma estabilidade da vacina de 4 anos a 4°C e de um mês a 25°C (22).

### 3.11 Vacina contra a Encefalite Japonesa

Segundo a OMS, atualmente existem duas formulações de vacinas contra a encefalite japonesa inativadas pela formalina. Uma delas é obtida a partir da indução da infeção pelo vírus em cérebro de rato e posterior purificação e inativação. A segunda é obtida a partir de culturas de hepatócitos de hamster. A preparação obtida a partir do cérebro do rato na sua forma liofilizada mantém a sua eficácia se armazenada a 4°C durante um ano, durante 28 semanas se armazenada a 22°C e durante quatro semanas se armazenada a 37°C (22).

### 3.12 Vacina contra a Febre Tifoide

Segundo a OMS, atualmente são utilizadas duas formulações da vacina contra a febre tifoide: uma vacina constituída pelo polissacárido Vi purificado para utilização parentérica e outra vacina oral constituída por estirpes atenuadas de *Salmonella typhi* (22).

A vacina parentérica é constituída pelo polissacárido Vi é altamente estável não necessitando das condições adequadas de cadeia de frio nem mesmo em clima tropical. Esta vacina é constituída por uma solução-tampão isotónico com fenol estável a 37°C durante seis meses e durante 2 anos a 22°C, no entanto, não deve ser congelada (22).

### 3.13 Vacina antirrábica

A vacina antirrábica na sua forma liofilizada é muito estável mantendo a sua potência durante pelo menos 3,5 anos a temperaturas adequadas da cadeia de frio, segundo um estudo citado pela OMS, e durante um mês à temperatura de 37°C (22,71).

Outro estudo citado pela OMS relata que a vacina é estável a temperaturas de  $-20^{\circ}\text{C}$  e de  $4^{\circ}\text{C}$  durante pelo menos 18 meses e suporta temperaturas entre  $37^{\circ}\text{C}$  e  $60^{\circ}\text{C}$  durante três meses (22).

Atualmente existem outras formulações obtidas de formas diferentes do que a obtenção inicial a partir de tecido nervoso em que se incluem as seguintes formulações: a vacina de células purificadas embrionárias de pinto (estável durante três meses a  $37^{\circ}\text{C}$ ); vacina de hepatócitos de hamster Sírio; a vacina da linha de células Vero e a vacina de embrião purificado de pato. Todas têm maior estabilidade que a vacina inicial (22).

### 3.14 Vacinas contra a Gripe Sazonal

As vacinas contra a gripe podem ser inativadas ou vivas atenuadas. Existem muitos tipos de vacinas inativadas dependendo dos seguintes fatores: forma de produção, composição, vírus utilizado, adjuvantes utilizados, agente atenuante ou o tipo de purificação. A estabilidade depende da formulação. A maior parte das vacinas são estáveis durante um ano entre os  $2^{\circ}\text{C}$  e os  $8^{\circ}\text{C}$  (22).

### 3.15 Resumo sobre a Sensibilidade das Vacinas ao Aquecimento e Congelamento

A Figura 3.1 representa a sensibilidade crescente das vacinas ao aquecimento verificando-se que a vacina contra a febre tifoide é a menos sensível e a vacina contra a gripe sazonal a mais sensível.

A Figura 3.2 representa a sensibilidade crescente ao congelamento verificando-se que: vacinas como a BCG e a VASPR não são sensíveis ao congelamento e a vacina contra a febre tifoide apresenta sensibilidade reduzida em comparação com a vacina DTPa e restantes combinações que apresentam uma sensibilidade elevada.

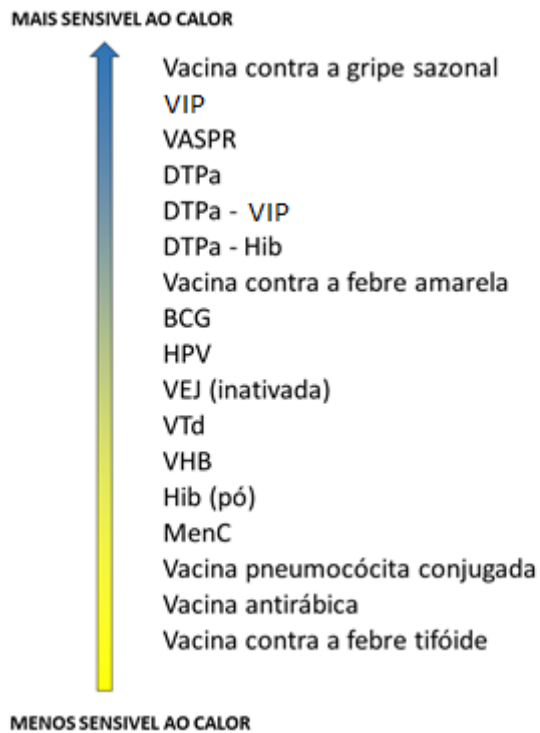


Figura 3.1 Esquema em ordem crescente da sensibilidade das diferentes vacinas ao aquecimento (adaptado de Organização Mundial de Saúde, 2014 (72)).

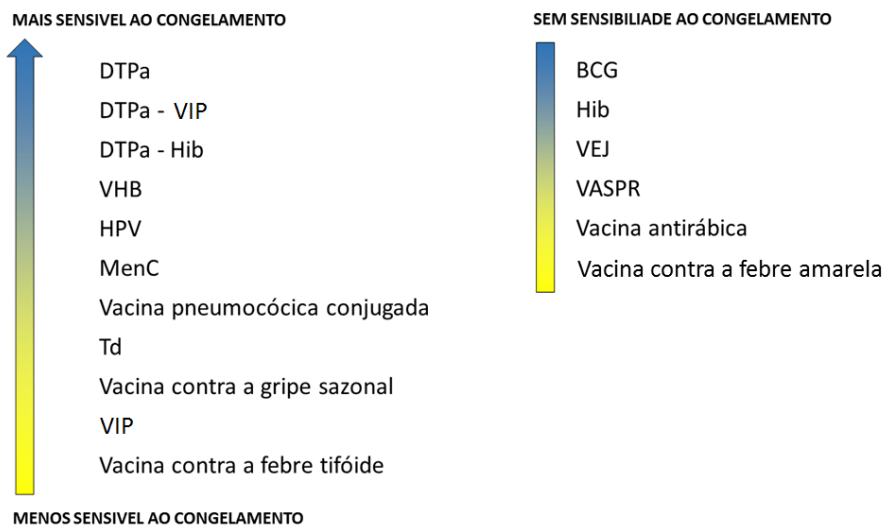


Figura 3.2 Esquema em ordem crescente da sensibilidade das diferentes vacinas ao congelamento (adaptado de Organização Mundial de Saúde, 2014 (72))

## 4. PROJETO DE INVESTIGAÇÃO

### 4.1 Introdução

Segundo a UNICEF mais de 100 milhões de crianças são imunizadas anualmente resultando num total de 2 a 3 milhões de vidas salvas por ano (4). Devido ao reconhecimento sobre a importância da vacinação na saúde das populações tem havido um esforço para garantir a disponibilidade de vacinas para as crianças de todo o mundo (5).

A vacinação em Portugal remonta a 1793 onde existem referências sobre a imunização contra a varíola ainda que a administração universal de vacinas apenas tenha acontecido a partir da introdução do PNV (7).

O PNV foi introduzido pelo Serviço Nacional de Saúde pela primeira vez em 1965 conduzindo a uma redução da morbilidade e mortalidade causadas por doenças infecciosas e, conseqüentemente, benefícios do ponto de vista da saúde das populações e dos gastos em saúde. Desde a sua criação, a DGS assegura a revisão e atualização do PNV quer pela constante introdução de novas vacinas no mercado quer pela modificação dos fatores epidemiológicos associados às doenças infecciosas. Esta revisão e atualização é efetuada por grupos de especialistas que integra a Comissão Técnica de Vacinação em colaboração com especialistas externos, instituições de saúde e sociedades científicas. O PNV é universal, acessível e gratuito para todos os cidadãos portugueses. Nem todas as vacinas disponíveis têm as características necessárias para a sua inclusão no PNV, pelo que, apenas são incluídas aquelas que constituem uma mais-valia para a saúde pública e apresentem uma relação custo-benefício favorável (73).

Para além das vacinas constantes no PNV, existe também a vacinação do viajante que é prescrita ao nível das Consultas do Viajante disponíveis nas instituições de saúde públicas e destina-se aos cidadãos portugueses que pretendam viajar para fora do espaço europeu. Estas consultas são realizadas por médicos infeciologistas e médicos especialistas em doenças tropicais (74).

O Regulamento Sanitário Internacional (RSI) é um acordo internacional juridicamente vinculativo, criado com objetivo de prevenir e combater ameaças à saúde pública mundial. Este acordo está em vigor em 193 Estados Membros da Organização Mundial de Saúde desde 15 de Junho de 2007, sendo Portugal um desses Estados Membro. Entre outras obrigações, o RSI estipula que a vacina contra a Febre Amarela é a única que pode ser exigida na travessia de fronteiras. A vacinação contra a febre amarela é efetuada nos Centros de Vacinação

internacional. Ainda assim, existem alguns países que limitam a entrada de pessoas no seu território que não estejam vacinadas contra outras doenças (75). Dependendo do sítio para onde se desloca, é sugerida a vacinação para outras doenças, tais como: cólera, difteria, encefalite japonesa, hepatite A, hepatite B, gripe, raiva, tétano e febre tifoide. O aconselhamento específico para cada pessoa é efetuado na consulta do viajante (74).

A principal missão das ARS é garantir à população da sua área geográfica “o acesso à prestação de cuidados de saúde, cumprir e fazer cumprir políticas e programas de saúde na sua área de intervenção”. Uma das áreas incluídas nas funções atribuídas às ARS é garantir a disponibilidade das vacinas do PNV e das que são prescritas no âmbito da consulta do viajante, bem como o seu armazenamento e distribuição pelas instituições de saúde públicas responsáveis pela sua administração (76).

Os SF das ARS garantem a disponibilidade e distribuição de todas as vacinas recomendadas tanto pelo PNV como para viajantes. As vacinas habitualmente distribuídas pelas ARS encontram-se no Quadro 4.1.

Ainda que haja implementação de um programa de vacinação e se promova a vacinação de cidadãos portugueses contra doenças infectocontagiosas durante as deslocações ao estrangeiro, um dos aspetos mais importantes para que a vacinação cumpra os objetivos pretendidos é assegurar a estabilidade e poder imunológico das vacinas administradas, pelo que a manutenção de um eficaz sistema de cadeia de frio é fundamental.

Durante muito tempo, a preocupação no que se refere à conservação das vacinas incidiu exclusivamente na prevenção do seu aquecimento em detrimento do seu congelamento. Os estudos recentes e a experiência de campo têm demonstrado que o congelamento das vacinas é um problema comum durante o transporte e armazenamento de vacinas e conseqüentemente a potencial distribuição de vacinas cuja potência está comprometida devido à dissociação do antigénio com o adjuvante (21,29–41,77).

Existem inúmeras guidelines e legislação no sentido de clarificar os procedimentos a ter em conta no transporte e armazenamento de vacinas para assegurar a manutenção das condições da cadeia de frio (2,3,9,11–19).

Quadro 4.1 Vacinas habitualmente distribuídas pelas ARS, respetivo nome comercial e condições de conservação recomendadas pelo fabricante.

Vacina	Nome Comercial	Condições de Conservação	Referência
Difteria/Tétano	D.T. Vax Adulto	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar.	(78)
Difteria/Tétano/Tosse Convulsa	Infanrix	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Se isso acontecer a vacina deverá ser rejeitada.	(79)
Difteria/Tétano/Tosse Convulsa/ <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	Infanrix Hib	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(80)
Difteria/Tétano/Tosse Convulsa/Poliomielite	Infanrix Tetra	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Conservar na embalagem de origem para proteger da luz.	(81)
Difteria/Tétano/Tosse Convulsa/Poliomielite/ <i>Haemophilus influenzae</i> tipo B	Pentavac	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar.	(82)
Encefalite Japonesa	Green Cross	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar.	(83)
Febra Amarela	Stamaril	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(84)
Febre Tifoide	Typhim Vi	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(85)
Gripe	Fluarix	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(86)
	Istivac	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(87)
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	Hiberix	<b>Pó liofilizado:</b> Conservar entre os 2°C e os 8°C. Proteger da luz. A vacina liofilizada não é afetada pela congelação. <b>Solvente:</b> Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar.	(88)
Hepatite B	Engerix B	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Inutilizar a vacina caso esta tenha sido congelada.	(89)
Meningococo	Menjugate Kit	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(90)
Papilomavirus Humano	Gardasil	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(91)
Pneumococco	Pneumo 23	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Proteger da luz.	(64)
	Prevenar 13	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. É estável a temperaturas até 25°C, durante 4 dias. No fim deste período, deve ser administrado ou eliminado.	(63)
Poliomielite	Imovax Polio	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar (o congelamento determina a perda de potência da vacina). Proteger da luz	(92)
Raiva	Rabipur	Conservar entre os 2°C e os 8°C. Não congelar.	(93)
Sarampo/Parotidite/Rubéola	M-M-R Vax Pro	Conservar e transportar refrigerado entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Prazo de 8 horas após reconstituição.	(94)
Tuberculose	BCG Vacina SSI	Conservar e transportar refrigerado entre os 2°C e os 8°C. Não congelar. Após reconstituição pode conservar-se a temperatura inferior a 25° C ou no frigorífico (2°C-8°C).	(95)

## 4.2 Objetivo

Este trabalho tem como objetivo criar um procedimento de trabalho para aplicação nos SF das ARS na distribuição de vacinas pelos centros de saúde e de vacinação da região sob a sua responsabilidade e comprovar a sua eficácia no controlo da temperatura no intervalo de temperaturas entre os 2°C e os 8°C estabelecido para a cadeia de frio.

## 4.3 Materiais e Métodos

Pretende-se monitorizar a temperatura durante todo o transporte de vacinas aplicando procedimento de acondicionamento utilizado na ARS e aplicando um procedimento otimizado com base nas guidelines internacionais relativamente à manutenção da cadeia de frio.

### 4.3.1 Materiais

O transporte será efetuado utilizando caixas de polistireno de tamanho variável consoante o volume de vacinas a transportar.

A monitorização irá ser efetuada usando data loggers da marca Testo e modelo 174T devidamente calibrados. Estes aparelhos efetuam medições de temperatura entre os -30°C e os 70°C com uma exatidão de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$  e uma resolução de  $0,1^\circ\text{C}$ . Possuem ainda um sistema de integração de dados com respetivo programa informático que permite a programação do aparelho e transferência para suporte informático dos dados recolhidos. A periodicidade escolhida para registo de temperatura pelo aparelho é de 10 minutos (96).

Os termoacumuladores utilizados serão da marca Campingaz cujo líquido de refrigeração é constituído por: água, carboximetilcelulose, acticide e corante azul (97).

O contacto direto das vacinas com os termoacumuladores será efetuada com recurso a “plástico-bolha”.

### 4.3.2 Procedimento

Foram selecionadas duas guidelines pelo maior detalhe fornecido pelas mesmas no que se refere ao acondicionamento e distribuição da vacinas, sendo elas: o Manual de Rede de Frio (1) elaborado pelos Serviços Farmacêuticos da ARSLVT e o Strive for 5 (2) elaborado

pelo Governo Australiano. As restantes guidelines consultadas referem os princípios das guidelines mencionadas ainda que com detalhe e minúcia menor.

**A. Preparação da caixa à base de polistireno:**

- a) Colocar termoacumuladores refrigerados no interior do equipamento a cobrir o fundo do mesmo.

**B. Preparação dos termoacumuladores à base de água:**

- b) Retirar os termoacumuladores de gelo do frigorífico;
- c) Dispor os termoacumuladores numa fila, lado a lado e conservando um espaço de 5 cm à volta de cada termoacumulador para permitir uma máxima exposição ao ar o reduzindo-se o período de preparação.
- d) Esperar até que os termoacumuladores “comecem a suar” (aproximadamente uma hora a 20°C). Os termoacumuladores estão prontos quando a água conseguir movimentar-se ligeiramente no seu interior.

**C. Colocar as vacinas no interior da caixa à base de polistireno:**

- e) Retirar os termoacumuladores usados na preparação do equipamento.
- f) Colocar os termoacumuladores preparados no fundo da caixa e cobri-los com plástico-bolha.
- g) Colocar as vacinas no interior da caixa tendo em atenção em colocar as vacinas menos sensíveis ao congelamento junto aos termoacumuladores, tais como a BCG ou VASPR, e as mais sensíveis ao congelamento no meio, tais como a DTP e suas respetivas combinações.
- h) Colocar o data logger centrado e em cima das vacinas. Seguidamente cobrir a zona superior com plástico-bolha e também as laterais da caixa, caso as vacinas não preencham todo o espaço disponível.

A Figura 4.1 representa um esquema de acondicionamento pretendido dentro da caixa à base de polistireno.

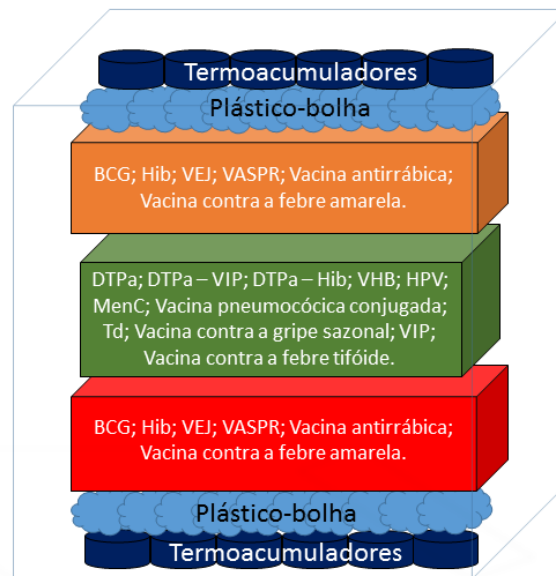


Figura 4.1 Esquema de acondicionamento pretendido no interior da caixa à base de polistireno (adaptado de Santos, 2015 (98))

#### D. Monitorização e registo da temperatura:

- i) Durante o transporte o registo de temperatura será efetuado pelo data logger programado para registar a temperatura com intervalos de 10 min. À chegada registar a temperatura fornecida pelo data logger e a hora.

#### 4.4 Cronograma

O cronograma pretende definir o tempo previsto para a realização de cada uma das etapas do processo de investigação. O tempo de realização da atividade experimental contempla uma previsão de um mínimo de 30 transportes monitorizados considerando que a ARS realiza transporte de vacinas uma vez por semana, pelo que poderá sofrer alguns ajustes conforme a gestão da instituição de saúde e eventual necessidade de transportes extraordinários.

O Quadro 4.2 é uma representação esquemática do cronograma e respetiva duração em meses de cada uma das etapas.

Quadro 4.2 Representação esquemática do cronograma e respetiva duração em meses de cada uma das etapas

Etapa	Meses									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Pesquisa Bibliográfica	x									
Protocolo de Investigação		x								
Realização da Atividade Experimental			x	x	x	x	x	x	x	
Tratamento dos Dados										x
Redação do Relatório										x

#### 4.5 Recolha, Análise e Tratamento dos Dados

A recolha dos dados irá efetuar-se com recurso à interface e software próprios cedidos pela Testo, a empresa produtora dos data loggers utilizados. Serão analisados os gráficos e tabelas construídas pelo software, pretendendo-se verificar as temperaturas atingidas e se as mesmas estão de acordo com o intervalo estabelecido pela cadeia de frio. Pretende-se igualmente determinar a média e o desvio-padrão como forma de analisar a temperatura média atingida e respetiva distribuição das mesmas ao longo de todo o percurso. Pretende-se também perceber o impacto da variação das condições ambientais externas na temperatura no interior das caixas de transporte e conseqüentemente a robustez do procedimento face a essas variações.

O tempo de preparação dos termoacumuladores para acondicionamento depende da temperatura exterior e da temperatura e período de congelamento a que foram sujeitos (2). Neste sentido, poderá ser necessário perceber e registar a temperatura exterior no local de preparação, o tempo de preparação necessário até que os termoacumuladores estejam em condições de serem acondicionados e a sua temperatura nesse momento, bem como uniformizar o tempo e temperatura de congelamento prévio dos termoacumuladores, de forma a otimizar o processo de acondicionamento. A temperatura dos termoacumuladores no momento de acondicionamento influencia a temperatura que será atingida no interior das caixas de transporte, pelo que estes dados poderão ajudar na otimização do processo de acondicionamento ajustando-se as condições

de preparação dos termoacumuladores para que o intervalo de temperaturas da cadeia de frio se mantenha durante todo o tempo de transporte.

#### 4.6 Conclusão

Dada a importância de garantir a capacidade imunológica das vacinas, o cumprimento das guidelines e diretivas relativas às boas práticas na distribuição de vacinas e a manutenção das condições de cadeia de frio, torna-se importante rever os procedimentos adotados pelas instituições responsáveis pelo seu armazenamento e transporte.

Neste sentido, a elaboração de um procedimento de acondicionamento para distribuição de vacinas contribui diretamente para os objetivos supramencionados. Após a elaboração de um procedimento de acordo com as boas práticas de distribuição é importante comprovar a sua eficácia em contexto real. A atividade experimental descrita neste trabalho permitirá elucidar se o procedimento elaborado confere um maior controlo das condições de temperatura requeridas pela cadeia de frio do que o procedimento anteriormente aplicado. Para além disso, dado que a implementação do novo procedimento a todos os transportes realizados implica investimento em materiais, permite perceber se esse investimento é plausível em virtude de um maior controlo das condições da cadeia de frio.

Após a realização da atividade experimental pretende-se aplicar o procedimento criado na distribuição de vacinas caso as conclusões do estudo comprovem um maior controlo das temperaturas.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A vacinação é considerada um método eficaz no controlo de doenças infectocontagiosas nos casos em que há uma vacina capaz de conferir uma imunidade consistente contra o agente infeccioso causador da doença.

No entanto, a garantia na capacidade de indução de imunidade adquirida pela vacina depende da manutenção de condições de conservação que permitam manter intacta a vacina até ao momento em que for administrada.

Durante muito tempo acreditou-se que a exposição a temperaturas elevadas era um aspeto muito mais importante que a exposição a temperaturas de congelamento. No entanto, atualmente a investigação demonstrou que a maior estabilidade das vacinas lhes conferiu maior resistência às temperaturas mais elevadas do que a temperaturas de congelamento. Assim, assiste-se a uma mudança de paradigma verificando-se não só que o congelamento das vacinas é muito prevalente durante o transporte e armazenamento e que tem um impacto mais significativo que o aquecimento, como também que a manutenção das condições tradicionais da cadeia de frio requerem um investimento em equipamentos e materiais nem sempre suportáveis do ponto de vista financeiro nem do ponto de vista logístico no terreno.

Ainda que não se preveja uma completa independência da cadeia de frio no transporte e armazenamento de vacinas, pretende-se que futuramente se utilize a informação sobre a estabilidade real das vacinas e assim, gerir de forma mais razoável a manutenção da cadeia de frio do ponto de vista logístico e financeiro utilizando técnicas como a CTC, bem como evitar o desperdício de vacinas expostas a condições fora da cadeia de frio por tempos limitados em que se sabe à partida que o impacto na sua imunogenicidade foi negligenciável. Ainda que se tenha percebido que a manutenção rígida das condições da cadeia de frio não seja absolutamente necessária, é sabido que o impacto da temperatura é cumulativo, pelo que a manutenção das condições de temperatura tradicionais da cadeia de frio ainda são aquelas que asseguram a total capacidade imunogénica da vacina durante o prazo de validade estabelecido pelo fabricante. Neste sentido, o conhecimento sobre a maior estabilidade das vacinas e alternativas à cadeia de frio constituam uma exceção e não a regra.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Serviços Farmacêuticos da Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo. Manual da Rede de Frio. Lisboa: Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo; 2010.
2. Australian Government. National Vaccine Storage Guidelines - Strive for 5. 2.<sup>a</sup> ed. Australian Government, editor. Australian Government; 2013.
3. U.S. Department of Health and Human Services. Vaccine Storage & Handling Toolkit. 2014.
4. UNICEF. Immunization [Internet]. [citado 24 de Maio de 2016]. Obtido de: [http://www.unicef.org/immunization/index\\_coverage.html](http://www.unicef.org/immunization/index_coverage.html)
5. Matthias DM, Robertson J, Garrison MM, Newland S, Nelson C. Freezing temperatures in the vaccine cold chain: A systematic literature review. *Vaccine*. 2007;25(20):3980–6.
6. Direcção-Geral de Saúde. Programa Nacional de Vacinação [Internet]. [citado 15 de Setembro de 2015]. Obtido de: <https://www.dgs.pt/paginas-de-sistema/saude-de-a-a-z/programa-nacional-de-vacinacao/vacinas.aspx>
7. Direcção-Geral de Saúde. Avaliação do programa nacional de vacinação - 2º inquérito nacional Portugal continental. Direcção-G. Avaliação do Programa Nacional de Vacinação e Melhoria do seu Custo-efectividade - 2º Inquérito Serológico Nacional Portugal Continental, 2001-2002. Direcção-Geral de Saúde; 2004. 113-22 p.
8. Organização Mundial de Saúde. Seven Key Reasons- Why immunization must remain a priority in the WHO European Region [Internet]. European Immunization Week. Organização Mundial de Saúde; 2009. p. 1–7. Obtido de: [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0017/84302/Seven\\_Key\\_Reasons.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0017/84302/Seven_Key_Reasons.pdf)
9. European Commission. Guidelines of 5 November 2013 on good distribution practice of medicinal products for human use. Official Journal of the European Union. 2013. p. 1–14.
10. Kumru OS, Joshi SB, Smith DE, Middaugh CR, Prusik T, Volkin DB. Vaccine instability in the cold chain: Mechanisms, analysis and formulation strategies. *Biologicals*. Elsevier Ltd; 2014;42(5):237–59.
11. Western Cape Government. Minimum Standards : Cold Chain Management. Western Cape Government, editor. Western Cape Government; 2003.
12. Ministério da Saúde do Brasil. Manual de Rede de Frio do Programa Nacional de Imunizações. 4.<sup>a</sup> ed. Ministério da Saúde do Brasil, editor. Brasília: Ministério da Saúde do Brasil; 2013. 144 p.
13. Ministry of Health and Long-term Care of Canada. Vaccine Storage and Handling Guidelines. Queen's Pr. Ministry of Health and Long-term Care of Canada, editor. Ontario; 2013.

14. Centre for Disease Control. Vaccine Storage and Handling. Centre for. Centre for Disease Control; 2015.
15. Communicable Disease Control. Cold Chain Protocol. Comunicabl. Comunicable Disease Control; 2013. 1-40 p.
16. Servicio de Prevención y Protección de la Salud. Logística Vacunal - Cadena de Frio. Dirección General de Salud Pública - Región de Murcia; 2013.
17. National Health System of England. Policy and Procedure for Maintaining the Vaccine Cold Chain. National H. National Health System of England; 2015.
18. National Immunisation Office of Ireland. HSE Guidelines for maintaining the vaccine cold-chain including maintenance of vaccine fridges and management of vaccines. 1.<sup>a</sup> ed. Health Service Executive, editor. Health Service Executive; 2014. 1-9 p.
19. Ministry of Health of New Zealand. Immunisation Handbook. Ministry of Health of New Zealand, editor. Wellington: Ministry of Health of New Zealand; 2014. 455 p.
20. Norman BA, Rajgopal J, Lim J, Gorham K, Haidari L, Brown ST, et al. Modular vaccine packaging increases packing efficiency. *Vaccine*. Elsevier Ltd; 2014;33(27):3135–41.
21. Nelson C, Froes P, Dyck AM V, Chavarr??a J, Boda E, Coca A, et al. Monitoring temperatures in the vaccine cold chain in Bolivia. *Vaccine*. 2007;25(3):433–7.
22. Milstien JB, Galazka AM, Kartoglu U, Zaffran M. Temperature sensitivity of vaccines. Geneva: Organização Mundial de Saúde; 2006. p. 1–58.
23. A. Galazka, J. Milstien MZ. Thermostability of vaccines. Organização Mundial de Saúde; 1998.
24. Bishai DM, Bhatt S, Miller LT, Hayden GF. Vaccine storage practices in pediatric offices. *Pediatrics*. Fevereiro de 1992;89(2):193–6.
25. Cheriyan E. Monitoring the vaccine cold chain. *Arch Dis Child*. 1993;69(5):600–1.
26. Miller NC, Harris MF. Are childhood immunization programmes in Australia at risk? Investigation of the cold chain in the Northern Territory. *Bull World Health Organ*. 1994;72(3):401–8.
27. Jeremijenko A, Kelly H, Sibthorpe B, Attewell R. Improving vaccine storage in general practice refrigerators. *BMJ*. 29 de Junho de 1996;312(7047):1651–2.
28. Lugosi L, Battersby A. Transport and storage of vaccines in Hungary : the first cold chain monitor study in Europe. *Bull World Health Organ*. 1990;68(4):431–9.
29. Berhane Y, Demissie M. Cold chain status at immunisation centres in Ethiopia. *East Afr Med J*. Setembro de 2000;77(9):476–9.
30. Lewis PR, Reimer RF, Dixon AJ. Evaluating the efficacy of vaccine storage in the general practice setting. *Aust N Z J Public Health*. 2001;25(6):547–50.
31. Ortega Molina P, Astasio Arbiza P, Albaladejo Vicente R, Gómez Rábago M. L, de Juanes Pardo JR, Domínguez Rojas V. Vaccine Storage Cold Chain at Primary Care Centers in one Area of Madrid : Keeping the Chain Intact and Degree of Knowledge.

- Rev Esp Salud Publica. 2002;76(4):333–46.
32. Gazmararian JA, Oster N V, Green DC, Schuessler L, Howell K, Davis J, et al. Vaccine storage practices in primary care physician offices: assessment and intervention. *Am J Prev Med*. Novembro de 2002;23(4):246–53.
  33. Nelson CM, Wibisono H, Purwanto H, Mansyur I, Moniaga V, Widjaya A. Hepatitis B vaccine freezing in the Indonesian cold chain: Evidence and solutions. *Bull World Health Organ*. 2004;82(2):99–105.
  34. Samant Y, Lanjewar H, Parker D, Block L, Tomar GS, Stein B. Evaluation of the cold-chain for oral polio vaccine in a rural district of India. *Public Health Rep*. 2009;122(1):112–21.
  35. Techathawat S, Varinsathien P, Rasdjarmrearnsook A, Tharmaphornpilas P. Exposure to heat and freezing in the vaccine cold chain in Thailand. *Vaccine*. 2007;25(7):1328–33.
  36. Soeung SC, Grundy J, Morn C, Samnang C. Evaluation of immunization knowledge, practices, and service-delivery in the private sector in Cambodia. *J Heal Popul Nutr*. 2008;26(1):95–104.
  37. Burstein R, Dansereau E a, Conner RO, DeCenso BM, Delwiche KP, Gasasira A, et al. Assessing vaccine cold chain storage quality: a cross-sectional study of health facilities in three African countries. *Lancet*. Elsevier Ltd; 2013;381:S25.
  38. Rogie B, Berhane Y, Bisrat F. Assessment of cold chain status for immunization in central Ethiopia. *Ethiop Med J*. Julho de 2013;51 Suppl 1:21–9.
  39. Murhekar M V, Dutta S, Kapoor AN, Bitragunta S, Dodum R, Ghosh P, et al. Frequent exposure to suboptimal temperatures in vaccine cold-chain system in India: results of temperature monitoring in 10 states. *Bull World Health Organ*. 2013;91(February):906–1013.
  40. Ateudjieu J, Kenfack B, Nkontchou BW, Demanou M. Program on immunization and cold chain monitoring: the status in eight health districts in Cameroon. *BMC Res Notes*. 2013;6(1):101.
  41. Yakum MN, Ateudjieu J, Pélégie FR, Walter EA, Watcho P. Factors associated with the exposure of vaccines to adverse temperature conditions: the case of North West region, Cameroon. *BMC Res Notes*. BioMed Central; 2015;8(1):277.
  42. Kristensen DD, Lorenson T, Bartholomew K, Villadiego S. Can thermostable vaccines help address cold-chain challenges? Results from stakeholder interviews in six low- and middle-income countries. *Vaccine*. Elsevier Ltd; 2016;34(7):899–904.
  43. Setia S, Mainzer H, Washington ML, Coil G, Snyder R, Weniger BG. Frequency and causes of vaccine wastage. *Vaccine*. 2002;20(7-8):1148–56.
  44. Zipursky S, Boualam L, Cheikh DO, Fournier-Caruana J, Hamid D, Janssen M, et al. Assessing the potency of oral polio vaccine kept outside of the cold chain during a national immunization campaign in Chad. *Vaccine*. Elsevier Ltd; 2011;29(34):5652–6.
  45. Kartoglu U, Ganivet S, Guichard S, Aiyer V, Bollen P, Maire D, et al. Use of cool water

- packs to prevent freezing during vaccine transportation at the country level. *PDA J Pharm Sci Technol.* 63(1):11–26.
46. Lloyd J. Technologies for vaccine delivery in the 21 st century. *Organização Mundial de Saúde.* Geneva: Organização Mundial de Saúde; 2000. p. 1–25.
  47. Organização Mundial de Saúde. The controlled temperature chain ( CTC ): frequently asked questions General Questions : Organização Mundial de Saúde;
  48. Organização Mundial de Saúde. Controlled Temperature Chain (CTC) [Internet]. [citado 10 de Agosto de 2016]. Obtido de: <http://www.who.int/biologicals/areas/vaccines/controlledtemperaturechain/en/>
  49. Organização Mundial de Saúde. Revolutionary meningitis vaccine breaks another barrier; first to gain approval to travel outside cold chain [Internet]. [citado 10 de Agosto de 2016]. Obtido de: [http://www.who.int/immunization/newsroom/menafrivac\\_20121114/en/](http://www.who.int/immunization/newsroom/menafrivac_20121114/en/)
  50. Zipursky S, Djingarey MH, Lodjo JC, Olodo L, Tiendrebeogo S, Ronveaux O. Benefits of using vaccines out of the cold chain: Delivering Meningitis A vaccine in a controlled temperature chain during the mass immunization campaign in Benin. *Vaccine.* Elsevier Ltd; 2014;32(13):1431–5.
  51. Organização Mundial de Saúde. Use of MenAfriVac™ (meningitis A vaccine) in a controlled temperature chain (CTC) during campaigns. *Organização Mundial de Saúde;* 2013. 40 p.
  52. Lydon P, Zipursky S, Tevi-Benissan C, Djingarey MH, Gbedonou P, Youssouf BO, et al. Economic benefits of keeping vaccines at ambient temperature during mass vaccination: the case of meningitis A vaccine in Chad. *Bull World Health Organ.* 2014;92(2):86–92.
  53. Halm A, Yalcouyé I, Kamissoko M, Keïta T, Modjirom N, Zipursky S, et al. Using oral polio vaccine beyond the cold chain: A feasibility study conducted during the national immunization campaign in Mali. *Vaccine.* 2010;28(19):3467–72.
  54. Wang L, Li J, Chen H, Li F, Armstrong GL, Nelson C, et al. Hepatitis B vaccination of newborn infants in rural China: evaluation of a village-based, out-of-cold-chain delivery strategy. *Bull World Health Organ.* Setembro de 2007;85(9):688–94.
  55. Ren Q, Xiong H, Li Y, Xu R, Zhu C. Evaluation of an outside-the-cold-chain vaccine delivery strategy in remote regions of western China. *Public Health Rep.* 2009;124(5):745–50.
  56. Stainer DW, Hart FE. The stability of bacterial vaccines at elevated temperatures. *Dev Biol Stand.* 1978;41:249–53.
  57. Juan-Giner A, Domicent C, Langendorf C, Roper MH, Baoundoh P, Fermon F, et al. A cluster randomized non-inferiority field trial on the immunogenicity and safety of tetanus toxoid vaccine kept in controlled temperature chain compared to cold chain. *Vaccine.* Elsevier Ltd; 2014;32(47):6220–6.
  58. Just M, Berger R. Immunogenicity of a heat-treated recombinant DNA hepatitis B

- vaccine. *Vaccine*. Outubro de 1988;6(5):399–400.
59. Van Damme P, Cramm M, Safary A, Vandepapelière P, Meheus A. Heat stability of a recombinant DNA hepatitis B vaccine. *Vaccine*. 1992;10(6):366–7.
  60. Klotz SA, Normand R, Silberman R. Hepatitis B vaccine in healthy hospital employees. *Infect Control*. Julho de 1986;7(7):365–9.
  61. Boros CA, Hanlon M, Gold MS, Robertson DM. Storage at -3 degrees C for 24 h alters the immunogenicity of pertussis vaccines. *Vaccine*. 14 de Maio de 2001;19(25-26):3537–42.
  62. Schöndorf I, Banzhoff A, Nicolay U, Diaz-Mitoma F. Overcoming the need for a cold chain with conjugated meningococcal Group C vaccine: A controlled, randomized, double-blind study in toddlers on the safety and immunogenicity of Menjugate??, stored at room temperature for 6 months. *Vaccine*. 2007;25(7):1175–82.
  63. Pfizer Limited. Resumo das Características do Medicamento - Prevenar 13. 2010.
  64. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - Pneumo 23. 2012.
  65. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - Pneumovax 23. 2015;
  66. Luca S, Mihaescu T. History of BCG Vaccine. *Mædica*. 2013;8(1):53–8.
  67. Janaszek W. Evaluation of thermostability of lyophilized BCG vaccines by using an accelerated thermal degradation test. *Med doświadczalna i Mikrobiol*. 1991;43(1-2):43–9.
  68. Janaszek W. Comparative study of BCG vaccines: Polish, Danish and Japanese -- laboratory tests. *Przegląd Epidemiol*. 1994;48(3):285–92.
  69. Heymann DL, Smith EL, Nakano JH, Jato JG, Martin GE, Maben GK. Further field testing of the more heat-stable measles vaccines in Cameroon. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 21 de Agosto de 1982;285(6341):531–3.
  70. Perraut R, Girault G, Moreau JP. Stability-related studies on 17D yellow fever vaccine. *Microbes Infect*. Janeiro de 2000;2(1):33–8.
  71. Nicolas AJ, Patet J, Falquet JC, Branche R, Delaiti P, Montagnon B, et al. Production of inactivated rabies vaccine for human use on WI38 diploid cells. Results of potency tests. Stability of the vaccine in liquid and freeze-dried forms. *Dev Biol Stand*. 1978;40:17–24.
  72. Organização Mundial de Saúde; PATH. Temperature Sensitivity of Vaccines. 2014.
  73. Ministério da Saúde. Despacho nº 5785/2015. Diário da República, 2ª série;
  74. Serviço Nacional de Saúde. Portal da Saúde - Consulta do Viajante [Internet]. [citado 6 de Outubro de 2015]. Obtido de: <http://www2.portaldasauade.pt/portal/conteudos/informacoes+uteis/saude+em+viagem/consulta+de+saude+do+viajante.htm>
  75. Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge. Regulamento Sanitário Internacional

- [Internet]. [citado 6 de Outubro de 2015]. Obtido de:  
<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/ComInf/Noticias/Paginas/RSIempportugues.aspx>
76. Administração Regional de Saúde do Algarve. Apresentação ARS Algarve I.P. [Internet]. [citado 24 de Setembro de 2015]. Obtido de: <http://www.arsalgarve.min-saude.pt/portal/?q=node/2>
  77. Sudarshan MK, Sundar M, Girish N, Narendra S, Patel NG. An evaluation of cold chain system for vaccines in Bangalore. *Indian J Pediatr.* 1994;61(2):173–8.
  78. Sanofi Pasteur MSD. D. T. Vax: resumo das características do medicamento (aprovado em 08-05-2012 pelo INFARMED). 2012;4–10. Obtido de: <http://www.ff.ul.pt>
  79. Smith Kline & French Portuguesa. Resumo das Características do Medicamento - Infanrix. 2015.
  80. Smith Kline & French Portuguesa. Resumo das Características do Medicamento - Infanrix Hib. 2014;
  81. Smith Kline & French Portuguesa. Resumo das Características do Medicamento - Infanrix Tetra. 2012.
  82. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das características do Medicamento - Pentavac. 2014.
  83. Green Cross Corp. Summary of Product Characteristics - Japanese Encephalitis Vaccine. 2008.
  84. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - Stamaril. 2013.
  85. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - Typhim Vi. 2015.
  86. Smith Kline & French Portuguesa. Rusmo das características do Medicamento - Fluarix. 2015.
  87. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - Istivac. 2014.
  88. Smith Kline & French Portuguesa. Resumo das Características do Medicamento - Hiberix. 2014;
  89. Glaxo Smith Kline. Resumo das Características do Medicamento - Engerix B. Glaxo Smith Kline; 2014.
  90. Novartis Vaccines and Diagnostics S.r.l. Resumo das Características do Medicamento - Menjugate Kit. 2013.
  91. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - Gardasil. 2011.
  92. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - Imovax Polio. 2013.
  93. Novartis. Resumo das Características do Medicamento - Rabipur. 2010.
  94. Sanofi Pasteur MSD. Resumo das Características do Medicamento - M-M-RVaxpro. 2011.

95. Statens Serum Institut. Resumo das Características do Medicamento - BCG Vacina SSI. 2015.
96. Testo. Manual de Instruções - Testo 174 Data logger [Internet]. Obtido de: <https://www.testo.pt/produto/0572+1560/testo-174-T-Mini-data-loggerTemperatura#tab-4>
97. Campingaz. Campingaz - Freez'Pack M30 [Internet]. [citado 24 de Setembro de 2015]. Obtido de: <https://www.campingaz.com/Iberia/p-23674-freez39pack174-m30.aspx>
98. Santos, A.M.; Folha, D.; Silva, R.; Campos, P.; Pereira, G.G.; Martins, J.O.; Durães, A.; Ribeiro, A.; Cecília, M.; Cocharra, J.; Pacheco, M.J.; Silva S. Manutenção da Rede de Frio na Distribuição de Vacinas na Unidade Local de Saúde de Matosinhos. 2015.