

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y DESARROLLO RURAL

ACUERDO por el que se instrumenta el Dispositivo Nacional de Emergencia en los términos del artículo 46 de la Ley Federal de Sanidad Vegetal, con el objeto de confinar y erradicar los brotes de la mosca del olivo en el Estado de Baja California.

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

ACUERDO POR EL QUE SE INSTRUMENTA EL DISPOSITIVO NACIONAL DE EMERGENCIA EN LOS TERMINOS DEL ARTICULO 46 DE LA LEY FEDERAL DE SANIDAD VEGETAL, CON EL OBJETO DE CONFINAR Y ERRADICAR LOS BROTES DE LA MOSCA DEL OLIVO EN EL ESTADO DE BAJA CALIFORNIA.

ROMARICO ARROYO MARROQUIN, Secretario de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, con fundamento en lo dispuesto por los artículos 35 fracciones IV y XXI de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 1o., 2o., 6o., 7o. fracciones I, V, VI, XIII, XIX, XX, XXI y XXV, 19 fracción I incisos e), g) y l); 22, 23, 24, 29, 30, 46, 55, 57, 58, 59, 60, 65 y 66 fracción X de la Ley Federal de Sanidad Vegetal; 1o., 2o. fracciones IV y XXI, 5o., 6o. fracciones III y XXI y 47 fracciones VII, IX, XII, XXIX y XXXIII, 51 del Reglamento Interior de esta Secretaría, y

CONSIDERANDO

Que es atribución de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural instrumentar y coordinar el Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Vegetal, cuando se detecte la presencia de plagas que pongan en situación de emergencia fitosanitaria a una o varias especies vegetales, así como ordenar la retención o destrucción de vegetales, sus productos o subproductos, viveros, cultivos, siembras y otros cuando se demuestre que están afectados por una plaga de interés cuarentenario.

Que en los estados de Baja California y Sonora se cultivan 4,000 y 2,700 hectáreas de olivo, respectivamente; generándose alrededor de 10 mil toneladas anuales de aceituna, cuya producción se industrializa para su exportación a los Estados Unidos y para su comercialización en el mercado nacional.

Que la mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Gmelin) está reconocida como una de las plagas de mayor importancia económica del olivo a nivel mundial y se encuentra distribuida en las principales regiones productoras de aceituna en el mundo.

Que en los últimos años, se ha reportado la presencia de la mosca del olivo en algunos condados de California, E.U.A. fronterizos con el territorio de México y recientemente se han detectado especímenes de la plaga en diversas localidades de los municipios de Ensenada, Rosarito, Tecate y Tijuana en Baja California.

Que la mosca del olivo es una plaga exótica para México, factible de diseminar por medio de aceitunas frescas infestadas y por el suelo adherido a las plantas de olivo, por lo que para prevenir su dispersión hacia zonas libres de la plaga es necesario confinarla y erradicarla.

Que lo anteriormente expuesto hace obligatorio la inspección de los vegetales hospedero de la plaga, a efecto de retener, rechazar, confinar, excluir, prevenir, destruir y regular las importaciones y la movilización nacional del fruto hospedero de la mosca del olivo cuando se tengan detecciones positivas en viveros, invernaderos, empacadoras, industrias, expendios, cultivos, siembras, cosechas y en vegetaciones urbanas o en plantaciones comerciales.

Que la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural considera conveniente establecer medidas fitosanitarias de vigilancia en todos los puntos de ingreso al país (Oficinas de Inspección de Sanidad Agropecuaria) para prevenir el ingreso de la mosca del olivo.

Que corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural promover, coordinar, vigilar y controlar las actividades y servicios fitosanitarios de los vegetales, como es el caso de los frutales, así como coadyuvar con las diversas dependencias y entidades de la Administración Pública Federal, gobiernos estatales y municipales, organismos auxiliares, en la comercialización de frutos en condiciones que garanticen la fitosanidad nacional, por lo que he tenido a bien expedir el siguiente:

ACUERDO

ARTICULO PRIMERO.- Se instrumenta el Dispositivo Nacional de Emergencia en los términos del artículo 46 de la Ley Federal de Sanidad Vegetal, con el objeto de establecer la cuarentena interior contra la mosca del olivo, *Bactrocera oleae* en los municipios de Ensenada, Mexicali, Rosarito, Tecate y Tijuana, Baja California, a efecto de confinar y erradicar los brotes de esa plaga; así como para prevenir su dispersión a otras entidades federativas del territorio de México.

ARTICULO SEGUNDO.- La aplicación del Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Vegetal estará a cargo de la Delegación Estatal de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, por conducto de la Jefatura del Programa de Sanidad Vegetal, en coordinación con el Comité Estatal de Sanidad Vegetal.

ARTICULO TERCERO.- Con base en los resultados del sistema de vigilancia, se consideran áreas cuarentenadas los municipios de Ensenada, Mexicali, Rosarito, Tecate y Tijuana en el Estado de Baja California.

ARTICULO CUARTO.- Con el propósito de evitar la dispersión de la mosca del olivo de Baja California hacia otras entidades del país, se prohíbe movilizar fuera del área cuarentenada frutos frescos de aceituna *Olea spp.* y todas las plantas de olivo que se pretendan transportar con tierra adherida a la raíz en forma de cepellones.

ARTICULO QUINTO.- Los embarques comerciales de aceituna industrializada (salmuera y curtidos) se podrán movilizar fuera de las áreas cuarentenadas, debiendo los interesados notificar a la Delegación Estatal de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural en Baja California el volumen y destino final de cada embarque.

ARTICULO SEXTO.- Para confinar a la plaga se establecerán y/o fortalecerán los siguientes puntos de verificación interna:

- I. Guerrero Negro: carretera Transpeninsular, trayecto Vizcaíno-Guerrero Negro, kilómetro 45 (paralelo 28). Municipio de Mulegé.
- II. San Luis Río Colorado: carretera San Luis Río Colorado-Sonoyta, kilómetro 22.5. Municipio de San Luis Río.

La Delegación Estatal de la SAGAR en Baja California se coordinará con su similar de los estados de Baja California Sur y Sonora para efectos de la operación de los puntos de verificación interna indicados en este artículo. Las delegaciones estatales podrán establecer los acuerdos necesarios en los términos de coadyuvancia con los gobiernos de los estados y los organismos auxiliares de sanidad vegetal de Baja California Sur y Sonora.

ARTICULO SEPTIMO.- En los puntos de verificación interna señalados en el artículo quinto del presente Acuerdo, las delegaciones estatales de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural en Baja California, Baja California Sur y Sonora, a través de su personal oficial y en coadyuvancia con los organismos auxiliares de sanidad vegetal y los gobiernos de los estados de Baja California, Baja California Sur y Sonora realizarán las siguientes actividades:

- I. Inspeccionar los autotransportes públicos de pasajeros y de carga; así como los vehículos particulares, debiéndose bajar todo el pasaje, equipajes, bolsas y paquetes para verificar que no transporten o lleven consigo aceitunas frescas y plantas de olivo.
- II. Retener y destruir las aceitunas frescas y plantas de olivo que se intercepten en los transportes públicos o privados; que lleven consigo los pasajeros, conductores y/o acompañantes, sin ningún cargo financiero para la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- III. Verificar que los embarques comerciales de aceituna industrializada hayan cumplido con la notificación correspondiente conforme a lo previsto en el artículo quinto del presente Acuerdo.
- IV. Levantar las actas correspondientes de retorno, retención y/o destrucción de embarques de aceitunas frescas y plantas de olivo.
- V. Los responsables de cada punto de verificación interna deberán presentar cada semana el informe de actividades, conforme lo determine la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

ARTICULO OCTAVO.- La Secretaría conforme a sus atribuciones podrá reubicar, establecer y, en su caso, operar los puntos de verificación, ya sean fijos o móviles, en los estados de Baja California, Baja California Sur y Sonora, cuando exista un riesgo superveniente asociado a la mosca del olivo. Asimismo, la Secretaría podrá suscribir convenios con los organismos auxiliares de sanidad vegetal o gobiernos de los estados para la operación de los puntos de verificación interna.

ARTICULO NOVENO.- Con el objeto de interceptar aceitunas y plantas de olivo, el personal oficial de la Secretaría deberá:

- I. Inspeccionar los transportes públicos y particulares, terrestres y aéreos comerciales o turísticos que tengan como punto de origen y/o escala en Ensenada, Mexicali, Rosarito, Tecate y Tijuana y tengan como destino otra entidad del territorio mexicano revisándose los equipajes de pasajeros, bolsas o paquetes que se transporten, así como los del ferrocarril en los trayectos Mexicali-San Luis Río Colorado.

- II. Los transportistas, turistas y pasajeros que transiten por el Estado de Baja California, están obligados a permitir la inspección de sus vehículos y compartimentos, así como de los equipajes, bolsas o paquetes, otorgando toda clase de facilidades al personal oficial de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- III. Los bolsos, paquetes y morrales que lleven consigo todas las personas que ingresen a México por el Estado de Baja California, se deberán inspeccionar a efecto de retener y destruir aceitunas frescas y plantas de olivo.

ARTICULO DECIMO.- En las áreas cuarentenadas se aplicarán las siguientes medidas fitosanitarias a efecto de erradicar la mosca del olivo:

- I. Delimitar la extensión de la infestación y cuantificarla mediante trapeo y muestreo dirigido de aceitunas.
- II. Iniciar a la brevedad las aspersiones del cebo selectivo (mezcla de insecticida y atrayente con y sin agua), en la superficie que la propia Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural determine; realizándose 12 aspersiones, una cada semana, después de la última captura. Si la aplicación es aérea, se utilizará la mezcla de 4 litros de proteína hidrolizada y 1 litro de malatión ultra bajo volumen, aplicándose un litro por hectárea de esa mezcla, en bandas alternas. En caso de que la aspersión sea terrestre, se utilizará la mezcla de 4 litros de proteína hidrolizada, 1 litro de malatión 57% y 95 litros de agua, aplicándose de 150 a 300 cc de la mezcla por árbol.
- III. Recolectar las aceitunas caídas en las áreas comerciales y marginales, y destruirla mediante incineración o enterrándola en fosas sanitarias.
- IV. Instalar y revisar periódicamente trampas cebadas con atrayente específico para la mosca del olivo.
- V. Realizar muestreos permanentes de aceitunas.

ARTICULO DECIMO PRIMERO.- Los propietarios o usufructuarios por cualquier título de huertos comerciales u ornamentales de olivo dentro del área cuarentenada, deberán colaborar en las acciones de control y erradicación de esa plaga cumpliendo con las siguientes obligaciones:

- I. Colaborar en la colocación y revisión periódica de las trampas para la mosca del olivo, conforme lo determine la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- II. Recolectar las aceitunas caídas por lo menos una vez a la semana y proceder a su destrucción mediante incineración o enterrándola, de acuerdo a las recomendaciones de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- III. Cumplir con los requisitos y procedimientos aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural para la cosecha y movilización de aceituna en áreas con brotes de la mosca del olivo; de tal manera que la movilización hacia la industria no represente un riesgo para la dispersión de la plaga.
- IV. Colaborar en la aplicación de los tratamientos químicos que indique la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- V. Amparar con la tarjeta de manejo integrado de moscas de la fruta (conforme a la normatividad vigente) a cada embarque de aceituna que se traslade de los huertos a la industria. Adicionalmente, en dicha tarjeta se deberá anotar el número del registro del huerto; que la fruta procede de huertos certificados como de nula prevalencia de la mosca del olivo; que la fruta es para uso industrial; y especificar los datos de la industria donde se procesará la fruta.

ARTICULO DECIMO SEGUNDO.- Los propietarios o usufructuarios por cualquier título de huertos comerciales de olivo en el Municipio de Caborca, Sonora deberán fortalecer el sistema específico de vigilancia contra la plaga mediante la colocación y revisión periódica de trampas para la mosca del olivo, conforme lo determine la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

ARTICULO DECIMO TERCERO.- Los propietarios de empacadoras e industrias de aceitunas en el Estado de Baja California deberán cumplir con las disposiciones siguientes:

- I. Presentar el aviso de inicio de funcionamiento, estar inscritos y certificados ante la Delegación Estatal de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- II. Colocar cinco trampas específicas para la mosca del olivo en la periferia de las instalaciones de la industria, revisándolas y recibéndolas cada siete días, a partir del inicio de la temporada de trabajo hasta un mes después de que se termina. De encontrarse moscas del olivo en las trampas se hará un combate químico con una aspersión de la mezcla de agua, insecticida y proteína hidrolizada con registro vigente de la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas para la plaga en cuestión; en una proporción de 21.75 litros, 0.250

litros y 1.0 litros, respectivamente, en la periferia de la industria. El tratamiento se debe repetir cuatro veces, uno cada siete días.

- III. Adquirir y aceptar únicamente embarques de aceituna que estén amparados con la tarjeta de manejo integrado de moscas de la fruta, conforme a lo previsto en el artículo undécimo fracción V, en caso contrario, los embarques se deben rechazar.
- IV. Otorgar las facilidades a las unidades de verificación aprobadas y al personal oficial autorizado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, para el muestreo de aceitunas. Ese personal emitirá un dictamen de muestreo negativo para que el embarque pueda ser procesado en la industria. Cuando el muestreo indique la presencia de una o más larvas de la mosca del olivo, entonces del embarque se destruirá conforme lo determine la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, sin ningún cargo financiero para la misma. La Delegación Estatal de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural deberá notificar inmediatamente a la Dirección General de Sanidad Vegetal.
- V. Los residuos del muestreo de aceitunas y los desechos industriales deben destruirse mediante incineración o enterrarse a 50 cm de profundidad.
- VI. Cada industria deberá llevar una bitácora con la información relativa a la recepción de los embarques; folios de las tarjetas de manejo integrado de moscas de la fruta; resultados de los muestreos y trampeos; así como del volumen y destino final de los embarques de aceituna industrializada.

ARTICULO DECIMO CUARTO.- La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural establecerá un programa de divulgación en el Estado de Baja California mediante anuncios panorámicos, carteles, trípticos, cápsulas informativas por radio y televisión, así como otros medios de comunicación masivos locales.

ARTICULO DECIMO QUINTO.- La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural publicará en el **Diario Oficial de la Federación** el Acuerdo por el cual se declararán erradicados los brotes de la mosca del olivo, después de cumplirse las acciones de erradicación y de no volverse a detectar especímenes, en cualquiera de sus estados biológicos en un periodo equivalente a tres generaciones de la plaga. Una vez publicado dicho Acuerdo, se cancelará de manera automática la cuarentena interior.

ARTICULO DECIMO SEXTO.- La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, a través de la Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria y de las delegaciones estatales, conforme a su ámbito de competencia, establecerá los mecanismos de coordinación con las demás dependencias y entidades de la Administración Pública Federal, el gobierno estatal y municipales; así como los productores y otros agentes relacionados con el cultivo e industrialización del olivo en el Estado de Baja California, quedando obligados a proporcionar todo el apoyo y colaboración técnica y administrativa.

ARTICULO DECIMO SEPTIMO.- Se prohíbe la importación de aceitunas frescas y de plantas de olivo que se pretendan transportar con tierra adherida a la raíz en forma de cepellones, que sean originarias de California, E.U.A. por representar alto riesgo para la introducción y dispersión de la mosca del olivo hacia el territorio de México, reconocido como libre de esa plaga.

ARTICULO DECIMO OCTAVO.- Las importaciones de aceituna fresca y plantas de olivo provenientes de cualquier lugar con excepción del Estado de California, E.U.A. independientemente de los requisitos señalados en la norma oficial mexicana específica que regule el producto a importar, o bien en la Hoja de Requisito Fitosanitario emitida en términos de la Norma Oficial Mexicana NOM-006-FITO-1995, por la que se establecen los requisitos mínimos aplicables a situaciones generales que deberán cumplir los vegetales, sus productos y subproductos que se pretendan importar cuando éstos no estén establecidos en una norma oficial específica, deberán presentar el Certificado Fitosanitario Internacional, mismo que deberá indicar lo siguiente: El producto no es originario de California, E.U.A. y está libre de la mosca del olivo *Bactrocera oleae*.

Una vez que los interesados cumplan con lo indicado anteriormente, deberán de presentar ante el personal oficial de la Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria en las Oficinas de Inspección de Sanidad Agropecuaria (OISA) del territorio nacional, la documentación que acompaña el embarque para determinar el cumplimiento de los requisitos fitosanitarios. Si durante el desarrollo de la inspección, el personal oficial de la OISA detecta la presencia de la plaga procederá a rechazar, retener o destruir los frutos de aceituna fresca, conforme a lo previsto en los artículos 30 y 60 de la Ley Federal de Sanidad Vegetal. Asimismo, deberán de proceder a la toma de muestra y enviarlas para su diagnóstico al Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria; la liberación del producto estará condicionado al resultado que al efecto se emita. Los gastos que se generen serán cubiertos por el importador, de acuerdo a los procedimientos emitidos por la Dirección General de Sanidad Vegetal.

TRANSITORIO

ARTICULO UNICO.- El presente Acuerdo entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación** y estará vigente hasta que se corrobore la erradicación de la mosca del olivo en el Estado de Baja California.

Dado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los diez días del mes de abril de dos mil.- El Secretario de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, **Romárico Arroyo Marroquín**.- Rúbrica.

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-063-ZOO-1999, Especificaciones que deben cumplir los biológicos empleados en la prevención y control de enfermedades que afectan a los animales domésticos.

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

PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PROY-NOM-063-ZOO-1999, ESPECIFICACIONES QUE DEBEN CUMPLIR LOS BIOLÓGICOS EMPLEADOS EN LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE ENFERMEDADES QUE AFECTAN A LOS ANIMALES DOMÉSTICOS.

ANGEL OMAR FLORES HERNANDEZ, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoonosanitaria, con fundamento en los artículos 45, 46 fracción II y 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 32, 33 y 34 de su Reglamento, me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** del Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-063-ZOO-1999, Especificaciones de los biológicos empleados en la prevención y control de las enfermedades que afectan a los animales.

El presente Proyecto se publica a efecto de que los interesados, dentro de los 60 días naturales siguientes a la fecha de publicación del mismo, presenten sus comentarios ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoonosanitaria, sito en Recreo número 14 piso 11, colonia Actipan, Delegación Benito Juárez, código postal 03230, México, D.F.; correo electrónico saguilar@sagar.gob.mx

Durante el plazo mencionado, la Manifestación del Impacto Regulatorio a que se refiere el artículo 45 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, puede ser consultada gratuitamente en el domicilio del Comité.

Dado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los veintiocho días del mes de febrero de dos mil.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoonosanitaria, **Angel Omar Flores Hernández**.- Rúbrica.

PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PROY-NOM-063-ZOO-1999, ESPECIFICACIONES QUE DEBEN CUMPLIR LOS BIOLÓGICOS EMPLEADOS EN LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE ENFERMEDADES QUE AFECTAN A LOS ANIMALES DOMÉSTICOS

PREFACIO

Unidad administrativa responsable de la elaboración de esta Norma.

- Dirección General de Salud Animal.

En la elaboración de esta Norma Oficial Mexicana participaron los siguientes organismos e instituciones.

- Boehringer Ingelheim Vetmédica, S.A. de C.V.
- Industria Farmacéutica Veterinaria, CANIFARMA.
- Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología, INIFAP.
- Laboratorio Avi-Mex, S.A. de C.V.
- Laboratorios Sanfer, S.A. de C.V.
- Litton de México, S.A. de C.V.
- Meril México, S.A. de C.V.
- Productora Nacional de Biológicos Veterinarios.

INDICE

1. Objetivo y campo de aplicación.
2. Referencias.
3. Definiciones y abreviaturas.
4. Documentación requerida.
5. Consideraciones generales.
6. Pruebas de control físico-químico al producto en proceso y terminado.
7. Pruebas de control biológico al producto en proceso y terminado.
8. Verificación

9. Sanciones.
10. Concordancia con normas internacionales.
11. Bibliografía.
12. Disposiciones transitorias.
13. Apéndices normativos.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1. La presente Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer las especificaciones que deben cumplir los biológicos empleados en la prevención y control de enfermedades que afectan a los animales domésticos.

1.2. Esta Norma es aplicable a las personas físicas o morales dedicadas a la fabricación, importación y comercialización de biológicos empleados en la prevención y control de enfermedades que afectan a los animales.

1.3. La vigilancia de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural y a los gobiernos de las entidades federativas y del Distrito Federal, 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 la presente 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 la presente Norma se deben consultar las siguientes normas oficiales mexicanas.

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

NOM-008-SCFI-1993, Sistema general de unidades de medida.

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

NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de prueba y/o análisis en materia zoosanitaria.

NOM-035-ZOO-1996, Requisitos mínimos para las vacunas, antígenos y reactivos empleados en la prevención y control de rabia en las especies domésticas.

NOM-036-ZOO-1996, Requisitos mínimos para las vacunas contra la fiebre porcina clásica.

NOM-038-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las bacterinas empleadas en la prevención y control de la leptospirosis bovina.

NOM-047-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las vacunas, bacterinas y antígenos empleados en la prevención y control de la salmonelosis aviar.

NOM-048-ZOO-1996, Requisitos mínimos para las vacunas contra la enfermedad de Aujeszky.

NOM-049-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las bacterinas empleadas en la prevención y control de la pasteurelosis neumónica bovina producida por *Pasteurella multocida* serotipos A y D.

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

NOM-053-ZOO-1995, Requisitos mínimos para las vacunas, antígenos y reactivos empleados en la prevención y control de la brucelosis en los animales.

NOM-055-ZOO-1995, Requisitos mínimos para la elaboración de vacunas empleadas en la prevención, control y erradicación de la influenza aviar.

3. Definiciones y abreviaturas

Para efectos de la presente Norma se entiende por:

- 3.1. Antígeno. Producto biológico que aplicado al animal es capaz de estimular una respuesta inmune.

3.2. Biológico. Producto obtenido a partir de organismos vivos, sus componentes o productos de su metabolismo, que se emplean para el diagnóstico, prevención y/o tratamiento de las enfermedades de los animales.

3.3. Biológico con agentes activos. Aquel que inoculado en las especies susceptibles se puede replicar o reproducir dentro del huésped sin causar la enfermedad.

3.4. Biológico con agentes inactivados. Aquel que al inocularse en las especies susceptibles no se replica dentro del huésped y no causa la enfermedad.

3.5. Cepa de desafío. Microorganismo caracterizado en su capacidad para producir una determinada enfermedad y utilizado para confrontar animales vacunados y controles.

3.6. Control de calidad. Es el conjunto de actividades llevadas a cabo en el laboratorio para certificar que las características del producto cumplen con las especificaciones vigentes.

3.7. Constatación. Procedimiento empleado por la Secretaría para verificar que un producto cumple con lo establecido en las normas oficiales mexicanas.

3.8. Dosis. Cantidad del biológico recomendada en la etiqueta para ser administrada en el animal.

3.9. Etiqueta. Conjunto de dibujos, figuras y especificaciones adheridas, grabadas o impresas en envases o embalajes.

3.10. Fecha de caducidad. Fecha asignada al lote de un producto, que designa el término del periodo de vigencia.

3.11. Inmunogenicidad. Prueba de control de calidad para asegurar que la semilla maestra estimula una respuesta inmune adecuada.

3.12. Laboratorio de constatación. Laboratorio autorizado por la SAGAR para verificar el cumplimiento de las normas oficiales mexicanas.

3.13. Lote. Cantidad de producto terminado identificado con el mismo número de fabricación y que fue elaborado en un solo proceso integral.

3.14. Número de lote. Cualquier combinación de letras, números o símbolos que sirven para la identificación de un proceso, bajo el que se amparan todos los documentos referentes a su manufactura, control y comercialización.

3.15. Producto liberado. Es aquel que cumplió satisfactoriamente el total de las pruebas de control de calidad y que está listo para su comercialización.

3.16. Producto terminado. El que está envasado, etiquetado y acondicionado.

3.17. Protocolo de control de calidad. Conjunto de técnicas y procedimientos utilizados en las pruebas para la verificación de los biológicos.

3.18. Protocolo de manufactura. Descripción de los procedimientos para la elaboración de un biológico.

3.19. Registro. Procedimiento administrativo mediante el cual la SAGAR efectúa el control de un biológico.

3.20. Secretaría. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

3.21. Semilla maestra. Microorganismo identificado, seleccionado, estandarizado y almacenado permanentemente a nivel de pasaje específico, empleado para la producción de un biológico.

3.22. Semilla de trabajo. Microorganismo obtenido a partir de la semilla maestra, identificado, seleccionado, estandarizado y almacenado permanentemente a un nivel de pasaje específico, empleado para la producción de un inmunógeno.

3.23. Titulación. Prueba de control de calidad para determinar que el biológico contiene la cantidad de antígeno establecido en la orden de producción.

3.24. Vigencia. Periodo en que un producto mantiene las mismas características de calidad con las que fue liberado.

Abreviaturas

DE = Dosis efectivas.

DERA = Dosis efectiva ratón adulto.

DICC = Dosis infectante cultivo celular.

DIEP 50% = Dosis infectante de embrión de pollo 50%.

DFFF 50% = Dosis formadoras de focos fluorescentes 50%.

DLR = Dosis letal ratón.

DLRA = Dosis letal ratón adulto.

HI= Inhibición de la hemoaglutinación.

ml = Mililitro.

log = Logaritmo.

4. Documentación requerida

Para fines de registro, el titular del biológico debe presentar la siguiente información, de acuerdo con el orden que se indica.

4.1. Nombre/razón social, domicilio, teléfono, fax y/o dirección del correo electrónico de la empresa titular del producto.

4.2. Nombre/razón social, domicilio, teléfono, fax y/o dirección de correo electrónico de la empresa elaboradora del producto.

4.3. Nombre comercial del producto.

4.4. Forma farmacéutica.

4.5. Fórmula o garantía de composición.

4.6. Técnica de elaboración.

4.7. Características del envase y presentaciones.

4.8. Uso, especie de destino y dosificación.

4.9. Características y tipo de biológico.

4.10. Agente inmunizante empleado. Descripción de las cepas, serotipos, variedades, serovariedades y otras características que identifican al agente. En el caso de bacterias se debe hacer referencia al Manual Bergey.

4.11. Certificado de origen o documentación que avale la procedencia del agente inmunizante.

4.12. Protocolo de control de calidad y resultados de las pruebas efectuadas al producto, según aplique de acuerdo con lo señalado en la presente Norma.

a) Prueba de esterilidad o pureza.

b) Prueba de seguridad en animales de laboratorio. Especificar especie(s), cepa(s) y origen de los mismos o destinatarios.

c) Prueba de potencia y/o inmunogenicidad.

d) Prueba de seguridad o inocuidad en la especie a la que se destina el biológico.

4.13. Documentos que acrediten los resultados de las pruebas de campo efectuadas con el producto.

4.14. Documentación científica nacional y/o internacional en español o inglés, que respalde el uso del producto.

5. Consideraciones generales

5.1. Para el registro del biológico, por lo menos una muestra aleatoria de un lote debe someterse a pruebas efectuadas en un laboratorio de constatación, de acuerdo con la presente Norma y con sus apéndices normativos.

5.2. En el caso de que las pruebas aplicables al biológico no se describan en esta Norma o en las normas oficiales mexicanas publicadas previamente, la empresa titular del producto debe presentar para llevar a cabo el registro el protocolo de control de calidad de las pruebas a efectuar.

5.3. Las pruebas de control de calidad deben realizarse por el fabricante, a cada uno de los lotes producidos.

5.4. La semilla maestra empleada en la producción del biológico debe ser pura, segura e inmunogénica y a partir de ésta debe elaborarse la semilla de trabajo del biológico. La semilla de trabajo debe obtenerse del primero al quinto pase de la semilla maestra.

5.5. La semilla maestra debe probarse en la(s) especie(s) a la(s) que se destina, cada vez que ésta sea renovada.

6. Pruebas de control fisicoquímico al producto en proceso y terminado

De acuerdo con el tipo de biológico del que se trate, se debe cumplir con las siguientes especificaciones.

6.1. pH.

La prueba se realiza empleando un instrumento potenciométrico validado, con la sensibilidad para reproducir valores de pH de 0.05 unidades. Las mediciones deben efectuarse a determinadas temperaturas constantes. El potenciómetro debe calibrarse usando soluciones certificadas.

Los productos deben mantenerse dentro de un rango de pH que les permita conservar su estabilidad durante su vigencia, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

6.2. Humedad.

La determinación de humedad se hará a los productos liofilizados. El promedio de las determinaciones de las muestras tomadas al azar no deben exceder de 4% de humedad residual por el método gravimétrico y el 5% por el método de Karl Fisher.

6.3. Inspección física.

Los productos y sus diluyentes deben estar libres de partículas extrañas, para lo cual se revisará a simple vista durante no más de 20 segundos una muestra estadísticamente representativa del lote, bajo luz blanca y contra un fondo negro y blanco, mediante movimientos de inversión de los envases observados. Aquellos que presenten uno o más de los siguientes defectos deben ser separados: mal sellado, mal llenado y partículas extrañas como vidrios, pelusa, otros.

6.4. Vacío.

Los biológicos liofilizados sellados al vacío deben probarse al 100% con auxilio de una lámpara de Tessler, eliminando aquellos que no presenten vacío. Los biológicos liofilizados de cada lote sellados con gases inertes quedan exentos de esta prueba, lo cual debe especificarse en el protocolo de control de calidad.

6.5. Concentración de inactivante.

En los casos que proceda, se indicará los límites máximos y/o mínimos en los apéndices normativos de la presente Norma.

6.6. Concentración de preservantes.

Si en la elaboración del producto se utiliza un preservante, éste debe indicarse en la etiqueta del producto.

7. Pruebas de control biológico al producto en proceso y terminado

De acuerdo con el tipo de biológico del que se trate, se debe cumplir con las siguientes especificaciones.

7.1. Esterilidad.

Prueba que se aplica a los biológicos con agentes inactivados y es empleada para determinar que el producto está libre de cualquier bacteria viva aerobia y/o anaerobia, hongos y levaduras.

7.2. Pureza.

Prueba que se aplica a los biológicos con agentes activos, mediante la que se determina que en los productos terminados únicamente se encuentran los microorganismos indicados en la etiqueta y están exentos de contaminantes.

7.3. Seguridad o inocuidad.

Esta prueba es para demostrar que el biológico probado no produce enfermedad o reacciones adversas.

Para efectos de control de calidad, cada lote del biológico debe ser probado en la especie a la cual se destina o la correspondiente en animales de laboratorio susceptibles.

Para efectos de registro, el biológico debe ser probado con un mínimo de dos dosis en la especie a la cual se destina.

7.4. Prueba de titulación.

Prueba aplicable a los biológicos con agentes virales activos o previo a la inactivación de los productos biológicos con agentes virales inactivados, para asegurar que su contenido viral es igual o mayor al indicado en el protocolo de manufactura y suficiente para inducir una protección en la especie de destino.

7.5. Cuenta viable.

Prueba aplicable a biológicos bacterianos viables para asegurar que el contenido de bacterias sea igual o mayor al indicado en el protocolo de manufactura.

7.6. Prueba de disociación.

Se emplea para determinar si las bacterias se encuentran en fase lisa o rugosa. El porcentaje de disociación deberá indicarse en el protocolo de manufactura.

7.7. Prueba de inactivación.

Se emplea para determinar que los microorganismos o subproductos utilizados en el biológico no presentan actividad o toxicidad residual.

7.7.1. Prueba de inactivación de un biológico de origen bacteriano.

Cuando se trate de un biológico inactivado, se debe sembrar por lo menos en dos diferentes medios de cultivo enriquecidos y específicos e incubar a la temperatura y periodo óptimo de crecimiento, conforme a los apéndices normativos correspondientes. Para que la prueba se considere satisfactoria, no debe observarse crecimiento en el total de los medios utilizados.

Cuando se observe crecimiento característico en sólo uno de los medios, se debe repetir la prueba, empleando una muestra nueva. En caso de observar crecimiento, el producto debe ser rechazado.

7.7.2. Prueba de inactivación de un biológico de origen viral.

7.7.2.1. La prueba *in vivo* se debe llevar a cabo en animales o embriones susceptibles al virus empleado en la elaboración del producto. Para que la prueba sea satisfactoria, éstos deben permanecer sanos, sin presentar signos atribuibles al biológico, durante el periodo de prueba.

7.7.2.2. La prueba *in vitro* se realiza en cultivos celulares, empleando líneas o cultivos primarios susceptibles y específicos al virus e incubando conforme a las condiciones físico-químicas que favorezcan la multiplicación viral.

7.8. Prueba para determinación de toxina, antitoxina y toxoide.

Se realiza de acuerdo con el protocolo de control de calidad del fabricante o titular del producto y debe cumplir con lo indicado en los apéndices normativos correspondientes.

7.9. Prueba de identidad.

Las pruebas deben realizarse *in vitro* y/o *in vivo*, para demostrar que los antígenos descritos en la etiqueta son los que se encuentran en el biológico.

7.9.1. Pruebas adicionales para verificar la identidad de los microorganismos. Identificación bioquímica, tipificación, resistencia a antimicrobianos y otras aplicables al biológico.

7.10. Prueba de inmunogenicidad.

Esta prueba se realiza en la semilla maestra del biológico en prueba para corroborar su efectividad, la cual se debe efectuar en animales susceptibles, de edad y peso establecidos, libres de anticuerpos específicos, los cuales deben inocularse por la vía recomendada en el protocolo de manufactura.

7.11. Prueba de potencia.

Se emplea para medir la protección que confiere un biológico al ser aplicado en animales susceptibles, los que se inoculan con la dosis y/o dilución correspondiente y por la vía recomendada (ver apéndices normativos).

Después de un tiempo determinado, los animales vacunados y controles son expuestos a una cepa de desafío previamente titulada y ajustada a la dosis requerida.

Esta prueba puede realizarse en animales de laboratorio, cuando se demuestre que es compatible con la especie de destino.

Para considerar esta prueba como satisfactoria, se debe proteger como mínimo al 80% de los animales vacunados y afectar como mínimo al 80% de los animales testigo (ver apéndices normativos).

En los productos polivalentes, se debe hacer una prueba de potencia para cada uno de los antígenos que lo componen.

Prueba de estabilidad. Se realiza con el fin de determinar la vigencia del producto biológico. Su demostración puede efectuarse mediante información nacional o internacional que corresponda al tipo de agente empleado.

Para efectos de comprobación, el fabricante y/o titular del producto debe asegurar el grado de protección y los demás requisitos señalados para el producto durante el periodo de vigencia que ofrezca por cada lote y hasta por tres meses posteriores a la caducidad indicada en la etiqueta.

8. Verificación

Son motivos de verificación:

- 1.- La totalidad de la documentación señalada en el punto número cuatro de esta Norma.
- 2.- El documento comprobatorio del registro del producto otorgado por la Secretaría.
- 3.- Los documentos de producción y de control de calidad de los lotes producidos, importados y/o comercializados del biológico en cuestión.

9. Sanciones

El incumplimiento de las disposiciones contenidas en esta Norma se sancionará conforme a lo establecido en la Ley Federal de Sanidad Animal y la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

10. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma Oficial Mexicana no es equivalente con alguna norma internacional al momento de su elaboración.

11. Bibliografía

Manual de los productos biológicos, OIE.

12. Disposiciones transitorias

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

13. Apéndices normativos

De acuerdo con el tipo de producto biológico de que se trate, se deberá cumplir con los siguientes apéndices:

APENDICE A (NORMATIVO)

13.1. Vacuna contra la enfermedad de la bronquitis infecciosa.

13.1.1. Tipo de biológico. Virus activo modificado o inactivado elaborado en embrión de pollo o cultivo celular.

13.1.2. Vacuna con virus activo.

13.1.2.1. Prueba de pureza. Deben realizarse las pruebas necesarias para demostrar que el producto está libre de Mycoplasmas y los siguientes virus: Newcastle, viruela aviar, laringotraqueitis aviar, leucosis, influenza aviar, síndrome de la baja de postura, infección de la bolsa de Fabricio, adenovirus del grupo 1 y anemia infecciosa de las aves; lo que se hará a través de la neutralización previa del virus de la bronquitis infecciosa aviar.

13.1.2.2. Prueba de titulación.

Se reconstituye el biológico con el diluyente que lo acompaña a razón de 30 ml por cada 1,000 dosis, tomando esta dilución como 10E0. Posteriormente, se realizan diluciones logarítmicas decimales en medio fosfatado con antibióticos.

Por cada dilución, se inoculan un mínimo de cinco embriones SPF de nueve a once días de edad, cada uno con 0.1 ml, siguiendo la técnica de inoculación en la cavidad alantoidea. Los que mueren durante las primeras 24 horas post-inoculación se descartan y deben permanecer vivos por lo menos cuatro de los cinco embriones inoculados por cada dilución. La lectura se efectúa de seis a siete días post-inoculación examinando los embriones y tomando como positivos aquellos que muestren lesiones típicas producidas por el virus de la bronquitis infecciosa aviar en el embrión de pollo.

Para la titulación, los resultados se calculan por el método de Reed & Muench y/o Spermann Karber, expresados como DIEP 50%/ml.

Un título menor de 10E4 DIEP 50%/ml se considera insatisfactorio.

Para efectos de comprobación, el fabricante y/o titular del producto debe asegurar el grado de protección y un título mínimo de 10E4 DIEP 50%/ml durante el periodo de vigencia que ofrezca por cada lote del

producto, el cual no será mayor de 18 meses a partir de la fecha de elaboración y hasta tres meses más posteriores a la caducidad indicada en la etiqueta del mismo.

13.1.2.3. Prueba de identidad.

La prueba de virus suero neutralización mediante la utilización del método de virus constante-suero decreciente con antisuero específico y la técnica de inmunodifusión son útiles para los propósitos de identificación. La prueba de inmunofluorescencia directa aplicada sobre cultivo de órganos traqueales también se utiliza para la rápida detección del virus de bronquitis infecciosa aviar. Esta prueba se realiza al granel del virus cosechado, en forma previa a la inactivación del mismo.

13.1.2.4. Prueba de inocuidad.

Se deben utilizar diez pollos SPF de la edad mínima indicada en la etiqueta del producto para aplicar la vacunación, a cada uno de los cuales se les administra por vía ocular diez dosis de la vacuna y se observarán diariamente durante 21 días. La prueba se considera satisfactoria si durante el periodo de observación ninguna de las aves muestran signos indeseables atribuibles a la vacuna y ningún pollo muere por causas atribuibles al producto.

13.1.2.5. Prueba de potencia.

Se lleva a cabo en un grupo de 20 pollos susceptibles de diez días de edad como máximo. Previa a la vacunación se aíslan diez aves y el resto se vacunan de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Después de 21 a 28 días post-vacunación todas las aves serán desafiadas por vía ocular, con una cepa estandarizada de un virus patógeno de la bronquitis aviar.

A los siete días post-inoculación se toman muestras de exudado traqueal de todas las aves. Cada una de las muestras se obtiene por separado y se coloca en un tubo con tres mililitros de caldo triptosa fosfatado con antibióticos.

Con cada muestra se inoculan cinco embriones SPF de nueve a once días de edad por la vía de la cavidad alantoidea con 0.2 ml del inóculo, los cuales se observan diariamente durante seis a siete días. Para que la prueba sea válida deben permanecer vivos cuatro de los cinco embriones durante los primeros tres días post-inoculación.

La lectura se realiza entre los seis y siete días post-inoculación mediante el examen de los embriones y tomando como positivos aquellos que muestran lesiones típicas producidas por el virus de la bronquitis infecciosa aviar en el embrión de pollo. Durante la lectura pueden descartarse de la misma aquellos embriones que hayan muerto entre el cuarto y el séptimo día, siempre y cuando no presenten lesiones típicas de la bronquitis infecciosa aviar y no excedan de 20% del total de embriones observados.

Para que la prueba se considere satisfactoria, no debe recuperarse el virus de desafío de por lo menos el 80% de las muestras de exudados traqueales de las aves vacunadas y sí debe recuperarse de por lo menos el 80% de las muestras de las aves testigos.

Esta prueba se realiza de manera obligatoria en la semilla maestra y en la semilla de trabajo, y es opcional en los lotes comerciales.

Para efectos de comprobación, el fabricante y/o titular del producto debe asegurar el grado de protección y un título mínimo de $10E4$ DIEP 50%/ml durante el periodo de vigencia que ofrezca por cada lote, el cual no será mayor de 18 meses a partir de la fecha de elaboración y hasta tres meses más posteriores a la caducidad indicada en la etiqueta del mismo.

13.1.3. Vacuna con virus inactivado.

13.1.3.1. Prueba de identidad.

La prueba de virus suero neutralización mediante la utilización del método de virus constante-suero decreciente con antisuero específico y la técnica de inmunodifusión son útiles para los propósitos de identificación. La prueba de inmunofluorescencia directa aplicada sobre cultivo de órganos traqueales también se utiliza para la rápida detección del virus de bronquitis infecciosa aviar. Esta prueba se realiza al granel del virus cosechado, en forma previa a la inactivación del mismo.

13.1.3.2. Prueba de inactivación.

La prueba consiste en realizar dos pases en cultivos celulares o en embrión de pollo, en la que se utiliza como inóculo 0.2 ml del granel cosechado e inactivado como inóculo y en la que se efectúan diez réplicas por cada pase.

No deben presentarse lesiones producidas por el virus de la bronquitis infecciosa aviar en ninguno de los medios utilizados, después de siete días de infección post-inoculación y en ninguno de los dos pases.

13.1.3.3. Prueba de inocuidad.

Se deben utilizar diez pollos SPF de la edad mínima indicada en la etiqueta del producto para aplicar la vacunación, a cada uno de los cuales se les administra por vía ocular diez dosis de la vacuna y se observarán diariamente durante 21 días. La prueba se considera satisfactoria si durante el periodo de observación ninguna de las aves muestran signos indeseables atribuibles a la vacuna y ningún pollo muere por causas atribuibles al producto.

13.1.3.4. Prueba de potencia.

Se inoculan 20 pollos susceptibles, de cuatro semanas de edad, con una dosis del producto. Cuatro semanas después de la vacunación deben mostrar un título promedio de HI no menor a seis logaritmos base dos.

APENDICE B (NORMATIVO)

13.2. Vacuna contra el moquillo canino, virus activo modificado.

13.2.1. Tipo de biológico. Virus activo modificado de moquillo canino, avirulento para el hurón.

13.2.2. Prueba de seguridad o inocuidad.

La vacuna se reconstituye con el diluyente que la acompaña. Con fines de registro y constatación, por cada lote se utilizan dos perros jóvenes susceptibles sin anticuerpos contra el moquillo canino, los cuales se inoculan con el equivalente a diez dosis por la vía recomendada por el fabricante, y se observan durante 14 a 21 días.

Para la realización de esta prueba en cada lote, se utilizan 16 ratones de 21 días de edad. Ocho de ellos se inoculan por vía intracerebral con 0.03 ml y los otros ocho por la vía intraperitoneal con 0.05 ml y se observan diariamente durante siete días.

Para que la prueba se considere satisfactoria, ninguno de los perros y ratones deben presentar signos o lesiones de enfermedad ni lesiones indeseables atribuibles al producto. Si en alguno de los animales existen reacciones desfavorables no atribuibles al producto, la prueba se declara inconclusa y puede repetirse.

13.2.3. Prueba de titulación.

Se puede realizar en cultivos celulares o embriones de pollo SPF. La vacuna se reconstituye con el diluyente que la acompaña, lo que se considera como la dilución 10E0.

Si se trata de una vacuna combinada, deben neutralizarse previamente la(s) fracción(es) con el antisuero específico, en la misma cantidad que el fabricante recomienda para su diluyente, ésta se considera como la dilución 10E0.

Se realizan diluciones logarítmicas decimales con medio de mantenimiento y se inoculan cuando las monocapas de células tienen un mínimo de confluencia de 70%. Por cada dilución se inoculan cinco tubos o cámaras con portaobjetos, cada uno con 0.2 ml de la dilución correspondiente. Se incuban a 37°C durante siete días.

Al finalizar el periodo de incubación, las laminillas se tiñen mediante la técnica de inmunofluorescencia, utilizando un conjugado previamente titulado, preparado con anticuerpos específicos contra el moquillo canino. La presencia de fluorescencia específica para el virus de moquillo constituye una laminilla positiva. Los resultados deben calcularse por el método de Reed and Muench o Spermann Karber y se expresan como DFFF 50% por dosis.

La vacuna debe tener un título de 10E3 DFFF 50% por dosis.

Cuando se utilicen embriones, éstos deben ser de siete días de edad. Las diluciones decimales se realizan en caldo triptosa fosfatado. Por cada dilución se inoculan cinco embriones, cada uno con 0.1 ml por la vía de la membrana corioalantoidea en falsa cámara y se incuban de 35 a -37°C durante seis días. Se considera que el embrión es positivo cuando la membrana corioalantoidea muestra por lo menos una placa característica producida por el virus de moquillo canino. Los resultados deben calcularse por el método de Reed & Muench o de Spermann Karber.

La vacuna probada debe tener un título mínimo de 10E2.5 DIEP 50% por dosis.

13.2.4. Prueba de potencia para fines de constatación y registro.

Se utilizan 15 perros susceptibles; diez deben constituir el lote de prueba y cinco el lote testigo. La susceptibilidad debe determinarse previamente a la prueba, para lo cual todos los animales se sangran a efecto de obtener la muestra de suero individual que debe someterse a una prueba de sueroneutralización. Para esta última se debe utilizar virus fijo o virus constante, así como diluciones duplas de suero. Los animales se consideran susceptibles cuando no se observa neutralización viral en la dilución 1:2.

La dosis vacunal elegida como la media es la obtenida a través de las titulaciones previas y se comprueba por lo menos con cinco titulaciones en el momento de la prueba.

Los animales del lote vacunado se inoculan con la dosis recomendada por el fabricante; los testigos sin vacunar se mantienen separados y todos se observan diariamente. Después de 21 días de la vacunación, todos los animales se desafían por vía intracerebral con el virus de moquillo canino cepa Snyder Hill y se observan diariamente durante 21 días.

Para que la prueba se considere satisfactoria, por lo menos cuatro de los cinco testigos deben morir y si uno sobrevive, éste debe mostrar signos de la enfermedad y aislarse el virus a partir de él. Durante el periodo de observación, por lo menos ocho de los diez perros vacunados deben permanecer sanos sin signos de la enfermedad.

APENDICE C (NORMATIVO)

13.3. Vacuna contra la gastroenteritis transmisible del cerdo.

13.3.1. Tipo de biológico. Virus activo modificado de la gastroenteritis transmisible del cerdo, en el que se utiliza una línea celular estable de riñón de cerdo.

13.3.2. Prueba de seguridad o inocuidad.

Para efectos de registro o constatación, se utilizan cinco lechones de cinco a siete días de edad, separados de la madre con 48 horas de anticipación, los cuales se inoculan por vía oral con diez dosis de la vacuna reconstituida.

Para efectuar el control de calidad de cada lote, se utilizan 16 ratones albinos de la misma cepa, con un peso aproximado de 16 a 20 gramos. Estos últimos se dividen en dos grupos de ocho ratones cada uno; el primer grupo se inocula por vía intraperitoneal con 0.5 ml de la vacuna reconstituida y el segundo con 0.03 ml por vía intracerebral. Se observa diariamente a los animales durante siete días. La prueba se considera satisfactoria si permanecen sanos sin signos y lesiones atribuibles al producto. Resultados contrarios se consideran insatisfactorios.

13.3.3. Prueba de titulación.

Se utilizan cultivos celulares sembrados en microplacas. La vacuna se reconstituye con el diluyente que la acompaña, considerándose como la dilución 10E3. Posteriormente, se realizan diluciones logarítmicas decimales; por cada dilución se inoculan cinco pozos. La lectura se realiza al examinar cada uno de los pozos y se consideran positivos cuando se observa efecto citopatogénico. El título de la vacuna debe calcularse por el método de Reed and Muench, expresado como DICC 50%. Un título menor de 10E6 DICC 50% por ml se considera insatisfactorio.

13.3.4. Prueba de potencia.

Para el registro del producto, la prueba de potencia debe realizarse en cerdos de acuerdo con el protocolo de manufactura del fabricante.

Para efectos de comprobación el fabricante y/o titular del producto debe asegurar por lo menos un 70% de protección y los demás requisitos señalados con anterioridad.

APENDICE D (NORMATIVO)

13.4. Bacterina contra la erisipela porcina.

13.4.1. Tipo de biológico. Suspensión estéril atóxica, elaborada a partir de cultivos puros de cepas inmunogénicas y estables de *Erisipelothrix rhusiopathie* e inactivada por cualquier agente fisicoquímico adecuado. Puede contener un adyuvante que permita estimular una mejor respuesta inmunológica.

13.4.2. Prueba de seguridad o inocuidad.

Se utilizan dos cuyes sanos susceptibles, de 300 a 360 gramos de peso. En las bacterinas que se utilizan 5 ml por dosis para los cerdos, a cada uno de los cuyes se les inocula por vía subcutánea o intramuscular 2 ml del producto y se observan por siete días. En el caso de las bacterinas concentradas en las que se recomienda la aplicación de 2 ml por dosis para cerdos, se aplica la proporción correspondiente a los cuyes.

La prueba se considera satisfactoria cuando los animales permanecen sanos sin signos indeseables atribuibles al producto durante el periodo de observación.

13.4.3. Prueba de potencia.

Se puede realizar en ratones cuando se demuestra que existe correlación con la prueba en cerdos. Si se utilizan ratones, éstos deben ser de cuatro semanas de edad, sanos susceptibles de 16 a 22 gramos de peso.

Para la bacterina de prueba y la de referencia se debe seguir el mismo procedimiento.

Con la bacterina se realizan diluciones con solución salina fisiológica 1:0, 1:30, 1:90, 1:270; de la bacterina sin diluir se aplica 0.1 ml a cada ratón y de cada una de las diluciones se aplican 0.5 ml. Los ratones se observan diariamente durante 14 a 21 días y luego se desafían por vía subcutánea con 100 DLR 50% de un cultivo de *Erisipelothrix rhusiopathie*, se observan diariamente durante diez días postdesafío y se lleva un registro de los sobrevivientes.

Los resultados son calculados y expresados como título de la bacterina en DE 50%. Debe utilizarse una bacterina de referencia contra la bacteria en estudio. Para que la prueba sea válida, en el caso de la bacterina de referencia, la dilución más alta debe proteger al menos el 50% de los ratones vacunados, mientras que la dilución más baja, a más de 50% de los ratones inoculados. Para que la prueba se considere satisfactoria el porcentaje de protección debe ser mayor a 50% en la dilución 1:90 en la bacterina de prueba. Resultados diferentes se consideran insatisfactorios.

Para efectos de constatación y registro del biológico, se deben utilizar ocho cerdos sanos susceptibles, los cuales se dividen en dos grupos iguales para conformar el grupo testigo y el de prueba.

Los animales del lote de prueba se vacunan con una dosis de la bacterina por la vía recomendada por el fabricante. Entre los 14 a 21 días después, ambos grupos se desafían por vía intramuscular con cultivos virulentos de una cepa previamente estandarizada de *Erisipelothrix rhusiopathie*, se observan diariamente por siete días y se registra la temperatura corporal, signos clínicos, morbilidad y mortalidad.

La prueba se considera satisfactoria cuando por lo menos tres de los cuatro cerdos vacunados permanecen sanos, sin signos de enfermedad y la temperatura corporal no excede de 40.3°C por más de un día y cuando por lo menos el 75% de los cerdos testigos mueren y/o enferman, con alza térmica de 41.8°C o más durante por lo menos dos horas, se observan signos y lesiones de erisipela porcina y/o mortalidad.

Para saber si se infectaron los cerdos vacunados o controles que no presenten la elevación de temperatura mencionada, deben sacrificarse e intentar el aislamiento de la *Erisipelothrix rhusiopathie* a partir de su sangre, bazo u otros tejidos. El animal se considera infectado cuando se lleva a cabo el aislamiento del agente.

APENDICE E (NORMATIVO)

13.5. Vacuna contra la parvovirus porcina, virus inactivado.

13.5.1. Tipo de biológico. Parvovirus porcino inactivado por agentes físico-químicos adecuados. Puede contener un adyuvante que permita estimular una mejor respuesta inmunogénica.

13.5.2. Prueba de seguridad o inocuidad.

Se utilizan dos cerdos jóvenes susceptibles, los que se inoculan con el doble de la dosis por la vía recomendada por el fabricante y se observan diariamente durante 21 días posinoculación.

De manera opcional se pueden utilizar dos cuyes sanos susceptibles, del mismo origen. A cada uno se les aplica por vía subcutánea 2 ml de la vacuna y se mantienen en observación durante siete días posinoculación, tiempo en el que deben permanecer sanos y sin signos o lesiones atribuibles al producto. Resultados diferentes son considerados insatisfactorios.

13.5.3. Prueba de inmunogenicidad.

Se utilizan un mínimo de 15 cuyes de 300 a 400 gramos de peso, libres de anticuerpos contra parvovirus porcino, los cuales se dividen en dos lotes, uno con diez que se vacunan y el otro con cinco como testigos.

A los diez cuyes se les aplica por vía subcutánea en la parte posterior del cuello una quinta parte de la dosis descrita para cerdo (0.4 ml). Dos semanas después se les aplica una segunda dosis de 0.4 ml por la misma vía de administración. A los siete y 14 días después de la segunda vacunación se toma una muestra de sangre de todos los cuyes. El suero obtenido se prueba mediante la técnica de inhibición de la hemaglutinación.

La prueba se considera satisfactoria cuando al menos el 80% de los vacunados tienen un título igual o mayor de 1:320 y los testigos un título promedio de 1:8 o menor.

Para el registro de un producto, la prueba debe realizarse en cerdas gestantes libres de anticuerpos contra parvovirus porcino.

APENDICE F (NORMATIVO)

13.6. Bacterina contra el *Clostridium chauvoei*.

13.6.1. Tipo de biológico. Suspensión estéril destoxificada de células, elaborada a partir de cultivos puros de *Clostridium chauvoei* e inactivada por un agente químico específico. Con adyuvante que potencialice la respuesta inmunológica.

13.6.2. Prueba de potencia.

Se utilizan 15 cobayos del mismo origen con un peso de 300 a 500 gramos; cinco se utilizan como testigos y diez se vacunan con un ml equivalente a una quinta parte o la mitad de la dosis bovina cuando ésta sea de dos ml, por vía subcutánea en el cuello atrás de la oreja; después de 15 a 20 días, se procede a aplicar una segunda dosis. Después de 14 días de la última vacunación, todos los animales se desafían con una dosis mortal mínima cobayo (DMM) de una cepa de la especie de *Clostridium chauvoei*, previamente titulada y estandarizada, por vía intramuscular y se observan diariamente durante tres días.

La prueba se considera satisfactoria cuando por lo menos el 80% de los testigos mueren y el 80% de los vacunados sobreviven.

APENDICE G (NORMATIVO)

13.7. Bacterina contra el *Clostridium sordelli*.

13.7.1. Tipo de biológico. Suspensión estéril destoxificada de células, elaborada a partir de cultivos puros de *Clostridium sordelli* e inactivada por un agente químico específico. Con adyuvante que potencialice la respuesta inmunológica.

13.7.2. Prueba de potencia.

Esta se realiza e interpreta como se describe en la bacterina de *Clostridium chauvoei*.

APENDICE H (NORMATIVO)

13.8. Bacterina contra el *Clostridium novyi* (diferentes tipos).

13.8.1. Tipo de biológico. Suspensión estéril destoxificada de células, elaborada a partir de cultivos puros de *Clostridium novyii* e inactivada por un agente químico específico. Con adyuvante que potencialice la respuesta inmunológica.

13.8.2. Prueba de potencia.

Esta se realiza e interpreta como se describe en la bacterina de *Clostridium chauvoei*.

APENDICE J (NORMATIVO)

13.9. Bacterina contra el *Clostridium perfringens* tipo C y D.

13.9.1. Tipo de biológico. Suspensión estéril destoxificada de células, elaborada a partir de cultivos puros de *Clostridium perfringens* tipo C y D inactivada por un agente químico específico. Con adyuvante que potencialice la respuesta inmunológica.

13.9.2. Prueba de potencia.

En esta prueba se requiere de la producción de suero contra la toxina de *Clostridium perfringens* tipo D en conejos, así como la realización de pruebas de neutralización en ratones.

13.9.2.1. Producción de suero antitóxico.

Se vacuna un mínimo de ocho conejos con 1 ml de bacterina toxoide contra el *Clostridium perfringens* tipo D, por vía subcutánea en la parte posterior del cuello atrás de la oreja. Se aplica una segunda dosis a los catorce días por la misma vía. 21 días después de la segunda vacunación, se sangra a los conejos por punción cardiaca, se separa el suero, se mezcla el de los ocho animales y se congela a menos de 70°C hasta el momento de su uso.

13.9.2.2. Neutralización en ratones.

Se realizan diluciones dobles del suero antitóxico con solución salina amortiguada estéril de fosfatos I, de acuerdo con las indicaciones del siguiente cuadro.

Tubo No.	1	2	3	4	5	6	7	8
----------	---	---	---	---	---	---	---	---

SAF/ml	-	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	-	-
Antitoxina/ml	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	-	1.5	-
Toxina/ml	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	-	-	1.5
Dilución	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	-	-	-

Posteriormente, se descongela la antitoxina (mezcla de ocho sueros) y se efectúan las diluciones a 4°C, agitando en cada caso. Se adiciona la toxina previamente titulada y estandarizada a cinco DLRA 50%. Se incuban los tubos a 37°C durante 60 minutos. Se colocan nuevamente los tubos en el baño de hielo a 4°C. Por cada dilución se inoculan grupos de por lo menos cinco ratones, con 0.2 ml por vía endovenosa en la vena caudal. A las 24 horas se toma la lectura, se anota la relación de los animales muertos contra el total de inoculados en cada dilución y se calcula la dosis protectora en ratón adulto 50% por el método de Spermann Karber.

13.9.2.3. Resultados e interpretación.

La bacterina-toxoide debe presentar un título de antitoxina de cuando menos cinco DERA 50% para que sea aprobada satisfactoriamente. Para que el ensayo sea válido los controles de la toxina deben presentar entre 80 y 100% de mortalidad y los controles de SAF y antitoxina 100% de viabilidad.

Dado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los veintiocho días del mes de febrero de dos mil.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoosanitaria, **Angel Omar Flores Hernández**.- Rúbrica.