

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

**TRABAJO PROFESIONAL SUPERVISADO
PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
CRUZ ROJAS KARINA**

NÚMERO DE CUENTA: 098145070

TUTOR: MVZ. CECILIA ROSARIO CORTES



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGREDECIMIENTOS

A mis padres

Por brindarme la oportunidad de realizar uno de mis sueños y por confiar en mi; gracias por su cariño y apoyo constante, por guiarme en cada uno de mis pasos, por tanto esfuerzo y sacrificio el cual sabré aprovechar de la mejor manera como persona y como profesionista; sin ustedes no hubiera podido lograr este primer triunfo que también es suyo por todo eso y más los admiro, los quiero y con nada podré pagar lo que han hecho por mi.

A mis Hermanas y cuñados: Maria Guadalupe, Olga Lidia, Martha Esmeralda, Jesica, Rafael, Hugo, Antonio

Le agradezco a dios por que me brindo la oportunidad de tenerlas como hermanas, por todo su apoyo brindado durante todo este tiempo, no tengo con que pagarles el que siempre estuvieron conmigo en mis éxitos y derrotas. Aunque en ocasiones peleamos mucho, las quiero y admiro por todas sus virtudes.

A mis cuñados por todo su apoyo y confianza brindada gracias por estar conmigo en los momentos en los que requiero de su compañía y consejos.

A mi asesora Cecilia Rosario Cortes

Gracias por asesorarme y guiarme en la realización de este trabajo, por su apoyo, interés y disposición brindada durante este tiempo. Por su tolerancia y dedicación. Quiero que sepa que la admiro y la respeto como persona y como profesionista y que he aprendido mucho de usted.

Dra. Margarita Arreguin Nava

Por que sin su apoyo y confianza brindada no habría logrado este objetivo que significa mucho para mi y para mi carrera profesional. Gracias por sus consejos y su apoyo que me guiaron en la realización de este trabajo. Admiro y respeto su profesionalismo y dedicación a todo lo que realiza.

Dra. Laura Patricia Noe Martínez

Le agradezco por todo el apoyo que me brindo, al aceptarme en la estancia en el laboratorio de virología, por sus consejos y por su disposición, la admiro y respeto como profesora y profesionista.

Dra. Magdalena Escorcía Martínez

Le agradezco por todo aquello que me brindo, por sus consejos y tolerancia que estoy segura que en este momento y siempre me servirán para que cada día sea mejor profesionista.

A mis amigos: Cecilia, Eufemia, Jesús, Abigail, Alma y Deyanira

Por todos esos grandes momentos que pasamos, que nunca olvidare y por todos aquellos tropiezos que tuvimos y que superamos juntos; su compañía y su amistad me ayudaron a mantenerme y superarme cada día más hasta llegar al final de este ciclo y que a pesar de que esto se termine nuestra amistad seguirá y siempre estarán en mi mente, en mi corazón agradeciéndoles su apoyo sin límites.

QFB. Hugo Cuenca Pardo

Por depositar su confianza en mí, por ayudarme y guiarme en la realización de mis actividades laborales, por darme la oportunidad de que con su ejemplo me desempeñe exitosamente.

QFB. Marisol Peña Canales y Salvador Sánchez

Gracias por compartir sus conocimientos, espacio, amistad y por todo el apoyo brindado durante mi servicio los cuales fueron muy gratificantes y significaran mucho de ahora en adelante.

DEDICATORIA

A mi papá Jesús Cruz Martínez

A mi mamá Martha Rojas de Cruz

A mis hermanas: Lupe, Olga, Martha y Jesica

A mis cuñados: Rafa, Hugo y Toño

A mis tíos Rogelio y Socorro

A los MVZ Gustavo y Gabriela

RESUMEN

CRUZ ROJAS KARINA. Informe final sobre las actividades realizadas durante el Trabajo Profesional Supervisado en aves en la modalidad: Diagnostico en el área de Aseguramiento de Calidad bajo la supervisión de la Dra. Cecilia Rosario Cortes.

Se describe las actividades realizadas en el laboratorio de Aseguramiento de calidad en donde se verifica la calidad de biológicos empleados en la industria avícola. Dándole un enfoque general de como esta integrada y cada prueba que se realiza en la producción de estos ya que están designados para la prevención y control de enfermedades en las aves.

Índice

Introducción.....	1
Objetivo general.....	3
Contenido.....	3
Inspección y pruebas de producto en proceso	
Introducción.....	4
Inspección y control de ingreso de materia prima.....	8
Recepción administrativa	
Documentación requerida al proveedor.....	8
Certificado de análisis y/o calidad del producto.....	9
Hoja de seguridad.....	9
Recepción física	
Identificación física del producto.....	10
Cantidad de producto recibida.....	10
Presentación del producto.....	10
Certificado de análisis y/o calidad.....	11
Pre-liberación de materia prima.....	11
Muestreo de materia prima	
Material de empaque primario.....	12
Material de empaque secundario.....	13
Pruebas realizadas en el proceso de fabricación de vacunas emulsionadas	
Introducción.....	16
Titulación en embrión de pollo	
Virus de Newcastle.....	17
Virus de Influenza Aviar.....	17
Método de Reed y Muench.....	20
Virus de Bronquitis infecciosa.....	21
Titulación de bacteria	
<i>Pasteurella multocida y haemolitica</i>	23
<i>Avibacterium paragallinarum</i>	24
Medios de cultivo	
Introducción.....	27
Esterilización de medios de cultivo.....	30

Pruebas de esterilización en fluidos inactivados	
Desarrollo de la prueba.....	31
Prueba de inactivación de virus de Influenza, Newcastle, Bronquitis infecciosa	
Desarrollo de la prueba.....	32
Pruebas en producto terminado	
Introducción.....	34
Prueba de esterilidad en vacunas emulsionadas.....	34
Calidad de la emulsión.....	37
Estabilidad de la emulsión.....	37
Contenido de formol residual en vacunas emulsionadas.....	37
Verificación de volumen de llenado.....	38
Producto liberado.....	38
Enfermedad de Newcastle	
Historia.....	39
Etiología.....	40
Epidemiología.....	41
Transmisión de la enfermedad.....	41
Signos y Lesiones.....	42
Diagnostico diferencial.....	42
Diagnostico de laboratorio.....	43
Medidas de prevención.....	43
Discusión.....	44
Bibliografía.....	45

Introducción

La industria avícola mexicana ha logrado consolidarse a lo largo de los años como la actividad pecuaria más importante de México. Su crecimiento y desarrollo se ha fundamentado en el esfuerzo de los avicultores mexicanos, quienes han procurado mantener una industria fuerte y vanguardista en todos los niveles productivos; como parte de su fortaleza está la tasa de crecimiento anual sostenida de alrededor de 5%, cuya producción registró un valor superior a los 54 mil millones de pesos en el 2005.

El sector avícola mexicano participa con el 63.2% de la producción pecuaria, 33% aporta la producción de pollo, 30.1% la producción de huevo y 0.20% la producción de pavo.

De 1994 a 2005 el consumo de insumos agrícolas ha crecido a un ritmo anual de 3.9%, cabe destacar que la avicultura es la principal industria transformadora de proteína vegetal en proteína animal. México cuenta con una parvada de más de 130 millones de gallinas ponedoras, 243 millones de pollos al ciclo y 865 mil pavos por ciclo (1).

La producción de aves en confinamiento y de manera intensiva (característica principal de la avicultura industrial), aunada a la genética enfocada a la obtención de mejores resultados de rendimiento, crea la necesidad de controlar rigurosamente las enfermedades.

Con el alto precio de los productos farmacéuticos, la industria tiende a reducir considerablemente los esquemas terapéuticos, por lo que es preferible el uso de métodos profilácticos, evitando en la medida de lo posible los tratamientos medicamentosos. Los métodos preventivos o profilácticos comprenden una serie de medidas sanitarias y de higiene como el aislamiento de las parvadas, sistemas de producción todo dentro–todo fuera, limpieza, desinfección, dejar vacías las casetas entre parvadas, control sistemático del tránsito en la granja y las vacunaciones. Las vacunas para las infecciones virales pueden ser elaboradas con virus activos o inactivados en laboratorio. Estos microorganismos se administran a las aves con la finalidad de prevenir la aparición de enfermedades, o por lo menos, de los signos indeseables como mortalidad, diarrea, estornudos o estertores (1).

Cuando se vacuna a un ave todo su sistema inmune (o de defensa) se movilizará para reconocer al virus presente en la vacuna, que en este caso es

un antígeno extraño al organismo del animal. Este agente será atacado y de alguna manera expulsado o eliminado por el sistema inmune. Después de este proceso, el organismo del ave guardará información en ciertas células de memoria para que esté apto para defenderse eficazmente y responder en forma adecuada a la infección cuando se presente una segunda agresión causada por el mismo agente.

Vías de Administración

Cada frasco del biológico posee un número determinado de virus, que precisan ser manejados adecuadamente durante la aplicación de la vacuna a la parvada. En la avicultura industrial existen varios métodos de vacunación empleados en la práctica para proporcionar a cada animal una dosis efectiva de la vacuna.

Las vías de administración se pueden clasificar en individuales o masivas. De manera general, las vacunas individuales proporcionan una mejor protección, aunque la mano de obra es más costosa. La vacunación masiva es más ventajosa en lo referente a la mano de obra, pero no proporciona un nivel de protección uniforme

Vías de administración individuales:

1. Ocular
2. Nasal
3. Punción a través de la membrana del ala
4. Inyectable

Vías de administración masiva:

5. Agua de bebida
6. Aspersión

Desde otro punto de vista, podemos clasificar a las vacunas en dos grupos:

Vacunas activas: Pueden ser congeladas (para uso en la incubadora) o liofilizadas (para uso en la incubadora o en el campo).

Vacunas inactivadas: Pueden tener un vehículo acuoso u oleoso. Las vacunas elaboradas con bacterias muertas se denominan bacterinas, pero si contienen virus se les conoce como vacunas inactivadas (19).

Vacunas inactivadas

Las vacunas oleosas desempeñan un papel muy importante en la industria avícola, su uso estimula un alto nivel de protección inmunológica y de larga duración. En las granjas de reproductoras permiten la protección de la progenie desde el primer día de edad mediante anticuerpos maternos.

Una emulsión es una mezcla estable de dos líquidos incompatibles. Las vacunas oleosas están compuestas con aceite, agua (que contiene al antígeno) y surfactantes. La fase acuosa, en la que está incluido el material antigénico se dispersa en la mezcla en forma de glóbulos microscópicos y se le denomina fase interna o discontinua. El aceite envuelve a los microglóbulos de agua y se llama fase externa o continua. La mayoría de las vacunas oleosas contiene aceites minerales que no son metabolizables. Los surfactantes se agregan a las dos fases para ayudar a formar la emulsión y dar estabilidad a la mezcla.

Este tipo de vacunas se debe almacenar entre 2 y 7°C, y es necesario evitar la congelación o el calentamiento. Si durante el almacenaje de las vacunas oleosas no existe un adecuado manejo de la temperatura, la emulsión puede deshacerse y terminar así con la “vida” de la vacuna (19).

Objetivo General

Participar en la realización de los métodos de prueba empleados para verificar la calidad de las vacunas emulsionadas durante el proceso de elaboración de las mismas para asegurar que los productos cumplen con las características requeridas para su uso.

Contenido

Durante el desarrollo del trabajo profesional, se realizó una estancia en una empresa que fabrica productos biológicos para aves. Según la Norma oficial mexicana NOM-052-ZOO-1995, un biológico es aquel producto elaborado a partir de organismos vivos, sus componentes o productos de su metabolismo, así como de hemoderivados, que se emplean en el diagnóstico, prevención o tratamiento específico de las enfermedades infecciosas de los animales.

Entre los productos que se elaboran en esta empresa se encuentran las vacunas emulsionadas para las enfermedades de Newcastle, influenza aviar, bronquitis infecciosa, cólera aviar y coriza infecciosa. La estancia se realizó en

el área de aseguramiento de calidad. En ésta se lleva a cabo el conjunto de actividades necesarias para asegurar que los productos cumplen con las características requeridas para su uso. La estancia realizada tuvo una duración de 5 meses durante los cuales se efectuaron las siguientes pruebas:

- Pruebas de producto en proceso
 - Recepción, inspección, muestreo y evaluación de materia prima.
 - Titulación de líquido alantoideo para los virus de Newcastle, influenza aviar, bronquitis infecciosa, y bacterias como *Haemophilus paragallinarum*, *Pasteurella multocida* y *P. haemolytica*.
 - Prueba de esterilidad en los bidones inactivados para los virus antes mencionados.
 - Pruebas de inactivación para los virus antes mencionados.
 - Preparación de medios de cultivo.
- Pruebas en producto terminado
 - Prueba de esterilidad de vacunas emulsionadas.
 - Prueba de estabilidad de la emulsión.
 - Porcentaje de formol residual en vacunas emulsionadas.
 - Estabilidad de la emulsión.
 - Determinación de volumen de las vacunas.

INSPECCIÓN Y PRUEBAS DE PRODUCTO EN PROCESO

Este procedimiento incluye todas las actividades de inspección durante el proceso, así como la verificación de los elementos involucrados durante el mismo; tiene como objetivo asegurar que la calidad de los productos y las condiciones de operación cumplan con los requerimientos establecidos por la empresa, a través de la inspección que durante el proceso de fabricación.

La función de los analistas de calidad es aprobar y liberar cada uno de los procesos y productos durante la fabricación, así como verificar que se cumpla con lo establecido en el método de inspección y análisis correspondiente, en las especificaciones aplicables y los respectivos procedimientos estándar de operación, además de los métodos de prevención aplicables para cada característica crítica. Paralelamente, el personal de producción también es responsable de realizar las inspecciones correspondientes y necesarias para asegurar la calidad del producto y prevenir en lo posible cualquier falla o discrepancia. Es importante recordar que la calidad es responsabilidad de todos, pero sobre todo del que produce la vacuna.

De acuerdo a las necesidades propias del proceso de fabricación de cada producto y en función a los puntos críticos de ciertas características de éste, se han definido los métodos de inspección aplicados directamente en el proceso de elaboración por el gerente de aseguramiento de calidad.

Vacunas con virus o bacterias inactivados

Debido a sus características, la mayoría de las inspecciones para estos productos son de tipo analítico, por lo que se realizan las siguientes pruebas:

Prueba de hemoaglutinación (HA)

Mejor conocida como la prueba de HA, se realiza en microplaca a las 48 y 72 horas de la inoculación del virus en el embrión de pollo y durante la cosecha. Esta misma prueba se realiza a los bidones que han permanecido durante mucho tiempo en el cuarto frío.

Prueba de inactivación

Esta prueba es realizada 72 horas después de que el virus o la bacteria han sido inactivados, para verificar que se mantiene estéril después del tiempo transcurrido y que cumple con los requerimientos establecido por los métodos internos de la empresa.

Titulación

Esta prueba se realiza directamente en una muestra de líquido alantoideo del embrión de pollo inoculado para verificar el título de la cosecha y así prever el nivel que alcanzará la misma para cumplir con los requerimientos del producto y en su caso, tomar las acciones correctivas necesarias.

Prueba de esterilidad

Básicamente, esta prueba se realiza a todos los virus y bacterias almacenados en bidones para verificar que no existe contaminación de algún patógeno extraño hasta ese momento, y que se encuentren listos para ser utilizados en la preparación de las distintas vacunas inactivadas.

Verificación de la esterilidad durante el proceso de muestreo de bidones

Antes de iniciar el proceso, el personal de aseguramiento de calidad coloca en varias zonas del cuarto de proceso 6 cajas de petri para realizar el monitoreo ambiental y verificar que no existen contaminantes en el ambiente de trabajo que afecten la operación.

Preparación de la vacuna

Durante el proceso de preparación de la vacuna, el analista de aseguramiento de calidad verifica que todos los elementos (fluidos, aceite mineral, botellas y tapones) cumplan con los requisitos de esterilidad. Por otra parte, una vez preparada y mezclada la vacuna, el analista de aseguramiento de calidad verifica la consistencia de la vacuna, inspeccionando que se encuentre debidamente homogenizada y que todos los ingredientes estén perfectamente incorporados.

Llenado del frasco con el producto

Durante el proceso de llenado de vacuna, tanto analista de aseguramiento de calidad, como el responsable del proceso, deben verificar que las condiciones de asepsia y desinfección del área de llenado sean las adecuadas de acuerdo a las instrucciones escritas en el manual de procedimientos.

Otra característica que se revisa es el volumen de llenado para lo cual, el analista procede a verificar que el contenido de los frascos sea el correcto (normalmente 500 mililitros). Finalmente, el analista verifica mediante inspección visual que el sellado y engargolado de los frascos sea correcto y no se presenten fugas de producto, además la tapa de aluminio no debe presentar roturas ni deformaciones.

Frecuencia de inspección

Debido a la naturaleza de los distintos productos que se fabrican, y tomando en cuenta los puntos críticos en algunos procesos, no es posible establecer una frecuencia definida o periódica de inspección, por lo que las frecuencias, tiempos, intervenciones, muestreos, pruebas y recorridos quedan a libre criterio y decisión del departamento de aseguramiento de calidad, pero por lo menos se debe tener registrado un evento de cada inspección referida en el procedimiento.

Registro de la inspección

Con el fin de mantener un registro formal, centralizado y con un formato definido que permita una consulta fácil y rápida de los datos contenidos tanto para el personal de aseguramiento de calidad, como de producción o cualquier otro interesado, los formatos aplicables son emitidos en cuadernos empastados y con hojas foliadas para asegurar el adecuado control de los registros.

Identificación del producto en proceso

De acuerdo a lo establecido en el procedimiento y dependiendo del resultado de la inspección o prueba realizada al producto en proceso, el producto en cuestión es identificado según corresponda.

Control de los registros

En cumplimiento con lo establecido en el procedimiento, y para los efectos correspondientes, los registros de las inspecciones realizadas son controlados, resguardados y preservados apropiadamente por el responsable del área. El

manejo y registro en los cuadernos es de uso exclusivo del personal de aseguramiento de calidad (10).

INSPECCIÓN Y CONTROL DE INGRESO DE MATERIAS PRIMAS

Tiene como objetivo establecer los lineamientos y directrices generales a seguir para la inspección, aceptación y en su caso rechazo de los materiales utilizados por la empresa, con el fin de tener un mejor control, tanto de la calidad, como de la cantidad de cada materia prima que ingresa.

Este procedimiento aplica a todas las materias primas productivas y materiales de empaque utilizados en la fabricación de todos los productos de la empresa e involucra a las áreas de compras, aseguramiento de calidad y producción.

Para asegurar la calidad de los productos desde que las materias primas que se reciben, es un requisito imprescindible que todos los involucrados cumplan y se ajusten a los lineamientos y exigencias establecidas en este procedimiento.

Recepción Administrativa

Horarios de recepción

Salvo las excepciones que serán analizadas y consideradas en su momento para que su atención y recepción sea inmediata, todo proveedor de materias primas productivas debe hacer la entrega de su mercancía dentro del horario establecido y acordado por los departamentos de compras y de aseguramiento de calidad.

Documentación requerida al proveedor

Para efecto de recibir la mercancía de un proveedor, éste debe presentar en cada entrega por lo menos los siguientes documentos:

- Factura original y por lo menos una copia de la misma, o en su defecto, una nota de remisión.
- Certificado de análisis o de calidad del producto que se está entregando.
- Copia o referencia del número de la orden de compra emitida por la empresa.

- Hoja de seguridad del producto.

Al momento de que el proveedor llega a las instalaciones, es responsabilidad de la recepción notificar inmediatamente al departamento de aseguramiento de calidad, tanto la razón social, como el producto que viene a entregar, para que el analista de calidad prepare la información pertinente para recibir el producto. Si el proveedor cumple con los 4 documentos requeridos, el analista de calidad procede a revisar que dichos documentos contengan los datos mínimos del producto como:

- Datos del destinatario con su respectiva dirección.
- Descripción clara y precisa del producto a entregar, y que corresponda con lo estipulado en la orden de compra, incluyendo, en lo posible, número de catálogo, color, tamaño de partícula, presentación, número de lote y fecha de caducidad.
- Cantidad que corresponda con lo indicado en la orden de compra (en el caso de entregas parciales, se debe hacer la indicación correspondiente). Si se trata de material de empaque (cajas y etiquetas), es posible aceptar un diferencial de más o menos 10% por cuestiones de tiraje.
- El costo unitario y costo total deben corresponder a lo establecido en la orden de compra. Si existen discrepancia en los costos, es motivo de rechazo de la entrega.

Certificado de análisis o calidad del producto

Se debe de realizar una descripción clara y precisa del material a entregar que corresponda con lo indicado en la orden de compra y la factura que ampara la entrega, incluyendo en lo posible el número de catálogo, color, grano y presentación. El incumplimiento de este requisito es motivo de rechazo de la materia prima.

Hoja de seguridad

Debe ser elaborada por el proveedor y contar con nombres del producto, características fisicoquímicas como riesgos de fuego o explosión, reactividad,

riesgos para la salud animal, emergencias y primeros auxilios. Este documento debe venir firmado por el emisor responsable.

Recepción física

Para realizar la recepción física de la materia prima, el analista de calidad debe indicar al proveedor el lugar donde debe ser descargado el material para ser revisado. Los puntos que se deben inspeccionar, son los siguientes:

Identificación física del producto

El personal de calidad debe revisar que todos los bultos, recipientes, contenedores estén debidamente identificados con los datos necesarios como:

- Descripción del producto
- Contenido neto (litros, kilos, piezas)
- Número de parte, clave o código de identificación
- Número de lote
- Fecha de caducidad (si aplica y no debe ser menor a la vigencia del producto terminado)

Cantidad de producto recibida

El personal de calidad debe revisar que la cantidad de producto indicada en la factura y orden de compra corresponda a lo entregado físicamente, por lo que (en caso de ser necesario y con ayuda del almacenista) se debe pesar, medir o contar el producto con ayuda de la báscula dispuesta en el área o contar el número de bultos, recipientes o contenedores entregados.

Presentación del producto

Con ayuda de la información contenida en el formato “Método de inspección y análisis de la materia prima”, la persona de calidad debe revisar que la presentación o empaque del producto corresponda a lo indicado en el documento de referencia, aunque no es un requisito indispensable, ya que de no estar declarado en el contrato de compra, el proveedor se puede reservar el derecho de cambiar dicha presentación, siempre y cuando no afecte las

propiedades, integridad ni calidad del producto. De igual manera, el personal de calidad debe verificar que el empaque venga cerrado y sellado para asegurar que el material no haya sufrido alteraciones o contaminación durante el traslado.

Certificado de análisis o calidad

Este certificado es un requisito indispensable para toda materia prima productiva que ingrese a la empresa, por lo que el incumplimiento de este requisito es motivo de rechazo; ya que sin el documento no es posible conocer la calidad del producto. El analista de calidad debe revisar que el documento cumpla por lo menos con los siguientes requisitos:

- Que los datos de identificación del producto en la etiqueta (nombre y número de lote) coincidan con los asentados en el certificado.
- Que las pruebas realizadas y los resultados obtenidos sean claros y satisfactorios.
- Nombre y firma del responsable de la emisión del certificado y que éste contenga las especificaciones de prueba y su respectivo resultado.
- Certificado emitido que contenga el logotipo o la razón social responsable del producto o del análisis al mismo (es indistinto si es original o copia, con la condición de que sea legible).
- La fecha de caducidad debe corresponder con lo indicado en la etiqueta de empaque y tener una vigencia igual o mayor a la del producto terminado

Liberación previa de la materia prima

De acuerdo a lo establecido, si la materia prima cumple con los requerimientos puede ser pre-liberada en el mismo momento de la recepción física para que el proveedor pueda tramitar su pago. Cabe hacer la aclaración de que, el hecho de realizar esta liberación, no exenta al proveedor de la responsabilidad total del cumplimiento del material en todas sus propiedades y características por lo

que cualquier discrepancia con lo establecido en las especificaciones puede ser motivo de rechazo.

Muestreo de materia prima

Ya sea en el momento de la recepción o posteriormente, se debe proceder a muestrear la materia prima considerando las siguientes indicaciones:

- Para el caso de los materiales e insumos que se cuentan en unidades individuales (frascos, etiquetas, tapones) son aplicados directamente los criterios de muestreo indicados en las tablas de referencia. Cabe aclarar, que aunque son unidades individuales, la unidad de muestreo la determina el personal de calidad, según el empaque o presentación de cada material.

El material de empaque para las vacunas se divide en primario (es el que está en contacto directo con la vacuna), como frascos y secundarios (no está en contacto directo con la vacuna), como tapón de hule, tapón de aluminio etiqueta e instructivos.

Material de empaque primario

Frasco para vacuna

El frasco llega en bolsas de plástico de 50 piezas (figura 1). Se obtienen al azar 5 frascos de 3 paquetes, aunque el número de muestra es determinado por el analista de calidad.

El frasco debe tener las siguientes características

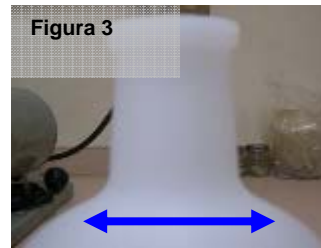
- Frasco tipo ampolleta de 500 ml
- Material: Polietileno de alta densidad
- Color: Natural
- Peso: 72 a 74 gr.
- En la parte superior debe estar marcado con número 500 ml.
- Debe tener las siguientes medidas:



Figura 1

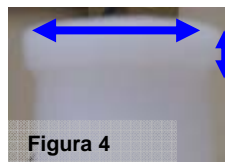


76.0 – 77.0 mm



28.4-28.8 mm

Díámetro de 15.1 – 15.5 mm



5.1 – 5.5 mm

Material de empaque secundario

Tapón tachuela

El tapón llega en cajas de cartón con 4000 piezas (figura 5).

Se obtiene al azar 20 tapones por caja, aunque el número de muestra es determinado por el analista de calidad.

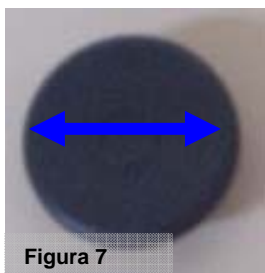


El tapón debe tener las siguientes características (figura 6).

- Material: Hule
- Tamaño: 30 mm
- Color: Gris
- Limpio
- Sin manchas

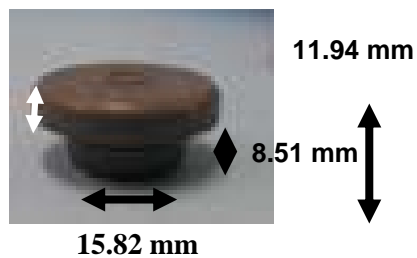


El tapón debe tener las siguientes medidas (figura 7, 8)



3.43 mm

Figura 8



Tapón de aluminio

El tapón de aluminio llega en cajas con 4000 piezas (figura 9).

Se obtiene al azar 20 tapones por caja, aunque el número de muestra es determinado por el analista de calidad.



El tapón debe tener las siguientes características (figura 10):

- Consistencia rígida
- Libre de rebabas
- Superficie externa mate
- Sin manchas
- Tamaño: 30 mm
- Material: Aluminio
- Color: Aluminio mate



El tapón debe tener las siguientes medidas (figura 11, 12, 13)



Figura 11

15.09 mm



Figura 12

9.91 mm



Figura 13

29.52 mm

Etiqueta

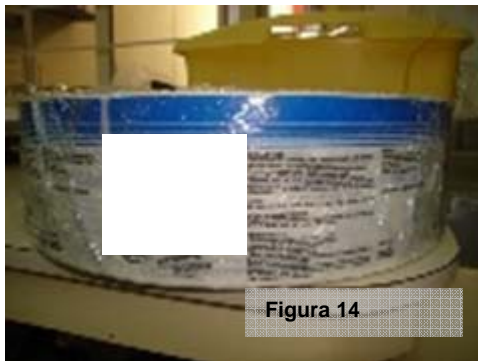


Figura 14

La etiqueta tiene una presentación en rollo (figura 14), y su número varía de acuerdo a las necesidades de producción. Éstas deben de compararse con el formato interno de la empresa y presentar las siguientes características:

- Tiene una medida de 80 mm de ancho por 170 mm de largo (figura 15)

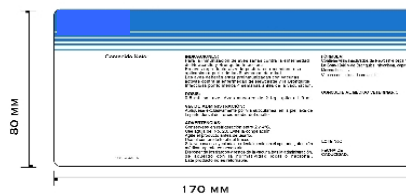


Figura 15

- El instructivo no debe tener ningún error en la redacción.
- El formato tiene en la parte inferior el número del color de la etiqueta, el cual se compara con un abanico de colores utilizando un fondo blanco (figura 16, 17).



Figura 16



Figura 17



Si el frasco, tapón de hule, tapón de aluminio y etiqueta están en perfectas condiciones se le coloca el sello de **APROBADO** con los datos de la persona que revisó el producto y la fecha de liberación, una vez hecho esto, puede ser utilizado por producción (figura 18).

PRUEBAS REALIZADAS EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN DE VACUNAS EMULSIONADAS

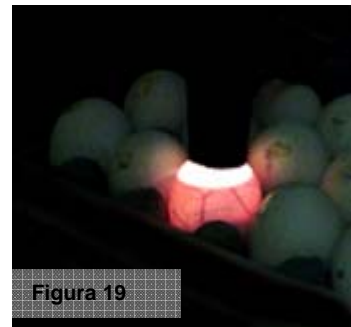
El inicio del proceso de la fabricación de las vacunas emulsionadas comienza con la recepción del embrión de 9 y 10 días de edad. Posteriormente, el personal del área de producción inoculan los embriones con el virus de la enfermedad de Newcastle, influenza aviar o bronquitis infecciosa, dependiendo de las necesidades de la empresa y conforme a instrucciones de la gerencia de producción. Una vez que se ha inoculado el embrión, se incuba a 37°C por 72 horas, al final de las cuales se realiza la cosecha del líquido alantoideo y se almacena en bidones de 20 litros a 4°C, los cuales son identificados con clave y nombre del producto, así como lote y fecha en que se realizó la cosecha.

Al inicio de la inoculación, el personal de calidad debe obtener la muestra de la semilla de trabajo para verificar la pureza del inóculo, la cual se siembra en agar cerebro corazón y se incuba a 37° C; mientras que en agar dextrosa sabouraud se incuba a 22 ° C

TITULACIÓN DOSIS INFECTANTE EN EMBRIÓN DE POLLO 50% /ml DE NEWCASTLE E INFLUENZA AVIAR

Una vez que el personal del área de producción obtuvo la cosecha, el personal de calidad debe obtener una muestra de 100 ml de todos los bidones del lote para determinar la dosis infectante en embrión de pollo (DIEP) al 50%/ml de las cosechas de virus de la enfermedad de Newcastle cepa La Sota e Influenza aviar H₅N₂.

Se necesita revisar con el ovoscopio 40 embriones tipo Alpes II de 9 a 11 días de edad (figura 19). Se debe marcar el límite de la cámara de aire y el punto de inoculación (un lugar donde no haya vasos sanguíneos



ni el cuerpo del embrión). Se debe

desinfectar la superficie del huevo con una solución de yodo e identificarlos con el número de lote y dilución a inocular (Figura

20). Los embriones se mantienen en incubación hasta su uso.

Posteriormente, se realiza la dilución del fluido, para ello se necesitan 10 tubos con 9 ml de PBS a una concentración de 1% y se le agrega antibiótico, las actividades a desarrollar se realizarán en la campana de flujo laminar. Se debe realizar diluciones décuples seriadas (10^{-1} a 10^{-10}) del fluido cosechado como se explica a continuación:



- Colocar 1 ml del fluido cosechado en el tubo número uno con ayuda de una pipeta estéril.
- Mezclar con vortex la suspensión durante 15 segundos (figura 21)
- Pasar 1 ml de la suspensión del tubo número uno al tubo número dos y repetir el procedimiento hasta el tubo número diez cambiando de pipeta entre dilución y dilución y al final desechar 1 ml

Posteriormente se perfora el cascarón en el punto de inoculación, que está a 2 milímetros en la parte superior de la marca que delimita la cámara de aire.

Inocular la dilución 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} y 10^{-7} vía cavidad alantoidea (figura 22 y 23). Se usan 5 embriones por dilución inoculando 0.2 mililitros por cada uno, se debe utilizar una jeringa de tuberculina con capacidad para 1 ml con aguja de 25 X 16 mm.

Inoculación vía cavidad alantoidea



Figura 22

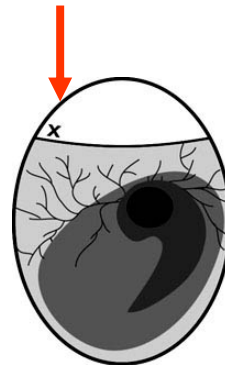


Figura 23

Cortesía del MVZ Leo Dudnikov

La incubación de embriones se realiza a una temperatura de 37° C de 3 a 5 días (figura 24) y se debe registrar la mortalidad diariamente.

Los embriones muertos durante las primeras 24 horas post-inoculación son descartados, ya que se considera que la mortalidad se debió a traumatismos (no a la enfermedad de Newcastle).



Figura 24

Para que la prueba sea estadísticamente aceptable, deberá existir un 80% de viabilidad de los embriones.

Prueba de hemoaglutinación rápida en placa

Los embriones muertos a partir de las 48 horas post-inoculación deberán ser muestreados. Se deben de mantener en refrigeración los embriones antes de comenzar la prueba de HA, al menos durante 30 minutos y no se debe congelar. Posteriormente, se corta el cascarón de los embriones a nivel de la cámara de aire, comenzando por la dilución 10^{-10} . En una placa de

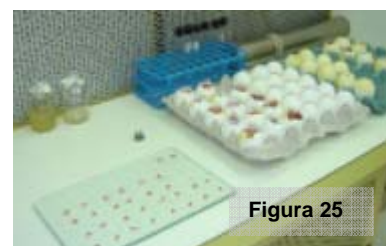


Figura 25

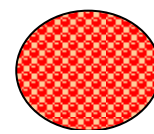
vidrio para HA, con ayuda de una jeringa con capacidad de 1 ml con aguja de 16 x 25 mm, se coloca 0.05 ml del fluido alantoideo de cada uno de los embriones sobrevivientes después del periodo de incubación. Se colocan dos gotas de la solución de eritrocitos al 2% sobre la muestra de fluido alantoideo (figura 25). Mezclar la solución mediante movimientos oscilatorios suaves durante 10 seg. y repetir este procedimiento con cada una de las diluciones.

Interpretación de resultados

El resultado se considera positivo cuando se presenta el fenómeno de hemoaglutinación; éste se observa a manera de grumos o gránulos sobre la superficie de la placa, en ocasiones, puede ser observado únicamente en el contorno de la mezcla (figura 26).



Negativa



Positiva

Los resultados son anotados de acuerdo al número de muestras positivas y el número de muestras probadas, y el título es obtenido, mediante la fórmula de Reed and Muench (10).

Método de Reed y Münch

En el cuadro 1 se muestra la técnica de Reed y Münch. En la primera columna se presentan las diluciones inoculadas, en la segunda el número de embriones positivos a la replicación viral. Las dos siguientes muestran el número acumulado obtenido de la segunda y la tercer columnas. El número acumulado de embriones positivos es calculado asumiendo que si el huésped o sistema inoculado resulta afectado a una determinada dilución la siguiente (menor dilución), también afecta al sistema o huésped ya que contiene una

concentración mayor de virus. En forma similar, el número acumulado de embriones negativos es calculado asumiendo que si el sistema o huésped no fue afectado a una dilución determinada, entonces la próxima dilución mayor tampoco afectará al huésped o sistema, ya que contiene una concentración menor de virus. Por esta razón, el número de embriones positivos es sumado empezando por la dilución más alta, mientras que el número de huésped negativo es sumado empezando por la dilución más baja.

Una vez que las cifras acumuladas han sido determinadas, se calcula la proporción del número total de huéspedes inoculados por cada dilución; de lo anterior se obtiene un porcentaje del número de huéspedes afectados y se determinan las dos diluciones entre las cuales se encuentra el punto final 50%

Cuadro 1. Técnica de Reed y Munch

Dilución		+	-	+ Acum	- Acum	Total	%
10 ¹⁰	0/5	0	5	0	10	0/10	0
10 ⁹	1/5	1	4	1	5	1/6	16
10 ⁸	4/5	4	1	5	1	5/6	83
10 ⁷	5/5	5	0	10	0	10/10	100

Utilizando las cifras de la tabla, se encuentra que el punto final 50% se encuentra entre las diluciones 10⁻⁸ (83%) y 10⁻⁹ (16%). Para calcular la distancia proporcional entre 10⁻⁸ y 10⁻⁹ se utiliza la siguiente formula:

$$D_p = \frac{\%>50\% - 50}{\%>50\% - \%<50\%} = \frac{83 - 50}{83 - 16} = \frac{33}{67} = 0.49$$

Se toma en cuenta la dilución más alta al 50%, entonces tenemos como resultado: 10^{8.49} a este resultado se le suma 0.7 para obtener la concentración final.

Titulo = **10^{9.19} DIEP 50%/ml**

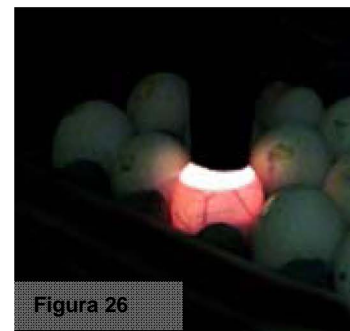
Cuando la mortalidad de los embriones de cada dilución, así como de los controles sea mayor al 20% la prueba deberá repetirse, y los resultados se determinan como no concluyentes. El titulo no debe ser menor a 10⁹ DIEP

50%/ml para ambas enfermedades según la norma oficial mexicana NOM-052 y la norma oficial mexicana NOM-055 (11, 12).

TITULACIÓN DIEP 50%/ml. DE BRONQUITIS IB-41 Y ZUMPANGO

Una vez que se obtuvo la cosecha, el personal de calidad debe obtener una muestra de 100 ml de todos los bidones del mismo lote para determinar la dosis infectante en embrión de pollo al 50%/ml de las cosechas de virus de bronquitis infecciosa cepas IB-41 y Zumpango. La prueba se realiza por duplicado.

Se revisan con el ovoscopio 50 huevos embrionados tipo Alpes II de 9 a 11 días de edad para verificar que estos se encuentran vivos, para ser usados en la prueba de titulación. Se marca el punto de inoculación en los huevos embrionados y el límite de la cámara de aire del huevo (figura 26). Se debe identificar cada uno de los huevos embrionados que serán utilizados.



Las actividades a desarrollar se realizarán en la campana de flujo laminar. Se deben llenar tubos con 9 ml de solución PBS al 1% con antibiótico (penicilina-estreptomicina).

Hacer diluciones décuples seriadas (10^{-1} a 10^{-8}) del fluido cosechado en los tubos con la solución de PBS.

Inoculación del fluido diluido

Posteriormente se debe desinfectar la superficie a inocular con una solución desinfectante de yodo. Una vez que ha secado la solución, se procede a perforar el cascarón a 2 milímetros de la marca que delimita la cámara de aire, inocular 0.2 mililitros de la dilución 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} y 10^{-5} por vía cavidad alantoidea en 5 huevos embrionados de pollo de 9 a 11 días de edad por dilución, dejando 5 embriones como testigo.

Inoculación vía cavidad alantoidea

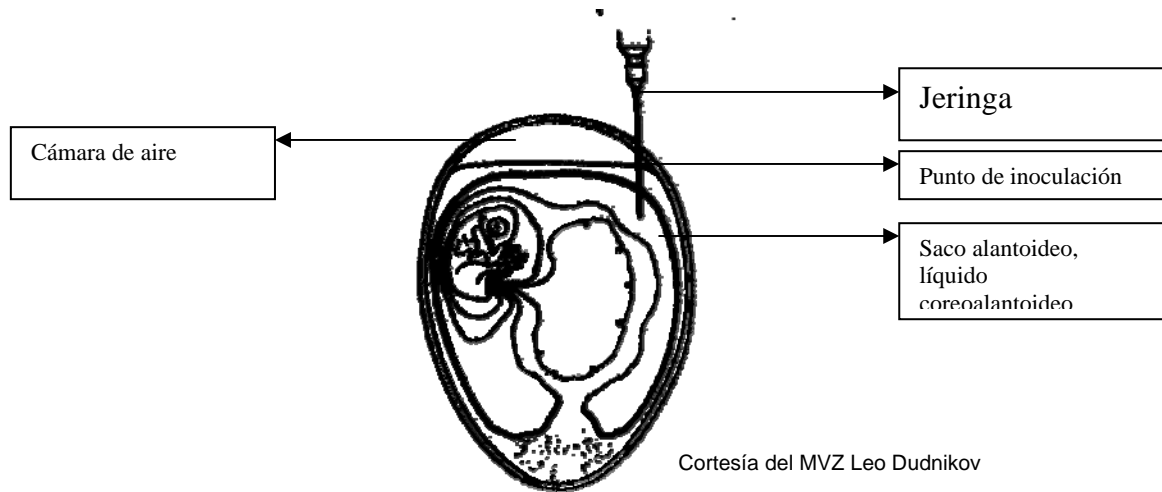


Figura 27

Los embriones se incuban a 37° C por 7 días, y se revisan diariamente registrando la mortalidad, incluidos los testigos. Los embriones muertos durante las primera 24 horas de incubación son descartados y los embriones muertos durante el periodo de 48 hrs. a 7 días se les extrae líquido alantoideo para realizar la prueba de aglutinación en placa para determinar la ausencia de virus hemaglutinantes. Posteriormente, se corta el cascarón de los embriones vivos con ayuda de unas pinzas curvas, eliminando las membranas y fluidos embrionarios para extraer el embrión de cada huevo y se colocan sobre una cubierta plástica formando una fila (por cada dilución). El título es obtenido, mediante la formula de Reed and Muench, el cual debe ser **10⁸ DIEP 50%/ml**. Este título es establecido por la empresa. Los embriones muertos a las 24 horas no son contados, y sólo se consideran positivos aquellos que presenten lesiones como: enanismo, encorvamiento, malformaciones, hemorragias y muerte dentro de un periodo de 2 a 7 días de incubación después de la inoculación.

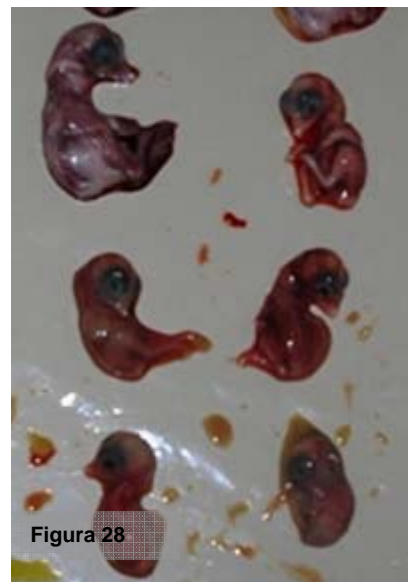


Figura 28



Figura 29

Los embriones muertos 24 horas después de la inoculación serán contabilizados como positivos

solo si resultan negativos a la presencia de virus hemaglutinantes.

Cortesía de la MVZ Margarita Arreguin

Cuando la mortalidad de los embriones de cada dilución, así como de los testigos, es mayor al 20% la prueba deberá repetirse, y reportarse los resultados como no concluyentes (10).

TITULACIÓN DE *Pasteurella multocida* o *P. haemolytica*

Cada lote de cosecha de *Pasteurella multocida* y *P. haemolítica* deberá ser titulada para obtener el título UFC al 50% /ml.

La muestra es obtenida de caldo nutritivo enriquecido e inoculado con *P. multocida* cepas 1662, X73 y 1057 o *P. haemoyitica*, el cual es preparado en garrafas de vidrio con capacidad para dos litros aproximadamente, e incubadas a 37°C (figura 30).



La muestra es obtenida tomando 5 garrafas al azar de cada cepa elaborada de *P. multocida* o *P. haemolytica*. El muestreo es realizado en esterilidad en campana de flujo laminar (figura 31). La muestra se deposita en un tubo estéril, el cual será llevado al departamento de calidad para su análisis.

Una vez que el personal de calidad obtuvo la muestra, el caldo es confinado en bidones de plástico con capacidad para 50 litros, los cuales deben ser lavados y desinfectados con solución de formol al 37% previamente. Posteriormente se llenan tubos con 9 ml de caldo nutritivo y se realizan diluciones décuples seriadas (10^{-1} a 10^{-9}) del caldo cosechado. En una placa de agar sangre se inocula 0.1 mililitros de la muestra obtenida directamente de las garrafas para tenerla como testigo; mientras que en placas de gelosa sangre se inocula 0.1 ml de las diluciones 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9} con ayuda de una pipeta estéril con capacidad para 1 ml.

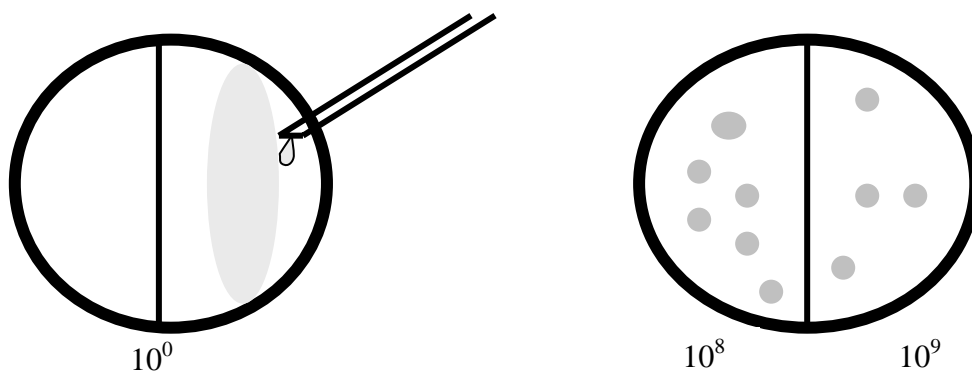


Figura 32

Las placas se incuban en una estufa bacteriológica, a 37°C por 24 horas, después de que transcurrió el periodo de incubación, se realiza la lectura y se registra el número de colonias presentes para cada dilución. El título se obtiene en la dilución más alta en donde hubo crecimiento bacteriano, en este caso fue de 4 UFC 10^9 / 0.1 ml

TITULACIÓN DOSIS LETAL EN EMBRIÓN DE POLLO 50% / mL DE *Haemophilus paragallinarum* (*Avibacterium paragallinarum*)

Para determinar la Dosis Letal en Embrión de Pollo al 50 % por ml (DLEP), de las cosechas de *H. paragallinarum* cepas 221, B y Modesto, obtenido de caldo nutritivo enriquecido, infectado y preparado en garrafas de vidrio con capacidad para dos litros



Figura 33

aproximadamente e incubadas a 37°C. La muestra es obtenida tomando 5 garrafas al azar de cada cepa elaborada con *H. paragallinarum* con ayuda de pipetas estériles con capacidad para 5 ml, el muestreo es realizado dentro del



Figura 34

área de esterilidad de la campana flujo laminar (figura 34). La muestra es obtenida en un tubo para cultivo, el cual será llevado al departamento de calidad para su análisis. En una placa de agar infusión cerebro corazón, agar dextrosa sabouraud y agar gelosa sangre inocular 0.1 ml de la muestra

obtenida. En el caso de este último medio, se coloca una línea de la cepa nodriza de *Staphylococcus epidermidis*.

- Incubar la muestra del agar cerebro corazón a 37°C de 24 a 48 horas.
- Incubar la muestra del agar dextrosa sabouraud a 20 °C de 24 a 48 horas.
- Incubar el agar gelosa sangre con la cepa nodriza a 37 °C y en anaerobiosis por 24 horas para observar el crecimiento característico de satelitismo.

Posteriormente se deben llenar 10 tubos con 9 ml de caldo nutritivo, realizar diluciones decuples seriadas (10^{-1} a 10^{-9}) del fluido cosechado. Se deben revisar 25 huevos embrionados Alpes II de 7 a 9 días de edad utilizando un ovoscopio para verificar que estos se encuentran vivos (figura 35). Marcar el punto de inoculación en los huevos embrionados en el centro de la parte superior de la cámara de aire del huevo. Identificar cada uno de los huevos embrionados a utilizar para cada dilución. Posteriormente, la superficie de los huevos embrionados es desinfectada con una solución de yodo; una vez que ha secado la solución, se perfora el cascarón en el punto de inoculación antes mencionado. Para esta prueba se usan 5 embriones por dilución. Se debe inocular en saco vitelino 0.2 ml de la dilución 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} con ayuda de una jeringa con capacidad para 3 ml, utilizando una aguja de 20 X 32 mm. Se dejan 5 embriones sin inocular como testigos. Los embriones son incubados a 37°C por 72 horas (figura 36).

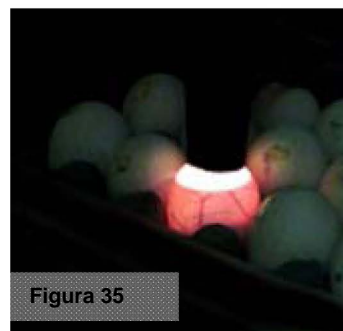


Figura 35

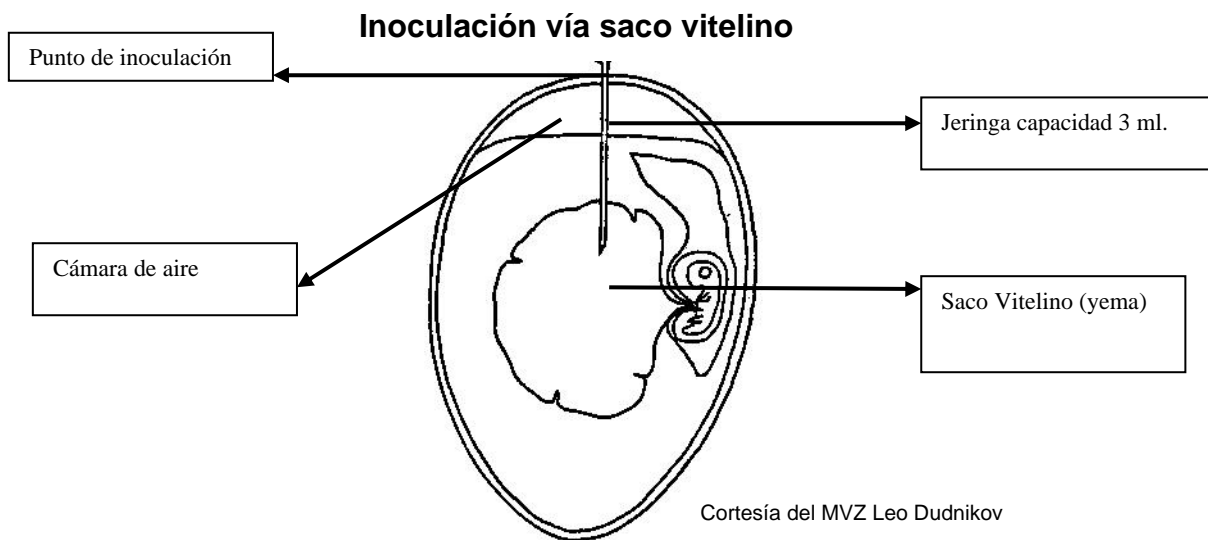


Figura 36

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, todos los embriones muertos a partir de las 24 horas son contados como positivos, debido a que *H. paragallinarum* causa mortalidad embrionaria a las 24 hrs. post inoculación. Todos los embriones muertos durante todo el periodo de incubación deben ser extraídos y se les realiza la prueba de aglutinación en placa para descartar la presencia de virus hemaglutinantes. Los embriones muertos son extraídos y considerados positivos sólo si al probarlos para virus hemoaglutinantes, son negativos.

Cuando la mortalidad de los embriones testigos sea mayor al 20% la prueba deberá repetirse, determinándose los resultados como no concluyentes.

La determinación del título dosis letal embrión de pollo al 50%/ml para *H. paragallinarum* es obtenido por el método de Reed y Muench, el cual debe tener un título de 10^8 DLEP 50%/ml., el cual es establecido por la empresa.

Una vez terminada la cosecha, y ya que el área de calidad obtuvo la muestra, se prosigue a la inactivación del fluido, que es la acción que se ejerce al adicionar formaldehído, timerosal, etilendiamina u otras soluciones inactivantes a los fluidos obtenidos, lo que ocasiona que no exista replicación del antígeno, sin perder su capacidad antigénica. En la inactivación del virus se utiliza etilendiamina 0.8%, tiosulfato de sodio y formaldehído.

- ❑ 80 ml de etilendiamina/ 1 Litro de fluido
- Reposar durante 24 horas

- ❑ 7ml de Tiosulfato de sodio
- ❑ Formaldehído al 0.3%

En el caso de las bacterias se emplea timerosal y en algunos casos formaldehído.

- ❑ 5 g de timerosal/100 ml de agua/ 50 litros de fluido.

Setenta y dos horas después de la inactivación, se realiza la prueba de esterilidad de los bidones inactivados, en la cual se utilizan medios de cultivos específicos como agar dextrosa sabouraud e infusión cerebro corazón.

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

La preparación de medios de cultivo a partir de medios deshidratados requiere exactitud y atención en la preparación. Los medios deshidratados se deben almacenar a una temperatura de 15 a 30°C en áreas oscuras y secas, a menos que se marque otra indicación en el instructivo. Se debe anotar la fecha en la que el frasco se abre por primera vez y verificar la fecha de caducidad, así como revisar que las características del polvo sean las adecuadas como lo marca el instructivo.

Para la preparación de los medios se debe utilizar un matraz de vidrio, balanza, potenciómetro, autoclave y otros equipos que se calibran frecuentemente. Para la preparación del medio se debe pesar exactamente la cantidad apropiada



conforme marca el instructivo y agregar agua desionizada agitando hasta disolver perfectamente. Al ser disueltos se debe tener cuidado de no calentar excesivamente. Los medios de cultivo no deben calentarse en microondas. En el caso de los medios líquidos estos se vacían

en tubos con 35 ml antes de ser esterilizados. Para que se lleve a cabo se necesita una temperatura de 121°C a 15 libras de presión por 15 minutos. Estas constantes son para 1 litro de medio de cultivo, en cantidades mayores, se requiere mayor tiempo para completar su esterilización. Un tiempo excesivo pueden causar que los nutrientes cambien su concentración y generar

substancias inhibitorias. Por ejemplo, se sabe que los carbohidratos se descomponen por sobrecalentamiento, además se presentan problemas como un pH incorrecto como disminución de las propiedades de gelificación del agar, precipitación del medio y oscurecimiento teniendo como resultado la pérdida del valor nutritivo y las propiedades selectivas o diferenciales. Finalmente, se realiza el vaciado de los medios sólidos en cajas de petri a una temperatura de 50 a 55°C, para evitar la formación de agua de condensación, además, durante el vaciado se debe mezclar el medio constantemente para evitar la formación de grumos. Los medios preparados en placa se deben de almacenar en forma invertida en una bolsa de plástico u otro contenedor en refrigeración hasta por dos semanas (8).

En el área de aseguramiento de calidad se preparan los siguientes medios de cultivo:

- Agar infusión cerebro corazón
- Agar verde brillante
- Agar soya tripticaseína
- Agar dextrosa sabouraud
- Agar MacConkey
- Agar sal y manitol
- Caldo tioglicolato
- Caldo soya tripticaseína

En el área de calidad se utilizan el caldo tioglicolato, caldo soya tripticaseína, agar infusión cerebro corazón y agar dextrosa sabouraud, los demás son preparados para uso del personal del área de producción.

Caldo tioglicolato

Se utiliza para el cultivo y aislamiento de anaerobios estrictos y facultativos, gérmenes microaerófilos y para ensayos de esterilidad. Las sustancias reductoras, tioglicolato y cisteína, proporcionan una anaerobiosis suficiente,

incluso para anaerobios exigentes. Los medios con tioglicolato son adecuados para la investigación de materiales que contengan metales pesados o conservadores en cuya composición participen dichos metales pesados. La elevada viscosidad del medio de cultivo tioglicolato impide la penetración rápida de oxígeno. El eventual aumento del contenido en oxígeno se pone de manifiesto por un viraje a rojo del indicador redox resazurina sódica. Los gérmenes anaerobios crecen en la parte inferior del tubo de cultivo, mientras que los aerobios crecen en la parte superior del tubo. Los medios de cultivo preparados son claro de color amarillento. De ser posible, estos medios de cultivo deben usarse recién preparados. El medio de cultivo tioglicolato ya no puede utilizarse cuando los tubos presenten color rosa debido a la penetración de oxígeno, en más del tercio superior. Cuando dicha coloración no quede eliminada por ebullición (una sola vez), el medio se desecha.

Caldo de soya tripticaseína

Medio de cultivo universal, exento de sustancias inhibitoras e indicadores, concebidos para su utilización en un amplio espectro de aplicaciones.

Por su rica y abundante base nutritiva, este medio de cultivo es adecuado para el cultivo de microorganismos exigentes. Se utiliza como tal, o como base para la fabricación de medios especiales de cultivo (Agar sangre).

Agar cerebro corazón

Es un medio sólido rico en nutrientes, adecuado para el cultivo de varios microorganismos exigentes entre los cuales se encuentran diversos tipos de bacterias, hongos y levaduras.

Con la adición de antibióticos el medio se puede emplear para el aislamiento de algunos hongos.

Agar dextrosa y sabouraud

Se recomienda para el cultivo y conservación de hongos. La incubación de las cajas debe hacerse de 25 a 35 °C. Puede lograrse un sabouraud muy rico, disolviendo el medio en 1 litro de infusión de Cerebro Corazón (9).

Una vez hidratados los medios de cultivo conforme al instructivo, se esterilizan en una olla de presión con calor húmedo a 121°C y 15 libras de presión durante 15 minutos (figura 39).



Figura 39

Los principales métodos de esterilización térmica incluyen calor húmedo y seco. El calor destruye a los microorganismos por desnaturalización o coagulación de proteínas. El calor húmedo es el más empleado en la esterilización de medios de cultivo ya que tiene la ventaja de requerir menor tiempo a más bajas temperaturas que el seco. Además es el método de esterilización más económico, seguro y confiable. Aunque el agua hierve a 100°C, se requieren temperaturas mayores para matar esporas resistentes al calor de algunas bacterias en un tiempo razonable. La presión de vapor de 15 libras por pulgada cuadrada y a esta temperatura ayuda a la penetración del calor en el material al ser esterilizado (8).

Muchos factores pueden afectar la esterilización, incluidos el tamaño y contenido de la carga y el tiempo de secado o enfriado. Algunos productos pueden desnaturalizarse a temperaturas o ciclos mayores de tal manera que es necesario validar adecuadamente las cargas.

Para obtener mejores resultados en la esterilización de medios de cultivo, deben taparse los frascos o tubos con algodón no absorbente y capuchón de papel o tapón de rosca que no quede completamente cerrado. Los tubos deben colocarse en gradillas o canasta y los frascos nunca deben llenarse más de dos tercios; también es importante no sobrecargar el autoclave y colocar la carga de tal forma que el flujo de vapor circule libremente alrededor del contenido. En la operación del autoclave, todo el aire de la cámara debe salir y ser sustituido por vapor. Para verificar que en el procedimiento de preparación no hubo contaminación los caldos y agares se incuban a 35°C por 24 horas.

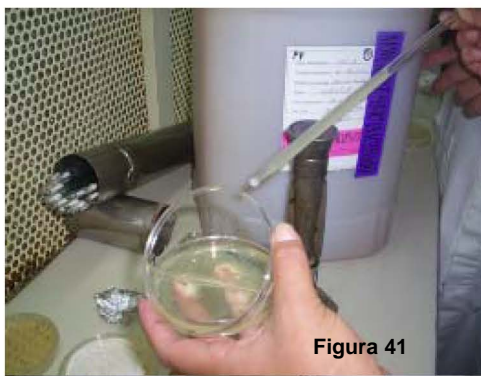
PRUEBA DE ESTERILIDAD EN FLUIDOS INACTIVADOS

Tiene como finalidad determinar la presencia de bacterias y hongos viables en



cada uno de los bidones inactivados. El fluido es depositado en bidones de diferente capacidad y son almacenados en refrigeración a 4°C (figura 40). Se debe muestrear en la campana de flujo laminar, además todo el equipo que se utilice debe ser estéril y el personal de

calidad debe utilizar cofia, lentes y cubreboca.



Se obtiene una muestra de 5 ml de cada bidón con una pipeta estéril (figura 41). Se inocula 0.2 mililitros en media placa de agar infusión cerebro corazón y agar dextrosa sabouraud (figura 42), las cuales deben ser previamente identificadas con el número de lote y número bidón. El resto de

la muestra del lote se colecta en un tubo estéril, el cual se utilizará en otras pruebas y se debe conservar en refrigeración.

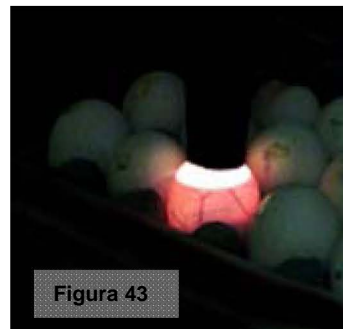
El agar dextrosa sabouraud se incuba a 22°C y el agar infusión cerebro-corazón se incuban a 37° C durante 5 días.

De acuerdo al procedimiento interno del área de calidad, si se observa la presencia de colonias bacterianas o crecimiento de hongos en cualquier caja, se debe reportar de inmediato al personal de producción para que aplique un tratamiento con formaldehído y se debe volver a muestrear a las 72 horas. Si no hay presencia de crecimiento bacteriano después de 5 días, la prueba es satisfactoria, y una vez que se concluyan todas las pruebas se coloca el sello de aprobado con nombre del analista y fecha de liberación para que puedan ser utilizados por el personal de producción para la fabricación de vacunas. En el área de aseguramiento, una vez que se terminó la prueba de esterilidad el analista deberá verificar que el fluido este perfectamente inactivado (10).

PRUEBA DE INACTIVACIÓN DE VIRUS DE INFLUENZA AVIAR,

NEWCASTLE Y BRONQUITIS INFECCIOSA

Esta prueba permite descartar virus viables en el fluido, para ello se utilizan embriones SPF y una solución de eritrocitos de pollo al 2 % y se realiza con la muestra obtenida en el procedimiento anterior. Se deben revisar 15 huevos embrionados Alpes I de 7 a 9 días de edad utilizando un ovoscopio para verificar que estos se encuentran vivos (figura 43). Marcar el punto de inoculación y el límite de la cámara de aire e identificar cada uno de los embriones a utilizar.



Inocular 10 embriones con 0.2 ml de la muestra en cavidad alantoidea, dejando 5 embriones como testigo negativo.

Los embriones se incuban a 37° C durante 6 días, y se revisan diariamente registrando la mortalidad; aquellos que mueran a las 24 horas post inoculación son descartados. Deberá existir un 80 % de viabilidad de los embriones para que la prueba sea válida.

Posteriormente, se debe realizar una mezcla del fluido alantoideo de los embriones que permanecieron vivos y de manera separada, otra de los embriones muertos después de las 24 horas post-inoculación y se revisan para determinar la presencia de lesiones sugerentes a influenza, enfermedad de Newcastle o bronquitis infecciosa en los embriones muertos. Esta mezcla se emplea para inocular 10 embriones SPF de 9 a 11 días de edad en cavidad alantoidea con 0.2 ml de la mezcla de líquido alantoideo proveniente de embriones vivos y 10 de los embriones muertos e incubar a 37°C durante 6 días. Después del periodo de incubación se realiza la prueba de hemaglutinación en placa (HA) para el líquido alantoideo utilizando eritrocitos de pollo al 2%. No debe existir mortalidad, lesiones ni anomalías atribuibles al virus de Newcastle, influenza aviar o bronquitis infecciosa en los embriones. La prueba de hemoaglutinación del líquido alantoideo deberá ser negativa (11,12).

Una vez que transcurrieron los 12 días y todas las pruebas se realizaron con éxito, el personal de calidad coloca los sellos de **APROBADO** y la gerencia

firma la liberación del producto para que pueda ser utilizado por el personal del área de producción para la fabricación de las vacunas emulsionadas, según las necesidades de la empresa. Posteriormente, los fluidos son almacenados en refrigeración a 4°C hasta su posterior emulsificación.

Preparación de la vacuna

Durante el proceso de preparación de la vacuna, el analista de aseguramiento de calidad verifica que todos los elementos (fluidos, aceite mineral, botellas, tapones) cumplan con los requisitos de esterilidad. En el caso de los frascos, se deben seleccionar tres y llenarlos con caldo tioglicolato o caldo soya tripticaseína y colocar el tapón de plástico para incubarlos. Adicionalmente, se toman 5 tapones y se colocan dentro de un matraz al cual se le adicional los caldos antes mencionados para verificar la esterilidad.

Por otra parte, una vez preparada y mezclada la vacuna, el analista de aseguramiento de calidad verifica la consistencia de la vacuna, inspeccionando que se encuentre debidamente homogenizada y que todos los ingredientes estén perfectamente incorporados, para ello una muestras es centrifugada a 3250 rpm durante 30 minutos antes del llenado de los viales para vacuna.

Llenado del frasco con la vacuna

Durante el proceso de llenado, tanto el analista de aseguramiento de calidad como el responsable del proceso deben verificar que las condiciones de asepsia y desinfección del área de llenado sean las adecuadas, colocando placas de medios de cultivo en diferentes áreas para verificar la esterilidad durante el proceso.

Otra característica a verificar es el volumen de llenado, para lo cual, el analista debe verificar que el contenido de los frascos sea el correcto (normalmente 500 ml).

Una vez que concluyó el llenado de los frascos, el personal de calidad debe verificar el aspecto físico, esto es, realiza una inspección óptica al 100% de los frascos y separa los que presenten defectos en el



Figura 44

tapón de aluminio, impresión o cualquier alteración que afecte su buena presentación. El analista debe obtener una muestra de 20 vacunas al azar para realizar las pruebas pertinentes en el área de calidad, de ellas, se envían 10 a otro laboratorio para realizar las mismas pruebas de manera paralela.

PRUEBAS EN PRODUCTO TERMINADO

Tiene como objetivo asegurar a través de la inspección final que la calidad de los productos y las condiciones de entrega cumplan con los requerimientos establecidos por la empresa y solicitados por los clientes. Esta actividad es complementaria a las inspecciones realizadas a lo largo del proceso en donde ya fueron verificadas todas las variables y condiciones de cada producto (10).

Notificación del producto

Dentro del proceso normal de un producto, es obligación del departamento de producción el solicitar el visto bueno de aseguramiento de calidad para cada producto terminado que vaya a ser entregado al almacén; en el entendido de que dicha aprobación es un requisito imprescindible para que el almacenista pueda dar entrada al producto en área de almacén.

PRUEBA DE ESTERILIDAD EN VACUNAS EMULSIONADAS

La prueba tiene como finalidad investigar la presencia de microorganismos viables usando medios de cultivo adecuados, tiene una duración de 14 días y se lleva e cabo en condiciones de esterilidad usando la campana de flujo laminar para evitar la contaminación de la muestra.



Figura 46

Los medios de cultivo deben cumplir con las pruebas de esterilidad, la cual se lleva a cabo antes o en paralelo con la prueba de esterilidad. En caso de que el resultado de ésta no sea satisfactorio, se invalida.

Para realizar esta prueba, se utilizarán tubos con 35 ml de caldo tioglicolato y caldo soya tripticaseína.

Cuando existe un lote de 400 piezas sólo se obtienen 3 muestras que se trabajan en el laboratorio (figura 46) (3).

La prueba de esterilidad se realiza en la campana de flujo laminar. Se debe

destapar la vacuna, se asperja con alcohol y se coloca directo a la flama para desinfectarla, se obtienen 2 ml de la muestra (figura 47) y se siembra 1 ml en el tubo de caldo tioglicolato y se incuba a 35°C, además se inocula 1 ml en el tubo con caldo soya tripticaseína y se incuba a 22°C (figura 48).



Figura 45



Figura 47



Figura 48

Los tubos se deben revisar diariamente, para ver si existe algún cambio de coloración en estos. Si después de 14 días alguno presenta turbidez, del tubo contaminado se obtienen 3 ml y se siembra 0.1 ml en agar infusión cerebro corazón y agar sabouraud y 1 ml en un tubo con caldo tioglicolato y caldo soya tripticaseína (figura 49), y se incuban durante cuatro días.

De las muestras de retención, se siembra nuevamente en caldo tioglicolato y caldo soya tripticaseína, y después de cuatro días, si hubiese crecimiento, la prueba de esterilidad se considera negativa, por lo cual se debe rechazar el lote y enviarse a producción para su tratamiento oportuno. Una vez que trascurrieron 14 días, si no hay presencia de turbidez en los tubos, la prueba de esterilidad es positiva, lo cual indica que el lote se libera para su venta en el mercado.



Una vez sembradas las vacunas, se retira la tapa de aluminio y el tapón de hule. Con la ayuda de otra persona, la cual debe utilizar un guante estéril, se colocará un tapón de hule limpio (figura 50) y un nuevo tapón de aluminio al frasco de la vacuna (figura 51).



De las diez muestras que se analizaron, ocho se regresan a los refrigeradores y dos se quedan como muestras de retención para ser utilizadas para pruebas alternas cuando éstas sean requeridas por el laboratorio o por algún cliente. Estas muestras deben permanecer por lo menos 18 meses en el laboratorio (10).

CALIDAD DE EMULSIÓN (AGUA EN ACEITE)

El personal de calidad debe verificar que la vacuna sea una emulsión agua en aceite para lo cual se utilizan dos tubos de ensayo, uno con agua desionizada y el otro aceite mineral, se adiciona aproximadamente 1 ml de vacuna emulsionada y se agita. En el tubo con agua no se debe mezclar (se debe separar en dos fases) y en el tubo con aceite se debe dispersar (figura 52)

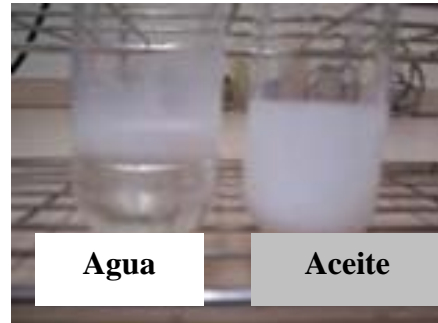


Figura 52

ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN

La estabilidad de una emulsión se determina por calentamiento de la muestra y observando la estabilidad visualmente. Durante la prueba de esterilidad se obtienen 100 ml del producto en un frasco del cual 50 ml se incuban a 37°C durante 30 días (figura 53), en este tiempo no debe



Figura 53

presentarse la separación de fases. Usualmente la emulsión que es estable al calentamiento debe ser más estable a temperatura de ambiente. Por otra parte, 5 ml de la muestra se centrifuga a 3250 rpm durante 30 minutos en donde no debe presentarse la separación de fases (10).

CONTENIDO DE FORMOL RESIDUAL EN LAS VACUNAS

Se realiza mediante la evaluación química en el espectrofotómetro y se mide a una absorbancia de 570 nm. La muestra debe tener un tratamiento previo a su lectura, el cual es un protocolo descrito en los manuales de procedimientos internos de la empresa. El contenido de formaldehído no debe ser mayor a 0.3% por especificación de la norma oficial mexicana NOM-055 y la norma oficial mexicana NOM-052 para la fabricación de biológicos (3).

VOLUMEN DE LLENADO (VERIFICADO POR PESO)

El volumen de llenado se calcula con la diferencia de peso del frasco lleno menos el peso del frasco vacío, dividido entre la densidad del producto. Para realizar esta prueba se necesita calcular la densidad de la emulsión que es la relación que existe entre el peso de una sustancia y el volumen de la misma a una cierta temperatura (24 a 26°C) y se utiliza la siguiente formula:

DENSIDAD: Masa/ volumen

Se pesa un matraz volumétrico de 10 ml sin líquido y posteriormente se afora con la emulsión para después realizar el pesaje. Se debe restar el peso del matraz vacío al peso del matraz lleno para obtener el peso de la muestra. Después se sustituye la fórmula utilizando un volumen de 10 ml con esto se obtiene la densidad. Este resultado será empleado posteriormente para obtener el volumen de llenado de los frascos de vacuna. Para ello, se pesan 10 frascos de vacuna con tapa de hule y aluminio vacíos y limpios y se obtiene el promedio de estos. Posteriormente, se pesan 10 vacunas y a cada una se le resta el peso promedio obtenido anteriormente, este es el resultado de la masa de la emulsión. Para obtener el volumen se utiliza la siguiente formula: masa/densidad. El volumen final no debe ser menor a 500 ml y no mayor a 510 ml, la cual es una especificación interna de la empresa.

Para dar cumplimiento a la política interna, las exigencias normativas y de mercado, se debe analizar el 100% de los lotes de fabricación. Los resultados escritos se conservan durante 5 años, mientras que las muestras de retención correspondientes se deben conservar 6 meses después de la caducidad del producto.

Para que el producto final pueda ser liberado a la venta, el personal de aseguramiento realiza una inspección final del producto, realizar los análisis correspondientes y se asegura que las vacunas no hayan sufrido algún daño.

Certificado de análisis

Los resultados obtenidos del muestreo y análisis final de cada lote de producto son registrados siempre y cuando la disposición sea de **ACEPTADO**.

Para cualquier producto terminado que no cumpla con todas las exigencias indicadas, no se emite certificado de análisis, por lo tanto, no se permite su ingreso al almacén correspondiente y se deben tomar las medidas pertinentes.

Si el producto cumple con las especificaciones, se libera para ser almacenado y se coloca un sello de ACEPTADO de color verde en la orden de producción correspondiente cumpliendo con lo establecido por la empresa.

Rechazo de producto terminado

En caso de que el producto terminado no cumpla con las especificaciones se procede a rechazarlo. Posteriormente, se solicita al personal del área de producción que sea colocado en la zona de producción de origen. El analista de calidad identifica el producto con una etiqueta color rojo en cada caja con la leyenda de **RECHAZADO** para posteriormente proceder según lo establecido en los manuales de procedimientos de la empresa, lo cual es un proceso interno (10).

ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

La enfermedad de Newcastle (ENC) es una enfermedad viral, contagiosa y letal que afecta a las aves domésticas y silvestres. En 1926, Doyle en Inglaterra y Kraneveld en Indonesia, casi simultáneamente observaron y describieron esta enfermedad de las aves como un proceso caracterizado por manifestaciones clínicas que producían elevada mortalidad en pocos días. En los Estados Unidos de América, se describió la enfermedad de Newcastle en 1944 y en México fue notificada por primera vez en 1946 por Olvera.

Desde entonces, esta patología conocida como enfermedad de Newcastle (por el condado de Inglaterra donde inicialmente se reportó), ha sido encontrada en incontables países y regiones de todos los continentes. En los años 30 y 40 la enfermedad se describía casi invariablemente, no sólo como muy letal, sino caracterizada por marcados síntomas respiratorios y nerviosos acompañado de un cuadro de lesiones hemorrágicas, capaz de afectar a los pollos de cualquier

raza y edad. La profundización diagnóstica y de investigación permitió establecer un amplio número de especies aviares susceptibles al virus de la enfermedad, como aves silvestres, acuáticas y ornamentales, las cuales contribuyen a la diseminación viral. Dentro de estas investigaciones, ha tenido particular interés la demostración de la propiedad hemoaglutinante del virus y su inhibición ante los sueros de aves portadoras de anticuerpos promovidos por la infección o en respuesta en la vacunación. De este modo, se desarrolló la prueba conocida internacionalmente como HI que se emplea en los laboratorios de manera sistemática por su eficacia, seguridad y bajo costo. En la década de los 50, sobre estas premisas científicas, se intensificó el uso de vacunas activas contra la enfermedad con cepas estándares comercialmente disponibles como B1 y La Sota. Paralelamente, se establecieron técnicas de laboratorio para caracterizar las cepas de campo con base al tiempo promedio para causar la muerte en embriones de pollos, los índices de patogenicidad intracerebral e intravenoso en pollos de un día o de 6 u 8 semanas de edad, respectivamente.

La enfermedad es de reporte obligatorio según la norma oficial mexicana NOM-013-ZOO-1994 Campaña nacional contra la enfermedad de Newcastle presentación velogénica (13).

Etiología

El virus de la enfermedad de Newcastle es un virus ARN de cadena sencilla y envuelto. La forma de las partículas es esférica y su diámetro medio es de 120 a 300 nm. Algunas cepas contienen partículas cilíndricas muy grandes (polinucleocápsida). La envoltura viral posee propiedades hemaglutinantes, hemolizantes, e inmunogénicas, así como actividad enzimática (neuraminidasa destructora de receptores). El virus pertenece a la familia Paramyxoviridae, del género Avulavirus, es resistente a una temperatura de 56°C durante 30 minutos pero se inactiva a la misma temperatura en 3 horas o a 60°C durante 30 minutos a un pH ácido. Es sensible al éter y se inactiva con formalina y fenol, sobrevive largos periodos a temperatura ambiente, especialmente en las heces. Algunas cepas permanecen viables y virulentas incluso después de 6 horas a 65°C.

El virus de la enfermedad de Newcastle se divide por su grado de patogenicidad y virulencia en cepas lentogénicas (baja patogenicidad, una vez inoculado en el embrión de pollo muere a las 90 horas), mesogénicas (moderada patogenicidad, mata al embrión entre las 60 y 90 horas post-inoculación) y velogénicas (alta patogenicidad, matan al embrión de pollo en menos de 60 horas), estas últimas, representan un serio problema sanitario y de comercialización para la avicultura nacional.

Epidemiología

Los índices de mortalidad y morbilidad varían según la especie de ave y cepa viral. Las gallinas son las aves de corral más susceptibles, mientras que los patos y los gansos son menos susceptibles.

Transmisión de la enfermedad

La transmisión horizontal es por contacto directo de aves enfermas con aves sanas por estornudo, exudado, lágrima, heces y la forma indirecta es mediante el equipo, material contaminado, lo cual se agrava por alta densidad de población, además de tener aves de diferentes edades y un deficiente control sanitario dentro de la granja y casetas. La transmisión vertical no se considera importante debido a que el virus mata al embrión de pollo, pero si el cascarón está contaminado puede infectar el pollito al nacer.

La enfermedad tiene un periodo de incubación de 4 a 6 días con difusión rápida y una morbilidad del 100%. La severidad de los signos está relacionada con el tipo de cepa involucrada, estado inmune del ave, ruta de exposición, presencia de otros agentes infecciosos y condiciones ambientales.

La severidad de los signos clínicos varía dependiendo de la especie, edad, estado inmunitario, resistencia natural de las aves y virulencia de la cepa. La mayoría de las especies muestra un período de depresión, diarrea y pérdida de apetito que son más pronunciados en aves susceptibles, se observa edema facial, especialmente en el párpado inferior; presencia de exudado de color amarillo en el pico u orificios nasales. Las dificultades respiratorias pueden variar de leves a severas. Cuando el virus afecta sistema nerviosos hay

incoordinación, parálisis de alas o patas, tortícolis, contracciones tónico clónicas, movimientos de la cabeza en forma de opistótonos, epistótonos y bradistótonos.

Entre las lesiones macroscópicas encontradas se pueden observar hemorragias a lo largo del tracto gastrointestinal, que tienden a ulcerarse y conforme la enfermedad progresa, pueden presentar necrosis y éstas son observadas más comúnmente en la unión del esófago y proventrículo y tonsilas cecales, en ocasiones se observa presencia de edema en los tejidos subcutáneos de la cabeza y cuello.

Frecuentemente, en la necropsia las aves de ornato no muestra lesiones, o bien, pueden no ser tan pronunciadas como las que se observan en las aves de corral.

Debido a que la ENC no produce lesiones microscópicas patognomónicas, se debe examinar a un gran número de aves para realizar un diagnóstico tentativo. Para ello, se debe de llevar a cabo el aislamiento del virus y su identificación a partir de macerados de muestras de encéfalo, pulmón, tráquea, bazo y tonsilas cecales, o hisopos cloacales y traqueales, inoculando embriones de pollo de 9 a 11 días de edad por vía cavidad alantoidea. La mortalidad embrionaria se registra diariamente y al líquido alantoideo de los embriones muertos, se les realiza la prueba de aglutinación en placa con una solución de eritrocitos al 2%. Además, se puede llevar a cabo la prueba de inmunofluorescencia, pero tiene la desventaja de detectar falsos positivos. Las pruebas serológicas que se realizan son inhibición de la hemoaglutinación y ELISA.

Diagnostico diferencial

La enfermedad de cólera aviar y bronquitis infecciosa, presenta signos respiratorios pero no presenta signos nerviosos y digestivos. Por otra parte la enfermedad de Laringotraqueítis, micoplasmosis no presentan signos nerviosos, mientras que la enfermedad de Marek no presenta signos respiratorios ni digestivos.

Medidas de Prevención

Se deben eliminar las aves infectadas y muertas, así como desechar cualquier otro foco de infección presente en la granja, posteriormente, realizar la limpieza y desinfección de las casetas y se lleva a cabo un control de la fauna nociva. Debe prepararse la caseta de inmediato para que pueda permanecer vacía por una o dos semanas antes de introducir nuevos pollitos, de esta manera se rompe el ciclo del virus.

Vacunación

La vacunación con cepas activas B1 y la Sota en agua de bebida o por aspersión a partir de virus activo o bien, en emulsión oleosa por vía subcutánea e intramuscular (en aves ligeras), puede reducir sensiblemente las pérdidas en las explotaciones avícolas. Los pollitos en buen estado pueden ser vacunados desde el primero hasta el cuarto día de edad, pero la eficiencia de la vacunación aumenta si se espera a la segunda o tercera semana. Si hay presencia de otras infecciones (por ejemplo *Mycoplasma*) puede agravar la reacción a la vacuna. En este caso, se utilizan vacunas emulsionadas, ya que la respuesta inmune posterior a la vacunación no es muy agresiva, es una respuesta inmune lenta pero duradera (17).

DISCUSIÓN

El área de la industria avícola es muy amplia ya que puedes integrarte en el sector productivo, en un laboratorio de diagnóstico y en la producción o verificación de la calidad de los biológicos empleados para aves.

No solamente es importante tener un buen manejo de los biológicos, sino todo lo que hay detrás de su producción para que pueda brindar una protección larga y adecuada al ave para que ésta alcance sus parámetros productivos según su fin zootécnico.

Los recursos de cada explotación, son diferentes por lo que se debe de prevenir gastos innecesarios en tratamientos prolongados. Esto se puede evitar teniendo un calendario de vacunación adecuado, sobre todo en las enfermedades de campaña como son: la enfermedad de Newcastle, Influenza aviar y Salmonelosis. Todas las enfermedades son importantes pero se debe tener cuidado en éstas, ya que se puede perder toda la producción de la granja e incluso en las granjas vecinas.

El área de aseguramiento verifica que los biológicos cumplan con las especificaciones de calidad para que el productor y el medico encargado de la granja tengan un control de enfermedades y se alcance la producción esperada. Adicionalmente, para que esto se lleve a cabo, el personal de calidad debe trabajar con el de producción para que cada procedimiento en la elaboración de biológicos se lleve a cabo con las precauciones necesarias para dicho fin.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Unión Nacional de avicultores [Página de Internet] México: La asociación 2007 [actualización 2007 Marzo 8; citado 2005] tomado de httpwww.una.org.mx/index.php?option=com_content&tast=view&id=18&temd=27
- 2.- Larski. Virología para Veterinarios. La prensa medica mexicana: Científicos, 1989.
- 3.- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 8th ed. México, 2004.
- 4.- Fenner. Virología Veterinaria. Zaragoza España: Acribia, 1992.
- 5.- Forsythe S J. Higiene de los alimentos, Microbiología y HACCP 2th ed: Acribia, 1999.
- 6.- Fulgar Oscar Francisco. ISO 9000 Aseguramiento de Calidad: Macchi, 1996
7. - Franti Jordan. Poultry Diseases 5th ed. Hong Kong: W.B Sanders, 2001.
8. - Manual Bioxón de Medios de Cultivo.
9. - Manual de Medios de Cultivo: Merck, 1994.
- 10.- Manual de métodos de prueba interno de la empresa. 2007
- 11.- Norma Oficial Mexicana NOM-055-ZOO-1995, Requisitos mínimos para la elaboración de vacunas emulsionadas inactivadas contra la influenza aviar subtipo H5N2. Publicada en el diario de la federación el 29 de junio de 1998.

12.- Norma Oficial Mexicana NOM-052-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las vacunas empleadas en la prevención y control de la enfermedad de Newcastle.

13.- Norma Oficial Mexicana NOM-013-ZOO-1994, Campaña nacional contra la enfermedad de Newcastle presentación velogénica.

14.- Norma oficial mexicana NOM-044-ZOO-1995 campaña nacional contra la influenza aviar.30 de Fe

15.- Norma oficial mexicana NOM.063-ZOO-1999, Especificaciones que se debe cumplir los biológicos empleados en la prevención y control de enfermedades que afectan a los animales domésticos.

16.- Secretaria de Salud. Vacunas Ciencia y Salud. México: Secretaria de coordinación y desarrollo, 1992.

17.- Selbitz Hans Joachim. Vacunación de los animales domésticos: Acribia, 1997.

18.-Rojo Mediavilla Elena. Enfermedades de las aves. 1 ed. México: Trillas, 1984.

19.- Vet-uy [página de internet] México: Agro veterinaria 2004 [actualización 2007] tomado htm.vet-uy.com