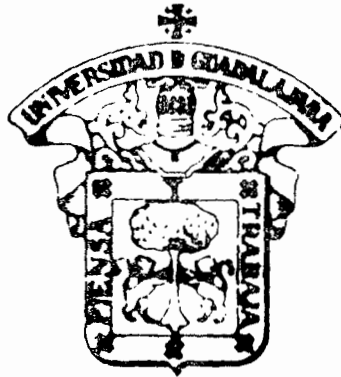


UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



OFICINA DE
REGISTRO CIENTÍFICO

**VALORACION SOBRE LA CANTIDAD DE VIRUS VIVO DE LAS
VACUNAS CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE, RECIEN
PRODUCIDAS POR EL LABORATORIO, EL DE VACUNAS ADQUI-
RIDAS CON MAYORISTAS, Y OTRAS COMERCIALIZADAS AL
MENUDEO EN FARMACIAS VETERINARIAS CIRCUNVECINAS A
GUADALAJARA, JAL.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
NESTOR PEDRO CAMARA MARTINEZ
GUADALAJARA, JALISCO, 1987

DEDICATORIA

Con amor,
a mi Mamá
por su apoyo
y comprensión.

A mis hermanos,
por el estímulo
que me dieron.

A mi novia Isabel,
por su amor y colaboración.

A mis maestros,
por los conocimientos
que me transmitieron.

Con profundo agradecimiento,
a mi asesor;
MVZ. Javier Sánchez A.
por su amistad y cooperación.

VALORACION SOBRE LA CANTIDAD DE VIRUS VIVO DE LAS -
VACUNAS CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE, RECIEN -
PRODUCIDAS POR EL LABORATORIO, EL DE VACUNAS ADQUI-
RIDAS CON MAYORISTAS, Y OTRAS COMERCIALIZADAS AL ME
NUDEO EN FARMACIAS VETERINARIAS CIRCUNVECINAS A ---

GUADALAJARA, JAL.

INDICE

	Pag.
I Introducción.	1
II Objetivo	9
III Metodología	10
IV Material y Métodos	11
V Descripción del procedimiento para la titulación- de las diferentes vacunas	15
VI Técnicas Utilizadas	18
a).- Técnica de lavado y desinfección de los - - embriones.	18
b).- Técnica de inoculación en el Saco Alantoides.	19
c).- Preparación de las diluciones decimales.	21
d).- Lectura de las titulaciones.	22
e).- Método de Karber	23
f).- Método de Reed-Muench	24
VII Resultados	25
VIII Discusión	43
IX Conclusiones	45
X Resumen	47
XI Bibliografía	48



INTRODUCCION

- La Avicultura es la actividad que ocupa el segundo lugar en la Industria Pecuaria Mexicana, y sus productos finales son; el huevo de plato, y la carne para consumo. La importancia de la Avicultura radica en el papel estratégico que juega en la alimentación de amplias capas de la población, por ser la fuente que proporciona la proteína de origen animal de más bajo precio en el mercado.

- Sin embargo, para que las empresas avícolas alcancen sus objetivos productivos, son necesarios e indispensables la formulación de programas de selección, de alimentación, alojamientos, calendarios profilácticos de vacunación, capacitación de personal y otros más, que son factores que en un momento determinado pueden influir de una o de otra manera en el sistema de producción.

- Es de principal importancia el programa sobre Sanidad Animal, cuyo objetivo es lograr el control adecuado y racional de las enfermedades animales, y de aquellas transmisibles al hombre, permitiendo así, la plena manifestación de los caracteres productivos y reproductivos de nuestras especies. (2,4)

- Ante esto, los Médicos Veterinarios Zootecnistas especialistas en Ciencias Avícolas, recomiendan la vacunación profiláctica contra enfermedades específicas, que de presentarse en la empresa, originarían un daño altamente gravable. (2,6)

- Una de éstas enfermedades, la Enfermedad de --- Newcastle, ha sido y es uno de los principales problemas de salud de mayor importancia en la Avicultura Nacional.

- A partir de 1969, el número de brotes ha ido en aumento, presentandose en gran número de casos, en aves - que han sido vacunadas una o inclusive dos veces o más, - razón por la cual el acelerado desarrollo de la Avicultura Nacional ha sido constantemente interrumpido, debido - como se dijo, a la alta incidencia y severidad de los brotes. (11)

- La importancia de ésta enfermedad radica, en -- las pérdidas tan considerables que ocasiona, debido a:

- Decremento en los porcentajes de postura ó engorda.
- Decremento en la calidad del producto terminado.
- La alta morbilidad y mortalidad. (3,4,6)

- El control y prevención de la Enfermedad de -- Newcastle, se ha intentado mediante dos métodos:

- 1.- Sacrificio de los animales infectados, con - objeto de erradicar la enfermedad.
 - 2.- Vacunación de las aves, con objeto de evitar la aparición de la enfermedad, como se practica comunmente en las empresas.
- El sacrificio de las aves infectadas, sólo se-

podría realizar en lugares de reciente introducción o presentación de la enfermedad, y donde la zona afectada es limitada, contandose además, con condiciones socio-económicas favorables.

- Las condiciones que favorecen la presentación de la enfermedad son:

- La existencia de varias granjas próximas entre sí.
- Si se tienen calendarios de vacunación inadecuados.
- Si trabajan bajo el sistema rotacional de producción.
- Además está comprobado que existen muchos factores que influyen en la forma de presentación de la enfermedad, siendo los más importantes:

- La Cepa Viral.
- El Stress.
- El estado inmunológico. (2,4)
- La Cepa Viral es importante, porque de acuerdo a ella, se determina el tipo de manifestación clínica, que puede ser:

- Respiratoria.
- Digestiva.

- Nerviosa.
- O conjugadas dos sintomatologías.

- Se encuentran diferenciadas varias Cepas, en:

- CEPAS VELOGENICAS.

- Matan al embrión de pollo entre las 12-48 horas, post-inoculación.

- CEPAS MESOGENICAS.

- Matan al embrión de pollo entre las 48-96 horas, post-inoculación.

- CEPAS LENTOGENICAS.

- Matan al embrión de pollo a las 96 horas, post inoculación o no lo matan.

- Según la presentación de la enfermedad y los transtornos que provocan, se agrupan en varios tipos.

a).- TIPO MITCHNER.

- Origina infección suave e inaparente, las Cepas Lentogénicas forman parte de este grupo. Son utilizadas para la producción de vacunas a virus vivo. Algunas de éstas Cepas son: La B₁, La Sota, Clone 30, Ulster 2c.

b).- TIPO BEAUDETE.

- Produce lesiones más severas que el Tipo Hitchner, es letal en pollitos. Dentro de este grupo se encuentran las Cepas Vacunales Mesogénicas, como la: ----- Roakin y la M.V. 107.

c).- TIPO BEACH. (NEUMOENCEFALICA)

- Provoca síntomas respiratorios y nerviosos en aves de cualquier edad, así como lesiones hemorrágicas - en proventrículo. Es producido por Cepas Velogénicas, como la: G.B. Texas, y California 1914, que con frecuencia son utilizadas en la elaboración de vacunas a virus muerto.

d).- TIPO DOYLE. (ASIATICA)

- Es agudo y letal para aves de cualquier edad, dentro de este tipo se encuentran las Cepas Viscerotrópicas Velogénicas, de las cuales existen varias en el Valle de México, como la Ixtapalapa, C.U., Chimalhuacan.
(6,7,11)

- Ante esto, los Avicultores trabajan en base a la medicina preventiva, en este caso, vacunación profiláctica, con el fin de evitar las enfermedades ó reducir su severidad. La vacunación se considera, como un recurso específico preventivo, del que se puede disponer para proteger a las aves contra enfermedades.- en este caso-

contra la Enfermedad de Newcastle.

- La vacunación por definición es: "la inoculación de una sustancia biológica específica (antígeno), - que provoca una respuesta de inmunidad en un ser vivo, - estimulando la formación de Anticuerpos específicos, a - un agente infeccioso determinado, aumentando así su resistencia a la enfermedad, y reduciendo grandemente los riesgos de contraerla". (2,5)

- Conociendo la importancia que tiene la inmunización, el personal de laboratorios (virólogos, biólogos bacteriólogos, etc.), productores de vacuna, trabajan en base a métodos cualitativos y cuantitativos de producción, rigiendose por normas y medidas técnicas avanzadas ofreciendo un producto de óptima calidad. (1,7)

- Pero en ocasiones, estos productos no brindan los requerimientos deseados, objeto que ha sido estudiado ampliamente, y en los que se enuncian una gran variedad de agentes que influyen en ésta falla sobre la inducción de la inmunidad.

- Los factores que intervienen están relacionados con el huésped, como son:

- Nivel de producción.
- Densidad de población.
- Condiciones de higiene.
- Edad.
- Manejo de la parvada. (1,2,4)



OFICINA DE
INSPECCIÓN Y CONTROL DE ALIMENTOS

y factores relacionados con la vacuna, como:

- Cepa Vacunal.
- Manejo adecuado.
- Evitar la contaminación.
- Evitar la inactivación.
- Vigilar la vigencia de actividad.
- Observar la dosificación adecuada.

- La vacunación contra la Enfermedad de Newcastle, debe de ofrecer un tiempo máximo de protección, dependiendo de la Cepa Vacunal, la vía de administración y dosificación, en éste caso, enfocado a la cantidad de virus vivo que recibe el ave. (2,6,7,14,15)

- Para asegurar una dosis de virus vivo que induzca una buena inmunidad, las vacunas poseen un título que es elevado al salir del laboratorio productor. El título mínimo aceptado por la S.A.R.H., es de 10^{-7} DIE50/50 ml. (dosis infectante para el embrión de pollo 50 %). Se estandariza este título, porque las probabilidades de -- presentación de algún brote aumentan, cuando se aplican vacunas con títulos inferiores. (12,13)

- El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos Americanos, para asegurar la calidad de la vacuna durante su vigencia, recomienda someter la vacuna liofilizada recién producida, a una temperatura de 37°C, durante 7 días, (Método de Aceleración).- con objeto de simular de ésta manera, el efecto del almacenamiento a --- 4-7°C., a que la vacuna es sometida en su período de vi-

gencia.

- Si el título de la vacuna se reduce en más de -
1 log. de 10, en comparación con una vacuna no calentada,
es signo de que la liofilizada no fué la adecuada, y no -
se permite su venta.

- Es también importante, la estabilidad que mues-
tra la vacuna después de ser reconstituída con el diluyente
que proporciona el productor.

- OBJETIVO.

- El objetivo de éste trabajo, fué el de investigar la cantidad de virus vivo que poseían las vacunas; - recién producidas por el laboratorio, el de vacunas obtenidas con distribuidores mayoristas, y las obtenidas en farmacias veterinarias circunvecinas a Gundalajara, Jal.

- Se probó además, la estabilidad de las vacunas liofilizadas, aplicando el Método de la Aceleración, a - algunos ejemplares obtenidos directamente con el productor.

- Se probó también, la estabilidad de la vacuna-reconstituida con el diluyente que proporciona el productor, a algunos ejemplares obtenidos con el distribuidor-mayorista, y a todas las obtenidas en farmacias veterinarias que comercializan al menudeo en la periferia de Guadalajara, Jal.

- Se observaron además, posibles variantes entre las Cepas B₁ y La Sota, en todas las pruebas y se diferenció.



OFICINA DE
DEFUSION CIENTIFICA

- METODOLOGIA.

- Para llevar a la práctica ésta investigación, primeramente se adquirieron las vacunas contra la Enfermedad de Newcastle, con el Productor, con el Distribuidor Mayorista, y en Farmacias Veterinarias que comercializan en la periferia de Guadalajara, Jal.

- Se adquirieron embriones de pollo de 9-11 días de edad, a los cuales se les inculó la vacuna a diferentes diluciones decimales, para posteriormente, de acuerdo a los resultados obtenidos y observados, se procedió a la titulación.

- La Cepa Vacunal utilizada fué la Cepa La Sota, misma que se probó ante la Cepa B₁.

- En ésta investigación se utilizaron 10 embriones por dilución decimal de la vacuna, y se realizaron un mínimo de 3 diluciones.

- El lugar donde se realizó esta investigación fué, con permiso de las autoridades correspondientes, en el Departamento de Fisiología y Farmacología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara.

- MATERIAL Y METODOS UTILIZADOS PARA LA INOCULACION Y -
LECTURA DE LAS TITULACIONES.

- MATERIAL PARA LA INOCULACION.

- Biológico, Cepa La Sota y Cepa B₁.
- Embriones de pollo de 9-11 días de edad.
- Antiséptico y desinfectante (marca comercial).
- Ovoscopio.
- Jeringas graduadas en décimas de mililitro (0.1 ml.)
- Tubos de ensayo.
- Medio de cultivo, Caldo Triptosa Fosfatada (CTP).
- Antibióticos (Penicilina, Estreptomina, Kanamicina)
- Esmalte para uñas.
- Incubadora.

- TECNICA UTILIZADA.

- Se aplicó una solución antiséptica con un algodón impregnado, en el polo que correspondía a la cámara de aire del huevo.

- Se observaron los embriones en el ovoscopio, para determinar su viabilidad, y elegir los puntos para su inoculación.

a).- Se prepararon las diluciones decimales de la vacuna en los tubos de ensayo, depositando 2 ml. de CTP, en cada uno.

b).- Se reconstituyó la vacuna con 2 ml. de CTP y antibiótico.

c).- Se realizaron las diluciones decimales.

- Se perforó sobre los puntos marcados en el huevo.

- Se inocularon con 0.2 ml. de la dilución, con jeringas graduadas en décimas de mililitro (0.1 ml) cada uno de los 10 embriones correspondientes. Se rotularon -- con lápiz grafito para su identificación.

- Se cerraron los puntos perforados con esmalte -- para uñas.

- Se incubaron por 4-5 días.



- MATERIAL UTILIZADO EN LA LECTURA Y TITULACION.

- Una ave para obtener una solución de Glóbulos-Rojos al 15 %. Se utilizó un pollo de 3 meses de edad, libre de anticuerpos específicos, ya que nunca fué vacunado.

- Solución Salina Fisiológica al 5 %.
- Centrífuga.
- Anticoagulante (marca comercial).
- 2 Tubos de ensayo.
- Pipetas estériles.
- 1 Placa de vidrio de 20 X 30 cm.
- Jeringa hipodérmica de 5 ml.
- Pinzas estériles.
- Embriones inoculados.

- TECNICA UTILIZADA.

- Se desinfectó la cáscara que cubre la cámara de aire del huevo.

- Se recolectaron los líquidos alantoideos, rompiendo la cáscara con ayuda de unas pinzas estériles, eliminándola desde unos 5 mm. por encima del límite inferior de la cámara de aire.

- Mediante el uso de una pipeta, se rompió el saco vitelino, y se aspiró una muestra del líquido, la cual fué depositada en la placa de vidrio.

- Se le agregó a la muestra del líquido, una go-

ta de la Solución de Glóbulos Rojos al 15 %, y se rotó el vidrio, para observar la presencia de la Hemoaglutinación.

- Con los resultados obtenidos, se aplicó la --
formula para la Titulación.



- DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO PARA LA TITULACION DE --
LAS DIFERENTES VACUNAS.

- VACUNAS ADQUIRIDAS DIRECTAMENTE CON EL PRODUCTOR.

- Se titularon 15 frascos de vacuna pertenecientes a un mismo lote. 10 frascos se analizaron inmediatamente, y el resto se sometió a la Prueba de la Aceleración.

- Como base de comparación entre Cepas, se adquirieron 15 frascos de vacuna de diferente Cepa, y por el mismo método se titularon 10 frascos inmediatamente, y los 5 restantes se sometieron a la Prueba de la Aceleración.

- Para la titulación se utilizaron 10 embriones por dilución decimal, y se realizaron un total de 3 diluciones.

- Se inocularon los embriones, y se colocaron en incubación a 37.8°C., durante 4-5 días.

- Se consideraron positivos a la infección con el virus, a aquellos embriones que contempian hemoaglutininas en el líquido amniótico a los 4-5 días post-inoculación.

- Los embriones que murieron en las primeras 24 horas, no se tomaron en cuenta para calcular la DIE 50.

- Las diluciones decimales se hicieron con CTP y antibiótico, (100,000 UI de Penicilina, 100 mgrs. de E treptomycinina y 100 mgrs. de Kanamicina).

- Se calcularon los títulos por el Método de --- Karber. (7,12,13)

- Para la Prueba de la Aceleración de la vacuna- se tomaron 5 ejemplares del lote, y se expusieron a 37°C por 8 días. Después de este período se inocularon.

- VACUNAS ADQUIRIDAS CON EL DISTRIBUIDOR MAYORISTA.

- Fueron adquiridos 10 frascos de vacuna con el distribuidor mayorista, 5 de los frascos fueron titula-- dos inmediatamente, y los 5 restantes fueron sometidos a la Prueba de la Estabilidad.

- Para la Prueba de la Estabilidad de la vacuna, se colocaron 5 ml. de la vacuna reconstituida con el diluyente que proporciona el productor, en un tubo de cris- tal de 13 x 100 mm., y se calentó en Baño María a 37 °C- tomando muestras para la titulación, a los 0' 30' y 60'- minutos.



- VACUNAS ADQUIRIDAS EN FARMACIAS VETERINARIAS CIRCUNVE-
CINAS A GUADALAJARA, JALISCO.

- Se adquirieron 9 vacunas de diferentes lotes - en diversas farmacias veterinarias, y se sometieron a la Prueba de la Estabilidad.

- Sólo se sometieron a ésta prueba, para determi-
nar la Estabilidad de la vacuna reconstituída con el di-
luyente que proporciona el productor, en un lapso de 1 -
hora, tiempo promedio en que se aplica la totalidad de -
un frasco de 1,000 dosis.

- Todas las vacunas se mantuvieron a 4-7 °C., desde su -
obtención hasta su titulación.

- TECNICAS UTILIZADAS EN ESTA INVESTIGACION.

- TECNICA DE LAVADO Y DESINFECCION DE LOS EMBRIONES.

- Se utilizó agua combinada con un detergente y un desinfectante, manteniendo una temperatura de 37.5 - 40.5 °C.

- El desinfectante utilizado tenía una concentración de 50 ppm. de Cloro y Cuaternaria de Amonio, en el agua de lavado.

- Se lavaron y tallaron los embriones con ésta solución.

- Se rociaron con una solución que tenía una concentración de 200 ppm. de cloro, a una temperatura de 40.5-43.5 °C.

- Se prepararon para ser observados en el ovoscopio.

- TECNICA DE INOCULACION EN EL SACO ALANTOIDES.

- Se examinaron en el ovoscopio los embriones, y se utilizó un lápiz grafito para marcar los puntos de inoculación, sobre la cáscara.

a).- Se eligió una zona del polo superior del huevo, sobre la cámara de aire, a unos 5 mm. por arriba del límite del Saco Vitelino, y se marcó.

b).- Se eligió una zona de la Membrana Corioalantoidea, distante del embrión y de la cavidad Amniótica, libre de grandes vasos sanguíneos, y a unos 5 mm. por debajo de la cámara de aire, se marcó.

- Con ayuda de un aplicador se desinfectaron los puntos señalados en la cáscara, utilizando Merthiolate.

- Se redujo el grosor de la cáscara, en los puntos señalados, tallándolos con lija fina.

- Se perforó el punto frágil sobre la cámara de aire, con una aguja estéril calibre 24, provista de una guía de hule previamente esterilizada, para evitar la penetración de más de 2 mm.. Se perforó también el punto marcado por debajo del Saco Vitelino.

- Fueron utilizadas para la inoculación, jeringas graduadas en décimas de mililitro (0.1 ml.), con aguja de disección del calibre 27 X 1 pulgada.

- La aguja se insertó a travéz del sitio de inoculación, por lo menos a una profundidad de $1/4$ de pulgada, o sea 6 mm.

- Se insertó la aguja, formando siempre un ángulo de 45° .

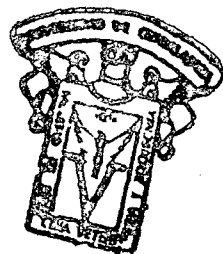
- Se dirigió la aguja hacia la cáscara, y no hacia el centro del huevo, y se depositó la cantidad de inóculo requerida.

- Se cerraron los orificios de inoculación, con esmalte para uñas.

- Se rotularon los huevos con lápiz grafito para su identificación.

- Se incubaron a 37.8°C . por 4-5 días.

(8)



OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

- TECNICA PARA LA PREPARACION DE LAS DILUCIONES.

- Se prepararon 7 tubos de ensayo con 2 ml. de - CTP, y se rotularon con 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , -- 10^{-6} , y 10^{-7} .

- Se reconstituyó el contenido del frasco de vacuna, utilizando 2 ml. de CTP y Antibiótico, se agitó -- bien para homogeneizar el preparado.

- Se tomó 0.2 ml. del frasco de vacuna, y se depositó en el tubo de ensayo marcado con 10^{-1} .

- Se tomó 0.2 ml. del tubo marcado con 10^{-1} , y - se depositó en el tubo marcado con 10^{-2} , se siguió este procedimiento hasta llegar a la dilución 10^{-7} .

- Se inocularon los embriones de pollo de 9-11 - días de edad, con 0.2 ml. de la dilución.

- Se utilizaron 30 embriones de pollo, ya que u- nicamente se trabajaron las diluciones 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} utilizando 10 embriones por dilución decimal.

- En todas las inoculaciones del virus, se utili zó una jeringa diferente para cada dilución sucesiva, ya que una jeringa que ha sido utilizada, queda contaminada con millones de partículas víricas, aue muy dificilmente pueden eliminarse por un simple lavado.

- LECTURA DE LAS TITULACIONES POR MEDIO DE LA REACCION-
DE LA HEMOAGLUTINACION PRESENTE.

- Se recogieron las muestras a partir del embrión de pollo inoculado.

- Se recolectó el líquido alantoideo, con una pipeta estéril ó con una jeringa.

- Previamente se desinfectó la cáscara que cubre la cámara de aire, con un desinfectante común. Se rompió la cáscara con unas pinzas estériles, eliminándola desde unos 5 mm. por encima del Saco Vitelino.

- Se insertó la pipeta en la Cavidad Alantoidea, y se aspiró un poco de líquido.

- Se colocó la muestra de líquido en una placa de vidrio, y se le agregó una gota de Solución de Glóbulos - Rojos al 15 %, se movió la placa de vidrio para observar si estaba presente o no la Hemoaglutinación.

- Se dió un lapso de 3 minutos, y se marcó con -- (+) a los positivos y con (-) a los negativos.

- Se titularon por el Método de Karber, todas las pruebas inmediatas. Concretamente a las vacunas que se adquirieron directamente con el productor, y a algunas obtenidas con el distribuidor mayorista.

- Se titularon por el Método de REED-MUENCH, todas las sometidas a la Prueba de la Estabilidad.

METODO DE KARBEN

DILUCION DEL VIRUS	RAZON DE INFECCION	PROPORCION DE INFECCION.
10 ⁻¹	5/5	1.0
10 ⁻²	3/5	0.6
10 ⁻³	1/5	0.2
10 ⁻⁴	0/5	0

+Log 10 de TCID 50= L-d (s-0.5)

L= Log. 10 de la dilución más concentrada sometida a prueba.

s= Suma de las proporciones. (1.0+0.6+0.2+0)= 1.8

= -1-1 (1.8-0.5)

= -2.3

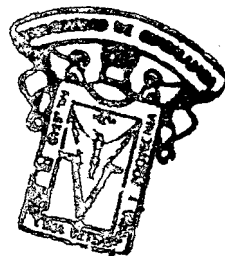
- El título es de 10^{-2.3} TCID 50/0.1 ml. ó
10^{-3.3} TCID 50/50 ml.

METODO DE REED-MUENCH.

Tiempo	Respuestas		Positivas	Negativas	%
	Positivas	Negativas	totales sumadas hacia arriba	totales sumadas hacia abajo	
0'	4	0	9	0	100
30'	3	1	5	1	83
60'	2	2	2	3	40

* Punto Extremo 50 % = 70%

* El Punto Extremo 50%, se calcula por interpolación gráfica-
(Lennette, 1964).



OFICINA DE
ESTADÍSTICA Y CENSOS

RESULTADOS.

- TITULOS DE LAS VACUNAS ADQUIRIDAS DIRECTAMENTE CON EL
PRODUCTOR.

- CEPA LA SOTA.

- De las vacunas adquiridas directamente con el productor, ninguna poseía un título inferior a 10^{-7} TCID 50/50 ml., a la titulación inmediata. El título mínimo obtenido fué de $10^{-7.5535}$ TCID 50/50 ml., y el título máximo alcanzado fué de $10^{-9.13}$ TCID 50/50 ml.

- En la Prueba de la Aceleración, los títulos obtenidos fueron de $10^{-7.347}$ TCID 50/50 ml., como título mínimo, y de $10^{-8.74}$ TCID 50/50 ml., el título máximo alcanzado.

- El decremento demostrado fué de 0.2065 Log. de 10, en los títulos mínimos, y de 0.39 Log. de 10 los títulos máximos, tras de ser sometidos a calentamiento a 37 °C. durante 7 días.

- CEPA B₁.

- Respecto a las vacunas adquiridas con el productor de la Cepa B₁, ninguna vacuna presentó títulos inferiores a 10^{-7} TCID 50/50 ml.. El título mínimo alcan-

zado fué de $10^{-7.766}$ TCID 50/50 ml., y el título máximo-fué de $10^{-9.2}$ TCID 50/50 ml. en la titulación inmediata.

- Las vacunas que fueron sometidas a la --
Prueba de la Aceleración, marcaron como título mínimo --
 $10^{-7.766}$ TCID 50/50 ml., y como título máximo $10^{-8.31}$ --
TCID 50/50 ml.

- Los decrementos observados fueron de ---
0.6 Log. de 10, para los títulos mínimos, y de 0.89 Log.
de 10, para los títulos máximos.

DECREMENTOS

<u>CEPA LA SOTA</u>	<u>Título</u> <u>Original</u>	<u>Prueba de</u> <u>Aceleración</u>	<u>Diferencia</u>
	$10^{-7.5535}$	$10^{-7.347}$	-0.2065 Log ₁₀
	$10^{-9.13}$	$10^{-8.74}$	-0.39 " "
=====			
<u>CEPA B₁</u>	$10^{-7.766}$	$10^{-7.166}$	-0.61 Log. 10
	$10^{-9.2}$	$10^{-8.31}$	-0.89 " "
=====			

- RESULTADOS.

- Títulos de las vacunas a virus vivo liofilizado contra la Enfermedad de Newcastle, antes y después de ser sometidas a la Prueba de la Aceleración.

- Vacuna del laboratorio productor, Cepa La Sota-Lote No. A 480685 - LAS.

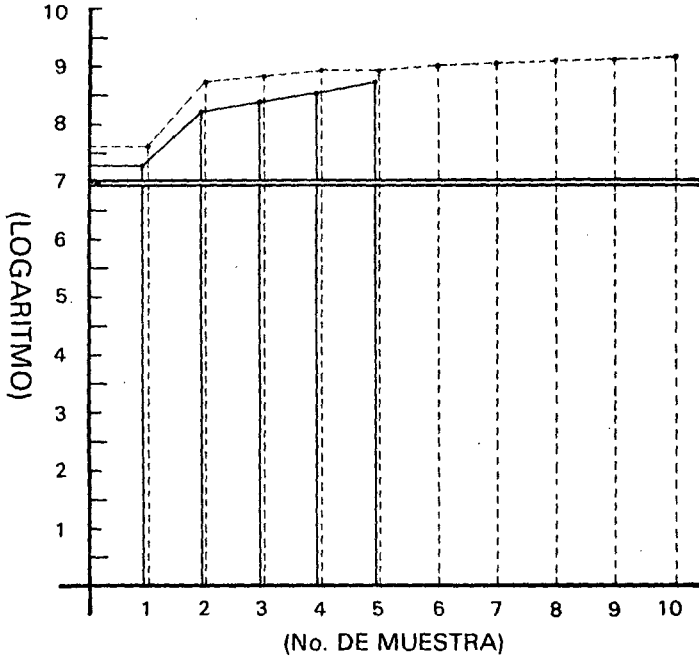
<u>Ejemplar</u>	<u>Título Original</u>	<u>Ejemplar</u>	<u>Título Original</u>
1	7.5535 *a/	6	9.007
2	8.768	7	9.027
3	8.852	8	9.05
4	8.889	9	9.089
5	8.927	10	9.13

- Resultados Prueba de la Aceleración.

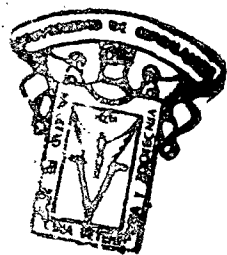
<u>Ejemplar</u>	<u>Título</u>
1	7.347 *a/
2	8.25
3	8.434
4	8.56
5	8.74

* a/= Título expresado en Log. 10 TCID 50/50 ml.

RESULTADOS CEPALASOTA



- (-----) TITULACION INMEDIATA
- (——) PRUEBA DE ACCELERACION
- (=) TITULO ACEPTADO SARH



OFICINA DE
CIENCIAS CIENTÍFICAS

- RESULTADOS.

- Títulos de las vacunas a virus vivo liofilizado contra la Enfermedad de Newcastle, antes y después de ser sometidas a la Prueba de la Aceleración.

- Vacuna del Laboratorio Productor, Cepa B₁, ----
Lote No. A-480685- B₁.

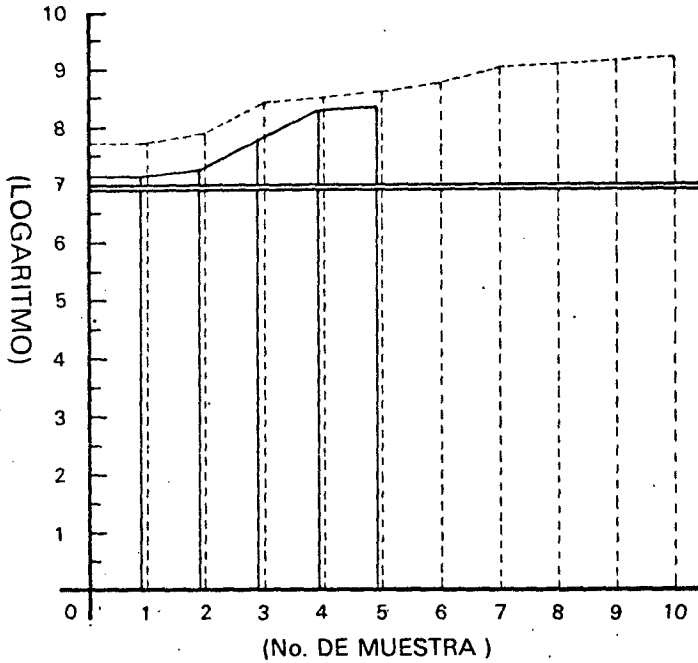
Ejemplar	Título	Ejemplar	Título
	Original		Original
1	7.7660 *a/	6	8.7682
2	7.902	7	9.02
3	8.487	8	9.07
4	8.505	9	9.16
5	8.605	10	9.2

- RESULTADOS PRUEBA DE LA ACELERACION.

<u>Ejemplar</u>	<u>Título</u>
1	7.166 .a/
2	7.250
3	7.740
4	8.31
5	8.31

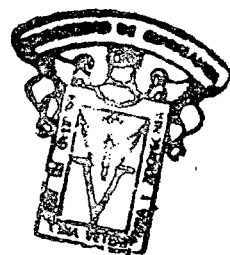
* a/= Título expresado en Log. 10 TCID 50/50 ml.

RESULTADOS CEPAB1



- (----) TITULACION INMEDIATA
- (—) PRUEBA DE ACELERACION
- (=) TITULO ACEPTADO SARH





OFICINA DE
REFINANCIA DE BIENES

- TITULOS DE LAS VACUNAS ADQUIRIDAS DIRECTAMENTE CON EL
DISTRIBUIDOR MAYORISTA.

- CEPA LA SOTA.

- Las vacunas adquiridas con el Distribuidor Mayorista presentaron títulos mayores a 10^{-7} TCID 50/50 ml a la titulación inmediata, obteniendo como título mínimo $10^{-7.902}$ TCID 50/50 ml., y como título máximo $10^{-9.24}$ -- TCID 50-50 ml.

- Los títulos obtenidos en la Prueba de la Estabilidad, están dados en Porcentaje de infecciosidad, adaptadas al Método de Reed-Huench. Los títulos obtenidos fueron de 78.5 %, el mínimo, y de 93.75 % el máximo.

- CEPA B₁.

- Para la Cepa B₁, los títulos obtenidos fueron superiores a 10^{-7} TCID 50/50 ml. a la titulación inmediata, presentando como título mínimo $10^{-8.78}$ TCID 50/50 ml y $10^{-9.3}$ TCID 50/50 ml.

- Los porcentajes obtenidos en la Prueba de la Estabilidad, fueron de 85.71 %, como título mínimo y de 100 % como título máximo.

- Estos resultados se interpretan como Punto Extremo 50 %, calculado por interpolación gráfica.

- RESULTADOS.

- Títulos de vacunas a virus vivo liofilizado, --
contra la Enfermedad de Newcastle, antes y después de so-
meterlas a la Prueba de la Estabilidad.

- Vacuna adquirida con el Distribuidor Mayorista,
Cepa La Sota, Lote No. 082. (Hoechst).

Ejemplar	Título Inmediato
=====	=====
a	7.902 *a/
b	9.1
c	9.19
d	9.22
e	9.24

- PRUEBA DE LA ESTABILIDAD.

- % de Infecciosidad adaptado al Método de Reed-Muench.

Tiempo	Respues tas Po sitivas	Respues tas Ne gativas	Positivas totales (sumadas hacia - arriba)	Negativas totales (sumadas hacia - abajo)	% PE 50%
0' = 9/10	9	1	25	2	92
30' = 9/9	9	0	16	1	100 <u>93%</u>
60' = 7/8	7	1	7	1	86

- Resultados Prueba de la Estabilidad.

<u>Ejemplar</u>	<u>Título</u>
a	78.5 %
b	86.5 %
c	89.5 %
d	93.0 %
e	93.7 %

=====



OFICINA DE
REFERENCIA CIENTÍFICA

- RESULTADOS.

- Título de vacunas a virus vivo liofilizado, --
contra la Enfermedad de Newcastle, antes y después de so
meterlas a la Prueba de la Estabilidad.

- Vacunas adquiridas con el Distribuidor Mayoris
ta, Cepa B1, Lote No. 302, (Hoechst).

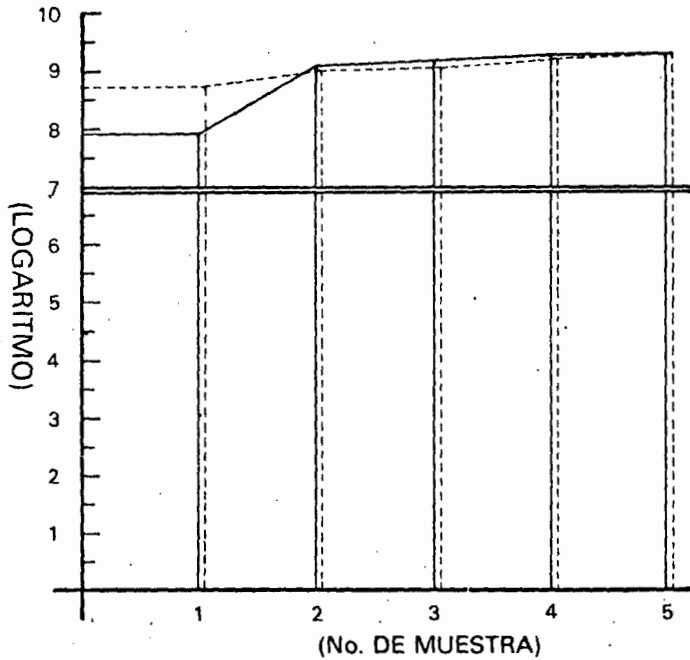
<u>Ejemplar</u>	<u>Título</u> <u>Inmediato</u>
a	8.768
b	9.03
c	9.05
d	9.24
e	9.3

- Resultados Prueba de la Estabilidad.

<u>Ejemplar</u>	<u>Título</u>
a	85.71 %
b	91.65 %
c	93.00 %
d	94.44 %
e	100 %

=====

RESULTADOS CEPA B1 Y LA SOTA TITULACION INMEDIATA



(-----) CEPA B1

(——) CEPA LA SOTA

(=) TITULO ACEPTADO SARH



Oficina de
COMISION NACIONAL DE REGULACION Y CONTROL DE ALIMENTOS



OFFICE OF
SCIENTIFIC

- Título Inmediato.

	<u>La Sota</u>	<u>B1</u>
Título Mínimo	10 ^{-7.902}	10 ^{-8.768}
Título Máximo	10 ^{-9.24}	10 ^{-9.3}
=====		

- Prueba de la Estabilidad Cepa La Sota.

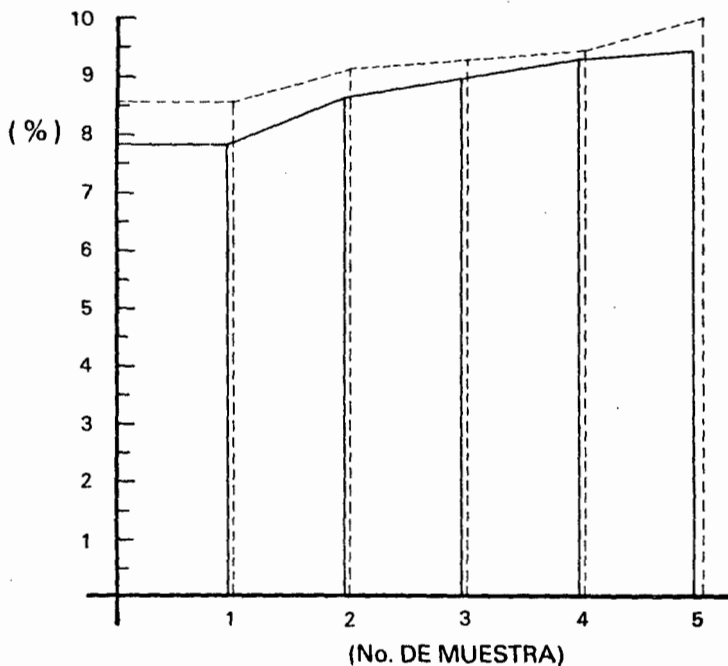
- a).- 78.5 %
- b).- 86.5 %
- c).- 89.5 %
- d).- 93.0 %
- e).- 93.7 %

- Prueba de la Estabilidad Cepa B1.

- a).- 85.71 %
 - b).- 91.65 %
 - c).- 93.0 %
 - d).- 94.44 %
 - e).- 100 %
- =====

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ESTABILIDAD

CEPA B1 Y CEPA LA SOTA



(-----) CEPA B1

(——) CEPA LA SOTA

* RESULTADOS DADOS EN O/100



OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

- RESULTADOS.

- Título de vacunas a virus vivo liofilizado, --
contra la Enfermedad de Newcastle, después de ser sometidas a la Prueba de la Estabilidad.

- Vacunas adquiridas en farmacias veterinarias -
que comercializan al menudeo en la periferia a Guadalajara,
Jal.

- CEPA LA SOTA.

- Fueron obtenidos porcentajes de infecciosidad-
50 %, de 92.85 % como título mínimo, y de 100 %, como título máximo.

- CEPA B₁.

- Los títulos obtenidos fueron de 68.18 %, como
porcentaje mínimo, y de 88.14 %, como porcentaje máximo.

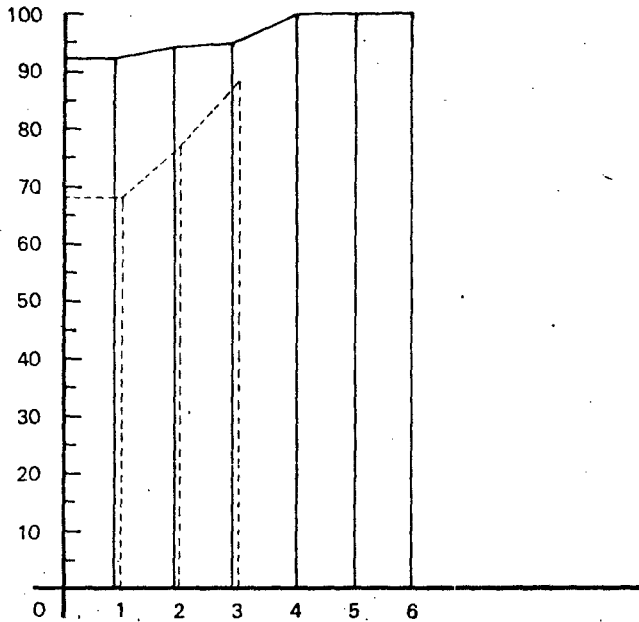
- Todas las vacunas pertenecían a lotes diferentes
y a diversos laboratorios.



OFICINA DE
RESERVA DE SEMBRAS

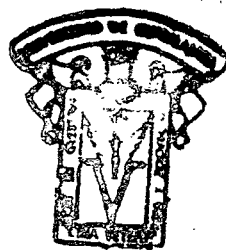
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE LA ESTABILIDAD

CEPA B1 Y CEPA LA SOTA



(-----) CEPA B1

(=====) CEPA LA SOTA



OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

- RESULTADOS.

- Vacunas adquiridas en farmacias veterinarias - que comercializan al menudeo en la periferia a Guadalajara, Jal.

- CEPA B1.

- SALSURY, Lab. - Lote 601011 - Las Juntas, Tlaquepaque

Tiempo	+	-	+	-	%	P.E. 50 %
0' = 8/10	8	2	22	7	68.18	
30' = 8/9	8	1	14	5	64.28	68.18 %
60' = 6/10	6	4	6	4	33.33	

=====

- QUIMEX, Lab. - Lote 0211385- Sⁿ Pedrito, Tonalá.

0' = 6/8	6	2	18	7	61.11	
30' = 6/9	6	3	12	5	58.33	77.49 %
60' = 6/8	6	2	6	2	96.66	

=====

- BIO 200, Lab. - Lote 480685-B1- El Batán, Zapopan.

0' = 8/10	8	2	22	5	77.72	
30' = 7/9	7	2	14	2	85.71	88.14 %
60' = 7/8	7	1	7	1	98.57	

=====

- CEPA LA SOTA.- QUIMEX, Lab. - Lote 0200385 - Las Pintas, El Salto.

Tiempo	+	-	+	-	%	P.E. 50%
0' = 7/7	7	0	22	0	100	
30' = 8/8	8	0	15	0	100	92.85 %
60' = 7/8	7	1	7	1	85.71	

- HOECHST, Lab. - Lote 082 - Zapotlanejo, Zapotlanejo.

0' = 6/7	6	1	19	2	89.47	
30' = 5/6	5	1	13	1	92.30	93.32 %
60' = 8/8	8	0	8	0	100	

- SALSBURY, Lab.- Lote 511101 - Chapala, Jal.

0' = 7/7	7	0	24	0	100	
30' = 8/8	8	0	17	0	100	94.43 %
60' = 9/10	9	1	9	1	88.8	

- INTERVET, Lab.- Lote 6130 H - Las Pintas, El Salto, Jal.

0' = 9/9	9	0				
30' = 9/9	9	0				100 %
60' = 9/9	9	0				

- FARM, Lab.- Lote 04160502 - Tlajomulco de Z., Jal.

0' = 8/8	8	0				
30' = 7/7	7	0				100 %
60' = 10/10	10	0				

- INTERVET, Lab. - Lote 5177 I - Santa Anita, Jal.

Tiempo	+	-	+	-	%	P.E 50%
0' = 7/7	7	0				
30' = 8/8	8	0				100 %
60' = 6/6	6	0				

=====



INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICA

- DISCUSION.

- De las 20 vacunas adquiridas directamente con el productor, ninguna de ellas presentó título inferior a 10^{-7} TCID 50/50 ml., en la titulación inmediata; lo que indica que los laboratorios productores del biológico elaboran vacunas con un buen título.

- No se observó diferencia alguna entre la Cepa La Sota y la Cepa B₁, ya que ambas demostraron títulos superiores al título mínimo aceptado por la S.A.R.H..

- Durante la Prueba de la Aceleración, ninguna vacuna presentó títulos inferiores a 10^{-7} TCID 50/50 ml. después que fueron expuestas a 37°C. por 8 días, lo que demuestra que el Método de Liofilización utilizado por el productor es el adecuado y eficaz.

- Fueron sometidas a ésta prueba 10 vacunas, 5 correspondientes a la Cepa La Sota, y los 5 restantes a la Cepa B₁, no se observó ninguna variante entre ambas Cepas.

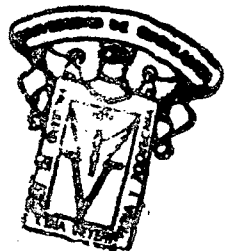
- El manejo y conservación de los biológicos es, sin duda, de vital importancia para su eficacia. Lo anterior se refleja en el caso del Distribuidor Mayorista, ya que de las 20 vacunas adquiridas con él, ninguna demostró títulos inferiores a 10^{-7} TCID 50/50 ml., lo cual demuestra que toman serias precauciones en el manejo y cuidado durante el almacenaje de éstos biológicos.

- Por otra parte, la Estabilidad demostrada por las vacunas reconstituídas, sugiere que el estabilizador cumple adecuadamente con su función. Esto está demostrado en los resultados obtenidos, ya que después de una hora de reconstituída la vacuna, ésta presentó porcentajes de infecciosidad altos.

- No se apreció ninguna diferencia significativa entre las Cepas, durante ésta prueba.

- Durante la Prueba de la Estabilidad de las vacunas adquiridas con comerciantes al menudeo, se observó un porcentaje alto de infecciosidad en todas ellas, presentando de ésta manera, una función aceptable por parte del estabilizador que proporciona el productor.

- En la diferenciación entre las Cepas La Sota y B₁, se observó una uniformidad mayor en cuanto a la estabilidad y porcentaje de infecciosidad, a favor de la Cepa La Sota, como se observa en los resultados.



OFICINA DE
SERVICIOS DE ESTERILIZACIÓN

- CONCLUSIONES.

- Como conclusión de ésta investigación, se puede afirmar, ^{cuál?} que las vacunas producidas por el laboratorio ofrecen buena calidad, ya que poseen un título elevado, sobre el permitido por la S.A.R.H., lo cual hace sugerir, ^{¿cuál?} que el Método de Liofilización que practican es el adecuado. *eres un baboso! sólo hay una liofilización!*

- Se observó también, que el estabilizador proporcionado, cumple adecuadamente con su función, ya que mantiene el alto nivel de virus vivo sin alterarse, durante su período de vigencia, o en el desafío a la Prueba de Aceleración, así como por un lapso de 1 hora ó mas después de haber sido reconstituída.

- Se puede definir que el Distribuidor Mayorista dá un muy buen control y manejo, durante el almacenaje de este biológico, porque los productos que comercializan, poseen una excepcional calidad y estabilidad.

- Debido a que no se observó ningún decremento, por debajo de lo establecido por la S.A.R.H., en la calidad y cantidad de virus vivo en las vacunas analizadas, las deficiencias en la inducción de la inmunidad, contra la Enfermedad de Newcastle, parece pertenecer a otro sector, que bien puede radicar en la propia parvada, o bien en el personal que se encarga de administrar la vacuna.

- Puede ser que éste último, sea el sector que tal vez, tenga mayor influencia en ésta falla sobre la -

inducción de la inmunidad. Porque hay pérdidas en la Avi cultura Nacional, debido al descuido de los avicultores- sobre el personal encargado de aplicar la vacuna, ya que muchas veces, este personal no esta lo debidamente capa- citado para realizar esta tarea, por consiguiente; hay - omisiones y errores duarnte la inmunización.

- El Avicultor, se enfrenta con problemas de ma- no de obra disponible, y con frecuencia tiene necesidad- de contratar personal, mismo que va a desempeñar un traba- jo provisional o temporal.

- Esta mano de obra contratada, carece de capaci- tación adecuada, ya que en su mayoría desempeñan otros - oficios.

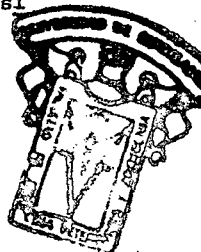
- RESUMEN.

- Se titularon 59 vacunas a virus vivo liofilizado contra la Enfermedad de Newcastle. De las vacunas obtenidas directamente con el productor, todas presentaron títulos superiores a 10^{-7} TCID 50/50 ml., y mantuvieron éste título aún después de la Prueba de la Aceleración.

- No se observaron diferencias significativas entre las Cepas La Sota y B₁, ya que presentaron un comportamiento similar en la titulación inmediata, y en la Prueba de la Aceleración.

- Las vacunas adquiridas con el Distribuidor Mayorista, presentaron títulos superiores a 10^{-7} TCID 50/50 ml., en la titulación inmediata. Demostraron además, porcentajes de infecciosidad altos en la Prueba de la Estabilidad. El comportamiento entre las Cepas La Sota y B₁, fueron similares y no demostraron diferencias significativas.

- Todas las vacunas adquiridas con el comerciante de menudeo, fueron estables cuando menos durante una hora, después de haber sido reconstituida con el diluyente que proporciona el productor. Aquí se observó un comportamiento más estable por parte de la Cepa La Sota ya que las variaciones en los porcentajes de infecciosidad fueron menores en ésta Cepa.



OFICINA DE
DIFUSION CIENTIFICA

- 1.- VIROLOGIA PRACTICA.
Cunninghan
Editorial Acribia, 1971, Pags. 133-135
- 2.- VACUNAS Y VACUNACION DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.
Fechner.
Editorial Acribia, 1966.
- 3.- BACTERIOLOGIA Y VIROLOGIA VETERINARIA.
Merchant-Packer
Editorial Acribia, 3ª Edición. Pags. 693-697.
- 4.- AVICULTURA.
Morley A. Jun.
Editorial UTHEA, 1962, 3ª Edición, Pags. 408
- 5.- INMUNOLOGIA VETERINARIA
Ian R. Tizzard
Editorial Interamericana, 1982, Pags. 222-226
- 6.- DISEASE OF POULTRY
Hofstad
Iowa State University, 1978. Pags. 513-535
- 7.- VIROLOGIA VETERINARIA
Mohany-Dutta
Editorial Interamericana, 1983. Pags. 43-44
- 8.- RECOPIACION Y DESCRIPCION DE LOS METODOS DE INOCULACION EN EMBRIONES DE POLLO, PARA EL DIAGNOSTICO DE -- ENFERMEDADES VIRALES MAS FRECUENTES DE LAS AVES.
Miranda Illades J. Eugenio, Tesis Profesional U.deG.
- 9.- FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LA TITULACION DE LAS VACUNAS CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE.
Lara Godoy Ramón. Tesis Profesional. UNAM

- 10.- MANEJO E HIGIENE DEL HUEVO PARA INCUBAR.
Dr. Robert F. Gentry, Wiley Laboratories, 1983
Conferencia sustentada en la APYSAN. Guaymas, Son.
- 11.- AVIRAMA, Año 1, Vol. 6...Y EL AÑO, PENDEJO!
Historia de la Enfermedad de Newcastle en México.
Márquez M. A.
- 12.- REQUERIMIENTOS MINIMOS Y TECNICA DE TITULACION DE -
LA VACUNA CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE.
Secretaría de Agricultura y Ganadería.
Depto. Sanidad Animal, 1975.
- 13.- RESOLUCION DEL COMITE PARA ESTANDARIZAR LA TECNICA-
DE TITULACION DE LA VACUNA CONTRA LA ENFERMEDAD DE-
NEWCASTLE.
Veterinaria, Méx. VII (2).- Pags. 66-70, 1976.
- 14.- ULTIMAS INNOVACIONES EN LA INMUNIZACION CONTRA LA -
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE.
Depto. Técnico, Div. Veterinaria, Labs. Pfizer.
Tellez A., Parada A. 1981.
- 15.- MÉTODOS Y VIAS DE VACUNACION CONTRA LA ENFERMEDAD--
DE NEWCASTLE.
Labs. Pfizer
Losano, Parada, Telles. 1979.