



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Técnica Particular de Loja

ESCUELA DE CIENCIAS CONTABLES Y AUDITORÍA

MODALIDAD ABIERTA Y A DISTANCIA

**DIAGNÓSTICO, IMPLEMENTACIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA CALIDAD EN EL
DISEÑO Y DESARROLLO DE LA VACUNA PARA LA PREVENCIÓN DE LA
PASTEURELOSIS AVIAR (CÓLERA AVIAR) EN LAVETEC CÍA. LTDA.**

Tesis de Grado previo la obtención del
título de Magíster en Auditoría en Gestión
de la Calidad.

Autor (es): Andrea Elizabeth Cevallos Aguirre

Director: Pablo Arturo Martínez Vega

Centro universitario: Quito

2011

Pablo Arturo Martínez Vega
DIRECTOR DE LA TESIS

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación realizado por el estudiante: ANDREA ELIZABETH CEVALLOS AGUIRRE, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, ajustándose a las normas establecidas por la Escuela de Contabilidad y Auditoría, Modalidad Abierta y a Distancia de la Universidad Técnica Particular de Loja; por lo que autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

Quito, Mayo ____ del 2011.

f)

ACTA DE DECLARACIÓN Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo ANDREA ELIZABETH CEVALLOS AGUIRRE, declaro ser autora del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad".

.....
Andrea Elizabeth Cevallos Aguirre
C.I: 0912614724

AUTORÍA

Las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo, son de exclusiva responsabilidad de su autor.

.....
Andrea Elizabeth Cevallos Aguirre
C.I: 0912614724

DEDICATORIA

“La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡Qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste”

- *Marie Curie*

Este logro representa la perseverancia ante las diversas adversidades que se presentaron en estos dos años de estudios de postgrado. Se lo dedico a toda mi familia: a mis padres, a mis dulces hermanos (Daniela y David), a Papito Lolo, Mamita Tere y Tía Mónica; quienes han sido la constante inspiración para el cumplimiento de mis sueños, pese a que muchos creyeron que eran inalcanzables, menos ustedes.

AGRADECIMIENTO

“La gran victoria que hoy parece fácil fue el resultado de pequeñas victorias que pasaron desapercibidas”

-Paulo Coelho

Gracias Virgencita de La Merced, por ser la luz de mi camino; por haberme guardado y protegido todos estos años... ¡Gracias por eso y más!!

A toda mi familia, por confiar en mí... ¡¡Los amo!!.

A, mis mejores amigos: Mónica Bone, Marilú Jurado, Guillermo Véliz y Ma. Esther Yépez, que siempre estuvieron al pie del cañón, apoyándome para no decaer, frente a las dificultades... ¡Lo hicimos!!

A Francisco Chimbo, gracias por ser el catalizador de este sueño y el artífice de una ilusión.

Al Dr. Arturo Cabrera, por ser un excelente Maestro durante estos años y por enseñarme a comprender las Ciencias Veterinarias.

Al Dr. Santiago Flores, Rosa Grijalva y demás compañeros de Lavetec Cía. Ltda. por colaborar con sus ideas, de una u otra manera, para el desarrollo de este proyecto.

A la Universidad Técnica Particular de Loja, por permitirme ser parte de su selecto grupo de estudiantes.

Andrea E. Cevallos Aguirre

INDICE DE CONTENIDOS

| | PÁGINA |
|--|---------------|
| Hoja preliminar | I |
| Certificación del director | II |
| Cesión de los derechos | III |
| Autoría | IV |
| Dedicatoria | V |
| Agradecimientos | VI |
| | |
| RESUMEN | X |
| | |
| CAPÍTULO I | |
| ASPECTOS GENERALES LAVETEC Cía. Ltda. | |
| | |
| 1.1 Origen y Constitución legal | 14 |
| 1.2 Descripción de la empresa | 14 |
| 1.3 Estructura organizativa | 14 |
| 1.4 Misión, Visión y Valores | 15 |
| 1.5 Buenas Prácticas de Manufactura | 16 |
| | |
| CAPÍTULO II | |
| ASPECTOS GENERALES | |
| | |
| 2.1 Introducción a la Pasteurelosis | 31 |
| 2.2 Técnicas de diagnóstico | 31 |
| 2.3 Identificación del agente causal | 38 |

CAPÍTULO III
INTRODUCCIÓN A LA ELABORACIÓN DE
VACUNAS

| | | |
|-----|--|----|
| 3.1 | Definición | 41 |
| 3.2 | Clasificación | 48 |
| 3.3 | Principios en la producción de vacunas veterinarias | 50 |
| 3.4 | Seguridad humana en los laboratorios veterinarios | 57 |
| 3.5 | Pruebas para la esterilidad y ausencia de contaminación en materiales biológicos | 60 |

CAPÍTULO IV
DISEÑO Y DESARROLLO DE LA VACUNA
CÓLERA AVIAR

| | | |
|-----|---|-----------|
| 4.1 | Planificación de la realización del producto | 64 |
| 4.2 | Procesos relacionados con el cliente y revisión de los mismos | 64 |
| 4.3 | Diseño y desarrollo del producto | 65 |
| 4.4 | Servicio post-venta / comunicación con el cliente | 79 |
| 4.5 | Satisfacción del cliente | 79 |
| 4.6 | Seguimiento de los procesos | 80 |
| 4.7 | Mejora continua | 82 |
| | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 83 |
| | BIBLIOGRAFÍA | 85 |
| | ANEXOS | 86 |

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

| | | PAGINA |
|----|---------------------------------------|---------------|
| 1. | Análisis de Control de Calidad | 74 |

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades aviarias constituyen un grupo de fundamental importancia debido a las pérdidas económicas que puede acarrear su prevalencia en la industria avícola del país, por ello, se realizan acciones de vigilancia para evitar su reproducibilidad en las granjas.

El Pasteurellosis aviar (Cólera aviar) es una enfermedad común de las gallináceas que puede afectar a todo tipo de aves y que tiene una distribución mundial. A menudo los brotes de Pasteurellosis aviar se manifiestan como septicemias agudas mortales. El diagnóstico depende del aislamiento y la identificación de la bacteria causante, *Pasteurella multocida*. El diagnóstico preliminar puede establecerse por la aparición de síntomas típicos y lesiones, y la demostración microscópica de muchas bacterias en muestras de sangre, o en frotis de impresión de tejidos como el hígado y el bazo. También se presentan formas suaves o crónicas de la enfermedad donde ésta es endémica, con infección localizada fundamentalmente en los sistemas respiratorio, esquelético, muscular y reproductivo.

Por este motivo Lavetec Cía. Ltda. elabora la vacuna para prevenir la Pasteurellosis Aviar, denominada CÓLERA AVIAR, bacterina formulada con tres serotipos prevalentes de *Pasteurella multocida*; más la *Pasteurella hemolítica* de aislamiento local, para reforzar la inmunidad específica y evitar, la infección por el desafío de agentes patógenos.

DEFINICIÓN DE INMUNIZACIÓN

La palabra inmunidad debería comprender *“todos los mecanismos fisiológicos que permiten al animal reconocer las sustancias como extrañas a su ser, y neutralizarlas, eliminarlas o metabolizarlas, con o sin lesión de los tejidos propios”*.

DEFINICIÓN DE VACUNA

El uso de las vacunas se basa en la estimulación de la producción de anticuerpos en el huésped (inmunización activa), a diferencia de la transferencia de anticuerpos preformados o productos de la respuesta inmune (inmunización pasiva). La palabra vacuna se define, como cualquier producto biológico preparado a partir de microorganismos y eficaz para la prevención de las enfermedades. La palabra toxoide se refiere a un preparado de toxina que ha perdido su acción tóxica, pero conserva sus propiedades inmunogénicas y, por lo tanto, puede aplicarse como vacuna.

CONTROL DE CALIDAD DE LAS VACUNAS

El control de calidad es un proceso complejo que se requiere en cada paso de la fabricación. Este procedimiento incluye el control de las materias primas, del proceso de producción de los biológicos y del producto final.

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LAS VACUNAS

- ✚ Control de esterilidad,
- ✚ Control de inocuidad,
- ✚ Control de estabilidad, etc.

HIPÓTESIS

Es factible controlar la gestión de producción de vacunas basado en las cláusulas 7 y 8 de la norma ISO 9001:2008 para la empresa privada en mención, además de utilizar la retroalimentación de la gestión de ventas para determinar el grado de satisfacción del cliente

DEMOSTRACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Lavetec Cía. Ltda., a través de Gestión de Producción ejecuta las formulaciones, especificaciones, procedimientos, instructivos y registros establecidos en la Gestión de Innovación y Desarrollo, mediante la planificación

de la producción anual y semanal, definidas en la orden de producción, en base a las necesidades de existencias de productos proporcionado por la Gestión de Bodegas.

En cada una de las etapas de la producción se han establecido parámetros de control en proceso, apoyados en los equipos y técnicas de Seguimiento y Medición; asegurándose el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura.

Las Gestiones de Ventas y Satisfacción al Cliente definen actividades de comunicación, retroalimentación y tratamiento de la insatisfacción o quejas del cliente.

JUSTIFICACIÓN

Existen varios motivos, para implementar una correcta documentación del diseño y desarrollo del producto, el más importante es validar el proceso de producción de vacunas, evitándose futuros problemas de calidad. Además, todo el personal del área de biológicos, estaría altamente capacitado para realizar la manufactura del producto, ahorrando tiempo y dinero, e incremento la productividad de la empresa.

DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio

Esta investigación corresponde a una investigación de campo y aplicada.

Método de investigación

El método científica se utilizará para éste proyecto, por la interacción de conceptos, hipótesis, variables, definiciones, técnicas analíticas, etc, elementos básicos para la estructura de un SGC.

CAPÍTULO I:

ASPECTOS GENERALES

LAVETEC CÍA. LTDA.

1.1 ORIGEN Y CONSTITUCIÓN LEGAL

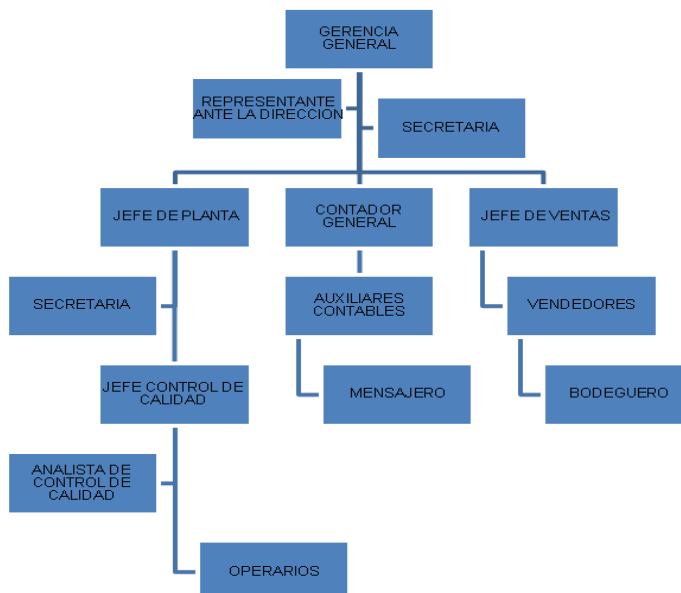
Lavetec Cía. Ltda. es una empresa privada creada el 28 de mayo de 1992, que nació con la finalidad de apoyar al sector avícola, a raíz, que sus integrantes se encontraban involucrados en la comercialización de carne y huevos.

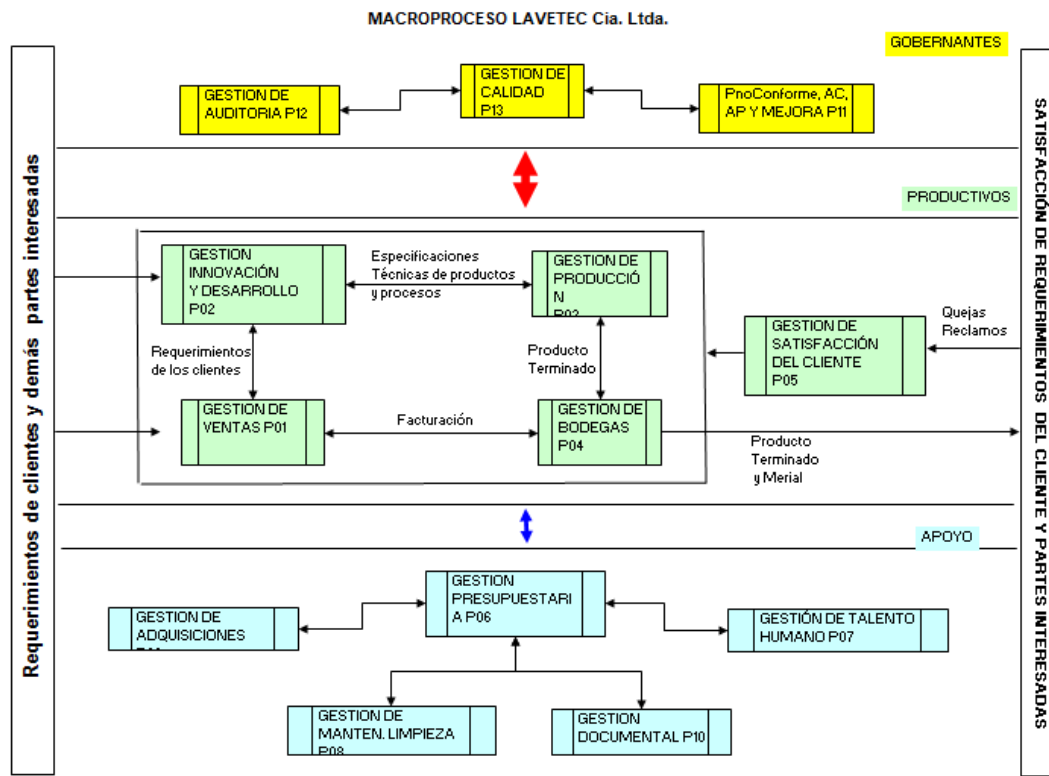
1.2 DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA

Lavetec Cía. Ltda., es una empresa de investigación, producción y comercialización de vacunas y productos farmacéuticos de uso veterinario para los sectores pecuarios de Ecuador y actualmente se encuentra exportando a Colombia.

Lavetec Cía. Ltda. está comprometida con sus clientes, brindándoles productos de calidad con asistencia técnica y profesional, en cada región de nuestro país.

1.3 ESTRUCTURA ORGANIZATIVA





1.4 MISIÓN, VISIÓN, VALORES

VISIÓN

Ser un laboratorio veterinario reconocido a nivel nacional e internacional por la elaboración de fármacos y biológicos de efectividad comprobada.

MISIÓN

Lavetec Cía. Ltda. Es una empresa ecuatoriana orientada al diseño, elaboración y comercialización de productos farmacéuticos de uso veterinario mediante el uso de tecnología de punta, contando con personal altamente capacitado y empleando estándares de calidad en los procesos, brindando asesoría técnica oportuna, con la única finalidad de satisfacer a nuestros clientes del sector pecuario.

VALORES

- Ética
- Retroalimentación con el cliente

- Responsabilidad social
- Compromiso de Calidad
- Trabajo en Equipo

1.5 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA

Buenas prácticas de manufactura (BPM) o normas GMP es un conjunto de normas y procedimientos a seguir en la industria farmacéutica para conseguir que los productos sean fabricados de manera consistente y acorde a ciertos estándares de calidad.

Este sistema se elaboró para minimizar errores en la manufactura de productos farmacéuticos. Ya que nunca se puede asegurar al 100% que los errores vayan a detectarse al someter al producto a las pruebas finales, es decir, antes de ser distribuido.

Las BMP abarcan todos los aspectos de la fabricación de productos farmacéuticos.

Existen varias BMP's: las de la unión europea, las americanas (FDA), las japonesas, etc.; todas tienen contenido similar y un objetivo común. Las BPM's de la unión europea se dividen en dos partes principales: una dedicada a la producción de principios activos farmacéuticos (APIs) y otra dedicada a la fabricación de medicamentos. Estas dos partes son ampliadas mediante anexos, actualmente 20) que se revisan periódicamente.

Es importante destacar que las Buenas Prácticas de Manufactura tienen tres objetivos claros:

- ✚ Evitar errores,
- ✚ Evitar contaminación cruzada del producto fabricado con otros productos, y ,
- ✚ Garantizar la trazabilidad hacia adelante y hacia atrás en los procesos.

Sin embargo, la base de estas normativas de calidad es la seguridad del paciente durante el uso de los medicamentos destinados a la prevención, atenuación y recuperación de la salud.

1.5.1. PROCEDIMIENTO

1.5.1.1 Organización:

- ✚ La empresa tiene una organización definida, todos los integrantes, deben conocerla.
- ✚ Cada persona, debe conocer perfectamente sus obligaciones y derechos, dentro de la organización.
- ✚ Es fundamental, participar activamente en un trabajo colectivo eficiente, en términos de seguridad, calidad y cantidad.

1.5.1.2. Personal, Adiestramiento y actualización:

- ✚ La calidad de un medicamento se produce y depende de las personas que intervienen durante la manufactura, haga siempre lo debido, en el momento preciso.
- ✚ Evaluar periódicamente el desempeño del personal, para conocer la efectividad del entrenamiento recibido y la capacidad.
- ✚ Cuando se encargue una tarea, debe dejarse por escrito en la orden de producción, en el literal “observaciones”. No se debe presumir que los operarios, por su experiencia, lo saben todo.

1.5.1.3. Certificados de salud y controles médicos:

- ✚ Las personas involucradas en el área de producción, deben someterse a controles médicos generales periódicos, debido a que, la salud de ellos, puede influir en la calidad de los medicamentos que se está fabricando.
- ✚ El carné de salud deberá estar siempre actualizado.

- ✚ Todos el personal, deberá alertar a sus superiores, si éstos padecen de enfermedades infectocontagiosas o lesiones en la piel, para tomar la decisión más adecuada.

| ENFERMEDADES DE LA PIEL | |
|--------------------------------|---|
| Hongos | Afectan cualquier parte del cuerpo, poseen gran afinidad por la queratina, por lo que invaden uñas, cabello y piel. |
| Sarna | Causada por un parásito que se introduce dentro de la piel. |
| Piojos | Se presenta con picazón. |
| Garrapatas | Ácaros que pueden transmitir diversas enfermedades por picadura. |
| Urticaria | Las manchas son como picaduras (o ronchas) que causan picazón, pueden aparecer y desaparecer. |
| INFECCIONES CUTÁNEAS | |
| Tiñas y piodermatitis viral | Puede producirse por el medio ambiente, clima cálido, escasa higiene y condiciones de vida en hacinamiento. |
| INFECCIONES VÍRICAS | |
| Herpes simple y zoster | Infección producida por el virus de la varicela. |
| INFECCIONES BACTERIANAS | |
| Impétigo | Infección superficial de la piel muy contagiosa, produce granos y llagas con pus. |
| Foliculitis | Infección superficial del folículo piloso. |

| | |
|---|---|
| Forúnculos | Bultos infectados por debajo de la piel. |
| Úlceras | Ausencia total de la piel, se puede producir llagas crónicas. |
| HERIDAS | |
| Raspones, cortes superficiales, cortes profundos y heridas grandes | Cuando se produce una herida, la piel se rompe y los gérmenes entran en el organismo y provocan infecciones graves. |
| INFECCIONES RESPIRATORIAS | |
| AGUDAS: <i>SIN NEUMONÍA</i> Rinofaringitis y Traqueobronquitis | Se presenta con tos, obstrucción nasal, boca y faringe enrojecida. |
| <i>CON NEUMONÍA</i> Muy grave, grave y Neumonía | Dificultad respiratoria, quejido respiratorio, aleteo nasal, palidez y fiebre. |

1.5.1.4. Higiene:

- ✚ Lavarse bien las manos con agua y jabón después de ir al baño.
- ✚ Proteger a los medicamentos de la contaminación producida por el personal (estornudos, sudor, cabellos, etc) o por la ropa de la calle (partículas de polvo, suciedad, etc), utilizando de manera correcta el uniforme y los demás elementos de protección.
- ✚ Revisar que el uniforme, esté en perfectas condiciones.
- ✚ El uniforme de trabajo debe usarse solamente en las áreas de producción o control; no es jardines, comedores o baños.
- ✚ Los operarios deben bañarse con agua y jabón después de terminar la jornada de trabajo.
- ✚ Prohibido fumar dentro de las instalaciones.
- ✚ El personal, debe respetar los lugares señalados para consumir alimentos y bebidas: la cafetería y el comedor.
- ✚ En el área de producción, no utilice adornos ni maquillaje.
- ✚ No es recomendable el uso de barba o bigote, en los trabajadores de las áreas de producción, si los hubiesen, el uso de mascarilla es obligatorio.
- ✚ Es responsabilidad de todos, el evitar que personas ajenas a las áreas de trabajo, transiten sin usar, adecuadamente el uniforme o prendas de protección.

1.5.1.5. Locales, áreas y equipos:

- ✚ Todos debemos contribuir a mantener, en buen estado los locales y equipos, informando oportunamente de averías a los supervisores.
- ✚ Cuando se detecte algún problema, debemos comprometernos en plantear soluciones, el ingenio debe funcionar, siempre bajo la aprobación del Jefe inmediato.

- ✚ Las instalaciones de agua potable, gases y electricidad, se encontrarán limpias, en buen estado e identificadas, de lo contrario, pueden ser causa de contaminación y convertirse en un peligro para la salud.
- ✚ Las medidas de higiene, seguridad y precauciones, están claramente escritas.
- ✚ El personal deberá verificar que el área donde trabaja, esté identificada con el cartel que indique claramente, el tipo de labor que se desarrollará.
- ✚ El tránsito de materiales y equipos de un tipo de área a otro debe ser cuidadoso.

1.5.1.6. Áreas de Trabajo:

- ✚ Los materiales de desecho y desperdicios producidos durante el trabajo deben depositarse en un recipiente adecuado, y debidamente identificado, para ser destruidos convenientemente.
- ✚ Mantener limpia el área, de acuerdo a los instructivos de Limpieza y Desinfección.
- ✚ Los medio de transporte deben utilizarse entre áreas de similar nivel de limpieza, éstos no pueden desplazarse por todas las áreas de la planta o cambiarse indistintamente, porque pueden causar contaminación.

| PRINCIPALES FUENTES DE CONTAMINACIÓN | |
|---|--|
| Fuente | Principales características |
| Agua | Agua mal tratada o como residuo de lavado. |
| Ambiente | Cuando las condiciones ambientales no se controlan, permiten el ingreso de polvo o insectos al área. |
| Personal | Las zonas del cuerpo en donde habitan la mayoría de microorganismos son piel, boca, nariz, axilas y genitales. |

| | |
|-----------------|---|
| Materias primas | Cuando los recipientes o embalajes no se encuentran completamente limpios por fuera antes de ser usados |
| Equipo | Cuando están sucios o mal mantenidos. |

1.5.1.7. Equipos:

- ✚ Todo operario, que tenga a cargo un equipo, debe mantenerlo en buenas condiciones, sin oxidaciones, ni despintados y con sus superficies limpias, para que no reaccionen con los productos que se elaboran en ellos, así se evitará la contaminación.
- ✚ El personal, deberá usar apropiadamente los equipos de protección.
- ✚ Los filtros se limpiarán de manera periódica, de manera apropiada.
- ✚ Se deberá comprobar el aforo de los utensillos que se utiliza para medir volúmenes, así como de calibrar los equipos que se emplea.
- ✚ Debe colocarse la etiqueta de limpieza en los equipos o maquinarias, indicando que está en condiciones de ser utilizado, tal como lo indica el procedimiento de Limpieza y Desinfección.
- ✚ Dar un buen mantenimiento a los equipos, ayudará a conservarlos en buen estado de funcionamiento, contribuyendo a la calidad del producto fabricado con ellos.

1.5.1.8. Documentación:

- ✚ Los documentos son parte integrante del Sistema de Garantía de Calidad, por lo tanto deberán ser llenados de manera correcta, en el momento de la acción y no al final de la jornada.
- ✚ El personal estará en la obligación de leer la documentación que se le proporciona, para el correcto desarrollo de sus funciones.

- ✚ Los documentos garantizan que cada operación haya sido efectivamente realizada, por eso siempre debe constar:
 - Fecha y firmas de las personas responsables.
 - Texto limpio, sin enmiendas ni añadidos manuscritos sin firmas.
 - Fecha y datos pertinentes debidamente llenados.
 - El personal deberá escribir claramente, para no dar lugar a confusiones.
 - Está prohibido escribir con lápiz o usar corrector de tinta.
 - Se usará tinta imborrable.
- ✚ Se evitará que circulen documentos anulados o reemplazados.
- ✚ Se registrará correcta y oportunamente, el mantenimiento de cada equipo.

| ENMIENDAS MÁS COMUNES QUE DEBEN EVITARSE EN EL LLENADO DE DOCUMENTOS | | |
|---|--|--|
| Error cometido | Corrección errónea | Corrección aceptable |
| <i>Letra poco clara e ilegible.</i> | Repaso de letras. | Tachado con una línea, escribir al lado el dato correcto y fecha, obtener la firma del supervisor de manera que indique que éste autoriza la corrección. |
| <i>Escritura en casillero equivocado.</i> | Usar tinta blanca correctora o borrador. | |
| <i>Colocar dato errado.</i> | Tachar con varios trazos el dato errado. | |
| <i>Transposición de números.</i> | Escribir sobre el dato errado con trazo grueso. | |
| | Escribir sobre el dato errado con otro color de tinta. | |
| | Escribir en otro lugar el | |

| | | |
|---|--|--|
| | dato correcto. | |
| <i>Dejar espacios en blanco, anotar datos incompletos o no completar los datos requeridos en cada orden.</i> | Inventarse datos luego de transcurrida la operación, para completar. | Se debe trazar una línea en los espacios en blanco de manera que no permita que éstos sean llenados por personas no autorizadas, además es necesario llenar con los todos los datos solicitados. |
| <i>Usar múltiples plantillas, en las que se requieren determinaciones que no corresponden al área técnica (producción y control de calidad)</i> | Dejar espacios en blanco, para consignar datos que no se originan en el área técnica, lo que da la impresión que la documentación se encuentra incompleta. | Colocar “N/A” o “NA” (no aplicable) en los casilleros en donde así corresponda. |

1.5.1.9 Fabricación:

- ✚ La responsabilidad del personal, es que se apliquen de manera correcta, el conjunto de técnicas y procedimientos. Se debe evitar, toda omisión, contaminación, error o confusión durante el transcurso de las diversas operaciones encargadas.
- ✚ Reducir los riesgos de confusión, de contaminación y las fuentes potenciales de accidente.
- ✚ Las ventanas, deben estar provistas de mallas que prevengan el ingreso de insectos.
- ✚ Se deberán tomar precauciones para manipular sustancias poco estables, peligrosas o tóxicas.

- ✚ Se identificará de manera visible y clara el proceso, equipos y recipientes utilizando etiquetas o rótulos apropiados.
- ✚ Antes de iniciar un nuevo lote de otro producto, se verificará cuidadosamente, que el área de trabajo esté completamente libre de restos del producto anterior.
- ✚ El personal tiene la obligación de comunicar cualquier anomalía detectada durante la fabricación.

1.5.1.10. Acondicionamiento y empaque:

- ✚ El personal no debe demorarse al llenar o envasar el producto, pues, esto evitará su deterioro y contribuirá a la calidad.
- ✚ Evite confusiones, durante el acondicionamiento o empaque del producto.
- ✚ El personal debe separar y verificar con tiempo, el equipo que va a emplear, para evitar confusiones.
- ✚ Se debe verificar la limpieza y el orden de los envases destinados al llenado.
- ✚ Durante todo el acondicionamiento se debe rotular con el nombre completo del producto, la línea, así mismo, su número de lote, las fechas de elaboración y el proceso que se está realizando.
- ✚ Cuando los productos, se encuentran en sus envases finales, en espera del etiquetado, deben estar separados e identificados convenientemente.
- ✚ Al término de una operación de empaque, todo el material de acondicionamiento y empaque que tenga número de lote impreso y/o fecha de expiración, será destruido y registrarse en la orden de producción.
- ✚ Se verificará, el material utilizado y descartado, en relación con el que se recibió de Bodega.
- ✚ El operario deberá revisar que el material de acondicionamiento impreso entregado, no tenga sobre impresión de nombre, dosis, PVP, etc.

1.5.1.11. Fabricación y almacenamiento de productos estériles:

- ✚ Separar los uniformes usados de los limpios.

- ✚ Antes de realizarse un nuevo lote, el operario, deberá verificar que en el área de trabajo no existen restos de materiales ajenos a la manufactura.

1.5.1.12. Control y Garantía de calidad de productos estériles:

- ✚ El analista de Aseguramiento de Calidad, deberá seguir los procedimientos establecidos para trabajar en área estéril, y así garantizar la esterilidad y evitar las contaminaciones por partículas.
- ✚ Debe tener medidas adecuadas durante la recepción de materias primas, porque cualquier error, puede ocasionar la contaminación del producto.
- ✚ El Departamento de Control de Calidad, debe recordar y enseñar, a las personas de producción, que en la zona de llenado y envasado, debe existir el menor número de personas presentes, para evitar un excesivo desprendimiento de partículas.
- ✚ Toda operación de control e inspección debe efectuarse fuera del área aséptica.
- ✚ Los operarios deben comprender que su nivel de limpieza e higiene, contribuyen a la calidad del producto.
- ✚ Así mismo, están en el deber de informar, si la construcción y acabado del área estéril, presenta algún desprendimiento y/o acumulación de partículas, lo que podría constituir un gran riesgo de contaminación para los productos.
- ✚ Deben mantener las áreas completamente limpias, tal como lo indica el procedimiento de Limpieza y Desinfección.
- ✚ Estar capacitado y familiarizado con los equipos que va a utilizar durante la manufactura; si llegase, a detectar algún desperfecto, está en la obligación de comunicar al Jefe de Planta.
- ✚ Control de Calidad, tendrá la responsabilidad de mantener la buena identificación de las materias primas, para evitar confusiones.

1.5.1.13. Lavado:

- ✚ Los operarios deberán poner cuidado en el lavado de los recipientes, contribuyendo a evitar serios problemas posteriores.

- ✚ Verificar, que no quede en los recipientes, agua procedente del lavado o enjuague, ésta puede contaminar el producto, o impedir que la dosis que debe llegar a un paciente, no sea la adecuada.

1.5.1.14. Control de Calidad en Producción:

- ✚ Los operarios deben someter a los recipientes, utensilios y elementos de cierre, a un ciclo de lavado apropiado según esté indicado en los procedimientos escritos.
- ✚ Las personas involucradas en el control óptico de envases llenos, deben realizarlo con mucho cuidado, un exceso o un defecto en el contenido, es peligroso para el consumidor. Si llegase a tener un problema visual, o de otro tipo, que le dificulte realizar el trabajo, debe comunicárselo al Jefe de Planta.
- ✚ Las materias primas y productos deben ser apilados sobre pallets, para evitar que se dañen o contaminen.
- ✚ Todo el personal, deberá cumplir con las condiciones específicas de almacenamiento y manipulación, de los productos.
- ✚ Deberán identificar y almacenar los recipientes adecuadamente.
- ✚ Las bodegas son de uso exclusivo de productos farmacéuticos, no se almacenará solventes de mantenimientos, elementos personales, etc.

1.5.1.15 Mantenimiento y servicio:

- ✚ El personal encargado del mantenimiento de equipos, deben lubricarlos correctamente, de acuerdo al periodo preestablecido, para evitar que las piezas se rompan.
- ✚ Cuando se esté haciendo mantenimiento a un equipo, debe colocarse un letrero que diga: Equipo en mantenimiento.
- ✚ Las herramientas, se mantendrán debidamente ordenadas y guardadas en el área de mantenimiento.

1.5.2. CONTROL DE RESIDUOS

1.5.2.1 Residuos Sólidos:

Inmovilización de desechos: encapsulación

La encapsulación consiste en la inmovilización de los productos farmacéuticos en un bloque sólido dentro de un tambor de plástico o de acero.

Inmovilización de desechos: inertización

La inertización es una variante de la encapsulación e incluye la separación de los materiales de envasado (papel, cartón o plástico) de las preparaciones farmacéuticas. Los comprimidos deberán extraerse de sus envases de plástico transparentes. A continuación se trituran los fármacos y se agrega una mezcla de agua, cemento y cal para formar una pasta homogénea. Los trabajadores deberán utilizar ropa protectora y máscaras porque puede liberarse polvo. La mezcla se transporta posteriormente en estado líquido en un camión mezclador de hormigón a un vertedero y se decanta en los desechos urbanos normales, donde se seca formando una masa sólida dispersa entre los demás desechos.

Las proporciones aproximadas en peso son las siguientes:

- a. Desechos farmacéuticos: 65%
- b. Cal: 15%
- c. Cemento: 15%
- d. Agua: 5% o más hasta obtener la consistencia adecuada.

1.5.2.2 Residuos Líquidos:

Alcantarillado

Algunas preparaciones farmacéuticas líquidas, como los jarabes y los líquidos intravenosos, pueden diluirse con agua y desecharse en el sistema de alcantarillado en pequeñas cantidades y durante un cierto período sin provocar graves efectos para la salud pública ni el medio ambiente. Pueden desecharse asimismo cantidades pequeñas de productos farmacéuticos líquidos o antisépticos bien diluidos.

Los productos del área de Biológicos, se procede de la siguiente manera:

1. Se hace un conjunto de todo el material a desechar.
2. Cargar la autoclave.
3. Llevar la 20psi de presión y a 121°C, de temperatura, a un tiempo de 60 minutos, o, como se indique en la orden de destrucción.
4. Una vez, cumplido este proceso de desinfección, se procede a eliminar por el desagüe, los medios líquidos inhibidos; y, el material de empaque envase, se procede a botarlo en la basura para reciclaje.

1.5.2.3. Material de envase y empaque:

1. Todo material que no es utilizado por tener algún defecto, problema, etc. es clasificado en: vidrio, plástico, capacetes, papel, y, aluminio.
2. Cada 3 – 6 meses, según se proceda, o en su defecto, cuando el material acumulado, es grande, se procede a llamar a la agencia de reciclaje autorizada por el Municipio, para el respectivo retiro del mismo.

CAPÍTULO II:

ASPECTOS GENERALES

2.1 INTRODUCCIÓN A LA PASTEURELOSIS AVIAR

El Pasteurelisis aviar (Cólera aviar) es una enfermedad bacteriana contagiosa, propia de aves domésticas y salvajes, causada por la contaminación con *Pasteurella multocida*. Típicamente se presenta como una enfermedad fulminante con bacteremia masiva, alta morbilidad y mortalidad. Existen infecciones crónicas con síntomas clínicos y lesiones relacionadas con infecciones localizadas. El sistema pulmonar y los tejidos asociados con el sistema músculo-esquelético son a menudo los asientos de la infección crónica. Esta enfermedad no se considera con potencial zoonótico ya que los aislamientos aviares no son patogénicos para mamíferos (entre ellos el hombre), expuestos por vía oral o subcutánea. Otras enfermedades bacterianas pueden presentar síntomas clínicos y lesiones similares al Cólera aviar, como la salmonelosis, colibacilosis y listeriosis en pollos; y, seudotuberculosis, erisipelas y clamidiosis en pavos.

2.2 Técnicas de diagnóstico

En el diagnóstico post mortem hay que distinguir principalmente dos aproximaciones diferentes. En la primera se trata de realizar necropsias de animales individuales fallecidas con el fin de la determinación de la causa de su muerte o del problema que sufrían.

En el segundo caso se trata de necropsias diagnósticas de varios individuos con el fin de averiguar la etiología de una problemática determinada en una población, bien del medio natural, bien de una granja. En este último es recomendable la abatida diagnóstica, es decir la selección, además de los especímenes ya fallecidos, de varios individuos vivos representativos de una población/producción y del problema que experimenta, para su eutanasia o caza y posterior necropsia.

Para la obtención de la máxima información del examen post mortem de un animal es fundamental seguir un proceso riguroso rutinario, que permite la visualización de todos los sistemas. De este modo se asegura la descripción de todas las lesiones

posibles, ya que la omisión de alguno o varios sistemas puede llevar a la imposibilidad de diagnosticar un problema por falta de material adecuado para los análisis pertinentes, o incluso llevar a un diagnóstico equivocado. Por estas razones el contar con un especialista para la necropsia conlleva una gran ventaja.

2.2.1 Necropsia

Examen de Aves Vivas

Si el problema afecta a una población de aves, se examina a los animales vivos en la granja antes de realizar las necropsias. Este examen debería incluir una descripción del estado general, plumaje, peso, pigmentación de piel y patas, heridas, tejidos faciales, ojos, heces, descargas oculares o respiratorias, respiración, locomoción, deformidades en patas/ articulaciones, y parásitos externos.

Consideraciones previas

a) Higiénicas

- ✚ El lugar donde se efectúa la necropsia está ubicado en un lugar fuera del sector de producción de la planta (hay un área determinada para éste proceso).
- ✚ En la entrada del área hay un medio de desinfección para el calzado (bandeja con desinfectante), con el fin de evitar la distribución de patógenos por el resto de la organización.
- ✚ Después de cada necropsia se limpia y desinfectar siempre todos los instrumentos guardar el cadáver y los restos de órganos en doble bolsa y se autoclava a 121°C para evitar cualquier contaminación.
- ✚ Es de gran importancia realizar siempre una higiene rigurosa, dado que estamos tratando con material que (aunque en el momento de manejarlo lo desconocemos) puede presentar un riesgo infectocontagioso para el ambiente de trabajo.

b) Técnica

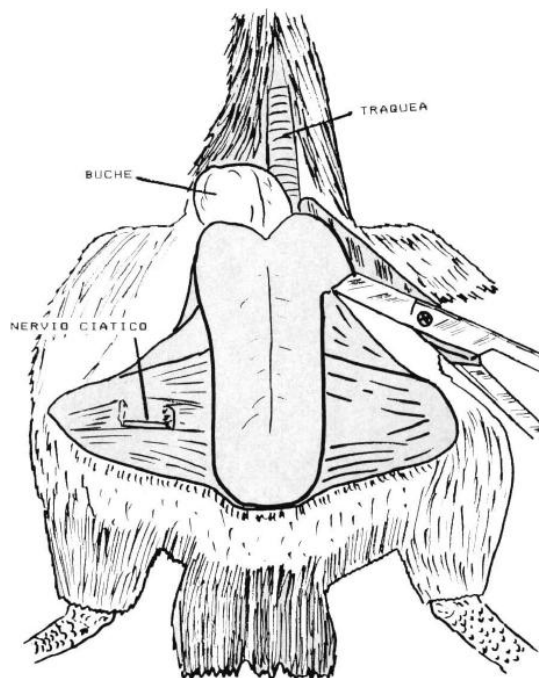
Si la muestra es una ave fallecida, se congela el cadáver si la necropsia no puede efectuarse en las 48 horas después de la muerte. Se documenta en una ficha de necropsia, las actividades realizadas.

b.1) Examen Externo

1. Inspeccionar el plumaje, los anexos, y los orificios externos, efectuar las medidas pertinentes.
2. Evaluar el estado de nutrición (ángulo pectoral) y musculación del ave.
3. Mojar las plumas del abdomen, pecho y cuello del ave con desinfectante para evitar la volatilización de polvo de plumas y patógenos potenciales.

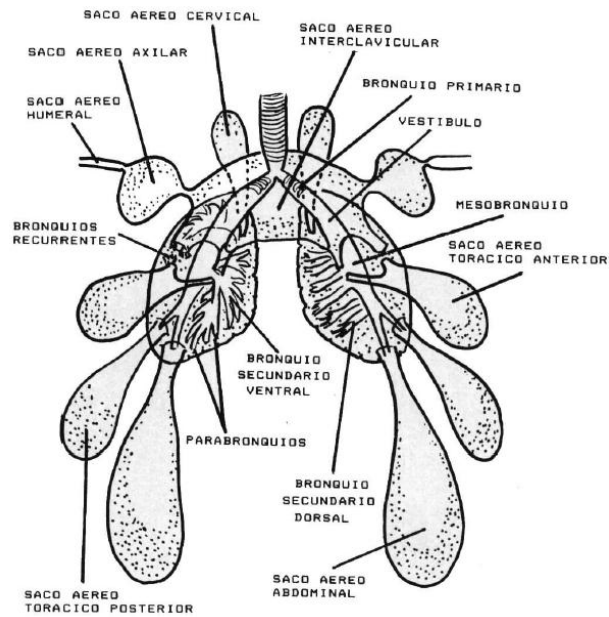
b.2) Necropsia y examen interno

1. Sumergir el ave en agua con hipoclorito de sodio al 0.5%.
2. Cortar con tijeras una comisura oral lateral. Examinar la cavidad orofaríngea.



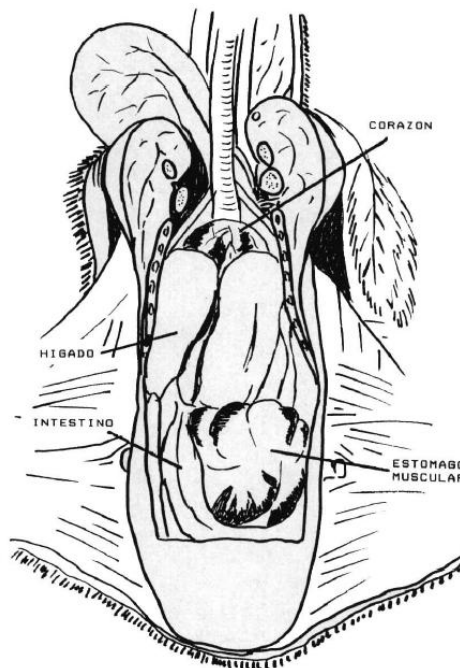
3. Con el extremo romo de la tijera cortar la piel en sentido longitudinal partiendo de la incisión anterior, hasta la entrada a la cavidad torácica. Identificar las vías respiratoria (Laringe y tráquea) y digestiva (Esófago) proximales.

4. Con tijeras hacer una incisión longitudinal en el esófago. Describir el contenido.
5. Hacer lo mismo con laringe y tráquea.
6. Con tijera utilitaria cortar el pico superior transversalmente en craneal de los ojos. Examinar la cavidad nasal y el extremo craneal de los senos infraorbitarios.
7. Insertar un extremo de la tijera en el seno infraorbitario, por debajo de los ojos. Incidir ambos senos hacia caudal y examinarlos.
8. Ubicar el ave decúbiteo dorsal. Cortar la piel entre el lado interno de cada muslo y el abdomen con bisturí, cuchillo chico o tijera. Desarticular ambas articulaciones coxofemorales haciendo tracción manual.
9. Con tijera cerrada u otro instrumento como divulsionar los haces musculares de la cara interna del muslo, exteriorizando los nervios ciáticos. Pasar una pinza por debajo de cada uno de ellos y ponerlos en evidencia comparándolos entre sí.
10. Cuerear el ave con bisturí o cuchillo hacia craneal y caudal partiendo de una línea imaginaria que une ambas articulaciones coxofemorales. A la altura del buche, despegar éste a mano de los tejidos circundantes para no romperlo.
11. Con tijera cortar la pared muscular abdominal siguiendo ambas arcadas costales hacia dorsal a partir del esternón. A medida que se va cortando ir visualizando los sacos aéreos. Con tijera utilitaria cortar las articulaciones costovertebrales y los huesos coracoides/ clavícula, que mantienen unida la caja torácica al torso del ave. Quebrar las articulaciones costovertebrales del lado opuesto mediante tracción manual, volcando la caja torácica hacia ese lado. Observar los sacos aéreos a medida que son incididos.
12. Observar órganos y sacos aéreos in situ. Es el momento de tomar muestras estériles para cultivo.

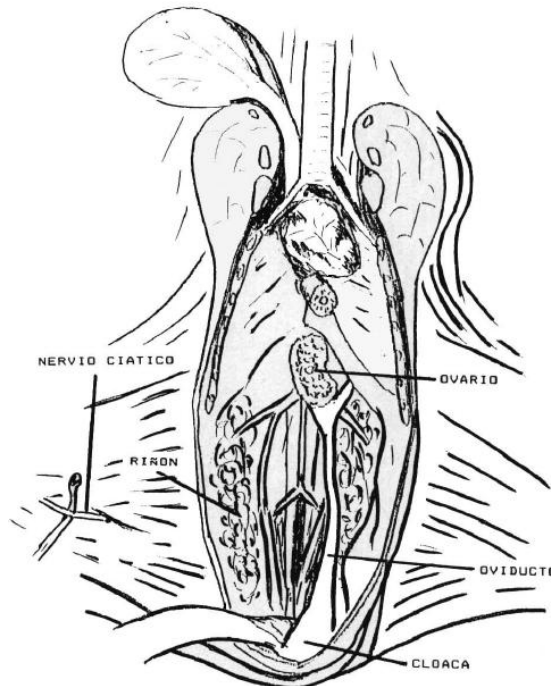


13. Cortar la unión entre proventrículo y molleja. Separar la molleja y tubo digestivo del resto de los tejidos abdominales y extraerlos del cadáver, cortando el intestino inmediatamente en craneal de la cloaca. En pollos jóvenes A este nivel podrá observarse la bolsa de Fabrizio.

14. Extraer el hígado y bazo.



15. Examinar el sistema genital. Extraer ovario y oviducto. Si es macho extraer testículos.



16. Examinar riñones y uréteres in situ. Si se desea examinar el plexo nervioso sacro, remover los riñones.
17. Despegar el proventrículo, esófago distal y buche de los tejidos circundantes y extraer el conjunto en masa.
18. Despegar los pulmones de la parrilla costal con tijera cerrada. Despegar bronquios primarios y tráquea distal. Extraer en masa el sistema respiratorio íntegro junto con el corazón envuelto en el pericardio.
19. Observar los pares nerviosos raquídeos, haciendo hincapié en los plexos sacro, lumbar y axilar. Comparar siempre entre sí nervios o conjuntos de nervios pares.
20. Golpear la cabeza. Con pinzas utilitarias incidir cráneo empleando una técnica similar a los mamíferos, teniendo en cuenta que: El corte transversal debe ser realizado algo más en craneal que en mamíferos. El encéfalo del ave es pequeño y muy friable; para no romperlo una vez realizados los cortes del cráneo conviene desarticular la cabeza y remover en masa el conjunto hueso-

SNC. Recién ahora despegar el SNC de la caja craneana con una tijera cerrada.

21. Abrir el tubo digestivo con tijera, examinando contenido, mucosa, etc.
22. Idéntico con el oviducto.
23. Realizar el examen macroscópico de hígado, bazo y riñones igual que en mamíferos.
24. Examinar los pulmones empleando la técnica recién descrita, recordando que a diferencia de los mamíferos la estructura de estos órganos es rígida.

2.2.2 HISTOPATOLOGÍA

Estudio microscópico y ultramicroscópico de los tejidos que constituyen los seres vivos; en la práctica, la histología profundiza la investigación hasta nivel celular, pero el capítulo de la citología, por continua amplitud de las investigaciones relativas a ella, representa una rama científica aparte. La histología nació con el descubrimiento del microscopio. Actualmente, la gran mayoría de los casos, la investigación histológica se realiza, a través del microscopio óptico de luz normal, en fragmentos de tejidos oportunamente tratados. La preparación de los tejidos examinados debe permitir la conservación y reducción de los mismos a fragmentos muy finos, manteniendo en cuanto sea la morfología normal de los componentes. La técnica de preparación histológica requiere las siguientes operaciones:

- a) Fijación del tejido, procedimiento que en general se realiza por medio de agentes químicos, llamados *reactivos fijadores*, los cuales matan las células para que puedan ser teñidas por sustancias colorantes que hagan posible su diferenciación;
- b) Obtención de cortes: las pequeñas piezas, para permitir que la luz del microscopio pase a través de ellas, deben tener un espesor máximo de pocas decenas de micras, utilizándose para ello los micrótomos; la obtención de cortes por *congelación* es el sistema más generalizado, por su sencillez, en los estudios anatomopatológicos, otra forma también es denominada por

inclusión, operación que consiste en introducir los tejidos fijados en un material que, impregnándolos, permite al mismo tiempo su manejo y los hace reducibles a cortes muy finos; para éste método se utilizan sustancias adecuadas, como parafina, gelatina y, en algunos experimentos particulares, ceras solubles en agua o resinas metacrílicas, y

- c) Coloración, que realizada con sustancias naturales o con colores sintéticos permite la diferenciación de muchos elementos estructurales que no aparecerían a la observación directa porque están dotados de índices de refracción muy semejantes, se pueden practicar coloraciones generales de valor morfológico y coloraciones específicas para el reconocimiento de elementos particulares.

Para la preparación de elaborados existen, además, otras numerosas técnicas cuyo empleo es más limitado; entre ellas figura la liofilización, que permite conservar al máximo las estructuras celulares, y que se practica congelando rápidamente la parte en examen a temperaturas muy bajas y luego, deshidratándolas al vacío. Para la observación del preparado, además de los citados aparatos microscópicos, se pueden emplear también los microscopios de campo oscuro, de fluorescencia, de luz polarizada, electrónico, de cuarzo y la autorradiografía.

2.3 IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL

Pasteurella multocida se aísla en vísceras y órganos como el pulmón, hígado, bazo, médula ósea y gónadas, o en la sangre del corazón de aves que mueren por la forma bacterémica aguda de la enfermedad, o, de los exudados caseosos característicos de las lesiones del cólera aviar crónico.

Es una bacteria anaerobia facultativa que crece a 37°C. Normalmente el aislamiento inicial se logra con medios sólidos de Dextrosa – Almidón, Agar Sangre y Agar Triptosa-Soya (TSA). El aislamiento mejora añadiendo 5% de suero de ovino, inactivado por calor. Las colonias varían de 1 – 3mm de diámetro, después de 18 –

24 horas de incubación, tienen forma circular, son convexas, traslúcidas y oleosas. Las células son cocobacilos o bacilos cortos de un tamaño de 0,2 – 0,4 x 0,6 – 2,5µm, Gram negativas y por lo general se presentan aisladas o en pares. Con tinción de Wright o de Giemsa se evidencia una tinción bipolar.

La identificación de *Pasteurella multocida* se basa en resultados de pruebas bioquímicas, que incluyen fermentación de carbohidratos, producción de enzimas y producción de determinados metabolitos.

La caracterización serológica de cepas de *P. multocida* incluye la determinación de serogrupos capsulares y el serotipado somático. El análisis del ADN permite diferenciar entre *P. multocida* del mismo serogrupo capsular y serotipo somático. Estas características requieren un laboratorio especializado con reactivos apropiados para diagnóstico.

CAPÍTULO III: INTRODUCCIÓN A LA ELABORACIÓN DE VACUNAS

3.1 DEFINICIÓN

La palabra inmunidad debería comprender *“todos los mecanismos fisiológicos que permiten al animal reconocer las sustancias como extrañas a su ser, y neutralizarlas, eliminarlas o metabolizarlas, con o sin lesión de los tejidos propios”*.

Las respuestas inmunológicas pueden dividirse en:

1. Inespecíficas,
2. Específicas.

Desde el punto de vista moderno, las respuestas inmunológicas cumplen tres funciones principales de defensa:

- a) Defensa, es la resistencia a la infección por microorganismos.
- b) Homeostasis, se relaciona con la eliminación de componentes “propios” gastados. Y,
- c) De vigilancia, con la identificación y destrucción de células mutantes.

VACUNAS - INTRODUCCIÓN

El empleo de vacunas o inmunoprofilaxia provino de la observación de que los individuos que estaban recuperándose de una enfermedad infecciosa dada no volvían a enfermar de lo mismo. Se vio también que el empleo de microorganismos muertos o atenuados, o de sus productos, era un método eficaz para aumentar la resistencia del huésped contra las enfermedades infecciosas. Según las palabras tan acertadas de Edsall: “En la historia del progreso humano, nunca se logró un método mejor y más barato de evitar las enfermedades que la inmunización en sus aplicaciones principales”.

Desde el descubrimiento de Jenner de la resistencia a la viruela tras infección por vaccinia (vacunación), aparecieron otras muchas vacunas, aplicables de diversas maneras, basadas todas en los fundamentos y mecanismos inmunológicos, que hasta ese entonces, se conocía.

La principal aplicación de las vacunas fue la prevención de las enfermedades virales. Uno de los mayores triunfos de la inmunología ha sido la erradicación de ciertas enfermedades mortales o cuando menos gravísimas del hombre, como la poliomielitis. Sin embargo, este progreso global en el desarrollo de vacunas se ha logrado sin pagar un precio, prácticamente para cada nueva vacuna desarrollada se ha descrito una reacción adversa. Además, nuevos problemas rodean el desarrollo y el empleo de vacunas nuevas, por ejemplo, la vacuna de virus de influenza porcina, así como las vacunas actualmente disponibles como, la del sarampión. Éstos problemas incluyen gran amplitud de temas complejos que requieren un diálogo muy amplio entre grupos interesados como: gobierno, personal sanitario, fabricantes de vacunas, legisladores, científicos sociales, dedicados a la ética y público o consumidor en general. Por lo tanto, los fabricantes y médicos han de conocer siempre, no sólo, los principios de la inmunología que constituyen la base de las vacunas y sus efectos adversos, sino también, los problemas sociales más amplios inherentes a su empleo.

DEFINICIÓN DE VACUNA (FUNDAMENTOS DE LA INMUNIZACIÓN ACTIVA)

El uso de las vacunas se basa en la estimulación de la producción de anticuerpos en el huésped (inmunización activa), a diferencia de la transferencia de anticuerpos preformados o productos de la respuesta inmune (inmunización pasiva). La palabra vacuna se define, como cualquier producto biológico preparado a partir de microorganismos y eficaz para la prevención de las enfermedades. La palabra toxoide se refiere a un preparado de toxina que ha perdido su acción tóxica, pero conserva sus propiedades inmunogénicas y, por lo tanto, puede aplicarse como vacuna. Aunque técnicas de inmunización activa y pasiva se han aplicado sobre todo para enfermedades infecciosas, su empleo se está ensayando en otras áreas como la prevención y el tratamiento de enfermedades malignas.

FUNDAMENTOS GENERALES

La eficacia global de una vacuna se mide por el grado de protección conferida al huésped inmunizado después de exposición a la infección. Suele establecerse por estudios epidemiológicos, sobre poblaciones vacunadas y no vacunadas expuestas al mismo riesgo. Se calcula la protección lograda a partir de la frecuencia de la enfermedad en los dos grupos. Una vacuna se considera eficaz si disminuye importantemente el número de enfermedades en el grupo inmunizado en comparación con el grupo testigo.

Es indispensable conocer la patogenia de las enfermedades del caso cuando se quieren utilizar vacunas. Las infecciones se pueden dividir en dos grupos principales:

1. Localizadas, cuyos efectos se manifiestan en el lugar de entrada, por duplicación local y cambios inflamatorios;
2. Generalizadas, que después de cierto periodo de duplicación en el lugar de entrada, presentan diseminación por la sangre del microorganismo (bacteria o virus) o de sus productos (toxinas).

Características de las enfermedades infecciosas

| Grupos: | Localizadas | Generalizadas |
|--------------------------|---|--|
| Foco patológico | <i>Punto de entrada</i> | <i>General</i> |
| Ejemplos | Infecciones respiratorias por virus (influenza) | Difteria, sarampión, poliomielitis |
| Periodo de incubación | Relativamente corto | Relativamente largo |
| Fase septicémica | No | Sí |
| Duración de la inmunidad | Corta o desconocida | Generalmente toda la vida |
| Mecanismo de inmunidad | Anticuerpos locales (IgA) CMI local | Anticuerpos humorales (IgG e IgM); CMI sistémica |

En general, las vacunas más eficaces son las que producen fenómenos más parecidos a los mecanismos protectores o curativos que se observan en la enfermedad natural, por ejemplo, se ha visto que la protección contra muchas infecciones respiratorias, como la Parainfluenza tipo I, se relacionaba más estrechamente con la presencia de anticuerpos de tipo IgA en vías respiratorias que la existencia de anticuerpos IgG en suero. Las vacunas eficaces en las infecciones virales localizadas son pues las que estimulan las respuestas locales por IgA. En cambio, existe una estrecha correlación entre la presencia en suero de IgG contra la toxina diftérica después de inmunización activa y la protección clínica contra esta enfermedad general.

DURACIÓN DE LA PROTECCIÓN

Quizá la mayor ventaja de la inmunización activa sobre la pasiva, es que protege por más tiempo. Después de cierto intervalo (periodo de latencia), necesario para la producción de anticuerpos, el huésped se encuentra protegido. Esta protección se relaciona con varios factores de inmunidad (celular y humoral), pero suele medirse in vitro por la presencia de anticuerpos séricos. A diferencia de la inmunidad pasiva, en la cual la duración del anticuerpo sérico es relativamente menos, cabe encontrar anticuerpos durante varios meses y a veces varios años.

La respuesta que sigue al contacto inicial con la vacuna se llama Inmunización Primaria. Las respuestas iniciales de inmunoglobulina descubiertas del suero, son de clase IgM, más tarde se descubren anticuerpo tipo IgG. La clase IgA de anticuerpo parece que se presenta como una fase intermedia entre IgM e IgG.

En caso de nuevas exposiciones del huésped inmunizado al mismo antígeno, o a un antígeno semejante, bajo forma de vacuna o enfermedad natural, se observa un rápido aumento de la producción de anticuerpos, con latencia mucho menor, y cifras de anticuerpos mucho mayores. Se habla en este caso de respuesta anamnésica, secundaria o de refuerzo. Durante esta respuesta secundaria, los principales

anticuerpos corresponden a la variedad IgG. También se producen IgM, pero en menor cantidad.

Es importante insistir en que este fenómeno secundario no corresponde únicamente a la estimulación con el mismo antígeno, sino también con antígenos parecidos. Por ejemplo, ciertas cepas de influenza presentan cambios antigénicos, y son la causa de epidemias recurrentes. Esta antigenicidad modificada puede suponer nuevas especificidades antigénicas, pero conservando los antígenos característicos de cepas previas. En este caso, cuando entra en contacto con una variante de influenza, el individuo puede mostrar una respuesta primaria al nuevo determinante antigénico, junto con una respuesta secundaria a las especificadas antigénicas antiguas de cepas previas o sea la doctrina del “pecado antigénico original” de Francis. Este efecto de refuerzo explica la mayor resistencia del individuo adulto, que ya tuvo una experiencia antigénica con cepas parecidas.

ESTADO DEL ANTÍGENO

Otro fundamento para el empleo de la inmunización activa es la calidad del propio inmunógeno. En general, las vacunas que contienen microorganismos virulentos, atenuados o “vivos”, son más eficaces que las que se preparan con microorganismos muertos o inactivados. Este mayor efecto se traduce por una protección inicial mayor también, y una inmunidad más duradera. Después de utilizar, por ejemplo, la vacuna inactivada de la influenza, cabe encontrar protección; pero sigue presentándose influenza en individuos inmunizados. En cambio, como regla ya no se observa fiebre amarilla en sujetos que han recibido la vacuna viva contra esta enfermedad. No se comprenden cabalmente las razones de la mayor eficacia de las vacunas vivas, pero podrían ser la destrucción de ciertos antígenos críticos durante la preparación de la vacuna inactivada, por ejemplo, la neuraminidasa de la vacuna de la vacuna con virus de influenza porcina. Otra explicación, es que la persistencia de los antígenos parece dar lugar a una inmunidad más duradera. Las vacunas vivas contienen antígenos susceptibles de durar más tiempo y de ejercer un efecto inmunogénico prolongado.

La inmunización con ciertos tipos de vacunas inactivadas (contra el sarampión y el virus sincitial respiratorio) pueden ir seguidas también de respuestas nocivas graves en caso de exposición natural al virus. Estas reacciones constituyen manifestaciones terciarias de la respuesta inmune, por sensibilización previa con vacuna muerta, que produjo hipersensibilidad en lugar de inmunidad protectora.

ADMINISTRACIÓN SIMULTÁNEA DE VACUNAS

Otro principio de importancia práctica en relación con saber si pueden administrarse varias vacunas simultáneamente es el fenómeno de la interferencia. Si se da una vacuna viral viva y se administra más tarde una vacuna viva diferente, puede inhibirse la segunda inmunización. El efecto parece debido a un mecanismo antiviral llamado Interferón. Se demostró la interferencia en el hombre, entre vacunas contra sarampión, viruela y poliomielitis. Por ejemplo, si se administra vacuna antivariolosa a un individuo inmediatamente después de la vacuna contra el sarampión, disminuye el número de inmunizaciones exitosas. Asimismo, puede haber inhibición de la inmunización contra la poliomielitis con vacuna viva por vía bucal si ésta se aplica durante una epidemia de infecciones por virus entéricos. Dado este problema de interferencia, la inmunización con vacunas vivas debe posponerse si se presentan infecciones intercurrentes importantes. Aunque la administración simultánea de vacunas con virus vivos no se recomendó previamente por este problema de interferencia de virus, estudios más recientes han indicado que las vacunas de virus combinadas, dadas en el mismo lugar o en lugares separados, son tan eficaces como la administración de vacunas individuales. En la práctica, por lo tanto, el fenómeno de interferencia no parece plantear un obstáculo mayor en los programas de vacunación y pueden administrarse varias vacunas virales simultáneamente con buena eficacia, por ejemplo, vacuna de sarampión, paperas y rubéola. Además, pueden administrarse simultáneamente vacunas inactivadas (por ejemplo, algunas bacterinas) en lugares diferentes. Sin embargo, cuando se combinan vacunas que tienen efectos secundarios diferentes, los efectos adversos de la combinación pueden incrementarse.

VÍA DE ADMINISTRACIÓN

La mayor parte de las vacunas se administran por vía parenteral, cualquiera que sea la vía de entrada natural, existiendo excepciones, por ejemplo, la vacuna viva contra la poliomielitis se administra por vía entérica y la vacuna contra la fiebre amarilla por vía parenteral, en ambos casos se emplea la vía de entrada natural de los agentes patógenos respectivos.

Se está empleando en la actualidad la inmunización intranasal que estimula la producción local de anticuerpos IgA.

ESTADO INMUNOLÓGICO DEL HUESPED

Otro aspecto que tenemos que tomar en cuenta, respecto a los métodos de inmunización es la competencia inmunológica y la capacidad de reacción del huésped.

Las respuestas inmunológicas del niño difieren cuantitativa y cualitativamente de las del adulto, la respuesta inmadura se caracteriza por síntesis prolongada o exclusiva de macroglobulinas, como se observa después de inmunizar a un niño pequeño, o después de infecciones intrauterinas del feto (rubéola, toxoplasmosis y sífilis). Esta síntesis prolongada de anticuerpos IgM dura un tiempo variable y difiere de la respuesta de tipo IgG característica del adulto.

El efecto inhibitorio de los anticuerpos adquiridos pasivamente es otro ejemplo de la influencia de la reactividad inmunológica del huésped sobre las técnicas de inmunización. Los anticuerpos adquiridos pasivamente pueden provenir:

1. Transferencia de anticuerpos IgG materno a través de la placenta,
2. Inmunización pasiva con globulina gamma del suero (inmunoprofilaxia), o
3. Ingestión de anticuerpos a través de la leche materna.

Las globulina IgG maternas atraviesan fácilmente la placenta y suministran al recién nacido una importante fuente de anticuerpos preformados que existían en la

circulación materna; sin embargo, son muy variables los anticuerpos que se logran de esta manera.

ESTADO FISICOQUÍMICO DEL ANTÍGENO

El poder inmunogénico de una vacuna depende de otros factores como:

1. Tamaño y complejidad del antígeno, y
2. Estado físico.

Las moléculas grandes y complejas resultan más inmunogénicas, en general, las proteínas solubles son inmunógenos menos potentes que las que se han vuelto insolubles o se emplean junto con adyuvantes.

3.2 CLASIFICACIÓN

– ***Vacunas vivas atenuadas***: se producen por la modificación del agente infeccioso en el laboratorio para hacerlo capaz de reproducirse en el ser vivo, generando inmunidad, pero sin tener capacidad para producir la enfermedad (Ejemplo: vacuna frente al sarampión).

– ***Vacunas muertas o inactivadas***: compuestas por bacterias o virus inactivados o fracciones de los mismos (polisacáridos, proteínas, toxoides, subunidades, etc.). En ocasiones los polisacáridos se conjugan con proteínas para incrementar la inmunidad (vacuna conjugada frente a *Haemophilus influenzae* tipo B o la vacuna conjugada frente al meningococo C).

| VACUNAS | Muertas o inactivadas NO DUPLICATIVAS | Vivas atenuadas DUPLICATIVAS |
|---|---|--|
| <i>Ejemplo</i> | Bacterias (DPT) | Virus (fiebre amarilla, rubéola, sarampión, paperas) |
| <i>Fundamento de la inmunización</i> | Algunos virus (poliomielitis, sarampión, influenza) | Autoduplicación |
| <i>Efecto del anticuerpo pasivo</i> | Masa antigénica preformada | Puede impedir una inmunización satisfactoria |
| <i>Duración de la inmunidad</i> | Relativamente breve, necesita "refuerzos" | Relativamente larga (se parece a la infección natural); en general, no requiere refuerzos. |
| <i>Mecanismo de la inmunidad primaria</i> | IgG Humoral | IgG Humoral; IgA Local |

Además de contener el antígeno vacunal que justifica su diseño y administración, las vacunas, pueden acompañarse de diversas sustancias:

1. *Preservantes*: fenol, fenoxietanol, formol, timerosal.
2. *Estabilizantes*: glúcidos, aminoácidos, albúmina.

3. *Antibióticos*: neomicina, polimixina B, estreptomina.
4. *Residuos de la manufacturación*: restos celulares.
5. *Adyuvantes oleosos y acuosos*.

Todas ellas tienen una misión específica y son los componentes que pueden diferenciar los distintos preparados comerciales que existen de un mismo antígeno vacunal.

3.3 PRINCIPIOS EN LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS VETERINARIAS

La administración fiable de vacunas puras, inocuas, potentes y eficaces es imprescindible para el mantenimiento de la salud animal y el funcionamiento satisfactorio de los programas de salud animal. La inmunización de animales con vacunas de gran calidad es el principal medio de control de muchas enfermedades animales. En otros casos, las vacunas se emplean conjuntamente con el control nacional de enfermedades o los programas de erradicación.

NOMENCLATURA

La nomenclatura para los productos biológicos veterinarios varía de un país a otro. Por ejemplo, en EE.UU. el término “vacuna” se utiliza para productos que contienen virus vivos o inactivados o protozoos, bacterias vivas o ácidos nucleicos. Dependiendo del tipo de antígeno que contienen, los productos con bacterias muertas y otros microorganismos se identifican como bacterinas, extractos bacterianos, subunidades convencionales o recombinantes, toxoides bacterianos o toxoides. Por ejemplo, a los productos que contienen componentes antigénicos o inmunizantes de microorganismos se les puede llamar “subunidades” o “extractos bacterianos”, y a los obtenidos a partir de la inactivación de toxinas se les llama “toxoides”. En la Unión Europea (UE), los productos médicos veterinarios inmunológicos se definen como productos administrados a animales para producir inmunidad activa o pasiva o para diagnosticar el estado de inmunidad. Sin embargo, en ésta tesis, el término “vacuna” incluirá todos los productos diseñados para

estimular la inmunización activa de animales contra enfermedades, con independencia del tipo de microorganismo o toxina microbiana que contengan o de los que éstos puedan derivarse. Este uso es más coherente con la nomenclatura internacional.

GARANTÍA DE CALIDAD

La producción uniforme de vacunas de gran calidad, inocuas, potentes y eficaces requiere procedimientos de garantía de calidad para asegurar la uniformidad y consistencia del proceso de producción. Puesto que los procesos de producción de vacunas proporcionan una gran oportunidad para la variabilidad, se debe tener cuidado en controlar ésta en la medida de lo posible, utilizando, preferiblemente, procedimientos y proteger el producto de la contaminación a lo largo de todas las etapas de producción.

Deben garantizarse la calidad, inocuidad, potencia y eficacia de las vacunas mediante la consistencia durante el proceso de producción. En cada etapa debe desarrollarse la calidad constante del producto (uniformidad entre lotes). El análisis del producto final se utiliza como comprobación para verificar que los controles en los procedimientos de producción se han mantenido intactos, y que el producto fabricado reúne la especificación.

El sistema de garantía de calidad óptimo deberá abordar por igual los procedimientos de producción y el análisis del producto final. Un sistema de seguridad absolutamente eficaz que no tenga el riesgo de elaborar un producto insatisfactorio, sería, probablemente, demasiado caro con relación al coste de producción y al control. Las autoridades reguladoras y los fabricantes de vacunas deben seleccionar los procedimientos de control que puedan garantizar un nivel bajo de riesgo aceptable con relación a ese peligro. Tales procedimientos, sin embargo, no deben ser tan onerosos que impidan el desarrollo y la disponibilidad de los productos necesarios para proporcionar un cuidado médico preventivo a un coste que sea aceptable para el consumidor.

INSTALACIONES DE PRODUCCIÓN

Las instalaciones que se usan para la producción de vacunas deben estar diseñadas para proteger la pureza del producto durante todo el proceso de producción y la salud del personal. Se deben construir de forma que:

- 1) Puedan limpiarse fácil y totalmente;
- 2) Proporcionen una separación adecuada de los cuartos de elaboración;
- 3) Tengan ventilación adecuada;
- 4) Tengan abundante agua limpia fría y caliente, y un drenaje y fontanería eficientes; y
- 5) Vestidores y otras instalaciones para el personal, a las que se acceda sin pasar por las zonas de elaboración del producto biológico.

Las instalaciones deben ser adecuadas para facilitar todas las funciones de producción, tales como el almacenamiento de los inóculos primarios, los ingredientes y otros materiales de producción; la preparación de los medios de cultivo y los cultivos celulares; la preparación del material de vidrio y de producción; la inoculación; la incubación; la recolección de los cultivos; el almacenamiento de los materiales en proceso; la inactivación; la centrifugación; la adición del adyuvante y la formulación del producto; el envasado, la desecación, el sellado de recipientes, el etiquetado y el almacenamiento del producto final; la comprobación del control de calidad de los materiales en proceso y del producto final; e investigación y desarrollo.

Por lo general, se requieren zonas separadas para actividades diferentes. Todas las áreas y los sistemas de manipulación de aire deben construirse de forma que se evite la contaminación cruzada por otros productos y por las personas o el equipo. Los microorganismos virulentos o peligrosos se deben preparar y almacenar en habitaciones separadas del resto del establecimiento. En concreto, los organismos en estudio deben estar completamente separados de las cepas de las vacunas. Todo el equipo que entre en contacto con el producto debe esterilizarse.

Las instalaciones de producción tienen que diseñarse de tal forma que se evite la contaminación del medio ambiente externo. Cualquier material utilizado durante la producción tiene que ser convertido en material seguro antes de salir de la instalación. Si se propagan microorganismos muy contagiosos, la salida del aire debe ser tratada para impedir la fuga de los agentes infecciosos. El personal debe seguir los protocolos de seguridad tales como la ducha.

Aunque la calidad y el diseño de las instalaciones de producción pueden variar significativamente, deben cumplir siempre con los estándares que se consideran apropiados para las vacunas que se van a producir. Por ejemplo, los requisitos con respecto a las instalaciones para la producción de vacunas de embriones de pollo administradas por vía oral, intranasal o intraocular en pollos pueden no ser tan exigentes como aquéllos que se estipulan para la producción de vacunas de cultivos celulares administradas de forma subcutánea o intramuscular.

PLAN DE LAS INSTALACIONES

Para cada vacuna producida en una instalación debe haber un plan de producción detallado que describa donde tendrá lugar cada etapa del proceso de producción. Este plan debe documentarse en un procedimiento operativo estándar detallado (POE) o por un plano general del edificio y la leyenda del plano. Cada área del establecimiento debe identificarse de forma individualizada, y deben especificarse, para cada una, todas las funciones realizadas y los microorganismos implicados. También deben documentarse los procedimientos de desinfección, de comprobación del equipo y otros procedimientos usados en el funcionamiento de las instalaciones para evitar la contaminación o los errores durante la producción. Este plan debe actualizarse cuando se añadan nuevos productos o microorganismos a la instalación, o cuando se realicen cambios o mejoras en los procedimientos.

DOCUMENTACIÓN DEL PROCESO DE FABRICACIÓN

También debe prepararse un perfil de producción detallado, una serie de procedimientos operativos estándares, y otros documentos que describan el

protocolo para la producción y el control de cada producto fabricado en un establecimiento. Los criterios y estándares para los materiales de origen deben estar documentados de forma clara y precisa. La documentación debe también abordar asuntos tales como el medio o el sistema de cultivo celular usado para los cultivos de siembra y de producción, incluyendo los métodos utilizados para demostrar que los medios están libres de contaminación; el origen de los ingredientes de procedencia animal; los métodos de esterilización de medios; las condiciones de almacenamiento de líneas celulares y de cultivos de siembra; el tamaño y los tipos de recipientes utilizados para el crecimiento de los cultivos; los métodos para la preparación de cultivos de siembra e inoculación de cultivos de producción; el tiempo y las condiciones de incubación; las observaciones durante el crecimiento; los criterios y las especificaciones para la recolección exitosa del material; y las técnicas de recolección. Asimismo, la documentación debe incluir: una descripción de todas las pruebas realizadas para evaluar la pureza y la calidad del producto a lo largo del proceso de producción; cada etapa de la formulación del producto final; las pruebas utilizadas para la evaluación de la calidad, inocuidad, potencia, y otros requisitos de cada lote/serie de productos acabados; las especificaciones para el acabado, incluyendo el empaquetamiento y etiquetado con las indicaciones completas y las recomendaciones de uso, y la fecha de caducidad establecida para el producto.

Las directrices para la preparación de dichos documentos con respecto a las vacunas veterinarias son publicadas por las autoridades controladoras competentes. Esta documentación tiene por finalidad definir el producto y establecer sus especificaciones y estándares. Dicha documentación deberá servir, junto con los planos generales y las leyendas de los planos (plan de producción y los POE), de método uniforme y constante de elaboración del producto que deberá seguirse en la preparación de cada lote/serie.

MANTENIMIENTO DE REGISTROS

El productor debe establecer un sistema de mantenimiento de registros detallado capaz de rastrear la ejecución de las sucesivas etapas de la preparación de cada producto biológico. Los registros deberán indicar la fecha en la que se han dado cada uno de los pasos cruciales, el nombre de la persona que llevó a cabo la tarea, la identidad y cantidad de los ingredientes añadidos o retirados en cada etapa, y cualquier ganancia o pérdida de cantidad durante el curso de la preparación. Se deben mantener registros de todas las pruebas realizadas a cada lote/serie. Todos los registros relacionados con un lote/serie de productos deberán guardarse al menos durante dos años, después de la fecha de caducidad de la etiqueta; o en línea con los requisitos de la autoridad de control competente. Además, deberá mantenerse un registro de todas las etiquetas utilizadas en todos los productos, con cada etiqueta identificada en cuanto al nombre, número de producto, número de licencia del producto, tamaño del paquete, y número de identificación de la etiqueta. Se debe dar cuenta de todas las etiquetas impresas. Se deben guardar registros relacionados con los procedimientos de esterilización y pasteurización (cuando aplique). Normalmente, estos se llevan a cabo por medio de dispositivos automáticos de registro. El fabricante debe también conservar registros completos de todos los animales del establecimiento, incluyendo datos sobre la salud del animal antes de su utilización en cualquier prueba, los resultados de las pruebas realizadas, el tratamiento administrado, mantenimiento, necropsia y eliminación.

MUESTREO

Las muestras deben seleccionarse de cada lote/serie del producto. El analista elegirá envases finales representativos de cada lote/serie y los almacenará a la temperatura de almacenamiento recomendada en la etiqueta. El fabricante guardará estas muestras de reserva a la temperatura de almacenamiento recomendada durante un mínimo de 6 meses después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta, de forma que estén disponibles para facilitar la evaluación de la causa de cualquier problema de campo que se presente por el uso de la vacuna. Las muestras deberían guardarse en una zona de almacenaje segura.

ETIQUETADO

Los estándares para el etiquetado de los productos variarán de un país a otro; sin embargo, las indicaciones de la etiqueta y todas las afirmaciones que se hacen en ésta deberán estar respaldadas por datos relevantes que hayan sido revisados y aprobados por las autoridades competentes. Se recomienda que todas las etiquetas para las vacunas veterinarias contengan la siguiente información, aunque en el caso de los envases muy pequeños, las etiquetas remitan la información menos importante:

1. Denominación exacta del producto, con letras visibles y con igual énfasis en cada letra.
2. Nombre y dirección del fabricante (y también del importador en el caso de los productos importados).
3. Temperatura de almacenamiento recomendada.
4. Una declaración de que el producto es “para uso exclusivo veterinario (o animal)”. Instrucciones de uso completas, incluyendo todas las advertencias requeridas.
5. En el caso de los animales destinadas a la alimentación, una declaración indicando que los animales no deberán ser vacunados dentro de un número específico de días antes del sacrificio. Esto dependerá de las vacunas (por ejemplo, el tipo de adyuvante) y no se requiere para todos los productos.
6. Fecha de caducidad.
7. Número de lote/serie por el que se identifica el producto en el registro de fabricación del productor.
8. Número de autorización del producto. En algunos países se sustituye por el número de licencia del establecimiento o del fabricante.
9. Cantidad recuperable y número de dosis.
10. Declaración de que el contenido total de un vial multidosis se usará cuando se abra éste por primera vez (o con un tiempo de almacenamiento temporal adecuado para ciertos productos, cuando esté respaldado por los datos) y que las porciones no utilizadas deberán eliminarse de forma adecuada.

11. Una advertencia de inocuidad para el operador, si se considera oportuno, en el caso, por ejemplo, de una auto-inyección accidental con la emulsión de aceite de las vacunas.

12. Cuando se permite añadir un antibiótico a una vacuna durante el proceso de producción, en el cartón o embalaje utilizados debe figurar la expresión “Contiene (nombre del antibiótico) como conservante” u otra similar. Si no se utiliza cartón, esa información debe aparecer en la etiqueta del recipiente final.

Las etiquetas pueden incluir también otras declaraciones objetivas que no sean falsas o engañosas. También deben indicar, siempre que sea procedente, las restricciones especiales con relación al empleo o manejo del producto.

También se facilitará información similar en una hoja de datos del producto que se proporciona como un prospecto. Ésta contendrá también muchos más detalles sobre el método de empleo y las posibles reacciones adversas.

3.4 SEGURIDAD HUMANA EN LOS LABORATORIOS VETERINARIOS

AGRUPACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

Los cuatro grupos pueden resumirse del siguiente modo:

- ✚ Grupo 1.- Organismos que no es probable que ocasionen enfermedad en humanos.
- ✚ Grupo 2.- Organismos que pueden causar enfermedad pero que son incapaces de dispersarse por la comunidad y frente a los cuales se dispone de tratamientos eficaces y profilaxis.
- ✚ Grupo 3.- Organismos que originan enfermedad grave en humanos y que pueden extenderse por la comunidad pero frente a los cuales hay tratamientos eficaces y profilaxis.
- ✚ Grupo 4.- Organismos que causan enfermedad grave en humanos y que pueden suponer un alto riesgo por su extensión por la comunidad, frente a los cuales no existe ni tratamiento adecuado ni profilaxis.

Los microorganismos infecciosos que pueden encontrarse en el trabajo de laboratorio se han incluido por las autoridades de los diversos países en los Grupos

de Riesgo del 1 al 4. Algunos ejemplos de los patógenos peligrosos que pueden detectarse en los laboratorios veterinarios se indican, a continuación:

Grupo 2

Virus: Virus de influenza tipos A, B y C; virus de la enfermedad de Newcastle; virus Orf (parapoxvirus).

Bacterias: *Alcaligenes* spp.; *Arizona* spp.; *Campylobacter* spp.; *Chlamydia psittaci* (no aviar); *Clostridium tetani*; *Clostridium botulinum*; *Corynebacterium* spp.; *Erysipelothrix rhusiopathiae*; *Escherichia coli*; *Haemophilus* spp.; *Leptospira* spp.; *Listeria monocytogenes*; *Moraxella* spp.; *Mycobacterium avium*; *Pasteurella* spp.; *Proteus* spp.; *Pseudomonas* spp.; *Salmonella* spp.;

Hongos: *Aspergillus fumigatus*; *Microsporum* spp.; *Trichophyton* spp.

Grupo 3

Virus: Virus de la rabia; virus de la encefalomielitis equina (tipo Este, tipo Oeste, tipo Venezolano); virus de la encefalitis japonesa B; virus de la encefalitis ovina.

Bacterias: *Bacillus anthracis*; *Burkholderia mallei* (*Pseudomonas mallei*); *Brucella* spp.; *Chlamydia psittaci* (solo cepas aviares); *Coxiella burnetti*; *Mycobacterium bovis*.

REQUISITOS PARA TRABAJAR CON AGENTES INFECCIOSOS

Patógenos conocidos

El personal debe estar bien entrenado y enterado por completo de cualquier riesgo para la salud asociado con su trabajo, así como de los procedimientos para informar de cualquier incidente o accidente. En algunos casos, el personal puede ser vacunado de modo especial para suministrarle protección adicional, por ejemplo, si se trabajara con el virus de la rabia. Tal información resulta útil en la práctica médica en caso de que se presente una enfermedad. Se realizan los exámenes médicos anuales a los empleados.

Existe mucha información sobre contención de patógenos y se pueden construir sofisticados aparatos y edificios enteros para controlar los organismos más peligrosos según requieran las directrices, estándares y regulaciones de cada país. Las necesidades dependen de la contención requerida, desde el nivel más básico al más alto.

Requisitos esenciales de todos los trabajos

Las necesidades esenciales de cualquier trabajo con agentes infecciosos, por muy inocuos que puedan ser, son las siguientes:

1. El laboratorio debe ser fácil de limpiar, con superficies impermeables al agua y resistentes a agentes químicos. Deben tener una pila de lavado de manos y una ducha de emergencia, incluyendo también un lavador de ojos en cada laboratorio para los peligros de tipo químico y de otro tipo presentes.
2. El acceso de personal al laboratorio (de experimentación) debe ser restringido.
3. En el laboratorio se debe de llevar puesta ropa adecuada de protección, incluyendo guantes, máscaras (o mejor, respiradores) y gafas protectoras apropiadas, que debe uno quitarse cuando abandona el laboratorio.
4. La puerta del laboratorio debe cerrarse cuando hay trabajo en curso y debe existir ventilación por extracción del aire de la habitación. Cuando se usan cabinas de bioseguridad se debe tener cuidado en equilibrar los sistemas de ventilación.
5. No se pueden guardar ni consumir alimentos o bebidas en el laboratorio.
6. No se debe fumar o aplicarse cosméticos en el laboratorio.
7. No se debe pipetear con la boca.
8. Debe tenerse cuidado en reducir la producción de aerosoles.
9. Deberían implementarse planes de respuesta de emergencia para el caso de derramamiento de materiales de peligro biológico. Entre los elementos de ese plan deben figurar desinfectantes efectivos para limpiar los vertidos, descarte y descontaminación de la ropa de protección contaminada, lavado de manos y limpieza y desinfección de las mesas de trabajo.
10. El material de vidrio usado y cualquier otro material de laboratorio debe ser guardado con seguridad antes de su desinfección. Los materiales de desecho

deben transportarse sin vertido en contenedores fuertes. La basura debe ser esterilizada en autoclave, incinerada o convertida en material seguro antes de su evacuación. El material reutilizable debe ser descontaminado por medios adecuados.

11. Nunca se eliminará material infeccioso por el drenaje (lavadero) de laboratorio ni ningún otro tipo de escape similar.
12. Cualquier incidente o accidente debe ser registrado y comunicado.

Cabinas de seguridad microbiológica

Se utilizan para los diferentes niveles de contención, son de tres tipos:

- ✚ Clase I: Cabinas de apertura frontal diseñadas de modo especial para suministrar protección al operador y sin proteger el producto.
- ✚ Clase II: Cabinas de apertura frontal, a veces llamadas cabinas de flujo laminar recirculante. Están destinadas fundamentalmente a dar protección al producto, pero también protegen al operador.
- ✚ Clase III: Cabinas cerradas, con acceso frontal mediante guantes, que proporcionan el mayor grado de contención mediante separación completa del trabajador y del trabajo realizado. Algunas cabinas tienen extraíble la parte frontal con los guantes y se conocen como cabinas de clase III/I, es decir, se pueden utilizar de ambos modos.

3.5 PRUEBAS PARA LA ESTERILIDAD Y AUSENCIA DE CONTAMINACIÓN EN MATERIALES BIOLÓGICOS

1. Los materiales originales deben obtenerse de fuentes que estén libres de contaminación y que sean manejadas de tal modo que se reduzca la contaminación y la posibilidad de que cualquier contaminante se multiplique.
2. Si se emplea un procedimiento de esterilización, deberá ser validado para demostrar su conveniencia y ser controlado de modo adecuado para demostrar que ha funcionado correctamente en cada ocasión.

3. Los materiales que no se han esterilizado y aquellos sometidos a manipulación tras la esterilización han de ser manejados asépticamente.
4. El ambiente en que se realiza cualquier manipulación aséptica ha de mantenerse en un estado de limpieza protegido de fuentes externas de contaminación, y debe estar controlado para reducir al mínimo la contaminación interna.

a. Vacunas con virus vivos para administración por inyección

1. Los materiales de origen animal deben ser (a) esterilizados, o (b) obtenidos de animales sanos que, en la medida de lo posible, deberían de estar libres de patógenos que puedan transmitirse de la especie de origen a la especie que va a ser vacunada, o a cualquier otra especie en contacto con ellas, o (c) el material debe estar exento de tales patógenos.
2. Los virus del inóculo inicial y los de cualquier línea celular continua empleada para el crecimiento de los virus deben estar libres de bacterias, hongos, micoplasmas, virus no relacionados y otros patógenos que puedan transmitirse de la especie de origen a la especie que va a ser vacunada, o a cualquier otra especie en contacto con ellas.
3. Cada lote de vacuna debe superar una prueba de esterilidad.
4. Cada lote de vacuna debe superar pruebas adecuadas para demostrar que la vacuna está exenta de virus contaminados. (Tales pruebas incluyen ensayos sobre huevos embrionados, y, cuando sea necesario, pruebas en animales).
5. Algunos países exigen que cada lote de vacuna supere una prueba de ausencia de micoplasmas.

b. Vacunas con virus vivos para administración con agua de bebida, pulverización, o escarificación cutánea

1. Resultan aplicables los párrafos *a.1.*, al *5.*
2. Puede estar permitido un número limitado de bacterias no patógenas y hongos contaminantes.

c. Vacunas con virus inactivados

1. Resultan aplicables los párrafos *a.2.* y *3.*

d. Vacunas con bacterias vivas

1. Resulta aplicable el párrafo *a.1.*
2. Los inóculos bacterianos iniciales deben estar libres de otras bacterias así como de hongos y micoplasmas.
3. Cada lote de vacuna debe superar una prueba de pureza mediante el uso de medios sólidos e ignorando el crecimiento de la bacteria de la vacuna.
4. Algunos países exigen que cada lote de vacuna supere una prueba de ausencia de micoplasmas.

e. Vacunas con bacterias inactivadas

1. Resultan aplicables los párrafos *a.1.*, *a.3.*, y *d.*
- 2 Cada lote de vacuna debe superar una prueba para demostrar la inactivación de la bacteria contenida en la vacuna. Si resulta apropiado, puede utilizarse a este respecto la prueba de esterilidad.

CAPÍTULO IV:

**DISEÑO Y DESARROLLO
DE LA VACUNA
CÓLERA AVIAR**

4.1 PLANIFICACIÓN DE LA REALIZACIÓN DEL PRODUCTO

Según lo que indica la Norma ISO 9001:2008 en su apartado 7.1:

Lavetec Cía. Ltda. cumple planificando y desarrollando sus procesos para la realización de sus productos. La planificación del producto es coherente con los requisitos de los otros procesos del sistema de gestión de la calidad.

Durante el diseño, desarrollo y planificación del producto, Lavetec Cía. Ltda. determina:

- a. Los objetivos de calidad y los requisitos de sus productos,
- b. La necesidad de documentar y proporcionar los recursos específicos para el producto,
- c. Las actividades de verificación, validación, seguimiento, medición, inspección y ensayo para el producto así como los criterios para la aceptación del mismo.
- d. Los registros necesarios para proporcionar evidencia de que los procesos de realización y el producto resultante cumple con los requisitos.

4.2 PROCESOS RELACIONADOS CON EL CLIENTE Y REVISIÓN DE LOS MISMOS

Lavetec Cía. Ltda. determina:

a. Los requisitos especificados por el cliente, incluyendo los requisitos de entrega y las posteriores a la misma.- Cuando éste solicita a la organización la elaboración de una autovacuna (*Pasteurella multocida* o *haemolytica* aislada de la propia granja). Los requisitos de la entrega son especificados en la Orden de Pedido, tomada por el ejecutivo de ventas.

b. Los requisitos no establecidos por el cliente pero necesarios para el uso especificado o para el uso previsto, cuando sea conocido:

- Especies animales a las que se destina: Aves comerciales y reproductoras.
- Dosificación: 0.5 ml por ave,

Primera dosis: 8 – 12 semanas

Segunda dosis: 4 – 6 semanas después de la primera aplicación .

- Vía de administración y forma de aplicación: subcutánea (detrás de la cabeza) y/o intramuscular (pechuga).

c. Los requisitos legales y reglamentarios aplicables al producto, y

Cada 0.5 ml (1 dosis) contiene, título antes de inactivar:

Pasteurella multocida 2×10^9

d. Cualquier requisito adicional que la organización considere necesario. Adición de un aislado local, entre los principios activos, antes de inactivar: Pasteurella haemolytica cepa local 2×10^9

4.3 DISEÑO Y DESARROLLO DEL PRODUCTO

4.3.1 Planificación del diseño y desarrollo

Lavetec Cía. Ltda. planifica y controla el diseño y desarrollo del producto, a través:

- a. Las etapas del diseño y desarrollo,
- b. La revisión, verificación y validación, apropiadas para cada etapa del diseño y desarrollo, y
- c. Las responsabilidades y autoridades para el diseño y desarrollo.

Las mismas que serán descritas a continuación:

4.3.2 Método de producción

Los cultivos se inician en pequeños recipientes y se subcultivan en volúmenes de medio progresivamente mayores hasta alcanzar el volumen deseado de producción. Cada cultivo de producción se inactiva con formaldehído. Todos los componentes se mezclan y, antes de llenar los recipientes estériles finales, se completan normalmente con un adyuvante. Preparación de medios de cultivo:

Formulación:

Peptona de pollo
Fosfato dibásico de sodio
Fosfato monobásico de sodio
Cloruro de sodio
Rojo de fenol
Agua destilada c.s.p

Procedimiento:

Calentar el 50% de agua destilada, añadir todas las materias primas en constante agitación hasta disolución. Aforar al volumen requerido con agua destilada estéril. Ajustar el pH a 7.00; esterilizar.

Siembra de semilla de trabajo:

Sembrar la semilla de trabajo en el medio de cultivo. Incubar a 37°C alrededor de 8 a 12 horas, hasta alcanzar el óptimo crecimiento de las bacterias.

Control de título:

Del medio de cultivo de cada cepa en crecimiento se toma una muestra; se hacen diluciones de 1×10^{-1} a 1×10^{-10} . Incubar a 37°C por 12 horas; se verifica el crecimiento microbiano:

| | |
|---------------------------------------|-----------------|
| Pasteurella multocida tipo I, | 2×10^9 |
| Pasteurella multocida tipo III, | 2×10^9 |
| Pasteurella multocida tipo IV | 2×10^9 |
| Pasteurella haemolytica Aislado local | 2×10^9 |

Inactivación:

Se inactiva la cepa con una solución de formaldehído, en constante agitación durante el tiempo necesario para conseguir la inactivación de las bacterias. Proceder a realizar los controles de calidad.

Control de Inactivación: Tomar una muestra del pool de bacterias y se siembra en medio de cultivo específicos para *P. multocida* y *P. haemolytica*. Incubar a 37°C durante 72 horas. Verificar ausencia de crecimiento.

Mezcla final:

Finalmente, en un recipiente de acero inoxidable estéril colocar el cultivo bacteriano inactivado y mezclar con el adyuvante hasta obtener un producto homogéneo. Ajustar hasta pH 6.4 – 6.8; envasar.

4.3.3 Control del inóculo inicial – Características

Origen de la semilla

La cepa ha sido aislada en Colombia y Ecuador, tipificada por el Dr. Pat Blackal en Australia, conforme a los resultados obtenidos se formuló *Colera Aviar* de acuerdo a las necesidades ambos países.

La Pasteurella es un coco-bacilo gram-negativo, no móvil. Son anaerobios no formadores de esporas y pueden tener o no cápsula. Su hábitat natural es el tracto respiratorio y su distribución es a nivel mundial. Los procesos microbiológicos modernos permiten una fácil y rápida identificación de las especies de Pasteurella y esto facilita poder diferenciarla de infecciones causadas por *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Pruebas bioquímicas de identificación

| Prueba | Pasteurella multocida | Pasteurella haemolytica |
|------------------------|-----------------------|-------------------------|
| Hemólisis | - | + |
| Crecimiento MCK | - | + |
| Indol | + | - |
| MR | - | - |
| VP | - | - |

| | | |
|------------------|-----------|----|
| Citratos | - | - |
| Urea | - | - |
| Glucosa | ++ | - |
| Lactosa | - | - |
| Maltosa | - | + |
| Manitol | + | + |
| Xilosa | + | + |
| Arabinosa | - | +- |
| Dulcitol | - | +- |
| Galactosa | + | + |
| Oxidasa | + | + |

4.3.4 Validación de la vacuna

4.3.4.1 Eficacia.- La eficacia de las vacunas veterinarias deberá demostrarse mediante estudios estadísticos válidos de la vacunación en prueba en el animal hospedador utilizando los animales más sensibles, para los que ha de recomendarse el producto. En cada especie animal, los datos deben apoyar la eficacia de la vacuna en cada régimen de vacunación. Las pruebas se realizarán bajo condiciones controladas, comenzando, siempre que sea posible, con animales seronegativos.

4.3.4.2 Inocuidad.- Demostrar que el biológico no produce enfermedad o reacciones adversas, esta prueba se especifica en el *4.3.7 Pruebas sobre el producto final*.

4.3.5 Control en proceso

Características organolépticas, descripción objetiva del Producto Formulado:

| PARAMETRO | ESPECIFICACION |
|------------------|--|
| Nombre | COLERA AVIAR |
| Aspecto | Suspensión acuosa homogénea |
| Color | Rojo |
| Olor | Característico |
| Envase: | Frasco de polietileno color natural con tapón de caucho bromobutilo y ágrafe de aluminio |
| Presentación | 500 ml (1000 dosis) |
| Rango de llenado | 500.0 – 505.0ml |
| pH | 7.00 – 7.25 |
| Esterilidad | Libre de bacterias viables y hongos |

4.3.6 Control de lotes

4.3.6.1 Esterilidad.- El ensayo revela la presencia de formas viables de bacterias, hongos y levaduras en productos biológicos inactivados.

Procedimiento: Seleccionar la cantidad de frascos al azar de acuerdo al tamaño del lote, aplicando la Military Standard. Tomar con jeringa estéril, asépticamente, muestras de 3ml de cada frasco, hacer un pool y homogenizar; inocular 1ml en los siguientes medios de cultivo:

Caldo Tioglicolato : Para detección de anaerobios

Caldo Triptosa Soya : Para detección de bacterias aeróbicas

Agar Sabouraud: Para la detección de hongos.

Agar Triptosa Soya: Para detección de bacterias aeróbicas

Incubar los medios sembrados a $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, excepto Sabouraud, el cual se incuba a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 5 a 7 días.

Resultados: No debe haber crecimiento en ninguno de los ensayos realizados. Asegurando que el producto esté libre de bacterinas viables y hongos.

4.3.6.2 Inocuidad.- Las pruebas de inocuidad son necesarias para la puesta en circulación de cada lote y las pruebas son descritas en la Farmacopea europea, en la OIE, entre otros sitios. Los lotes se consideran satisfactorios si las reacciones locales y sistémicas a la vacuna están en línea con los descritos en el expediente de registro y la literatura sobre el producto, es decir, las bacterinas se administran de acuerdo con las indicaciones de la etiqueta y las aves se observan durante 14 días; al menos el 90% de las aves no deben mostrar signos adversos atribuibles a la bacteria.

4.3.6.3 Potencia.- Cada lote de producción de bacterina debe probarse para potencia mediante una prueba relacionada con la eficacia y que sea predictiva para este parámetro. Las pruebas de potencia, al igual que la de Inocuidad, se especifican en el

4.3.7 Pruebas sobre el producto final.

4.3.6.4 Estabilidad.- Pruebas que se efectúan para obtener información sobre las condiciones en las que se deben procesar y almacenar los productos semielaborados (en proceso) o terminados, según sea el caso. Las pruebas de estabilidad también se emplean para determinar la vida útil del medicamento en su envase original y en condiciones de almacenamiento especificadas.

a. *Especificaciones del producto:*

Nombre exacto: **COLERA AVIAR**

Composición "cuali-cuantitativa":

PRINCIPIO ACTIVO

Cada 0.5 ml (1 dosis) contiene, títulos antes de inactivar:

Pasteurella multocida tipo I, 2×10^9

| | |
|---------------------------------------|---------------------|
| Pasteurella multocida tipo III, | 2 x 10 ⁹ |
| Pasteurella multocida tipo IV | 2 x 10 ⁹ |
| Pasteurella haemolitica Aislado local | 2 x 10 ⁹ |

ADYUVANTE 4%

INACTIVANTE:

Formaldehído 0.9 %

EXCIPIENTES

Medio de cultivo c.s.p.

Tipo de envase:

El envase utilizado es un frasco de polietileno color blanco con un contenido neto de 500ml, con tapón de caucho bromobutilo y ágrafe de aluminio

La integridad de los componentes del envase final garantiza la inviolabilidad del contenido.

Presentaciones comerciales:

Frasco x 500 ml (1000 dosis)

Número de lotes evaluados (mínimo 3 lotes a escala industrial), número de muestras evaluadas por lote

| LOTE | FECHA ELAB. | FECHA EXP. | TAMAÑO LOTE | # MUESTRAS |
|------|--------------------|-----------------|-------------|------------|
| 0909 | Julio 2009 | Enero 2011 | 500L | 16 |
| 1009 | Agosto 2009 | Febrero 2011 | 600L | 16 |
| 1109 | Septiembre 2009 | Marzo 2011 | 600L | 16 |

b. El estudio se debe efectuar en los envases y empaques finales de comercialización del producto, si tiene varias presentaciones y empaques se efectuará estudio con cada uno de ellos.

Presentación comercial:

Frasco de polietileno 500 ml (1000 dosis)

c. Parámetros a evaluar, criterios de aceptación de cada parámetro y duración del estudio. En productos biológicos la prueba mínima que se evaluará será la de potencia para todas las fracciones antigénicas

| PARAMETRO | ESPECIFICACION |
|------------------|---|
| Nombre | COLERA AVIAR |
| Aspecto | Suspensión acuosa homogénea |
| Color | Rojo |
| Olor | Característico |
| Envase: | Frasco de polietileno color natural con tapón de caucho bromobutilo y ágrafe de aluminio. |
| Presentación | 500 ml (1000 dosis) |
| Rango de llenado | 500.0 – 505.0ml |
| pH | 7.00 – 7.25 |
| Esterilidad | Libre de bacterias viables y hongos |
| Inocuidad | Ausencia de reacciones desfavorables atribuibles al producto |
| Potencia | Fracción Pasteurella \geq 90% de protección |

| Parámetros a Evaluar | Criterios de aceptación | Duración |
|-----------------------------|---|-----------------|
| Control de inocuidad: | El producto debe ser inocuo aplicado en aves comerciales y reproductoras hasta 5 veces la dosis indicada. | 14 días |
| Control de Esterilidad: | No debe haber crecimiento en: Caldo Tioglicolato: Para detección de anaerobios Caldo Triptosa soya: Detección de bacterias aeróbicas Agar Sabouraud: Detección de hongos. Agar triptosa soya: Detección de bacterias aeróbicas. | 15 días |
| Control de inactivación: | Verificar no debe haber crecimiento en los medios específicos para P. multocida y P. haemolytica. | 3 días |
| Potencia: | Verificar la efectividad biológica del biológico. | 3 días |
| | Verificar la efectividad biológica a la fecha de expiración | 18 meses |

d. *Número de lotes: Mínimo tres lotes piloto a escala (definir tamaño) o industriales. Se debe indicar el tamaño del lote*

Se realiza el estudio de estabilidad de Cólera Aviar de acuerdo a la siguiente tabla:

| Número de lote | Tamaño del lote | Tamaño de muestra | | | | Total | Condiciones de almacenamiento |
|----------------|-----------------|-------------------|---------|----------|----------|------------|---|
| | | 0 meses | 6 meses | 12 meses | 18 meses | | |
| 0909 | 500L | 4 | 4 | 4 | 4 | 16 frascos | Guardar en refrigeración entre 3 – 7 °C |
| 1009 | 600L | 4 | 4 | 4 | 4 | 16 frascos | |
| 1109 | 600L | 4 | 4 | 4 | 4 | 16 frascos | |

e. *Tiempos de muestreo: Al tiempo (0) fecha de finalización de la producción del lote y un tiempo por cada año de vida útil del producto. La última muestra debe ser tomada en el límite de vida útil que se quiere solicitar.*

El número total de muestras necesarias durante el proceso de producción, son 16 muestras, las cuales se identifican y se designan para los siguientes intervalos:

- Inicio del estudio de estabilidad (Fecha elaboración)
- Seis meses después de la producción
- Doce meses después de la producción
- Dieciocho meses después de la producción (Fecha expiración)

f. *Muestras por lote; Serán las necesarias según la forma farmacéutica, la presentación comercial, tipo de envases y empaques, que le permitan realizar análisis como mínimo tres muestras independientes a los tiempos indicados,*

Se toman el doble de la cantidad de muestra, necesaria para el estudio de estabilidad normal (total 16 frascos x 500 ml por cada lote).

g. Señalar y justificar la temperatura y humedad relativa escogidas para el estudio, La empresa debe llevar un registro permanente de parámetros,

La temperatura recomendada para el almacenamiento, de 3 - 7°C.

h. Reporte

Anexo

4.3.6.5 Conservantes.- Los conservantes se añaden por lo general a las vacunas para limitar el crecimiento de algún contaminante introducido al perforar el tapón de bromobutilo con una aguja.

CONTROL DE ADYUVANTES

Determinación volumétrica:

Procedimiento:

- Agitar vigorosamente el contenido del frasco y transferir con pipeta volumétrica de 50.0ml el producto a una fiola de 250ml.
- Añadir 1.0ml de ácido acético glacial y 50ml de agua
- Añadir con pipeta volumétrica 25.0ml de solución 0.05N de EDTA, calentar lentamente hasta disolver. Continuar el calentamiento hasta ebullición suave manteniendo así por 5 minutos.
- Enfriar a temperatura ambiente y añadir 50.0ml de alcohol etílico y 2ml de Ditizona T.S. (25.6mg/100ml de alcohol etílico)
- Titular con solución 0.05N de sulfato de zinc, hasta el cambio de coloración de verde – azul a rosa permanente.

Cálculos:

$$\% \text{ Al}_2\text{O}_3 = \frac{(\text{VE} \times \text{NE}) - (\text{VS} \times \text{NS}) \times 12.91}{50 \times 10}$$

Donde:

V_E Volumen de ml de solución de EDTA añadidos

N_E Normalidad de la solución de EDTA

V_S Volumen en ml de la solución de sulfato de Zinc consumidos

N_S Normalidad de la solución de Sulfato de zinc

CONTROL DE INACTIVANTES

Determinación espectrofotométrica:

Reactivos:

- Solución estándar de formol: Tomar 1ml de formol en un matraz volumétrico de 100ml y aforar a volumen con agua destilada
- Solución de ácido cromatrópico: Disolver 60mg de ácido cromatrópico en una mezcla de 2ml de agua y 18ml de ácido sulfúrico concentrado.

Procedimiento:

Curva estándar de formol

1. A partir de la solución estándar de formol preparar una curva estándar.
2. Tomar 1ml de cada dilución y colocar en un tubo de ensayo, añadir 1.5ml de la solución de ácido cromatrópico y 7.5ml de ácido sulfúrico concentrado.
3. Colocar en baño maría y mantener por 15 minutos, enfriar en baño de hielo y leer en un espectrofotómetro a 515nm, utilizando 1ml de agua destilada como blanco.
4. Graficar.

Solución de prueba

1. Tomar 1ml de la bacterina perfectamente agitada y colocar en un matraz volumétrico de 10 ml y aforar a volumen con agua.
2. Tomar 1ml de la solución anterior en un tubo de ensayo y añadir 1.5ml de solución de ácido cromatrópico y 7.5ml de ácido sulfúrico concentrado.

3. Calentar durante a baño maría y posteriormente enfriar. Leer la absorbancia a 515nm
4. Comparar la lectura obtenida con la gráfica de la curva estándar y obtener directamente la concentración de formol mediante la ecuación obtenida.

4.3.6.6 Precauciones

- ✚ Vacune solo a aves sanas.
- ✚ Manténgase en refrigeración a temperatura entre 3 - 7 °C. No congelar.
- ✚ No se exponga al calor ni a la luz solar directa.
- ✚ Suspnda toda medicación o tratamiento del agua de bebida con desinfectante 48 horas antes de la vacunación.
- ✚ Agítese antes de usar.
- ✚ Incinere residuos y envases.
- ✚ Medicamento de uso veterinario.
- ✚ Manténgase fuera del alcance de los niños.

4.3.7 Pruebas sobre el producto final

Los fundamentos se describieron con anterioridad en el Control en Proceso.

4.3.7.1 Inocuidad

Procedimiento: Inocular 2.5 ml (equivalente a cinco veces la dosis de vacunación recomendada) a aves de 8 – 12 semanas de edad (aves comerciales y reproductores), vía subcutánea en el cuello (tercio medio posterior de la cabeza) o intramuscular en la pechuga.

Resultados: Después de la vacunación se evalúa, observando durante 14 días, que ninguna ave presenta cambios en su comportamiento como: decaimiento, falta de apetito, diarrea y hasta mortalidad, o peor aún síntomas relacionados con Cólera aviar.

Reporte: Anexo

4.3.7.2 Potencia

Selección y cuidado de las especies: Las aves seleccionadas son sanas, libres de parásitos, sin ningún registro de vacunación con el producto a control.

Edad: 8 – 12 semanas

Cantidad: 28 aves

Procedimiento:

- Aplicar 0.5 ml por ave, vía subcutánea y/o intramuscular.
- Vacunar a 24 aves con la Vacuna Cólera Aviar, repetir la dosis cuatro semanas después.
- Al grupo control no se inyecta ninguna dosis de vacuna (dos por cada cepa).

Desafío: Después de 6 semanas de aplicación de la segunda dosis, los animales vacunados y controles son expuestos a desafío con:

- ✚ Pasteurella multocida serotipos I, III, IV; y
- ✚ Pasteurella haemolytica aislado local.

La dosis de desafío es de 0.5 ml por ave, aplicar vía intraperitoneal con una concentración de 1×10^5 UFC/ml

Resultados: Después del desafío se evalúa el grupo, observando que ninguna ave vacunada presente síntomas; mientras que los controles, deben presentar el cuadro clínico de Cólera aviar.

El lote es satisfactorio, si cuando menos el 90% de los animales vacunados no presentan signos clínicos de la enfermedad hasta los tres días post desafío y el 90% de los animales controles enferman durante ese período.

Cuadro clínico de Cólera Aviar: Varía mucho dependiendo del curso de la enfermedad, normalmente se observa fiebre, depresión, anorexia, descarga mucosa desde la cavidad oral, plumas erizadas, diarrea y aumento de la tasa respiratoria.

Muchas de las lesiones se relacionan con trastornos vasculares. Las hemorragias petequiales son comunes, especialmente en localizaciones subepicárdicas y subserosas. Con frecuencia se notan aumentos en los líquidos peritoneales y pericárdicos. Los hígados generalmente contienen múltiples focos necróticos pequeños y pueden estar tumefactos.

Las aves que mueren por Cólera aviar agudo, frecuentemente tienen la cresta y barbillas azuladas.

El Cólera aviar crónico produce un incremento de la mortalidad aunque no llega a porcentajes altos, es normal las barbillas inflamadas.

Reporte: Anexo

4.4 Servicio post-venta / comunicación con el cliente

El equipo de ventas de Lavetec Cía. Ltda, está conformado por profesionales especializados en el área Avícola y Ganadera, los mismos que son capacitados para brindar una atención atenta, eficaz y de calidad a los clientes de la empresa, a través de un adecuado asesoramiento técnico, receptando quejas y/o sugerencias, etc.

Para Lavetec Cía. Ltda, es importante que sus clientes sean atendidos adecuadamente, satisfaciendo sus necesidades.

4.5 Satisfacción del cliente

Lavetec Cía. Ltda. define y establecer el mecanismo de comunicación para medir la satisfacción de los clientes a través de su procedimiento *P05.- Gestión de Satisfacción*. En el mismo, indica que la satisfacción del cliente se mide a través de los Ejecutivos de Ventas y de la Secretaria, quienes, receptan las sugerencias,

quejas y reconocimientos de los interesados, sea verbal o escrita; anotando en el registro de reclamos y sugerencias (LAVETEC-P05-R03).

Es el Gerente General, quién personalmente, revisa las sugerencias, quejas y reconocimientos que presentan los clientes y las direcciona a los distintos procesos para dar solución satisfactoria en los problemas presentados. Por ejemplo, si este registro es:

- Producto: se gestiona la solución directamente con el ADP Producción.
- Distribución o logística: se envía al ADP de Bodegas para que gestione la solución.
- Administrativo: se comunica al ADP de Talento humano.
- Ventas: se direcciona al ADP de Ventas.

Toda esta información es tabulada, a través de un informe de satisfacción, que da pautas para tomar decisiones y seguir en el proceso de mejora continua.

4.6 Seguimiento de los procesos

Lavetec Cía. Ltda. aplica métodos para mantener, actualizar y mejorar el sistema de gestión; planteándose objetivos e indicadores de calidad, en base al análisis de informes, auditorías, reclamos, mejoras, retroalimentación del cliente, revisiones periódicas, acciones correctivas y preventivas, etc.

Ejemplo de los indicadores empleados en la organización:

| PROCESO | INDICADOR |
|-------------------|---|
| Gestión de Ventas | % de ventas alcanzadas vs ventas planificadas % de devolución de productos vs productos despachados % de clientes visitados vs planificados |

| | |
|-------------------------|---|
| | <p>% de rotación de producto vs producto producido</p> <p>% de recuperación de cartera vs facturación</p> <p>% número de clientes nuevos vs. Total clientes</p> |
| Gestión de Producción | <p>% de rendimiento de producto terminado</p> <p>% de desperdicios de material de envase, empaque y etiquetas</p> <p>% de cumplimiento de plan de producción</p> <p>% de horas hombre vs. Línea de producción</p> <p>% de producto no conforme</p> <p>% de producto devolución por fallas de producción</p> <p>% de productos elaborados en litros o kg</p> |
| Gestión de Bodega | <p>% de devoluciones por producto (trimestral)</p> <p>% reclamos en productos despachados (planta)</p> <p>% reclamos por despacho defectuosos (de planta a proveedores)</p> |
| Gestión de Satisfacción | <p>% de reclamos de producto / total de reclamos</p> <p>% de reclamos distribución o logística / total de reclamos</p> <p>% de reclamos administrativos / total</p> |

| | |
|--|---|
| | de reclamos |
| | % de reclamos de ventas / Total de reclamos |
| | % de reclamos solucionados |
| | % de reclamos en proceso de solución |
| | % de clientes satisfechos |
| | % de personal satisfecho |

Todas estas actividades se las realizará buscando mejorar el sistema, el producto y las necesidades de recursos, demostrando el alto compromiso que tiene en el desarrollo, implementación y mejora continua del SGC.

Cuando los resultados no son los esperados, de inmediatamente, el ADP de la Gestión en problemas, comunica a Gerencia General para una revisión urgente de la inconformidad, incluyendo decisiones y acciones correctivas. En un plazo establecido, se revisa la efectividad de las acciones tomadas.

4.7 Mejora continua

Lavetec Cía. Ltda. está comprometida en optimar su SGC a través del uso de políticas y objetivos de calidad (mencionadas al inicio de esta tesis); parte de la necesidad de mejorar continuamente, revisa sus procesos, servicios, proveedores y productos semestralmente, además de la evaluación de los resultados de auditoría y acciones correctivas y preventivas, cuando éstas se presenten.

CONCLUSIONES

Lavetec Cía. Ltda., por medio de la conformación del Comité de Calidad, asegura la planificación del sistema de gestión de calidad identificando los procesos de la organización y los requisitos de sus clientes, además de las exigencias descritas en la Norma ISO 9001:2008, mediante el diseño y planificación del SGC para cumplir con la política y objetivos descritos al inicio de esta tesis.

Diseñando adecuadamente los documentos, se puede registrar la trazabilidad de la Gestión de Producción a través de: ingresos a bodega de materias primas, materiales de envase-empaque, producto semiterminado, números de existencia de los materiales, número de análisis de control de calidad, número de órdenes de producción, salidas de bodega numeradas, número de lote de producto terminado, número de guías de despacho de producto terminado, etc.; lo que nos permite controlar cada etapa de la gestión y así determinar, mediante indicadores el desempeño del proceso.

RECOMENDACIONES

- Realizar reuniones bimestrales del Comité de Calidad para la revisión de datos como: Indicadores de desempeño de los procesos, encuestas de satisfacción del cliente, registro de quejas/sugerencias e inconformidades, estado de las acciones correctivas y preventivas, etc; de esta manera determinar el estado del SGC recién implementado.
- Capacitar al personal sobre la importancia de su colaboración en el logro de los objetivos y política de la calidad; del impacto de sus actividades en la satisfacción de los clientes.
- Realizar Auditorías Internas cada cuatro meses hasta comprobar que el SGC ha sido realmente implementado en su totalidad en todos los procesos de la organización.

BIBLIOGRAFIA

- B. W. Calnek (1991). *Enfermedades de Aves*. Florida – Estados Unidos.
- Bellanti Joseph (1981). *Inmunología II*. México DF. - México
- Salvat, *Enciclopedia MONITOR* (1971): tomo 8, Madrid – España
- Facultad de Ciencias Veterinarias (2011). *Técnica de necropsia y toma de muestra* [En línea]. La Plata - Argentina. Disponible en:
<http://www.fcv.unlp.edu.ar/sitioscatedras/9/material/Tecnica%20de%20necropsia%20y%20toma%20de%20muestras.pdf>
[Consulta 14-01-2011]
- G. D. Butcher y R.D. Miles (2003). *Patología Básica y Enfermedades Infecciosas* [En línea]. Florida – Estados Unidos. Disponible en:
http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/NECROPSIA_EN_AVES.htm
[Consulta 14-02-2011]
- World Organization for Animal Health (2011). *Página oficial de la organización* [En línea]. Estados Unidos. Disponible en:
http://www.oie.int/eng/en_index.htm [Consulta 20-02-2011]
- World Organization for Animal Health (2011). *Cólera Aviar* [En línea]. Estados Unidos. Disponible en:
http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.7.11_Colera_aviar.pdf
[Consulta 01-03-2011]

ANEXOS

ANÁLISIS DE CONTROL DE CALIDAD

RESULTADOS OBTENIDOS:

| | | | | |
|-----------------------------------|---------------------|------------|------------|------------|
| PRODUCTO | COLERA AVIAR | | | |
| Lote | 0909 | | | |
| Fecha de Elaboración | Julio 2009 | | | |
| Tiempo de muestreo | 0 meses | 6 meses | 12 meses | 18 meses |
| Fecha de realización de la prueba | Julio 2009 | Enero 2010 | Julio 2010 | Enero 2011 |
| Pruebas realizadas: | | | | |
| Aspecto | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| pH: (7.00 – 7.20) | 7.19 | 7.19 | 7.15 | 7.10 |
| Volumen de llenado | 500 ml | 502 ml | 502 ml | 502 ml |
| Esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Inocuidad | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Potencia: ¹ | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* |

| TIEMPO (meses) | POTENCIA | COLERA AVIAR frente a <i>Pasteurella haemolytica</i> y multocida | | | | |
|-------------------|--------------------------------------|--|-------------|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| | Pasteurella | # prueba | # controles | Resultados | | Criterios de aceptación ≥90% |
| | | | | Vacunadas Sanas/ #prueba | controles Enfermas/ #controles | |
| 0 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolytica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 6 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |

¹ P* Se refiere al porcentaje de protección de la bacterina contra *Pasteurella*

| | | | | | | |
|----|--------------------------------------|----|---|-------|-----|--------|
| | Pasteurella haemolítica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 12 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolítica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 18 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 15/16 | 5/4 | 96.9 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolítica | 16 | 4 | 15/16 | 5/4 | 96.9 % |

Datos sintetizados en el siguiente cuadro:

| Pasteurella | Criterios de aceptación \geq 90% | | | | Conclusión |
|-----------------------|------------------------------------|---------|----------|----------|------------|
| | 0 meses | 6 meses | 12 meses | 18 meses | |
| P. multocida tipo I | 100 | 100 | 100 | 97 | Cumple |
| P. multocida tipo III | 100 | 100 | 100 | 100 | Cumple |
| P. multocida tipo IV | 100 | 100 | 100 | 100 | Cumple |
| P. haemolítica | 100 | 100 | 100 | 97 | Cumple |

LOTE 1009

| | | | | |
|-----------------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
| PRODUCTO | COLERA AVIAR | | | |
| Lote | 1009 | | | |
| Fecha de Elaboración | Agosto 2009 | | | |
| Tiempo de muestreo | 0 meses | 6 meses | 12 meses | 18 meses |
| Fecha de realización de la prueba | Agosto 2009 | Febrero 2010 | Agosto 2010 | Febrero 2011 |
| Pruebas realizadas: | | | | |
| Aspecto | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| pH: (7.00 – 7.20) | 7.20 | 7.20 | 7.19 | 7.19 |
| Volumen de llenado | 500 ml | 502 ml | 502 ml | 502 ml |
| Esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Inocuidad | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Potencia: ² | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* |

| TIEMPO (meses) | POTENCIA | COLERA AVIAR frente a <i>Pasteurella haemolytica</i> y <i>multocida</i> | | | | |
|-------------------|--------------------------------------|---|-------------|-------------------|-------------------------|---------------------------------|
| | Pasteurella | # prueba | # controles | Resultados | | Criterios de aceptación ≥90% |
| | | | | Vacunadas | controles | |
| | | | | Sanas/ #prueba | Enfermas/ #controles | |
| 0 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolytica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 6 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolytica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 12 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |

² P* Se refiere al porcentaje de protección de la bacterina contra *Pasteurella*

| | | | | | | |
|----|--------------------------------------|----|---|-------|-----|--------|
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolitica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 18 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 15/16 | 5/4 | 96.9 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 14/16 | 6/4 | 93.8 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 13/16 | 7/4 | 90.6 % |
| | Pasteurella haemolitica | 16 | 4 | 14/16 | 6/4 | 93.8 % |

Datos sintetizados en el siguiente cuadro:

| Pasteurella | Criterios de aceptación $\geq 90\%$ | | | | Conclusión |
|-----------------------|-------------------------------------|---------|----------|----------|------------|
| | 0 meses | 6 meses | 12 meses | 18 meses | |
| P. multocida tipo I | 100 | 100 | 100 | 97 | Cumple |
| P. multocida tipo III | 100 | 100 | 100 | 94 | Cumple |
| P. multocida tipo IV | 100 | 100 | 100 | 91 | Cumple |
| P. haemolitica | 100 | 100 | 100 | 94 | Cumple |

LOTE 1109

| | | | | |
|-----------------------------------|-----------------|------------|-----------------|------------|
| PRODUCTO | COLERA AVIAR | | | |
| Lote | 1109 | | | |
| Fecha de Elaboración | Septiembre 2009 | | | |
| Tiempo de muestreo | 0 meses | 6 meses | 12 meses | 18 meses |
| Fecha de realización de la prueba | Septiembre 2009 | Marzo 2010 | Septiembre 2010 | Marzo 2011 |
| Pruebas realizadas: | | | | |
| Aspecto | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| pH: (7.00 - 7.20) | 7.20 | 7.20 | 7.19 | 7.19 |
| Volumen de llenado | 500 ml | 502 ml | 502 ml | 502 ml |
| Esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Inocuidad | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Potencia: ³ | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* | ≥ 90 % P* |

| TIEMPO (meses) | POTENCIA | COLERA AVIAR frente a <i>Pasteurella haemolytica</i> y multocida | | | | |
|-------------------|--------------------------------------|--|-------------|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| | Pasteurella | # prueba | # controles | Resultados | | Criterios de aceptación ≥90% |
| | | | | Vacunadas Sanas/ #prueba | controles Enfermas/ #controles | |
| 0 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolytica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 6 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolytica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 12 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |

³ P* Se refiere al porcentaje de protección de la bacterina contra *Pasteurella*

| | | | | | | |
|----|--------------------------------------|----|---|-------|-----|--------|
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolitica | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| 18 | Pasteurella multocida tipo I, | 16 | 4 | 15/16 | 5/4 | 96.9 % |
| | Pasteurella multocida tipo III | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella multocida tipo IV | 16 | 4 | 16/16 | 4/4 | 100 % |
| | Pasteurella haemolitica | 16 | 4 | 15/16 | 5/4 | 96.9 % |

Datos sintetizados en el siguiente cuadro:

| Pasteurella | Criterios de aceptación $\geq 90\%$ | | | | Conclusión |
|-----------------------|-------------------------------------|---------|----------|----------|------------|
| | 0 meses | 6 meses | 12 meses | 18 meses | |
| P. multocida tipo I | 100 | 100 | 100 | 97 | Cumple |
| P. multocida tipo III | 100 | 100 | 100 | 100 | Cumple |
| P. multocida tipo IV | 100 | 100 | 100 | 100 | Cumple |
| P. haemolitica | 100 | 100 | 100 | 97 | Cumple |

Conclusiones del estudio y definición del tiempo de validez del producto

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que el producto COLERA AVIAR ejerce totalmente su potencia inmune contra Pasteurellosis aviar durante los 18 meses de estudio, tiempo en el cual se ha comprobado la eficacia del $\geq 90\%$ en todas las cepas.

Responsable,

Andrea Cevallos
Control Calidad
Lavetec Cía. Ltda.