

03-11-97 NORMA Oficial Mexicana NOM-047-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las vacunas, bacterinas y antígenos empleados en la prevención y control de la salmonelosis aviar.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-047-ZOO-1995, REQUISITOS MINIMOS PARA LAS VACUNAS, BACTERINAS Y ANTIGENOS EMPLEADOS EN LA PREVENCION Y CONTROL DE LA SALMONELOSIS AVIAR

ROBERTO ZAVALA ECHAVARRIA, Director General Jurídico de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, con fundamento en los artículos 35 fracción IV de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4o. fracciones I, III, V y XI, 12, 16, 21, 28, 29, 44 y 47 de la Ley Federal de Sanidad Animal; 1o., 38 fracción II, 40 fracciones III y XI, 41 y 47 fracción IV de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 12 fracciones XXIX y XXX del Reglamento Interior de esta Dependencia, y

CONSIDERANDO

Que es función de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural fomentar la producción pecuaria y consecuentemente prevenir, controlar y erradicar las plagas y enfermedades que como la salmonelosis aviar afectan a la avicultura nacional, tanto en su nivel de producción como en la calidad de sus productos.

Que la salmonelosis aviar representa un grave problema sanitario y de comercialización nacional e internacional para la avicultura del país.

Que la prevención y control de esta enfermedad se basa en el establecimiento de adecuadas medidas de bioseguridad, como es el caso de la inmunización de las aves mediante vacunas y bacterinas contra la salmonelosis aviar que afecta a las aves domésticas y silvestres, pudiendo causar una alta morbilidad y mortalidad en las mismas.

Que para proteger a la avicultura nacional contra esta enfermedad, es necesario estandarizar los requisitos mínimos para la producción de vacunas, bacterinas y antígenos empleados en la prevención y control de la salmonelosis aviar, a fin de garantizar que su producción sea de la más alta calidad.

Que en razón de los motivos señalados en los párrafos anteriores, con fecha 15 de febrero de 1996, se publicó en el Diario Oficial de la Federación el Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-047-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las vacunas, bacterinas y antígenos empleados en la prevención y control de la salmonelosis aviar, iniciando con ello el trámite a que se refieren los artículos 45, 46 y 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, por lo que con fecha 8 de enero de 1997, se publicaron las respuestas a los comentarios recibidos en relación a dicho proyecto, a través del mismo órgano informativo.

Que en virtud del resultado del procedimiento legal antes indicado, se modificaron los diversos puntos que resultaron procedentes y por lo cual se expiden las presentes disposiciones para quedar como Norma Oficial Mexicana, NOM-047-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las vacunas, bacterinas y antígenos empleados en la prevención y control de la salmonelosis aviar.

INDICE

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
2. REFERENCIAS
3. DEFINICIONES
4. DISPOSICIONES GENERALES
5. REQUISITOS MINIMOS PARA LA PRODUCCION DE LA VACUNA 9R
6. ANTIGENO K POLIVALENTE

7. REQUISITOS MINIMOS PARA BACTERINAS
8. SANCIONES
9. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES
10. BIBLIOGRAFIA
11. DISPOSICIONES TRANSITORIAS

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1. Esta Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer los procedimientos que deben cumplirse como requisitos mínimos para las vacunas, bacterinas y antígenos empleados en la prevención y control de la salmonelosis aviar.

1.2. Esta Norma es aplicable a todas las vacunas, bacterinas y antígenos que se comercializan y emplean en la prevención y control de la salmonelosis aviar.

1.3. La vigilancia de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural y a los gobiernos de los estados en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales, de conformidad con los acuerdos de coordinación respectivos.

1.4. La aplicación de las disposiciones contenidas en esta Norma compete a la Dirección General de Salud Animal, así como a las Delegaciones de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales.

2. Referencias

Para la correcta aplicación de esta Norma deben consultarse las siguientes normas oficiales mexicanas:

NOM-003-ZOO-1994, Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.

NOM-005-ZOO-1993, Campaña Nacional contra la Salmonelosis Aviar.

NOM-012-ZOO-1993, Especificaciones para la regulación de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos.

3. Definiciones

Para la presente Norma se entiende por:

3.1. Adyuvante: Sustancia capaz de incrementar la respuesta inmune.

3.2. Antígeno K polivalente: Producto biológico utilizado para la detección serológica de aves portadoras de Púlorosis (*S. pullorum*) y Tifoidea Aviar (*S. gallinarum*) a nivel de campo, compuesto por las siguientes cepas de *Salmonella pullorum*.

cepa intermedia	-	4
-----------------	---	---

cepa estándar	-	11
---------------	---	----

cepa variante	-	77
---------------	---	----

cepa variante	-	79
---------------	---	----

cepa variante	-	296
---------------	---	-----

3.3. Antisuero: Suero de cualquier animal que contiene anticuerpos contra un antígeno específico.

3.4. Bacterina: Producto biológico elaborado a partir de bacterias muertas, inactivadas por métodos químicos o físicos adsorbidas en un adyuvante y que se utiliza para provocar una respuesta inmune protectora.

3.5. Campaña: La Campaña Nacional contra la Salmonelosis Aviar (Púlorosis y Tifoidea Aviar).

3.6. Constatación: Procedimiento mediante el cual la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural verifica que el producto cumple con las especificaciones de calidad presentadas por el laboratorio productor y/o las normas oficiales mexicanas aplicables.

- 3.7. Control: Conjunto de medidas zoonosanitarias que tienen por objeto disminuir la incidencia o prevalencia de la salmonelosis aviar (Pulorosis y Tifoidea Aviar) en un área geográfica determinada.
- 3.8. Control de calidad: Es el conjunto de pruebas analíticas llevadas a cabo en el laboratorio para certificar que las características del producto cumplan con las especificaciones vigentes.
- 3.9. Cuenta viable: prueba de control de calidad empleada para determinar la cantidad de unidades formadoras de colonia por dosis, presentes en lote de vacuna.
- 3.10. Dosis: Cantidad del producto recomendada en la etiqueta, para ser administrada en el animal.
- 3.11. Esterilidad: Prueba de control de calidad para verificar que un producto está libre de microorganismos viables contaminantes.
- 3.12. Fecha de caducidad: Fecha signada a un producto que designa el término del periodo de uso.
- 3.13. Inmunógeno: Sustancia que al ser inoculada en un animal estimula una respuesta inmune protectora.
- 3.14. Laboratorio aprobado: Laboratorio reconocido por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural para realizar servicios de constatación en materia zoonosanitaria.
- 3.15. Lote: cantidad específica de producto terminado, elaborado bajo condiciones equivalentes de operación y durante un mismo periodo.
- 3.16. Potencia: Prueba de control de calidad para asegurar que un producto biológico es capaz de producir una respuesta inmune protectora, la cual se expresará en unidades internacionales o porcentaje de protección de acuerdo a lo establecido en las especificaciones de calidad del producto.
- 3.17. Producto biológico: Todo 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.
- 3.18. Producto regulado: Aquel que puede representar riesgo zoonosanitario y se encuentra bajo control de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- 3.19. Producto terminado: El que está envasado, etiquetado y acondicionado.
- 3.20. Pureza: Prueba de control de calidad que se realiza para verificar la presencia exclusiva del microorganismo usado en la elaboración de un producto biológico, activo modificado.
- 3.21. Salmonelosis aviar: Enfermedad bacteriana contagiosa, cuyos agentes causales son *S. pullorum* que produce la pulorosis y *S. gallinarum* que produce la Tifoidea aviar.
- 3.22. *Salmonella gallinarum* cepa 9R: Cepa avirulenta de *S. gallinarum* (#9240) obtenida a partir de una cepa lisa de *Salmonella gallinarum*, sometida a nueve pases continuos en medios sintéticos incubados a 20°C y estabilizada en fase rugosa mediante el empleo de bacteriófagos. No altera la producción de huevo ni disminuye el peso de las aves inmunizadas. No se ha reportado eliminación por heces ni por el huevo.
- 3.23. Secretaría: La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- 3.24. Seguridad o inocuidad: Prueba de control de calidad para verificar que un producto no cause reacciones desfavorables atribuibles al mismo.
- 3.25. Semilla maestra: Microorganismo identificado, seleccionado y almacenado permanentemente a un nivel de pasaje específico, empleado para la producción de semilla de trabajo.
- 3.26. Semilla de trabajo: Microorganismo elaborado a partir de la semilla maestra, identificado, seleccionado y almacenado permanentemente a un nivel de pasaje específico empleado para la producción de vacuna.
- 3.27. Titulación: Prueba de control de calidad para asegurar que un producto contiene la cantidad de antígeno establecido en la orden de producción.

3.28. UFC: Unidades formadoras de colonia que se emplea para expresar el contenido de bacterias viables en una vacuna, asumiendo que cada bacteria da origen a una colonia.

3.29. Vacuna 9R: Producto biológico elaborado de la cepa rugosa atenuada de *Salmonella gallinarum* 9R, utilizado para el control de la Salmonelosis Aviar.

4. Disposiciones generales

4.1. Para la elaboración, comercialización y aplicación de los biológicos utilizados en la prevención y control de la Salmonelosis aviar, estará sujeta a la NOM-005-ZOO-1993.

4.2. Están obligados a cumplir con la presente Norma los productores e importadores de estos biológicos.

4.3. La protección de regiones, estados, zonas, parvadas y granjas libres de Salmonelosis aviar o en etapas avanzadas de la campaña, se efectuará mediante el estricto control de la venta y comercialización de vacunas y bacterinas.

5. Requisitos mínimos para la producción de la vacuna 9R

5.1. Características del producto.

Cultivos puros de *Salmonella gallinarum* cepa 9R, liofilizados, contenidos de 50 a 150 x 10⁻⁶ UFC/dosis o 10E6 UFC.

5.2. Medios de producción.

Se emplearán medios de cultivo artificiales que permitan el crecimiento de esta bacteria.

5.3. Requisitos de prueba.

El titular del producto debe presentar el respaldo científico que certifique la inmunogenicidad de la semilla de trabajo.

Por cada lote de producto terminado antes de que salga al mercado, el elaborador y/o titular del producto debe realizar en un laboratorio aprobado las pruebas de constatación que se describen a continuación.

Para garantizar las características de la semilla maestra, ésta no debe exceder de tres pases, después de adquirida.

5.3.1. Prueba de pureza.

5.3.2. Prueba de esterilidad. Esta prueba consiste en determinar que el producto está libre de contaminantes.

5.3.3. El análisis bacteriológico, usando medios aerobios y anaerobios, debe demostrar que el producto está exento de cualquier bacteria viva.

5.3.4. Deben realizarse las pruebas necesarias que demuestren que el producto está exento de hongos y levaduras.

5.3.5. Prueba de homogeneidad, se realizará por examen microscópico del antígeno, para demostrar uniformidad celular, ausencia de autoaglutinación y de cuerpos extraños.

5.4. Para determinar la pureza del género y especie bacteriana se deben efectuar las siguientes pruebas.

5.4.1. Tinción de Gram, para confrontar la morfología típica del género.

5.4.2. Pruebas bioquímicas de acuerdo a las señaladas por el elaborador y/o titular del producto.

5.4.3. Serología con los antiseros estándares para serotipificar, correspondiendo a *Salmonella gallinarum* cepa 9R y las necesarias para comprobar que el microorganismo cumple con las características señaladas por el elaborador y/o titular del producto.

5.4.4. Determinar la presencia de *Salmonella gallinarum* cepa rugosa 9R, mediante aglutinación con acriflavina y/o técnica de White Wilson.

5.5. Prueba de seguridad o inocuidad.

5.5.1. Se utilizarán diez pollos libres de anticuerpos contra *Salmonella gallinarum* libres de patógenos específicos de la misma parvada, de 1 a 5 días de edad, los que se inocularán con 10 dosis de la vacuna, por vía subcutánea.

5.5.2. Los pollos se observarán diariamente durante 4 semanas post-inoculación, no debiendo de presentar ningún signo de enfermedad ni manifestaciones indeseables atribuibles al producto para que la prueba sea satisfactoria.

5.6. Prueba de viabilidad.

5.6.1. Dos frascos del producto a probar serán reconstituídos con el diluyente que los acompaña, mezclando ambos y considerando esta dilución como cero.

5.6.2. Se realizarán diluciones logarítmicas decimales y de las diluciones 10-6, 10-7 y 10-8, se inoculan con 0.1 ml, en un mínimo de 4 cajas de Petri, por cada dilución conteniendo medio de Agar Soya Trypticaseína e incubándolas a 37°C durante 24 horas.

5.6.3. La vacuna probada debe tener una cuenta viable de 50 a 150 x 10⁶ UFC/dosis, al término de la vigencia del producto.

5.6.4. Para efectos de comprobación, el elaborador y/o titular del producto debe cumplir los requisitos señalados y asegurar una cuenta viable mínima de 50 millones de UFC/dosis, durante el periodo de vigencia que se ofrezca por cada lote de producto terminado, que no debe ser mayor de 18 meses a partir de la fecha de elaboración y hasta de tres meses, posteriores a la caducidad indicada en la etiqueta del mismo para las muestras de retención.

5.6.5. La humedad debe ser menor de 4%, determinada por el método de Karl Fisher.

5.6.6. La determinación de vacío mediante el uso del aparato de Teesler, no debe ser menor al 95.0% del total de frascos que conforman el lote.

5.7. Prueba de potencia.

5.7.1. Esta prueba debe llevarse a cabo en aves susceptibles de 18 semanas de edad, libres de anticuerpos, contra *Salmonella* spp. Se dividen en dos grupos de 10 aves cada uno, al grupo de prueba se le aplica la vacuna con la dosis y por la vía recomendada por el titular del producto. El grupo control no se vacuna y se mantiene bajo las mismas condiciones que los grupos de prueba.

5.7.2. Cinco semanas después de la inmunización, ambos grupos son desafiados por administración oral de una suspensión de *S. gallinarum* (10⁹ CFU) capaz de matar al 90% de las aves control o inducir signos característicos de la enfermedad en al menos el 90% de las aves control. La cepa de desafío debe ser recuperada de las aves muertas.

5.7.3. Las aves deben ser observadas durante 21 días después del desafío, anotando la mortalidad observada. La prueba debe considerarse satisfactoria cuando por lo menos el 70% de las aves vacunadas permanezcan vivas y sin signos de tifoidea aviar y el 90% de las aves control mueran y/o presenten signos de la enfermedad. Los resultados diferentes a los señalados para esta prueba deben considerarse como insatisfactorios.

6. Antígeno K polivalente

6.1. Características del producto.

Suspensión de cultivos puros de *Salmonella pullorum*, cepas 4, 11, 77, 79 y 296; inactivadas por medios químicos y teñidas con cristal violeta, hematoxilina o cualquier otro colorante que permita la observación de una adecuada aglutinación.

6.2. Medios de producción.

Medios artificiales que permiten el crecimiento de estos microorganismos.

6.3. Requisitos de prueba.

Por cada lote de producto terminado, antes de salir al mercado, el elaborador y/o titular del producto debe realizar las siguientes pruebas:

6.3.1. Prueba de esterilidad. Esta prueba consiste en determinar que el producto está libre de contaminantes.

6.3.2. El análisis bacteriológico, usando medios aerobios y anaerobios, debe demostrar que el producto está exento de cualquier bacteria viva.

6.3.3. Deben realizarse las pruebas necesarias que demuestren que el producto está exento de hongos y levaduras.

6.3.4. Prueba de homogeneidad, se realizará por examen microscópico del antígeno, para demostrar uniformidad celular, ausencia de autoaglutinación y de cuerpos extraños.

6.3.5. Prueba de concentración celular.

Colocar 0.2 ml. de muestra en 4.8 ml. de agua destilada en tubos de Fish Hopkins y centrifugar a 2,500 r.p.m. durante 75 minutos.

Emplear un antígeno de referencia y el antígeno a evaluar por duplicado.

El producto se considerará satisfactorio a una concentración celular de 2.5% a 3%.

6.3.6. Prueba de sensibilidad.

La reactividad del antígeno debe ser probada comparando la reacción de aglutinación con un antígeno de referencia. Se usarán tres sueros francamente positivos, tres ligeramente positivos y seis negativos. La prueba se interpretará tomándose el siguiente criterio:

- Reacción positiva;
- Presencia de grumos en suspensión en un tiempo no mayor de 120 segundos.
- Mezcla parcialmente clara con grumos.
- Reacción negativa;
- Mezcla turbia y sin grumos en un tiempo no mayor de 120 segundos.

El producto se considerará satisfactorio, cuando por lo menos cinco de los seis sueros positivos den reacción positiva durante la prueba y ningún suero negativo reaccione ligeramente o francamente, en forma positiva.

Resultados contrarios a los señalados serán considerados insatisfactorios.

7. Requisitos mínimos para bacterinas

La aplicación de estos biológicos estará condicionada al punto 10. de la NOM-005-ZOO-1993 Campaña Nacional contra la Salmonelosis Aviar.

7.1. Requisitos de prueba para la semilla maestra.

El titular del producto debe presentar el respaldo científico que certifique la inmunogenicidad de la semilla maestra, mediante el uso de cepas de referencia nacional o internacional, con respaldo científico que garantice la inmunogenicidad de la semilla maestra.

El elaborador y/o titular del producto debe realizar en un laboratorio aprobado las pruebas de constatación que se describen a continuación para garantizar las características de la semilla maestra, la cual no debe exceder de tres pases, después de ser adquirida.

7.1.1. Prueba de pureza.

Esta prueba consiste en determinar que la semilla está libre de contaminantes.

Para determinar la pureza del género y especie bacteriana se deben efectuar las siguientes pruebas:

7.1.1.1. Tinción de Gram, para confrontar la morfología típica del género.

7.1.1.2. Pruebas bioquímicas de acuerdo a las señaladas por el elaborador y/o titular del producto.

7.1.1.3. Serotipificación con los antisueros estándares, correspondiendo a *Salmonella gallinarum* y las necesarias para comprobar que el microorganismo cumple con las características señaladas por el elaborador y/o titular del producto.

7.2. Requisitos de prueba para producto terminado.

7.2.1. Características del producto.- Bacterina formulada en emulsión o en hidróxido de aluminio, con cultivos inactivados de *Salmonella gallinarum*.

7.2.2. Medios de producción.- Se emplearán medios de cultivos adecuados para *Salmonella*.

7.2.3. Esterilidad.- Esta prueba consiste en determinar que el producto está libre de cualquier contaminante vivo o activo demostrable.

7.2.4. El análisis bacteriológico, usando medios para gérmenes aerobios y anaerobios, debe demostrar que el producto está exento de cualquier bacteria contaminante, así como hongos y levaduras.

7.2.5. Determinación del contenido de formaldehído.- El contenido residual de formaldehído no debe exceder al equivalente de una solución al 0.2% de acuerdo a lo establecido por el Supplemental Assay method for the manual colorimetric Determination of formaldehyde in Veterinary Biologics, SAM 510.

7.2.6. Prueba de seguridad.

Se usarán 10 pollos susceptibles de la misma parvada de 18 semanas de edad y se inocularán con dos dosis de la vacuna por vía subcutánea. Los pollos se observarán diariamente durante 4 semanas post-inoculación, no debiendo presentar ningún signo de enfermedad ni manifestaciones indeseables, atribuibles al producto. Los resultados contrarios se considerarán insatisfactorios.

7.2.7. Prueba de potencia.

7.2.7.1. Esta prueba deberá llevarse a cabo en animales susceptibles de 18 semanas de edad divididos en dos grupos; un grupo de prueba y un grupo control (10 aves por grupo). A los animales de los grupos de prueba se les aplicará la vacuna en la dosis y vía recomendada por el laboratorio productor. El grupo control no se inmunizará y se mantendrá bajo las mismas condiciones que el grupo de prueba.

7.2.7.2. Cinco semanas después de la inmunización, los animales serán desafiados por la administración oral de una suspensión de microorganismos vivos (10⁹ DI/dosis) capaz de inducir signos y/o mortalidad en el 80% de las aves.

7.2.7.3. Las aves deben de ser observadas durante 21 días después de la inmunización, anotando la mortalidad observada. La prueba se considerará satisfactoria cuando por lo menos el 70% de las aves vacunadas permanezcan vivas y sin signos de salmonelosis y el 90% de los animales del grupo control mueran y/o presenten signos de la enfermedad. Los resultados diferentes a los señalados anteriormente para esta prueba deben considerarse insatisfactorios.

8. Sanciones

El incumplimiento de las disposiciones contenidas en la presente Norma será sancionado conforme a lo establecido en la Ley Federal de Sanidad Animal y la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

9. Concordancia con normas internacionales

El contenido técnico de esta Norma no es equivalente a ninguna norma internacional en la primera revisión.

10. Bibliografía

Calneck, et. al.: Diseases of Poultry. Iowa State University Press, Ninth Edition, pág. 87-99 Fowl Typhoid.

Cameron, et. al.: Production and application of a live Salmonella gallinarum vaccine. Ouderiste poort Journal of Veterinary Research, vol. 46 pág.: 185-189, 1979.

Code of Federal Regulations. Parte 9, 147. Páginas 541-544.

Documentos Internos. Control de Calidad. Pronabive.

Silva, et al.: Studies on the use of 9R strain of Salmonella gallinarum as a Vaccine in chickens. Avian Diseases, Vol. 25 No.1, 1980.

Supplemental Assay Method for the Manual Colorimetric Determination of Formaldehyde in Veterinary Biologics. Sam 510 United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Veterinary Biologics Division Ames Iowa 50010.

11. Disposiciones transitorias

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 10 de febrero de 1997.- El Director General Jurídico, Roberto Zavala Echavarría.- Rúbrica.