

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN

PROYECTO de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*).

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

WOLFGANG RODOLFO GONZALEZ MUÑOZ, Coordinador General Jurídico de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, a petición del Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoonosaria y con fundamento en los artículos 16, 26 y 35 fracción IV de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 1o., 6o., fracción XVII; 54, 55, 56 y 58 de la Ley Federal de Sanidad Animal; 38 fracción II, 40, 41, 43 y 51 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 60, 61 y 62 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización y 15 fracciones XXX y XXXI y 49 del Reglamento Interior de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

El presente proyecto se publica a efecto de que los interesados, dentro de los 60 días naturales siguientes a la fecha de publicación del mismo, presenten sus comentarios ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoonosaria, sito en Municipio Libre número 377, piso 7, ala A, colonia Santa Cruz Atoyac, Delegación Benito Juárez, código postal 03310, México, D.F.; correo electrónico saguilar@senasica.sagarpa.gob.mx.

Durante el plazo mencionado, la manifestación de impacto regulatorio que sirvió de base para la elaboración del proyecto de Norma, estará a disposición del público para su consulta en el domicilio del Comité.

PREFACIO

Unidad Administrativa responsable de la elaboración de esta Norma:

- Dirección General de Salud Animal

En la modificación de esta Norma Oficial Mexicana participaron los siguientes organismos e instituciones:

- Confederación Nacional de Organizaciones Ganaderas.
- Delegación de la SAGARPA en Querétaro.
- Asociación Mexicana de Engordadores de Ganado Bovino, A.C.
- Servicios Técnicos Agropecuarios y Servicios al Socio de Ganaderos de Productores de Leche Pura, S.A. de C.V.
- Comisión Estatal para la Erradicación de Tuberculosis Bovina y Brucelosis del Estado de Jalisco.
- Asociación Holstein de México A.C.
- Unión Ganadera Regional de la Laguna.

CONSIDERANDO

Que el 8 de marzo de 1996 se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*), misma que fue modificada el 27 de agosto de 1998;

Que de los 9.5 mil millones de litros de leche que se producen en el territorio nacional equivalente a 3,516 millones de dólares, el 72% de la producción se pasteuriza o industrializa y el 28% se consume cruda o se transforma en derivados lácteos sin proceso térmico, lo que implica un riesgo zoonosario y de salud pública, además de considerar otra forma de transmisión por aerosoles debida a la convivencia directa con ganado infectado de Tuberculosis Bovina que pueda estar eliminando el bacilo;

Que en nuestro país la extracción anual promedio de bovinos es de 6.7 millones de cabezas, de las cuales 1.2 millones se exportan, 2.3 millones se engordan de manera intensiva en corrales y el resto comprende al ganado que se engorda de manera extensiva y el sacrificio de ganado adulto;

Que en nuestro país se engorda de manera intensiva 2.3 millones de bovinos al año, lo que representan una derrama económica mayor a los \$19,300 millones de pesos; más de \$1,754 millones de dólares;

Que nuestro país exporta a los Estados Unidos de América en promedio 1'200,000 cabezas de ganado bovino castrado en pie anualmente, representando divisas estimadas de 480 millones de dólares;

Que los requisitos sanitarios para la citada exportación son más exigentes de los que se imponían anteriormente, lo que ha impactado en la movilización internacional y la comercialización nacional, por lo que se deben modificar algunos requisitos zoonosológicos con la finalidad de establecer equivalencias con los países que se tiene intercambio comercial y proteger la viabilidad de los diferentes eslabones de la cadena de valor de la ganadería bovina;

Que la Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina ha tenido grandes avances en el control y erradicación de esta enfermedad, en concordancia con los conceptos de regionalización y compartimentación reconocidos internacionalmente por la Organización Mundial de Comercio (OMC) y la Organización Mundial de Salud Animal (OIE);

Que no obstante lo anterior, las disposiciones establecidas en la Norma antes señalada, deben actualizarse para continuar garantizando la protección de los estatus alcanzados en fase de erradicación y seguir propiciando el avance de los estados en control;

Que no obstante estos logros alcanzados, las disposiciones establecidas en la Norma antes señalada, no garantizan la protección de los estatus alcanzados en fase de erradicación y no propician el avance de los estados en control, y

Que para conseguir los propósitos enunciados, de indudable interés público y social, he tenido a bien expedir el Proyecto de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*), por lo que he tenido a bien expedir el siguiente:

**PROYECTO DE MODIFICACIÓN A LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-031-ZOO-1995,
CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA (*MYCOBACTERIUM BOVIS*)**

INDICE

1. Objetivo y campo de aplicación
2. Referencias
3. Definiciones y abreviaturas
4. Disposiciones generales
5. Fases de campaña
6. Identificación
7. Diagnóstico
8. Constatación de hatos
9. Manejo de la unidad de producción lechera afectada por tuberculosis bovina.
10. Sacrificio
11. Movilización
12. Importación
13. Vigilancia epidemiológica
14. Medidas cuarentenarias
15. Desinfección
16. Fondos de contingencia
17. Evaluación de la conformidad
18. Concordancia con normas internacionales
19. Sanciones
20. Bibliografía

TRANSITORIOS

“Apéndice A” (Normativo) Dictámenes de prueba de tuberculina.

“Apéndice B” (Normativo) Diagnóstico de Tuberculosis Bovina en Laboratorio

“Apéndice C” (Normativo) Lineamientos para la Autorización de Corrales Designados.

“Apéndice D” (Normativo) Protocolo para la movilización y venta de ganado en ferias y exposiciones

“Apéndice E” (Normativo) Certificación de Hatos Libres de Tuberculosis Bovina

“Apéndice F” (Normativo) Formato para la evaluación de requisitos sanitarios para el reconocimiento de países o zonas de riesgo insignificante de tuberculosis bovina

“Apéndice G” (Normativo) Lineamientos para la autorización de engordas aprobadas con pastoreo restringido.

“Apéndice H” (Normativo) Protocolo para la Movilización a Ferias y Exposiciones de Ganado Inscrito en El Programa de Manejo de la Unidad de Producción Lechera Afectada por Tuberculosis Bovina.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1. La presente Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto, regular y establecer las especificaciones zoonosanitarias, así como los procedimientos, actividades, criterios, estrategias, técnicas y características para la prevención, control y erradicación de la tuberculosis bovina. Su campo de aplicación son todas las unidades de producción pecuaria que manejen bovinos, incluyendo aquellas que posean únicamente un animal.

1.2. La vigilancia y aplicación de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y a los gobiernos estatales y municipales en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales, de conformidad con los acuerdos de coordinación respectivos.

1.3. La supervisión de las disposiciones contenidas en esta Norma y su vigilancia, compete a la Dirección General de Salud Animal, así como a las Delegaciones Estatales de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Gobiernos estatales.

1.4. La operación, planeación, ejecución y evaluación de la Campaña será responsabilidad de la Secretaría que se podrá apoyar en los Organismos Auxiliares reconocidos, así como de la planeación, ejecución, evaluación y reporte, de la notificación periódica de las actividades y los avances a la Secretaría.

2. Referencias

NOM-008-SCFI-1993, Norma oficial mexicana sistema general de unidades de medida.

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

NOM-008-ZOO-1994, Especificaciones zoonosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos.

NOM-009-ZOO-1994, Proceso sanitario de la carne.

NOM-018-ZOO-1994, Médicos veterinarios aprobados como unidades de verificación facultados para prestar servicios oficiales en materia zoonosanitaria.

NOM-024-ZOO-1995, Especificaciones y características zoonosanitarias para el transporte de animales, sus productos y subproductos, productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos

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

NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.

NOM-045-ZOO-1995, Características zoonosanitarias para la operación de establecimientos donde se concentren animales para ferias, exposiciones, subastas, tianguis y eventos similares.

NOM-046-ZOO-1995, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

NOM-051-ZOO-1995, Trato humanitario en la movilización de animales.

NOM-054-ZOO-1996, Establecimiento de cuarentenas para animales y sus productos.

NOM-056-ZOO 1995, Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoonosanitaria.

NOM-058-ZOO-1999, Especificaciones para las instalaciones y operación de los puntos de verificación e inspección zoonosanitaria.

3. Definiciones y abreviaturas

Para efectos de esta Norma, se entiende por:

3.1. Animal castrado: Aquel animal al que se le ha extraído quirúrgicamente o por otros medios los testículos u ovarios.

3.2. Animal entero: Aquel animal que se encuentra íntegro en sus órganos reproductivos.

3.3. Animal expuesto: Es aquel de las especies bovinas que ha tenido contacto con uno o varios animales infectados.

3.4. Animal infectado: Es aquel en el que por estudios epidemiológicos, en los que se incluyen las pruebas de campo y los resultados de laboratorio, evidencian la presencia de *Mycobacterium Bovis* o que por diagnóstico de laboratorio se ha confirmado la presencia del *Mycobacterium Bovis*.

3.5. Animal negativo: Es aquel animal que ha sido sujeto a una o varias pruebas diagnósticas oficiales de tuberculosis y cuyos resultados han sido negativos.

3.6. Animal positivo a la prueba de tuberculina: Es el que ha sido sujeto a una o más pruebas diagnósticas de intradermorreacción oficiales de tuberculosis y cuyos resultados han sido positivos.

3.7. Área cuarentenada: Territorio, unidad productiva o instalaciones que por disposiciones de la Secretaría se declaran en cuarentena.

3.8. Arete oficial de Campaña: Arete autorizado por la Secretaría para la identificación individual de animales que participan en la campaña.

3.9. Aprobación: El acto mediante el cual la Secretaría reconoce a médicos veterinarios y laboratorios de pruebas para llevar a cabo actividades en materia zoonosanitaria a que se refiere esta Norma.

3.10. Autorización: Acto mediante el cual la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación reconoce a los laboratorios de diagnóstico clínico zoonosanitario y a organismos coordinadores de la movilización para llevar a cabo actividades en materia zoonosanitaria, a que se refiere esta Norma.

3.11. Campaña: La Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina.

3.12. CN: Siglas marcadas a fuego en la piel del animal que indican que el destino final del animal es para consumo nacional.

3.13. Comité: Comités de Fomento y Protección Pecuaria u otros organismos auxiliares establecidos para apoyar el desarrollo de la campaña.

3.14. Confinamiento: Medida zoonosanitaria basada en el aislamiento, observación y restricción de la movilización de animales por la sospecha o existencia de la tuberculosis bovina, hasta que se determine el destino de los animales.

3.15. Constancia de Hato Libre: Documento oficial otorgado por la Secretaría, al propietario del hato que ha cumplido con los requisitos establecidos para el reconocimiento de hato libre en tuberculosis bovina.

3.16. Constatación de Hato Libre: Trámite mediante el cual se otorgan los documentos oficiales expedidos por la Secretaría al propietario de un hato que ha demostrado que los animales se encuentran libres de tuberculosis mediante el procedimiento descrito en esta Norma.

3.17. Control: Conjunto de medidas zoonosanitarias que tienen por objeto disminuir la incidencia o prevalencia de la tuberculosis bovina en un área geográfica determinada.

3.18. Control de campo para pruebas de tuberculina: Formatos básicos de trabajo, donde se asientan inicialmente los resultados de las pruebas diagnósticas.

3.19. Coordinador Estatal: Médico Veterinario Oficial dependiente de la Secretaría, designado para coordinar los trabajos de Campaña y a los supervisores distritales en los Estados.

3.20 Corral de engorda designado: instalaciones autorizadas por la Secretaría, de acuerdo al protocolo establecido en "Apéndice C" (Normativo).

3.21. Cuarentena: Medida zoonosanitaria basada en el aislamiento, observación y restricción de la movilización de animales por la sospecha o existencia de la tuberculosis bovina.

3.22. Delegación: Representación de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

3.23. Desinfectantes: Productos químicos utilizados en las instalaciones y vehículos para la eliminación del *Mycobacterium bovis*.

3.24. Dictamen de prueba: Documento oficial elaborado por los Médicos Veterinarios oficiales o aprobados por la Secretaría, en el que se reportan los resultados de la prueba diagnóstica.

3.25. Dirección: La Dirección General de Salud Animal dependiente del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.

3.26. Engorda aprobada con pastoreo restringido: Instalaciones autorizadas por la Secretaría, de acuerdo al protocolo establecido en "Apéndice G" (Normativo), previa solicitud del gobierno estatal y productores.

3.27. Erradicación: Conjunto de medidas zoonosanitarias que tienen por objeto la eliminación total de la tuberculosis bovina en un área geográfica determinada.

3.28. Fases de Campaña: Corresponde a la clasificación sanitaria de las etapas en que se encuentra el estado o región, de acuerdo a los avances en la Campaña, reconocidos por la Secretaría.

3.29. Fleje: Dispositivo oficial que se instala en puertas o compartimentos de vehículos que transportan animales, con el propósito de garantizar que durante su traslado no se añadan o sustraigan animales.

3.30. Ganado de doble propósito o mixto: Corresponde al tipo de animales en una unidad de producción, en la cual se produce ganado para carne y se comercializa su producción de leche.

3.31. Ganado productor de carne: Corresponde al tipo de animales de una unidad de producción, especializados en la producción de carne.

3.32. Ganado productor de leche: Corresponde al tipo de animales de una unidad de producción, especializados en la producción de leche.

3.33. Hato: Cualquier grupo de animales de la misma especie mantenidos en terrenos comunes, o dos o más grupos de animales en dos o más instalaciones que estén geográficamente separadas, pero entre las cuales existe intercambio o movilización de animales.

3.34. Hato de origen: Hato en el cual se reconoce la procedencia de uno o más animales y en el que se encuentra el pie de cría que dio lugar a la producción de los animales en referencia.

3.35. Hato infectado: Es aquel en el que por estudios epidemiológicos, en los que se incluyen las pruebas de campo y los resultados de laboratorio, evidencian la presencia de *Mycobacterium bovis* o que por diagnóstico de laboratorio se ha confirmado la presencia del *Mycobacterium bovis*. Para efectos de esta Norma Hato Infectado es equivalente a Hato Afectado.

3.36. Hato Afectado.- Un hato de ganado, en el cual hay fuerte y sustancial evidencia de que existe *Mycobacterium bovis*. Esta evidencia puede incluir, pero no está limitada a cualquiera de las siguientes: Histopatología, Prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), Aislamiento o detección bacteriana, datos de pruebas o evidencia epidemiológica como contacto con fuentes conocidas de la infección.

3.37. Hato libre: Hato que cuenta con la constancia vigente correspondiente expedida por la Secretaría.

3.38. Hato Libre Certificado: aseguramiento de hatos libres en regiones en control, realizado por Médicos Veterinarios Oficiales, con la finalidad de movilizar ganado hacia regiones en fases más avanzadas.

3.39. Hato sospechoso: Corresponde al hato en el cual no se ha confirmado la infección y se encuentra en proceso de investigación epidemiológica.

3.40. Identificación de animales positivos: Aplicación de una marca permanente con una letra "T" en el masetero izquierdo.

3.41. Laboratorio Aprobado: Laboratorio que mediante el acto de autorización la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación es reconocido para llevar a cabo actividades en materia zoonosanitaria a que se refiere esta Norma.

3.42. Laboratorio de diagnóstico clínico zoonosanitario: Persona moral autorizada por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación para prestar servicios relacionados con estudios para determinar la presencia de una enfermedad o plaga en los animales que se encuentre bajo el esquema de campaña zoonosanitaria conforme a las normas oficiales mexicanas en materia zoonosanitarias.

3.43. Ley: Ley Federal de Sanidad animal.

3.44. Marca permanente: Cualquier marca indeleble en el cuerpo del animal, con fines de identificación.

3.45. *M. bovis*: *Mycobacterium bovis*.

3.46. Matanza Regular: Ganado bovino para el abasto, que ingresa al sacrificio sin referencia de tuberculosis bovina.

3.47. Médico Veterinario Oficial: Profesional asalariado que forma parte del personal de la Secretaría y que realiza funciones para efectos de esta Norma.

3.48. Médico Veterinario Aprobado: Médico Veterinario, que mediante el acto de Aprobación por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación es reconocido para llevar a cabo actividades en materia zoonosanitarias a que se refiere esta Norma.

3.49. Muestra: Sangre, suero, tejidos, órganos, fluidos, secreciones o desechos corporales, que tienen el propósito de ser analizados mediante pruebas de diagnóstico para identificar la presencia de tuberculosis.

3.50. Norma: Norma Oficial Mexicana de la Campaña Nacional contra Tuberculosis Bovina.

3.51. Prueba de hato: Es la aplicación de la prueba de tuberculina al conjunto de animales mayores de dos meses que integran un hato.

3.52. PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

3.53. PPD: Derivado Proteico Purificado.

3.54. Prevalencia: Número de casos de tuberculosis que se presentan en una población animal, en un área geográfica definida durante un periodo determinado.

3.55. Productores: Propietarios de ganado que dentro de sus actividades se encuentra la de reproducción o la cría o la engorda o la ordeña; pudiendo ser varias.

3.56. Pruebas diagnósticas: Aquellas autorizadas por la Secretaría, para la Campaña.

3.57. Rastro: Establecimiento e instalaciones dedicadas al sacrificio de animales.

3.58. Repasto: Actividad cuya finalidad es la alimentación del ganado en pastoreo.

3.59. Secretaría: La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

3.60. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA): Organismo desconcentrado de la SAGARPA.

3.61. SINIIGA: Sistema Nacional de Identificación Individual de Ganado.

3.62. Supervisor Distrital: Médico Veterinario Oficial, designado para supervisar las actividades de Campaña.

3.63. Transportistas: Personas que trasladan ganado de un lugar a otro.

3.64. Tuberculina: Antígeno que se utiliza para el diagnóstico de tuberculosis bovina.

3.65. Tuberculosis bovina: Zoonosis infectocontagiosa de curso crónico y progresivo, causada por el *Mycobacterium bovis*.

3.66. Unidad de producción: Rancho, finca, hacienda, granja, establo, corral u otra similar que aloja ganado bovino.

3.67. Unidad de recría controlada: Unidades de producción reconocidas por la Secretaría para el alojamiento y desarrollo de becerras y vaquillas de ganado lechero.

3.68. Vigilancia epidemiológica: Conjunto de medidas zoonitarias que tienen el propósito de identificar y evaluar la presencia de tuberculosis en un área determinada, con el fin de recomendar oportunamente las medidas adecuadas para su prevención, control y erradicación.

3.69. Zoonosis: Enfermedad transmisible de los animales al hombre.

4. Disposiciones generales

4.1. La Campaña contra la Tuberculosis Bovina, se aplicará en forma general, obligatoria y permanente.

4.2. La Campaña contra la tuberculosis en bovinos, consiste en establecer el diagnóstico, prevención y control para la erradicación de la enfermedad en las especies bovinas de cualquier raza y función zootécnica.

4.3. La responsabilidad de operar la Campaña será a través de los Organismos auxiliares en los estados y será compartida entre el gobierno federal, estatal y municipal, los productores, poseedores, comerciantes y transportistas de ganado.

4.4. La protección de estados, regiones o hatos libres de la enfermedad o en etapas avanzadas del programa, se efectuará mediante el estricto control de la movilización animal, coordinándose para tal fin, el gobierno federal, estatal, municipal y los productores.

4.5. Los Médicos Veterinarios Aprobados por la Secretaría, deben coordinarse con el personal oficial de la Campaña en el Estado o Distrito de Desarrollo Rural (Coordinador estatal y/o Supervisores distritales) correspondientes, para realizar las pruebas diagnósticas. El personal oficial de la Campaña en el estado, debe coordinarse con los Organismos auxiliares para la ejecución de la Campaña.

4.6. La Secretaría podrá establecer otros tipos de requisitos zoonitarios o pruebas diagnósticas específicas, así como requisitos de fases de Campaña, constatación, diagnóstico o movilización de bovinos, ovinos, caprinos, cérvidos u otro que determine la Secretaría, cuando éstos puedan representar un riesgo zoonitario o bien, por avances técnicos y científicos en el conocimiento de la enfermedad, mediante la emisión de acuerdos u ordenamientos legales en la materia que sean publicados en el Diario Oficial de la Federación.

5. Fases de campaña

5.1. La Campaña contempla las siguientes fases de operación:

- a) Sin Clasificación.
- b) Control.
- c) Erradicación I.
- d) Erradicación II.
- e) Erradicación III.
- f) Libre.

5.2. El reconocimiento oficial de las fases de operación de la Campaña, se sujetará al cumplimiento de las siguientes especificaciones:

5.2.1 Fase sin Clasificación.

Esta fase incluye aquellos países, estados o regiones, donde se tiene prevalencia desconocida y no cuentan con acciones de la campaña inscritas en las siguientes fases.

5.2.2. Fase de Control.

- Prevalencia de hatos infectados muestreados mayor al 0.5%.
- Cumplir con las disposiciones de la Norma.
- Muestreo de por lo menos 50% de los animales y hatos del estado o región.
- Contar con el levantamiento del padrón de productores y hatos.
- Contar con un sistema de control de movilización animal.

- Realizar promoción continua de la Campaña.
- Disponer de infraestructura de servicios veterinarios y de diagnóstico.
- Identificar y eliminar animales positivos a las pruebas de tuberculina.
- Contar con un sistema de inspección en rastros.
- Contar con un sistema establecido de seguimientos epidemiológicos.
- Establecer cuarentenas.
- Iniciar con la aplicación de medidas zoonosanitarias para el Manejo de hato infectado.

5.2.3. Fase de Erradicación I.

- Prevalencia de hatos infectados menor a 0.5%.
- Muestreo del 100% de los animales y hatos del estado o región.
- Contar con un censo actualizado de productores y hatos.
- Contar con un sistema estricto de control de movilización animal en operación.
- Realizar promoción continua de la Campaña.
- Disponer de infraestructura de servicios veterinarios y de diagnóstico.
- Contar con un sistema de inspección en rastros de al menos el 75% del ganado sacrificado.
- Contar con un sistema de rastreabilidad, que permita localizar por lo menos el 75% de los hatos de origen de los casos positivos, detectados en rastro.
- Contar con un sistema de seguimientos epidemiológicos que permita confirmar la infección de los hatos investigados como el origen de los casos detectados en rastros en animales de matanza regular.
- Contar con un sistema de seguimiento epidemiológico en todos los casos que surjan por pruebas de tuberculina.
- Contar con la aplicación de medidas zoonosanitarias para el manejo de hato infectado.
- Contar con un sistema de identificación individual de ganado que permita localizar el hato de origen.
- Identificar y eliminar animales positivos a las pruebas de tuberculina.
- Establecer cuarentenas.

Un estado o zona en Erradicación I, para solicitar el cambio a la Fase de Erradicación II, debe demostrar a la Dirección que cumple con las disposiciones de esta Norma y que tiene una prevalencia de tuberculosis menor del 0.1% del total de hatos de bovinos, en al menos un año.

5.2.4. Fase de Erradicación II.

- Cumplir con las disposiciones de la Norma.
- Muestreo del 100% de los animales y hatos en el estado o región.
- Prevalencia de hatos infectados menor a 0.1% durante los últimos doce meses.
- Cuando en los mismos, se cuente con un censo de 10,000 hatos o menos, se permite hasta 10 hatos infectados por el periodo de 12 meses.
- Contar con un censo actualizado de productores y hatos.
- Contar con un sistema estricto de control de movilización animal en operación.
- Realizar promoción continua de la Campaña.
- Disponer de infraestructura de servicios veterinarios y de diagnóstico.
- Contar con un sistema de inspección en rastros de al menos el 75% del ganado sacrificado.
- Contar con un sistema de rastreabilidad, que permita localizar por lo menos el 75% de los hatos de origen de los casos positivos, detectados en rastro.

- Contar con la aplicación de medidas zoonosanitarias para el manejo de hato infectado.
- Contar con un sistema de seguimientos epidemiológicos que permita confirmar la infección en los hatos investigados como el origen de los casos detectados en rastros en animales de matanza regular.
- Contar con un sistema de seguimiento epidemiológico en todos los casos que surjan por pruebas de tuberculina.
- Contar con un sistema de identificación individual de ganado que permita localizar el hato de origen.
- Identificar y eliminar animales positivos a las pruebas de tuberculina.
- Establecer cuarentenas.
- Haber permanecido en la fase inmediata anterior al menos un año.

5.2.4.1. Un estado o región en Erradicación II, para solicitar calificar a la Fase de Erradicación III, debe demostrar a la Dirección que cumple con las disposiciones de esta Norma y que tiene una prevalencia de tuberculosis menor del 0.01% del total de hatos de bovinos, por lo menos durante un año.

5.2.5. Fase de Erradicación III.

- Prevalencia de hatos infectados menor a 0.01%.
- Muestreo del 100% de los animales y hatos del estado o región.
- Cuando en el estado o región, se cuente con un censo de 30,000 hatos o menos, se permite hasta 3 hatos infectados por cada uno de los dos últimos años.
- Contar con un censo actualizado de productores y hatos.
- Contar con un sistema estricto de control de movilización animal en operación.
- Realizar promoción continua de la Campaña.
- Disponer de infraestructura de servicios veterinarios y de diagnóstico.
- Identificación y eliminación de animales positivos.
- Contar con un sistema de inspección en rastros de al menos el 75% del ganado sacrificado.
- Contar con un sistema de seguimiento epidemiológico.
- Contar con un sistema de rastreabilidad, que permita localizar por lo menos el 75% de los hatos de origen de los casos positivos, detectados en rastro.
- Contar con al menos el 95% de vigilancia en el ganado sacrificado, ya sea por inspección en rastro o por pruebas de campo.
- Contar con un sistema de seguimiento epidemiológico que permita confirmar la infección en los hatos investigados como el origen de los casos detectados en rastros en animales de matanza regular.
- Contar con un sistema de seguimiento epidemiológico en todos los casos que surjan por pruebas de tuberculina.
- Contar con la aplicación de medidas zoonosanitarias para el manejo de hato infectado.
- Contar con un sistema de identificación individual de ganado que permita localizar el hato de origen.
- Establecer cuarentenas.
- Haber permanecido en la fase inmediata anterior al menos dos años.

5.2.5.1 Un estado o zona en Erradicación III, para solicitar calificar a la Fase Libre, debe demostrar a la Dirección que cumple con las disposiciones de esta Norma y que ha transcurrido un periodo de cinco años sin evidencia de la enfermedad.

5.2.6 Fase Libre.

- Haber transcurrido un periodo de cinco años sin evidencia de la enfermedad.
- Contar con un sistema estricto de control de movilización animal en operación.

- Contar con un censo actualizado de productores y hatos.
- Realizar promoción continua de la Campaña.
- Disponer de infraestructura de servicios veterinarios y de diagnóstico.
- Contar con un sistema de inspección en rastros de al menos el 95% del ganado sacrificado.
- Contar con un sistema de rastreabilidad, que permita localizar el 100% de los hatos de origen de los casos positivos, detectados en rastro.
- Contar con un sistema de seguimiento epidemiológico que permita confirmar la infección en por lo menos el 60% de los hatos investigados como el origen de los casos detectados en rastros en animales de matanza regular.
- Contar con un sistema de seguimiento epidemiológico en todos los casos que surjan por pruebas de tuberculina.
- Contar con un sistema de identificación individual de ganado que permita localizar el hato de origen.
- Establecimiento de cuarentenas.
- Contar con un Dispositivo de Emergencia en Salud Animal.

5.2.6.1 El reconocimiento de la fase libre se publicará en el Diario Oficial de la Federación.

5.3. Cualquier región en fase libre o en erradicación I, II y III de tuberculosis, que no cumpla con alguno de los requisitos establecidos para cada fase, la parte afectada en un periodo no mayor a 15 días naturales a partir de la notificación oficial, podrá presentar un documento con las medidas zoonosanitarias que correspondan establecidas por la Dirección y su compromiso de cumplirlas en un plazo no mayor a seis meses, para cumplir con los requisitos establecidos y mantener su condición sanitaria, de lo contrario perderá su condición actual y se incorporará a la fase de campaña que le corresponda de manera inmediata al cumplirse el plazo señalado.

5.4. La Secretaría, a través de la Dirección de Campañas Zoonosanitarias, evaluará anualmente la operación de la campaña en los estados o regiones mediante el informe anual elaborado por el Comité y validado por la Delegación Estatal. Cuando así se requiera, se realizarán visitas de revisión para corroborar el cumplimiento de las especificaciones de cada fase y en su caso dictaminará los cambios de fase de acuerdo a los resultados obtenidos.

6. Identificación

Para efectos de la Campaña, se debe identificar plenamente a los animales, mediante un dispositivo autorizado por la Secretaría y para esto se podrán utilizar las siguientes:

6.1. Arete Oficial de Campaña: Utilizado en animales que participan en la Campaña.

6.2. Arete Azul: Utilizado en animales con fines de exportación.

6.3. Arete Azul con las siglas "HL": Utilizado en animales procedentes de un hato libre y con fines de exportación.

6.4. Arete Rojo: Utilizado en animales positivos a la prueba de tuberculina.

6.5. Marca con la letra "T": Marca permanente en el masetero izquierdo, utilizada en animales positivos a la prueba de tuberculina.

6.6. Marca con el número de INEGI: Marca permanente la cual se aplica en la región sacrococcígea derecha, correspondiente a dos dígitos del número del estado de origen determinado por el INEGI, de por lo menos 10 cm de ancho por 7.5 cm de alto.

6.7. Marca con las letras CN: Marca permanente la cual se aplica en la región sacrococcígea derecha, de por lo menos 10 cm de ancho por 7.5 cm de alto.

6.8. Sistema Nacional de Identificación Individual de Ganado Bovino. (SINIIGA).- Dispositivo de identificación consistente en un arete de bandera y otro de botón de color amarillo e impresión láser en color negro, colocados en la oreja izquierda y derecha del bovino, respectivamente, cuyas características en su conjunto fueron autorizadas por la Secretaría y que una vez colocados en el animal serán la identificación oficial del mismo, para los fines sanitarios correspondientes. El número individual que corresponde a cada animal debe ser registrado en los documentos oficiales de pruebas diagnósticas y de control de la movilización. La copia blanca de la tarjeta de identificación debe acompañar la movilización de los bovinos identificados con este dispositivo, en cada cambio de unidad productiva hasta su sacrificio.

6.9. Para el ganado de registro que se desee movilizar, podrá utilizarse como identificación el número de registro oficial tatuado en la oreja o el arete de registro, reconocido por la Secretaría, en lugar del arete Oficial de Campaña.

6.10. Se exentará de la marca permanente del número de INEGI y del arete metálico de campaña a los animales que se encuentren identificados con el dispositivo SINIGA y se acompañen de la copia blanca de la tarjeta de identificación.

7. Diagnóstico

7.1. Para efectos de la Campaña, el diagnóstico de la tuberculosis se llevará a cabo por medio de:

7.1.1. Tuberculinización.

Las siguientes pruebas de tuberculina autorizadas por la Secretaría deben aplicarse a los bovinos por Médicos Oficiales y/o Médicos Veterinarios Aprobados, se probarán los bovinos a partir de los dos meses de edad, a excepción de las pruebas de revalidación de hatos libres sin antecedentes de tuberculosis, las cuales se realizarán en las edades que se especifican para cada fase de Campaña.

a) Prueba en el pliegue caudal.

b) Prueba cervical comparativa.

c) Prueba cervical simple.

7.1.2. Las tuberculinas registradas y autorizadas por la Secretaría para efectos de la Campaña son:

a) PPD bovino: elaborado con *Mycobacterium bovis* cepa AN5, conteniendo 3,250 UI por dosis de 0.1 ml, que se utilizará en la prueba caudal, cervical comparativa y cervical simple.

b) PPD aviar: elaborado con *Mycobacterium avium* cepa D4, conteniendo 5,000 UI por dosis de 0.1 ml, que será utilizada en la prueba cervical comparativa.

La tuberculina de PPD aviar, debe contener el colorante el rojo de Ponceau, para distinguirla del PPD bovino que no lleva colorante.

c) Las tuberculinas deben ser transportadas y conservadas en frío, a la temperatura de 4 a 8°C y protegidas de la luz solar directa, durante el trabajo de campo; debe verificarse el lote y fecha de caducidad del producto. Una vez utilizado el antígeno, debe desecharse el resto del contenido del envase si no se va a utilizar el mismo día.

7.1.3. El instrumental necesario para realizar la tuberculinización, se ajustará a las siguientes especificaciones:

a) Se utilizarán jeringas graduadas de 1 ml, con graduación de 0.1 ml, desechables o automáticas, esterilizadas y en buen estado; debe utilizarse aguja estéril por animal.

b) Las agujas deben ser hipodérmicas, calibre 24 a 29 de 0.5 a 1.5 cm de largo, de preferencia desechables o en caso contrario, esterilizadas y en buen estado.

c) Para la prueba cervical comparativa, se usará un cutímetro metálico o de plástico como el vernier o pie de rey, graduado en mm.

7.1.4. Para la aplicación de cualquiera de las pruebas, no deben efectuarse otro tipo de manejos, como son el herrado, castración, desparasitado, vacunación, aplicaciones de medicamentos, entre otros, 48 horas antes y 72 ±6 horas después de la inoculación de la tuberculina, con el fin de no afectar los resultados.

7.1.4.1. Prueba en el Pliegue Caudal.

Es la prueba de rutina, cuando se desconoce la situación zoonosanitaria en materia de tuberculosis de un hato o lote de ganado o como sustituto de la prueba cervical simple tal como se indica en el punto 7.1.4.3., en todos los casos, debe ser aplicada por un Médico Veterinario Aprobado u Oficial. Los bovinos sujetos a esta prueba, deben ser identificados oficialmente, dicha información será asentada por el Médico Veterinario Aprobado u Oficial, quien emitirá los resultados de la prueba y los hará del conocimiento de los interesados.

7.1.4.1.1 Las técnicas de manejo para la aplicación de tuberculina en el pliegue caudal consistirán en:

a) Inmovilización del animal.

b) Limpieza de la zona donde se aplicará el biológico.

c) Insertar la aguja intradérmicamente, aplicando 0.1 ml del biológico. En el sitio de la aplicación, aparecerá un pequeño abultamiento.

d) En caso de no presentar el abultamiento, repetir la aplicación.

7.1.4.1.2. La interpretación de la prueba caudal, se ajustará a lo siguiente:

La lectura debe hacerla el mismo Médico Veterinario que efectuó la aplicación, mediante la observación y palpación del sitio de la inoculación, realizándose a las 72 horas \pm 6 horas posteriores a la aplicación del biológico, asimismo el médico verificará que se trata de los mismos animales inoculados y registrados en la Hoja de Campo.

7.1.4.1.3. Las reacciones se clasifican como:

Negativa: Cuando no se observe ni se palpe ningún cambio en la piel del sitio de aplicación.

Positiva: Cuando sea visible y/o palpable cualquier engrosamiento, rubor, calor, dolor o necrosis o cualquier cambio por mínimo que sea en el sitio de aplicación.

7.1.4.2. Prueba Cervical Comparativa.

Prueba autorizada, para confirmar o descartar animales positivos a la prueba de pliegue caudal. Se podrá efectuar por única vez dentro de los 10 días naturales siguientes a la inoculación de la prueba caudal; o bien después de transcurridos 60 días naturales, debiéndose aplicar por un Médico Veterinario Oficial o Médico Veterinario Aprobado adscrito al Gobierno del Estado o Médico Veterinario Aprobado adscrito a un Comité.

Esta prueba no debe ser utilizada en hatos, cuando el diagnóstico se haya establecido por el aislamiento de *M. bovis* de las muestras de los animales sacrificados.

Previo a la realización de la prueba, el Médico Veterinario debe contar con la documentación de la o las pruebas anteriores.

Para la aplicación de la Tuberculina en la prueba cervical comparativa, se tomarán en cuenta las siguientes prácticas:

Rasurar dos áreas cuadrangulares de al menos 5 cm por lado. El sitio de aplicación será en el tercio medio del cuello. El área superior será aproximadamente de 10 cm debajo de la cresta; el sitio inferior será aproximadamente de 10 cm debajo de la anterior, esta prueba se aplica mediante la inoculación intradérmica de 0.1 ml de PPD aviar en el área rasurada superior y 0.1 ml de PPD bovino en la inferior. Previo a la inoculación, se levanta un pliegue de piel en el centro de cada una de las áreas rasuradas y se procederá a medir el grosor de éstas, utilizando el cutímetro, debiendo registrarse en milímetros, los valores obtenidos, en los formatos para prueba cervical comparativa.

La lectura de esta prueba se realizará 72 horas (\pm 6 horas), midiendo con el cutímetro el grosor de la piel en el sitio de la aplicación, estas mediciones serán anotadas en la hoja de control de campo de la prueba cervical comparativa, conforme al "Apéndice A" (Normativo), sustrayendo el valor de la primera lectura al de la segunda, el resultado final debe redondearse según el siguiente ejemplo: de 6.2 baja a 6.0, 6.3 sube a 6.5; de 6.7 baja a 6.5; de 6.8 sube a 7; una vez realizada esta operación se procede a graficar los valores obtenidos tanto de PPD aviar como del bovino y el punto de intersección dará el resultado de la prueba. De acuerdo a la gráfica oficial, se interpretarán los resultados, conforme al "Apéndice A" (Normativo).

En el caso de que la reacción de un animal, se clasifique según la gráfica como sospechoso en dos pruebas consecutivas, se clasificará como positivo a la prueba.

7.1.4.3. Prueba cervical simple.

Esta prueba se empleará para probar hatos afectados o animales expuestos.

Se debe rasurar un área cuadrangular de al menos 5 cm por lado en donde se inoculará la tuberculina, en el tercio medio del cuello aproximadamente 10 cm debajo de la cresta. Esta prueba se aplica mediante la inoculación intradérmica de 0.1 ml de PPD bovino, haciendo la lectura el mismo Médico Veterinario que aplicó la prueba mediante la observación y palpación del sitio en donde se practicó, realizándose a las 72 \pm 6 horas posteriores a su inoculación.

Las reacciones se clasifican como:

Negativa: Cuando no se observe ni se palpe ningún cambio en la piel del sitio de aplicación.

Positiva: Cuando sea visible y/o palpable cualquier engrosamiento, rubor, calor, dolor o necrosis o cualquier cambio por mínimo que sea en el sitio de aplicación.

Esta prueba puede ser sustituida por una prueba de pliegue caudal, después de haber obtenido una primera prueba cervical simple negativa en todos los animales probados del hato o sin evidencia en el diagnóstico de laboratorio de los animales positivos. Los animales positivos a esta prueba de pliegue caudal, no serán sometidos a la prueba cervical comparativa y cualquier reacción será considerada positiva.

7.2. Análisis histopatológico, bacteriológico y de biología molecular.

7.2.1. Toma de muestras: La toma de muestras para estudios histopatológico, bacteriológico y molecular se realizará de la siguiente forma:

a) Las lesiones tuberculosas pueden ser caseosas o calcificadas, se seleccionarán y tomarán muestras de cualquiera de los siguientes órganos que presenten lesiones sugestivas a tuberculosis.

Nódulos Linfáticos. Preferentemente de los nódulos de la cabeza (retrofaríngeos, mandibulares y parotídeos), cervicales, mediastínicos y traqueobronquiales. Otros órganos: Pulmón, bazo, hígado, riñón, médula ósea, ovarios, útero, testículos o glándula mamaria.

b) Si el animal es positivo a la prueba de tuberculina y en la inspección postmortem no presenta lesiones granulomatosas, que sugieran la infección del animal, entonces se deben enviar al laboratorio cualquiera de las siguientes muestras: nódulos linfáticos de la cabeza (retrofaríngeos, mandibulares o parotídeos), traqueobronquiales o mediastínicos.

Las muestras para estudio histopatológico, deben fijarse con formol amortiguado al 10%, el tamaño de las mismas, debe ser de aproximadamente de 2 cm por lado, y en una proporción de una parte de tejido y nueve de formol.

Todas las muestras deben ser remitidas al laboratorio, acompañadas del formato de "Envío de Muestras para Diagnóstico de Tuberculosis" con toda la información requerida.

En el laboratorio, las muestras serán sometidas a las pruebas de diagnóstico histopatológico, bacteriológico y / o biología molecular.

7.2.2. Diagnóstico histopatológico.

a) Se realizará la tinción de hematoxilina-eosina, para identificar cualquier cambio morfológico de los tejidos, así como la presencia de lesiones granulomatosas.

b) Se realizará la tinción de Ziehl Neelsen, para identificar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes.

c) Además, pueden utilizarse las tinciones de Nueva Fucsina en cortes o improntas realizados con el material sospechoso.

Los resultados del estudio histopatológico se interpretan de la siguiente manera:

a) Sugestivo a Tuberculosis: Cuando en el campo microscópico se observa la lesión granulomatosa de tuberculosis caracterizada por una lesión necrótica caseosa y/o calcificada por mineralización, células epitelioides multinucleadas, células gigantes de tipo Langhams y macrófagos.

b) Compatible a Tuberculosis: Cuando en el campo microscópico se observan los bacilos ácido alcohol resistentes intra o extracelularmente, además de la lesión característica de tuberculosis (granulomatosa).

c) Negativo: Cuando en el campo microscópico no se observan las lesiones características de tuberculosis, ni bacilos ácido alcohol resistentes se reporta: que no se observaron lesiones a tuberculosis ni bacilos ácido alcohol resistentes, si se realizó el diagnóstico diferencial se reportará la concordancia con alguna de las enfermedades o que no se observaron lesiones compatibles con enfermedad alguna (de preferencia se debe incluir el diagnóstico diferencial).

7.2.3. Diagnóstico bacteriológico.

a) Examen directo: Mediante la tinción de Ziehl Neelsen o de Nueva Fucsina para microorganismos ácido alcohol resistentes en frotis realizados con el material sospechoso. En caso de ser una muestra positiva, con esta tinción se observarán bacilos teñidos de color rojo.

b) Examen indirecto: Cultivo, aislamiento e identificación del *Mycobacterium bovis spp.*, a través de la siembra de material sospechoso en medios de cultivo de Middlebrock 7H10, Middlebrock 7H11, Stonebrink con piruvato de sodio, Lowenstein Jensen y la tipificación por medios bioquímicos.

Las muestras para estudio bacteriológico, al momento de ser obtenidas, deben sumergirse en solución saturada de borato de sodio en proporción 1:1, las muestras no deben ser mayores a 2 cm por lado, debiendo enviar la muestra al laboratorio, en un periodo menor a 7 días y el laboratorio debe procesarla de manera inmediata. Ver "Apéndice B" (Normativo).

7.2.4. Diagnóstico por Biología Molecular.

Para efectos de la presente Norma estas técnicas solo pueden realizarse en muestras post mortem.

7.2.4.1. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Se realiza en tejidos frescos de menos de 72 horas con lesiones compatibles a tuberculosis, conforme al "Apéndice B" (Normativo).

Se utiliza como diagnóstico complementario preliminar a la confirmación por aislamiento bacteriológico.

7.2.4.2 Tipificación de Oligonucleótidos Espaciadores (Spoligotyping).

Esta técnica se puede utilizar en tejido fresco con lesiones compatibles o sugestivas de tuberculosis así mismo a partir de cepas o aislados de micobacterias, se puede utilizar como diagnóstico alternativo a la tipificación de tuberculosis. Ver "Apéndice B" (Normativo).

Puede ser utilizado en zonas de cualquier nivel de prevalencia.

7.2.5 Prueba de Interferón Gamma (γ IFN).

La prueba de γ IFN se utiliza como prueba complementaria y es considerada como la "prueba cervical comparativa in vitro" ya que distingue rápidamente los animales positivos por medio de la determinación de la producción de γ IFN específico contra *M. bovis* y *M. avium* en el plasma sanguíneo.

Este procedimiento se basa en detectar la presencia en plasma de las concentraciones medias de las Densidades Ópticas (OD) del γ IFN mediante el método Inmuno – Enzimática (EIA) cuando se sensibiliza al ganado bovino con la prueba de tuberculina y en el laboratorio la sangre con PPD bovino y aviar.

Los resultados se reportan positivos o negativos a *M. bovis*, o *M. avium* dependiendo del punto de corte establecido. Cualquier valor igual o mayor de 0.500 es considerado como positivo.

8. Constatación de hatos

8.1. Hato libre.

El Delegado de la SAGARPA, emitirá la constancia de hato libre, según corresponda y emitirá una relación mensual a la Dirección de Campañas Zoonosanitarias de las constancias otorgadas, canceladas y vencidas. Para la obtención de constancia de hato libre, se utiliza la prueba de tuberculina, siendo necesario llevar a cabo los siguientes pasos:

a) Para el Ganado Productor de leche y de doble propósito (mixto).- Se realizarán tres pruebas de tuberculina consecutivas, con resultados negativos a todos los animales de 2 meses en adelante, con intervalos de al menos 6 meses y no mayor de 12 meses entre una y otra prueba.

b) Para el ganado productor de carne.- Se realizarán dos pruebas de tuberculina consecutivas, con resultados negativos a todos los animales de 2 meses de edad en adelante, con intervalos entre 9 y 15 meses entre una y otra prueba.

c) No se deben probar hembras con más de siete meses de gestación, ni menos de 45 días posteriores al parto, lo cual debe registrarse en el dictamen de prueba.

d) Para el ganado de Lidia.- Se realizarán dos pruebas de tuberculina consecutivas, con resultados negativos a todas las hembras a partir de 2 meses de edad y machos destinados a la reproducción, con intervalos entre 9 y 15 meses entre una y otra prueba. Los machos destinados a las corridas, deben ser inspeccionados post-mortem en las plazas generando un reporte a la Delegación correspondiente con copia al propietario del hato y los destinados para otro fin que no sea la lidia, deben ser probados.

8.1.1. Durante el periodo de constatación del hato libre, todos los animales que ingresen al hato deben proceder de un hato libre o presentar su dictamen de prueba del hato de origen negativa, realizada dentro de un periodo no mayor de 12 meses previos a la movilización y una prueba negativa individual vigente.

8.1.2 Para el reporte de los resultados de las pruebas diagnósticas, se debe utilizar el dictamen de la prueba de tuberculina.

8.1.3. La constancia de hato libre de tuberculosis, tendrá una vigencia de 12 meses.

8.1.4. Las pruebas para la liberación de hatos cuarentenados no son válidas para la obtención de la Constancia de Hato Libre.

8.2. Revalidación de la Constancia de Hato Libre:

Para la revalidación de Hato Libre se debe cumplir con las siguientes condiciones:

8.2.1. Todos los animales que ingresaron al hato en los últimos 12 meses deben proceder de un hato libre.

8.2.2. Realizar una prueba de tuberculina en pliegue caudal con resultados negativos a todos los animales a partir de los 6 meses de edad, en un periodo no mayor de 30 días naturales antes de la fecha de vencimiento de la constancia. En caso de resultar animales positivos a la prueba de pliegue caudal debe realizarse la prueba cervical comparativa, conforme el punto 7.1.4.2 de la presente Norma.

8.2.3. La constancia de revalidación de hato libre de tuberculosis, tendrá una vigencia de 12 meses.

8.2.4. Es responsabilidad del propietario del hato, gestionar oportunamente la constatación y revalidación de hato libre, para lo cual debe conservar la documentación correspondiente.

8.3. Cancelación de la constancia de hato libre.

Es motivo de suspensión temporal de la Constancia de Hato Libre cuando se detecten animales positivos a pruebas de tuberculina y se podrá recuperar la validez de la Constancia cuando se concluya la investigación epidemiológica y se determine que el hato no está infectado.

Es motivo de cancelación definitiva de la constancia en cualquiera de los siguientes casos:

a) Por el hallazgo en rastros y confirmación de laboratorio, de animales infectados con tuberculosis procedentes directamente del Hato Libre.

b) Por la introducción de animales que no proceden de hatos libres.

c) Por cualquier evidencia epidemiológica de que el hato se encuentra infectado.

d) Por cualquier incumplimiento de las especificaciones establecidas en esta Norma.

8.4. Obtención de Constancia de Hato Libre Certificado.

8.4.1. El Delegado de la SAGARPA correspondiente, emitirá la constancia de hato libre certificado, cuando se cumpla con las siguientes condiciones:

8.4.1.1. Esta prueba será realizada por personal oficial de SAGARPA y será válida por un año para efecto de la certificación de hato libre. Las pruebas de re-certificación serán realizadas por personal oficial de SAGARPA.

8.4.1.2. Tener la Constancia de Hato Libre por los 2 últimos años y no haber tenido antecedentes de infección por tuberculosis. Los hatos que estuvieron infectados y que fueron liberados de la cuarentena, requieren haber conservado el hato libre por los últimos 5 años en forma consecutiva.

8.4.1.3. Los hatos adyacentes deben tener una prueba negativa dentro de los 12 meses previos a la certificación. Estos hatos adyacentes deben ser probados por personal oficial o Médicos Veterinarios Aprobados bajo supervisión oficial.

8.4.2. La Constancia de Hato Libre Certificado tendrá una vigencia de un año.

8.4.3. Se debe llevar a cabo una investigación epidemiológica del hato libre.

Para el cumplimiento del Hato Libre Certificado ver el "Apéndice E" (Normativo).

8.5. Cancelación de la constancia de hato libre certificado.

La cancelación de esta constancia se efectuará conforme a lo establecido en el punto 8.3. de la presente Norma.

9. Manejo de la unidad de producción lechera afectada por tuberculosis bovina

9.1. Consideraciones generales:

Este manejo de hato es de aplicación en las unidades lecheras con el propósito de disminuir la prevalencia de tuberculosis mediante el reemplazo con animales de una unidad de recría controlada hasta lograr la erradicación de esta enfermedad.

9.1.1. La unidad debe contar con un Médico Veterinario Aprobado por la Secretaría que será el responsable del manejo del hato, incluyendo las actividades dentro de la Unidad de Recría.

9.1.2. Todos los animales del hato deben ser sujetos a una prueba inicial que no afecte la curva de lactancia, para conocer la prevalencia e identificar positivos, la cual se realizará en un plazo de hasta 6 meses.

9.1.3. Una vez conocidos los animales positivos, estos serán identificados con arete rojo o una marca permanente con una letra "T" en el masetero izquierdo, de acuerdo a las disposiciones establecidas en esta Norma.

9.1.4. La eliminación de los animales positivos se llevará a cabo en forma programada, mediante convenio con el propietario, tomando en cuenta, edad, nivel de producción, estado fisiológico y calidad genética de los animales.

9.1.5. Los animales seleccionados para sacrificio, se deben enviar a rastro con inspección, para dar seguimiento al proceso de monitoreo.

9.1.6. Los animales positivos que permanezcan en el hato, deben ser lotificados para segregarlos dentro de la misma instalación.

Los animales negativos deben probarse cada año y aplicarse las mismas medidas.

9.1.7. Los establos que se encuentren en este programa no podrán realizar movilización de animales a otras explotaciones, salvo en el caso de movilización a una Unidad de Recría Controlada del mismo propietario o productores asociados dentro del mismo nivel zoonosanitario, autorizada por la Secretaría, en cuyo caso se realizará en transporte flejado.

9.1.8. El establo debe de aplicar un calendario de limpieza y desinfección en todas las instalaciones.

9.1.9. Aplicar medidas sanitarias para el control de roedores y fauna nociva.

9.2. Manejo de la recría en el Hato Afectado de Tuberculosis Bovina en Unidades de Producción Lecheras Especializadas.

9.2.1. No se deben probar hembras con más de siete meses de gestación ni menos de 45 días posteriores al parto.

9.2.2. Las crías que resulten negativas a la prueba de tuberculina, podrán ser enviadas a la Unidad de Recría Controlada.

9.2.3. Las crías deben separarse de la madre inmediatamente después del parto, alojarse en corraletas individuales y su alimentación debe ser con calostro de vacas negativas a la prueba de tuberculina o sustituto de calostro o calostro pasteurizado.

9.2.4. Las becerras de 2 a 3 meses de edad, deben ser probadas con tuberculina y las que resulten negativas podrán ser trasladadas a un corral comunitario, dentro de la misma instalación, aisladas del resto de los animales.

9.2.4.1. Las becerras de 2 a 3 meses de edad, deben ser probadas con tuberculina y las que resulten positivas podrán ser trasladadas a un corral comunitario de segregación y eliminación, dentro de la misma instalación, aisladas del resto de los animales.

9.2.5. A los 60 días posteriores deben ser probadas nuevamente y podrán movilizarse a la Unidad de Recría Controlada, donde llegarán al "Corral de Recepción" (ocupado únicamente por el lote de becerras que están ingresando en ese grupo).

9.2.6. Las becerras hasta de 6 meses de edad que resulten positivas a cualquiera de las pruebas de tuberculina deben ser identificadas con una marca permanente con una letra "T" en el masetero izquierdo o con el arete de color rojo en la oreja izquierda y únicamente podrán ser movilizadas para sacrificio en un

periodo no mayor de 10 días a partir de la fecha de lectura de la prueba a un rastro con inspección sanitaria y con el certificado zoosanitario correspondiente. En el caso de animales mayores de 6 meses, se sacrificarán o podrán regresar a la unidad de segregación del hato de origen. La eliminación de animales positivos se realizará de acuerdo al punto 9.1.4.

9.2.7. En los establos que cuenten con Unidad de Recría Controlada, el Médico Veterinario Aprobado por la Secretaría informará mensualmente las actividades realizadas y la programación de las mismas.

9.2.8. El establo debe de aplicar un calendario de limpieza y desinfección en todas las instalaciones del establo y la U.R.C, las actividades de higiene deben estar avaladas por el Médico Veterinario Aprobado por la Secretaría, con especial énfasis entre cada lote de becerras que ingresen al Corral de recepción.

9.3 Manejo de las unidades de recría controlada.

Las unidades de recría controlada tienen por objeto el acopio de becerras y vaquillas negativas a las pruebas de tuberculina destinadas al reemplazo en las unidades de producción lecheras con Medidas Zoosanitarias para el Control de la Tuberculosis bovina y deben cumplir con las siguientes especificaciones:

a) Los animales que ingresen a estas unidades deben proceder única y exclusivamente de unidades de producción que apliquen las Medidas Zoosanitarias para el Control de la Tuberculosis bovina en hatos lecheros. Estas unidades así como los hatos que apliquen estas medidas deben estar establecidas dentro de la misma región o estado y fase de campaña. Para el caso de la ubicación de las unidades de recría en regiones o Estados en fase de mayor o menor estatus o Estado diferente, debe contarse con la autorización de la Delegación de destino, previo análisis de riesgo favorable.

b) Estar aisladas sin posibilidad de contacto, con cualquier unidad de producción de bovinos, caprinos, ovinos, aves y porcinos; ni la explotación de otras especies animales en el área de la Recría Controlada. Adicionalmente debe contar con doble cerco perimetral con una separación de por lo menos 6 m entre ellos.

c) Debe contar con un Médico Veterinario Aprobado por la Secretaría.

d) Debe contar con embarcadero, corrales, bodega de alimentos, agua, mangas de manejo donde se realizarán las pruebas de tuberculina y un corral exclusivo para recepción de las becerras o vaquillas.

e) No debe sobrepasar la capacidad instalada.

f) Debe aplicar un calendario de limpieza y desinfección de instalaciones y equipo en los corrales de recepción al ingreso y egreso de cada lote.

g) En la Unidad de Recría Controlada, todos los animales deben ser identificados con arete oficial.

h) Una vez alcanzada la madurez sexual y que las hembras puedan ser utilizadas para el reemplazo, se les realizará una prueba de tuberculina que debe ser negativa para poder movilizarse hacia su hato.

i) Para la movilización de reingreso al hato de origen debe expedirse el certificado zoosanitario correspondiente y en vehículo flejado. El Médico Veterinario Zootecnista Aprobado llevará el control de estas movilizaciones.

Los animales al reingresar al hato de origen deben alojarse de tal manera que no tengan contacto con animales segregados del hato infectado. El objetivo es ir formando un hato nuevo negativo.

La programación en la sala de ordeño debe realizarse de tal manera que no coincidan animales de los diferentes grupos sanitarios.

j) Los animales positivos a las pruebas de tuberculina que se les realicen dentro de la Unidad de Recría Controlada, deben ser identificados con arete rojo o con una marca permanente con una letra "T" en el masetero izquierdo y enviados a sacrificio conforme al punto 9.4.1.

k) El acceso de personas y vehículos a la Unidad debe estar restringido y el ingreso de personal y vehículos autorizados deben ser sometidos a limpieza y desinfección antes de entrar a la Unidad de Recría Controlada.

10. Sacrificio

10.1. Los animales expuestos que se encuentran en un hato infectado, podrán ser movilizados a rastros con inspección, para su sacrificio inmediato. Previo a esta movilización debe darse aviso a la Delegación correspondiente y a los Organismos Auxiliares de la Secretaría con al menos dos días de anticipación de la movilización.

10.2. Los animales sospechosos o positivos deben ser sacrificados en un rastro con inspección dentro de la misma entidad federativa, en un periodo no mayor de 30 días naturales posteriores a la lectura de la prueba de tuberculina, previa concertación para la indemnización de los mismos, de acuerdo a la fase de campaña.

10.3. Los animales positivos o sospechosos a prueba de tuberculina, podrán ser movilizados a rastros con inspección, para su sacrificio inmediato. Previo a esta movilización debe darse aviso a la Delegación correspondiente y a los Organismos Auxiliares de la Secretaría con al menos dos días de anticipación de la movilización.

10.4. En los casos que se justifique, la Secretaría podrá autorizar el sacrificio de los animales positivos o expuestos en otra entidad federativa, si se obtiene la autorización de la Delegación Estatal de la SAGARPA en el estado de destino.

10.5. El propietario del hato de origen del ganado positivo o expuesto debe asegurarse del sacrificio de los animales y recabar el acta de verificación de sacrificio con el Médico responsable del rastro, misma que debe conservar por lo menos un año después del sacrificio.

10.6. El cumplimiento de las disposiciones anteriores es responsabilidad del propietario del ganado.

10.7 Cuando las movilizaciones de bovinos sean para sacrificio, la entidad federativa emisora, deberá informar a la entidad federativa receptora sobre dichas movilizaciones en forma mensual. La entidad receptora, informará de los resultados de la inspección sanitaria del ganado sacrificado, a la entidad emisora a través de la Delegación y el Comité correspondiente. La Delegación notificará semestralmente a la Dirección de Campañas Zoonosológicas.

11. Movilización

11.1. Toda movilización de animales que se realice a otra entidad federativa o región sanitaria, debe contar con el Certificado Zoonosológico de Movilización e Identificación individual oficial.

11.2. Las siguientes especificaciones de movilización deberán cumplirse cuando los animales se movilicen de una entidad federativa a otra o cuando se movilicen a otra región sanitaria.

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
LIBRE	Cualquier Estado o Región	Cualquier tipo de movilización sin Restricción.
ERRADICACION III	Cualquier Estado o Región	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria.</p> <p>Ganado Entero para Engorda: Podrán moverse sin prueba de tuberculina sólo a corrales de engorda designados por la Secretaría, e identificados con una marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI y la marca CN.</p> <p>Ganado castrado para engorda o repasto: Podrán moverse sin prueba de tuberculina identificados con una marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI y la marca CN.</p> <p>Ganado para Reproducción procedente de Hato Libre: Podrá moverse sin restricción.</p> <p>Ganado para Reproducción, excepto de Hato Libre: podrá moverse con una prueba negativa de tuberculina de lote a moverse realizada dentro de los 60 días previos a la movilización.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá moverse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones del evento; si no es sacrificado debe sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
		<p>Ganado entero o castrado para Deportes o Espectáculos: podrá moverse con prueba negativa de lote a mover, identificado en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI.</p> <p>Ganado para Ferias y Exposiciones: Debe cumplir con prueba negativa del lote a mover y cumplir con lo establecido en el "Apéndice D" (Normativo).</p>
ERRADICACION II	Libre Erradicación III	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, cuando el rastro de destino no cuente con inspección se requerirá prueba negativa individual, en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero para Engorda: Podrán moverse sólo a Corrales de engorda designados por la Secretaría, con una prueba negativa de tuberculina del lote a mover realizada dentro de los 60 días previos a su movilización, identificados con una marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y con la marca CN en la región sacro coccígea del mismo lado y en vehículos flejados.</p> <p>Ganado Castrado para Engorda o repasto: Podrán moverse con una prueba negativa de tuberculina del lote a mover realizada dentro de los 60 días previos a su movilización, identificados con la marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN.</p> <p>Ganado para Reproducción procedente de Hato Libre: Podrá moverse sin restricciones, en vehículos flejados.</p> <p>Ganado para Reproducción, excepto de Hato Libre: Requiere una prueba de tuberculina negativa del Hato de Origen realizada dentro de los 12 meses previos de la movilización más una prueba de tuberculina negativa del lote a mover realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, en vehículos flejados.</p> <p>Ganado para Lidia: podrá moverse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento; si no es sacrificado debe sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p> <p>Ganado para Deporte o Espectáculo: Únicamente podrá moverse cumpliendo con hato libre, o prueba negativa de hato y prueba negativa de lote a mover, identificado en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI.</p> <p>Ganado para Ferias y Exposiciones: Debe cumplir con hato libre o prueba de hato negativa más prueba negativa del lote y cumplir con lo establecido en el "Apéndice D" (Normativo).</p>
ERRADICACION II	Erradicación II Erradicación I	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, cuando el rastro de destino no cuente con inspección se requerirá prueba negativa individual, en vehículo flejado.</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
	Control Sin clasificación	<p>Ganado Entero para Engorda: Podrán movilizarse sólo a Corrales de engorda designados por la Secretaría, con una prueba negativa de tuberculina del lote a movilizar realizada dentro de los 60 días previos a su movilización, identificados con una marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y con la marca CN en la región sacro coccígea del mismo lado y en vehículos flejados.</p> <p>Ganado Entero para Repasto: Podrán movilizarse sólo a engordas aprobadas con pastoreo restringido, con una prueba negativa de tuberculina del lote a movilizar realizada dentro de los 60 días previos a su movilización, identificados con una marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI y con la marca CN en la región sacro coccígea del mismo lado y en vehículos flejados.</p> <p>Ganado Castrado para Engorda o repasto: Podrán movilizarse con una prueba negativa de tuberculina del lote a movilizar realizada dentro de los 60 días previos a su movilización, identificados con la marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN.</p> <p>Ganado para Reproducción procedente de Hato Libre: Podrá movilizarse sin restricciones, en vehículos flejados.</p> <p>Ganado para Reproducción, excepto de Hato Libre: Requiere una prueba de tuberculina negativa del Hato de Origen realizada dentro de los 12 meses previos de la movilización más una prueba de tuberculina negativa del lote a movilizar realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, en vehículos flejados.</p> <p>Ganado para Lidia: podrá movilizarse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento; si no es sacrificado debe sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p> <p>Ganado para Deporte o Espectáculo: Únicamente podrá movilizarse cumpliendo con hato libre, o prueba negativa de hato y prueba negativa de lote a movilizar, identificado en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI.</p> <p>Ganado para Ferias y Exposiciones: Debe cumplir con hato libre o prueba de hato negativa más prueba negativa del lote y cumplir con lo establecido en el "Apéndice D" (Normativo).</p>
ERRADICACION I	Libre, Erradicación III	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero y Castrado para Engorda: Podrán movilizarse sólo a corrales de engorda designados por la Secretaría con una prueba de tuberculina negativa del lote a movilizar, realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, identificados con la marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
		<p>número del Estado de origen reconocido por INEGI, y con la marca CN en la región sacro coccígea del mismo lado y en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero para Repasto: Podrán movilizarse sólo a engordas aprobadas con pastoreo restringido, con una prueba negativa de tuberculina del lote a movilizar realizada dentro de los 60 días previos a su movilización, identificados con una marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI y con la marca CN en la región sacro coccígea del mismo lado y en vehículos flejados.</p> <p>Ganado para Reproducción solo procedente de Hato Libre: Requiere una prueba de tuberculina negativa del lote a movilizar realizada dentro de los 60 días previos a la movilización.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá movilizarse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento. Si no es sacrificado debe regresarse a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo el animal debe sacrificarse.</p> <p>Ganado para Deporte o Espectáculo: Únicamente podrá movilizarse cumpliendo con hato libre, o prueba negativa de hato más prueba negativa de lote a movilizar, debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, retornando a su lugar de origen en vehículos flejados de origen.</p> <p>Ganado para Ferias y Exposiciones: requiere hato libre más prueba negativa vigente de lote a movilizar y cumplir con lo establecido en el "Apéndice D" (Normativo)</p>
ERRADICACION I	Erradicación I Erradicación II	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero para Engorda: Podrán movilizarse sólo a corrales de engorda designados por la Secretaría con una prueba de tuberculina negativa del lote a movilizar, realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, identificados con la marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del Estado de origen reconocido por INEGI, y con la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero para Repasto: Podrán movilizarse sólo a corrales de engorda designados con pastoreo restringido por la Secretaría con una prueba de tuberculina negativa del lote a movilizar, realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, identificados con la marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del Estado de origen reconocido por INEGI, y con la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Castrado para Engorda o Repasto.- podrán movilizarse con una prueba de tuberculina negativa del lote a movilizar realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, identificados con una marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por el INEGI, en vehículo flejado y con la marca CN en la región sacro coccígea derecha.</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
		<p>Ganado para Reproducción: sólo procedente de Hato Libre, más una prueba de tuberculina negativa vigente del lote a movilizar.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá mobilizarse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento. Si no es sacrificado debe regresarse a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo el animal debe sacrificarse.</p> <p>Ganado para Deporte o Espectáculo: Unicamente podrá mobilizarse con hato libre o prueba negativa de hato vigente más prueba negativa vigente del lote a movilizar, debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, retornando a su lugar de origen con vehículos flejados de origen.</p> <p>Ganado para Ferias y Exposiciones: Debe cumplir con hato libre o prueba negativa de hato, más prueba negativa de lote a movilizar vigentes y cumplir con lo establecido en el "Apéndice D" (Normativo)</p>
ERRADICACION I	Control o sin Clasificación	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria. En caso de mobilizarse a rastro sin inspección se requiere la prueba de tuberculina negativa del lote.</p> <p>Ganado Entero y Castrado para Engorda: Podrán mobilizarse con una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI, la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado.</p> <p>Ganado para Reproducción: Hato Libre o prueba negativa de hato, más prueba negativa de lote. Para la movilización debe realizarse en vehículos flejados.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá mobilizarse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento. Si no es sacrificado debe regresarse a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo el animal debe sacrificarse.</p> <p>Ganado para Deporte o Espectáculo: Unicamente podrá mobilizarse cumpliendo con hato libre, o prueba negativa de hato más prueba negativa de lote a movilizar, vigentes. Debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, retornando a su lugar de origen en vehículos flejados.</p> <p>Ganado para Ferias y Exposiciones: Debe cumplir con hato libre o prueba negativa de hato, más prueba negativa del lote a movilizar vigentes.</p>
CONTROL	Libre Erradicación III	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, previa autorización por escrito del rastro destino, identificados con arete oficial de campaña y las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea derecha, en vehículo flejado.</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
		<p>Ganado para Engorda; Ganado para Reproducción; Deportes o Espectáculos, Ferias y Exposiciones: Prohibida su movilización.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá moverse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, si no es sacrificado debe regresar a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p>
CONTROL	Erradicación I Erradicación II	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado; cuando el rastro de destino no cuenta con inspección se requiere prueba individual.</p> <p>Ganado Entero o Castrado para Engorda: Podrán moverse a corrales de engorda designados por la Secretaría, con una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de 60 días previos a su movilización, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero y Castrado para Repasto: Podrán moverse con una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de los 60 días previos a la movilización, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI, la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado, sólo a Engordas Aprobadas con pastoreo restringido, ver "Apéndice G" (Normativo).</p> <p>Reproducción: Podrá moverse sólo de Hato Libre Certificado.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá moverse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, si no es sacrificado debe regresar a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p> <p>Deportes y Espectáculos: Podrá moverse de Hato Libre o Hato Libre Certificado o con una prueba de tuberculina negativa del Hato de Origen completo realizada dentro de los 12 meses previos a la movilización más una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de 60 días previos a su movilización, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI, debiendo permanecer confinados en las instalaciones destinadas al evento, retornando a su lugar de origen.</p> <p>Para exhibición en Ferias y Exposiciones: Hato Libre y prueba negativa vigente de lote a mover.</p> <p>Para Venta en Ferias y Exposiciones: presentar constancia de Hato Libre Certificado.</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
CONTROL	Control Sin Clasificación	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro, en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero o Castrado para Engorda y Repasto: Podrán movilizarse con una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de 60 días previos a su movilización, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado.</p> <p>Reproducción, Deportes y Espectáculos: Podrá movilizarse sólo de Hato Libre o con una prueba de tuberculina negativa del Hato de Origen realizada dentro de los 12 meses previos a la movilización más una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de 60 días previos a su movilización.</p> <p>Ferias o Exposiciones: Podrá movilizarse con hato libre, o prueba de hato más prueba de lote a movilizar.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá movilizarse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, si no es sacrificado debe regresarse a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p>
Sin Clasificación	Libre Erradicación III	<p>Ganado para sacrificio: Sólo se permite la movilización para Sacrificio inmediato en un rastro con inspección, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado.</p> <p>Ganado para Engorda; Ganado para Reproducción; Deportes o Espectáculos, Ferias y Exposiciones: Prohibida su movilización.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá movilizarse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, si no es sacrificado debe regresarse a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p>
Sin Clasificación	Erradicación II Erradicación I	<p>Ganado para sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea del mismo lado, en vehículo flejado; cuando el rastro de destino no cuente con inspección se requerirá también prueba individual de tuberculina.</p> <p>Ganado Entero o Castrado para Engorda: Podrán movilizarse a corrales de engorda designados por la Secretaría, con una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de 60 días previos a su movilización, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado</p> <p>Ganado para Repasto: Prohibida su movilización.</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
		<p>Ganado para Reproducción: Prohibida su movilización.</p> <p>Ganado para Deportes y Espectáculo: Podrá moverse sólo de Hato libre o Prueba del hato más una prueba del lote a movilizar, identificados con la marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI.</p> <p>Ganado para Ferias y Exposiciones: Podrá moverse sólo de Hato libre o Prueba del hato, más una prueba del lote a movilizar, identificados con algún dispositivo oficial y regresará a su hato de origen.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá moverse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, si no es sacrificado debe regresar a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p>
Sin Clasificación	Control	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro con inspección sanitaria, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea del mismo lado, en vehículo flejado; cuando el rastro de destino no cuente con inspección se requerirá también prueba individual de tuberculina.</p> <p>Ganado Entero o Castrado para Engorda y Repasto: Se podrá mover con una prueba del lote, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y CN, en vehículo flejado.</p> <p>Ganado para Reproducción: Se podrá mover con Hato Libre, más una prueba del lote.</p> <p>Ganado para Ferias, Deportes y Espectáculos: Se podrá mover con Hato libre o Prueba del Hato más prueba del lote, identificado con la marca permanente en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá moverse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, si no es sacrificado debe regresar a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo, el animal debe sacrificarse.</p>
Sin Clasificación	Sin Clasificación	<p>Ganado para Sacrificio: No requiere prueba de tuberculina y su movilización debe hacerse directo a rastro y en vehículo flejado.</p> <p>Ganado Entero o Castrado para Engorda y Repasto: Podrán moverse con una prueba de tuberculina negativa del lote realizada dentro de 60 días previos a su movilización, identificados con las marcas permanentes en la región sacro coccígea derecha con el número del estado de origen reconocido por INEGI y la marca CN en la región sacro coccígea derecha y en vehículo flejado</p>

ORIGEN	DESTINO	REQUISITOS
		<p>Ganado para Reproducción: Se podrá movilizar con Hato libre, más una Prueba del lote.</p> <p>Ganado para Deporte o Espectáculo: prueba negativa de hato y del lote a movilizar, vigentes. Debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, retornando a su lugar de origen en vehículos flejados.</p> <p>Para exhibición en Ferias y Exposiciones: prueba negativa vigente de lote a movilizar.</p> <p>Para Venta en Ferias y Exposiciones: presentar constancia de Hato Libre o Prueba negativa de Hato, más prueba negativa del lote.</p> <p>Ganado para Lidia: Podrá movilizarse sin la prueba de tuberculina debiendo permanecer confinado en las instalaciones destinadas al evento, si no es sacrificado debe regresarse a su lugar de origen o sujetarse a una prueba de tuberculina, si el resultado es positivo el animal debe sacrificarse.</p>

Requisitos para la Movilización de Ganado dentro del Esquema de Medidas Zoonosanitarias para el Control de la Tuberculosis Bovina en el Hato Lechero.

Origen	Destino	a) Requisitos
Control	Control Sin Clasificación	<p>Becerras para recría procedentes de hatos lecheros en control de TB: Podrán movilizarse a las "Unidades De Recría Controlada" con dos pruebas negativas individuales realizando la primera a los tres meses de edad y la segunda prueba por lo menos 60 días después de la prueba anterior; sólo para animales que provengan de unidades de producción que aplican las "Medidas Zoonosanitarias para el Control de la Tuberculosis Bovina en el Hato Lechero".</p> <p>Vaquillas procedentes de las "Unidades de Recría Controlada": podrán regresar como reemplazos únicamente al hato de origen y con prueba negativa de lote.</p> <p>Ganado lechero procedente de unidades de producción que aplican las "Medidas Zoonosanitarias para el Control de la Tuberculosis Bovina en el Hato Lechero" y hayan resultado negativas en la prueba de segregación, podrán movilizarse a ferias o exposiciones con prueba negativa individual, cumpliendo el protocolo de ferias y exposiciones específico, descrito en el "Apéndice I" (Normativo) y debe regresar al hato de origen al término del evento, constatado por personal oficial o de los Organismos Auxiliares. Los animales deben presentar una identificación permanente autorizado por la Secretaría.</p>

12. Importación

12.1 Los animales que se pretendan introducir al país, deben incluir en su documentación, un certificado oficial que los ampare como originarios y procedentes de una zona o país reconocida oficialmente por la Dirección, según corresponda, para lo cual, la zona o país de origen y/o procedencia, deben solicitar por escrito su reconocimiento y en su caso la equivalencia conforme a las fases de campaña establecidas en la presente Norma.

12.2 Todo animal que se pretenda importar a México, debe contar con una identificación oficial del país de origen. Adicionalmente, antes de su ingreso al país, se le aplicará la identificación del SINIIGA, especialmente autorizado para el ganado importado.

12.3 La Dirección de Campañas Zoonositarias conforme al inciso anterior, podrá establecer de conformidad con las bases científicas internacionales, los requisitos sanitarios de regionalización o compartimentación en zonas o países, en los cuales se demuestre previo análisis cualitativo o cuantitativo, un riesgo insignificante, siempre y cuando no se contraponga con los preceptos establecidos en la presente Norma.

12.4 En el caso de que se conozca que animales procedentes de un país o zona reconocida oficialmente por México, provienen de un hato afectado con tuberculosis, los animales que se encuentren en tránsito hacia territorio nacional o que se encuentren retenidos en un punto de ingreso al país, así como los que ya se encuentren en territorio nacional, serán cuarentenados en lugares específicos autorizados por la Dirección y se hará el seguimiento epidemiológico correspondiente. Cuando la Dirección determine negar la importación, los animales deben ser regresados al país de origen o procedencia o sacrificados con cargo al propietario o importador.

12.5. El procedimiento para evaluar la regionalización de países o zonas por parte de la Secretaría, con fines de exportación de animales a México, serán los siguientes:

12.5.1. Solicitud expresa del país exportador o de sus servicios veterinarios oficiales.

12.5.2. Contestar el "Apéndice F" (Normativo) y la información adicional solicitada, según sea el caso, con soporte documental.

12.5.3. Análisis epidemiológico realizado por la Dirección, conforme a la información remitida por el país solicitante, según sea el caso, se solicitará información adicional o de soporte técnico.

12.5.4. Personal de la Dirección de Campañas Zoonositarias, realizará una visita técnica de evaluación y constatación de la información proporcionada.

12.5.5. Una vez realizado el análisis de riesgo correspondiente se emitirá el dictamen; en caso de ser favorable y según la fase equivalente con la presente Norma, se establecerán los requisitos para la importación conforme al punto 5 de la Norma. En el caso de que el reconocimiento sea como libre se realizarán los trámites administrativos para su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

12.5.6. En el caso de cambio de la situación sanitaria o incumplimiento en la presente Norma, la Dirección cancelará la condición de libre o la equivalencia de fase de campaña otorgada, según corresponda.

12.5.7. La Dirección de Campañas Zoonositarias, podrá corroborar en animales vivos, la veracidad de los resultados de pruebas oficiales del país exportador, mediante las pruebas diagnósticas establecidas en el punto 7. de la presente Norma.

13. Vigilancia epidemiológica

13.1 Por ser la tuberculosis bovina, una enfermedad de reporte obligatorio se requiere la notificación de todos los casos de esta enfermedad por medio de los productores de bovinos, Médicos Veterinarios, investigadores, inspectores en plantas de sacrificio y establecimientos que sacrifiquen bovinos, así como laboratorios de diagnóstico y todo aquél relacionado con la producción y comercialización de bovinos, conforme a lo establecido en esta Norma y la NOM-046-ZOO-1995, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, según corresponda.

13.2. La Secretaría llevará a cabo la vigilancia epidemiológica mediante el análisis de la información generada por los sectores participantes en la operación de la Campaña.

13.3. Para efectos de la Campaña, la vigilancia epidemiológica de la tuberculosis se llevará a cabo por medio de:

13.3.1. Los Médicos Veterinarios Zootecnistas Aprobados u Oficiales, quienes deben enviar los reportes de todos los resultados de las tuberculinizaciones efectuadas en los bovinos. Dicha información, debe ser remitida mensualmente o dentro de 24 horas al hallazgo, cuando existan positivos, a los supervisores de la Campaña Nacional contra la tuberculosis y a los organismos auxiliares de la Secretaría en cada estado, quienes a su vez reportarán a los Coordinadores Estatales y a la Dirección de Campañas Zoonositarias.

13.3.2. Para la inspección en rastros y mataderos, se debe contar con al menos un médico veterinario responsable de la inspección de bovinos para detectar las lesiones sugestivas de tuberculosis.

13.3.3. Los Médicos Veterinarios encargados de la inspección en los rastros, serán responsables de la toma y envío de muestras granulomatosas conforme al numeral 7.2.1. de la presente Norma tanto en animales de matanza regular, así como de animales identificados como sospechosos y positivos. Asimismo, debe llevar registros de los casos sugestivos a tuberculosis bovina e informar de manera oportuna a los organismos auxiliares quienes a su vez informarán a la Delegación correspondiente.

13.3.4. Los laboratorios de diagnóstico clínico zoonosarios oficiales, autorizados o aprobados por la Secretaría a nivel nacional, se encargarán de realizar las pruebas diagnósticas en las muestras procedentes de rastro e informar de manera oportuna a la Dirección de Vigilancia Epidemiológica.

13.3.5. Cualquier investigación que implique el uso de *M. bovis*, debe ser previamente evaluada y en su caso autorizada por la Dirección.

13.4. Los animales en los cuales se haya diagnosticado tuberculosis, propiciarán el inicio de una investigación epidemiológica exhaustiva, cumpliendo lo especificado en la presente Norma.

13.5. En los estados o regiones que se identifique un alto riesgo sanitario mediante un análisis epidemiológico, la Secretaría podrá establecer zonas de amortiguamiento que permitan disminuir el riesgo de infección con medidas de vigilancia epidemiológica adicionales, tales como la realización de pruebas anuales en la totalidad de hatos contenidos en el área de amortiguamiento establecida.

14. Medidas cuarentenarias

La cuarentena o el confinamiento deben ser notificados al o los propietarios del hato o lote, mediante oficio emitido por la Delegación, precisando el motivo, sustento legal y el procedimiento para ser liberada. La cuarentena podrá ser precautoria o definitiva.

Una cuarentena precautoria debe cambiar a definitiva, en los casos mencionados en el punto 14.2. incisos a) y b).

14.1. La Delegación Estatal de la Secretaría aplicará cuarentena precautoria en cualquiera de los siguientes casos:

a) En el hato o lote en el que los Médicos Veterinarios Verificadores u Oficiales detecten animales positivos a la prueba de tuberculina en el pliegue caudal y no se realice la prueba cervical comparativa dentro de un plazo no mayor a 10 días posteriores a la inoculación de la prueba de pliegue caudal. Su liberación se llevará a cabo, mediante una prueba cervical comparativa con resultados negativos de los animales positivos a la caudal.

b) En el hato o lote en el que los Médicos Veterinarios Verificadores u Oficiales detecten animales positivos o sospechosos a la prueba de tuberculina cervical comparativa. En el caso de animales positivos y sospechosos enviados a sacrificio, la cuarentena se liberará una vez que se sacrifiquen éstos y no se encuentren lesiones sugestivas y el resultado de laboratorio sea negativo, debiéndose llevar a cabo una prueba de tuberculina en el pliegue caudal con resultado negativo a la totalidad del hato o lote cuarentenado.

c) En el hato o lote de origen de los animales que al ser sacrificados en matanza regular se detecten lesiones que por resultados de histopatología sean sugestivos o compatibles a tuberculosis. La liberación de cuarentena, se realizará mediante una prueba de tuberculina negativa en el pliegue caudal a la totalidad del hato o lote cuarentenado.

d) En el hato o lote que sea el origen de los animales encontrados en un hato o lote infectado. La liberación de cuarentena, se realizará mediante una prueba de tuberculina negativa en el pliegue caudal a la totalidad del hato o lote cuarentenado.

e) En el hato o lote que se determine que ha tenido contacto con un hato o lote infectado. La liberación de cuarentena, se realizará mediante una prueba de tuberculina negativa en el pliegue caudal a la totalidad del hato o lote cuarentenado.

f) En los hatos o lotes que sean adyacentes a un hato o lote infectado. La liberación de cuarentena, se realizará mediante una prueba de tuberculina negativa en el pliegue caudal a la totalidad del hato o lote cuarentenado.

g) En el hato cuyo propietario no realice la prueba de tuberculina a la totalidad de su hato dentro de los 120 días naturales posteriores a la notificación realizada por la Delegación o un Comité. La liberación de cuarentena, se realizará mediante una prueba de tuberculina negativa en el pliegue caudal a la totalidad del hato cuarentenado.

14.2 La Delegación aplicará cuarentena definitiva en cualquiera de los siguientes casos:

a) En el hato o lote que se confirme la infección a través del aislamiento y tipificación de *M. bovis*.

b) Cuando la Secretaría determine que en un hato o lote que por estudios epidemiológicos, en los que se incluyen las pruebas de campo, lesiones en la inspección postmortem y resultados de histopatología compatible o sugestiva o PCR o gama interferón que indiquen la presencia de *M. bovis*.

14.2.1. Los animales expuestos dentro del hato cuarentenado de manera definitiva, deben permanecer en el mismo hasta su despoblación o el cumplimiento de pruebas para la liberación de la cuarentena.

14.2.2. Los animales expuestos podrán ser movilizados a corrales de engorda cuarentenados dentro de la misma región o estado, cumpliendo con una prueba de tuberculina negativa y vigente, marcados con CN en la región sacro coccígea derecha, identificación oficial y con autorización de la Delegación correspondiente.

14.3. Para liberar la cuarentena definitiva se deben realizar cuatro pruebas consecutivas de tuberculina a la totalidad del hato a partir de dos meses de edad, con resultados negativos, debiendo realizarse la segunda prueba después de al menos 60 días naturales de haber realizado la primera; la tercera prueba después de al menos 180 días naturales de efectuada la segunda prueba y la cuarta después de al menos 180 días de la tercera. Siempre y cuando, además de las pruebas se hayan cumplido las medidas cuarentenarias indicadas en esta Norma.

14.3.1. El levantamiento de la cuarentena se realizará mediante oficio emitido por la Secretaría, cuando la unidad de producción cumpla con las medidas zoonosanitarias establecidas en numeral 14.3.

14.3.2. Será obligatorio realizar una prueba más para efectos de vigilancia epidemiológica a los 12 meses después de la última prueba de liberación de cuarentena, debiendo registrar durante este periodo los egresos de ganado especificando el destino de los mismos, lo cual debe ser notificado a la Delegación y Comité.

14.4. En el caso de ganado productor de leche que se encuentre inscrito en el programa de manejo de la unidad de producción lechera afectada por tuberculosis bovina, se podrá realizar el confinamiento de hato, conforme a los resultados obtenidos en las pruebas de tuberculina.

15. Desinfección

Dado que la fuente principal de infección la constituye el animal enfermo que a través de sus excreciones y secreciones contagia a los animales sanos, aunando a esto la alta resistencia del germen en el medio ambiente, nos obliga a utilizar elementos físicos y/o sustancias químicas, para lograr su inactivación o destrucción.

15.1. Cuando sea detectado y eliminado algún animal reactor en instalaciones del tipo intensivo, debe realizarse la desinfección de las mismas, en especial de aquellos sitios donde se alojaba dicho animal.

15.2. La desinfección debe realizarse a través de una limpieza mecánica previa y un lavado enérgico con agua y jabón, con el objeto de eliminar al máximo la materia orgánica, posteriormente se deben aplicar productos desinfectantes, que garanticen la destrucción del microorganismo.

15.3. Todos los productos químicos desinfectantes utilizados en las actividades de la Campaña, deben ser aprobados y registrados por la Secretaría.

15.4. Los métodos y frecuencias de desinfección que se apliquen, dependen del tipo de unidad de producción, instalaciones o áreas de que se trate y de acuerdo a las indicaciones de cada fabricante.

16. Fondos de contingencia

La Secretaría podrá acordar y convenir con cualquier instancia de Gobierno, así como con los Organismos Auxiliares y particulares, la creación de fondos de contingencia para establecer con agilidad las medidas zoonitarias necesarias, con el propósito de disminuir la prevalencia o erradicar la tuberculosis bovina en una región determinada.

17. Evaluación de la conformidad

El procedimiento de evaluación de la conformidad para la presente regulación será el establecido en los Procedimientos para la evaluación de la conformidad de las normas oficiales mexicanas en materia zoonitaria, competencia de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, publicados en el Diario Oficial de la Federación el 8 de abril de 2005.

18. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma Oficial Mexicana no es equivalente con alguna Norma internacional en el momento de su elaboración.

19. Sanciones

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

20. Bibliografía

Acuerdo mediante el cual se establecen los requisitos para autorizar a los Médicos Veterinarios, laboratorios de constatación y organismos coordinadores de la movilización animal, como auxiliares de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, para el cumplimiento de la normatividad en materia zoonitaria, publicada en el DOF el 4 de julio de 2006.

Acuerdo por el que se establecen los requisitos para autorizar a los laboratorios de diagnóstico clínico zoonitario como auxiliares de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, para el cumplimiento de la normatividad en materia zoonitaria, publicada en el DOF el 28 de junio de 2005.

APHIS Bovine Tuberculosis Eradication. Uniform Methods and Rules. USDA. 2005.

Code of Federal Regulations Animals and Animal Products. Part 77 Tuberculosis Pg. 209-212 1993.

Manual de Normas y Procedimientos de la Campaña contra la Tuberculosis Bovina. SARH/1992.

Memorias del Seminario de Actualización para Médicos Veterinarios en la Erradicación de la Tuberculosis bovina. Robert M. Meyer.- 1998-1999.

Procedimientos para estudios de Prevalencia de enfermedades crónicas en el ganado. (nota técnica 18) Centro Panamericano de Zoonosis OPS/OMS 1973.

Veterinary Epidemiology. Principles and Methods. (S. Wayne Martin, Alan H. Meek and Prben Willeberg), fourth printing, 1994.

TRANSITORIOS

UNICO.- La presente Norma entrará en vigor el día siguiente al de su publicación en el Diario Oficial de la Federación, a excepción del punto 12. Importación el cual entrará en vigor 60 días naturales después de su publicación.

En la Ciudad de México, Distrito Federal, a los veintinueve días del mes de octubre de dos mil siete.- El Coordinador General Jurídico de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, **Wolfgang Rodolfo González Muñoz.-** Rúbrica.



SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, PESQUERÍA Y FOMENTO
MEXICO

*plata de (Moneda)

**SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,
INOQUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA**
DIRECCION GENERAL DE SALUD ANIMAL
CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA



ESTADO	FECHA
...	...

APPELLIDO PATERNO	APPELLIDO MATERNO	NOVEDAD

Nc.	I	EDAD	EDAD EN MESES	RASA	SEXO	FECHA	PER	Nc.	I	EDAD	EDAD EN MESES	RASA	SEXO	FECHA	PER
1								2							
3								4							
5								6							
7								8							
9								10							
11								12							
13								14							
15								16							
17								18							
19								20							
21								22							
23								24							
25								26							
27								28							
29								30							
31								32							
33								34							
35								36							
37								38							
39								40							
41								42							
43								44							
45								46							
47								48							
49								50							

1	...
2	...
3	...

1	...
2	...
3	...

LA FERIA		
...
...

(FIRMAR Y ENTREGAR AL SEÑALADO)

FIRMA DEL VETERINARIO

FIRMA DEL SEÑALADO

BOCOPLENEDUVALIA IDB CON A SERVICIO CALIDAD-GENERAL EJIDOCENTRAL

FIRMA FISCAL
SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, PESQUERÍA Y FOMENTO

Apéndice 74 (Anexo)



SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

**SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,
INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA**

**DIRECCION GENERAL DE SALUD ANIMAL
CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA**



SECRETARÍA DE
FEDERACIÓN DE
TUBERCULOSIS

**CONTROL DE CAMPO
PRUEBA CERVICAL COMPARATIVA**

888 No.

PROPIETARIO	DOMICILIO	MUNICIPIO Y ESTADO
LABORIO	UBICACIÓN	MUNICIPIO Y ESTADO

MARCA ANTIGUA MARCA _____ MOTIVO DE PRUEBA _____		LABORIO NOMBRE _____ DIRECCIÓN _____ TELÉFONO _____ TOTAL REVISADO _____ TOTAL DE CASOS _____	MARCA NUEVA MARCA _____ MOTIVO DE PRUEBA _____ MARCA VERIFICANTE No. _____ MOTIVO PRUEBA () _____ MOTIVO VERIFICANTE No. _____ MOTIVO PRUEBA () _____
TIPO DE EXPLOTACIÓN LECHE () CARNE () MISCIO ()	TIPO DE IDENTIFICACIÓN ANTE () TAPAJE () OTRO _____	TÉCNICA BOVIN () LOTE No. _____ LOTE No. _____ MARCA ANTIGUA () MARCA NUEVA ()	MOTIVO VERIFICANTE No. _____ MOTIVO PRUEBA () _____ MOTIVO VERIFICANTE No. _____ MOTIVO PRUEBA () _____

No. DE IDENTIFICACIÓN	RAZA ABLENTORES	SEXO	EDAD (MES)	TUBERCULINA			RESULTADO		COMENTARIOS
				REACTIVA NEGATIVA	REACTIVA POSITIVA	INDIFERENCIA	REACTIVA	NEGATIVA	
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					
				A					
				B					

Apéndice 7^o (Normativa)



SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PECUA Y ALIMENTACIÓN

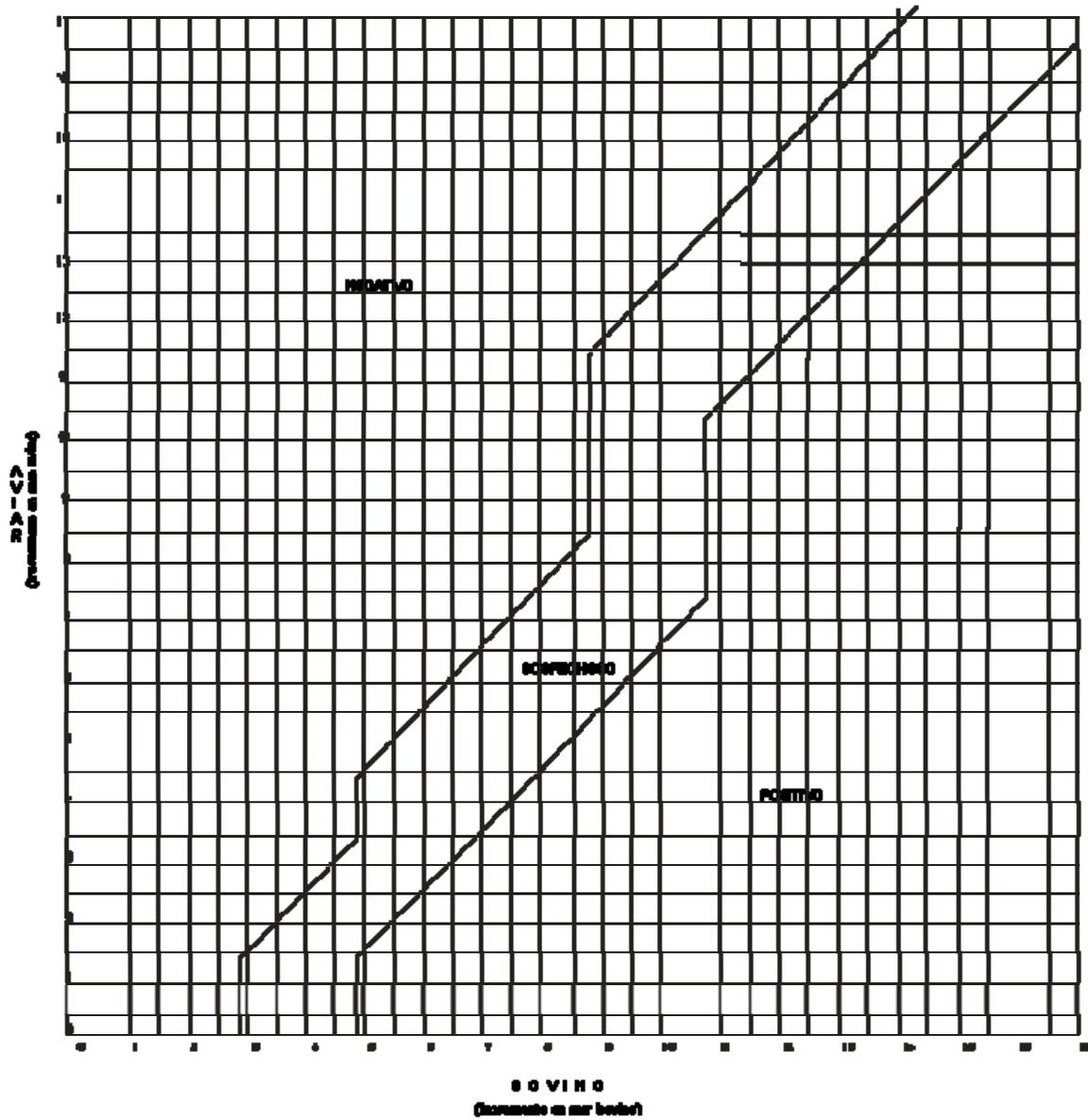
CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA

CONTROL DE CAMPO
PRUEBA CERCICAL COMPARATIVA



888 No.

OFICINA PARA LA INTERPRETACION DE LA PRUEBA CERCICAL COMPARATIVA



“Apéndice B” (Normativo)**Diagnóstico de Tuberculosis Bovina en Laboratorio****Toma de muestras para el diagnóstico de tuberculosis bovina.**

Las muestras para estudios histopatológico, bacteriológico y molecular se realizará de la siguiente forma:

Las lesiones tuberculosas pueden ser caseosas o calcificadas, o aparecer ambas. Se seleccionarán y tomarán muestras de los siguientes órganos que presenten lesiones sospechosas de tuberculosis.

- a) Nódulos Linfáticos. Tomar muestras preferentemente de los nódulos de la cabeza (retrofaríngeos, mandibulares y parotídeos), cervicales, mediastínicos y traqueobronquiales.
- b) También se tomarán muestras de los siguientes órganos, cuando presenten lesiones sugestivas de tuberculosis: Pulmón, bazo, hígado, riñón, médula ósea, ovarios, útero, testículos y glándula mamaria.

Si el animal es positivo a las pruebas de tuberculina y en la inspección postmortem no se observan lesiones macroscópicas de ningún tipo, se deben enviar al laboratorio cualquiera de las siguientes muestras: nódulos linfáticos de la cabeza (retrofaríngeos, mandibulares o parotídeos), traqueobronquiales o mediastínicos.

Las muestras se conservarán para su envío al laboratorio en:

Bacteriología: Frascos con solución de borato de sodio saturada estéril en proporción de 1:1.

Histopatología: Frascos con solución de formalina amortiguada al 10% en proporción de 1:10.

Interferón gamma (γ IFN): Se tomarán con aguja estéril 10 ml de sangre. Para cada muestra se debe utilizar en un tubo estéril con heparina y una aguja estéril.

Una vez tomada la muestra, homogenizar con el anticoagulante y se coloca entre 14 y 22°C, con el fin de conservar viable las células. Se debe enviar al laboratorio en refrigeración en un plazo no mayor a cuatro horas después de tomada la muestra. Evitar golpes y cambios de temperatura para que no se produzca la hemólisis, si se trata de conservar en hielo, se debe evitar que la muestra tenga contacto directo con este.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) Se realiza en tejidos embebidos en parafina con lesiones compatibles o sugestivas a tuberculosis (bloques de parafina de histopatología).

Tipificación de Oligonucleótidos Espaciadores (Spoligotyping): Esta técnica se puede utilizar en tejido fresco con lesiones compatibles o sugestivas de tuberculosis así mismo a partir de cepas o aislamientos de micobacterias.

Todas las muestras deben ser remitidas al laboratorio, acompañadas del formato de “Envío de Muestras para Diagnóstico de Tuberculosis” con toda la información requerida en el mismo.

En el laboratorio, las muestras serán sometidas a las pruebas de diagnóstico histopatológico, bacteriológico y/o biología molecular.

Diagnóstico histopatológico de tuberculosis bovina.**Objetivo.**

Diagnóstico histológico diferencial de Tuberculosis bovina en lesiones granulomatosas presentes en nódulos linfáticos y otros órganos en los bovinos.

Campo de aplicación.

Identificación de las lesiones histológicas compatibles con tuberculosis, organismos alcohol-ácido resistentes, auramina o positivos durante el estudio postmortem.

Documentos conexos a consultarse.

Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*).

Generalidades.

Realizar el estudio histológico de las lesiones compatibles con tuberculosis y las pruebas confirmatorias mediante coloraciones de hematoxilina-eosina contrastada, Ziehl Neelsen y/o nueva fucsina.

Reactivos.

- 1.- Acido acético glacial concentrado.
- 2.- Agua destilada.
- 3.- Alcohol etílico 70%, 80%, 95% y 100% Xilol.
- 4.- Auramina-O.
- 5.- Azul de metileno bórax.
- 6.- Bórax.
- 7.- Carbonato de litio.
- 8.- Cloruro férrico.
- 9.- Fenol.
- 10.- Formalina amortiguada al 10% pH 7.2.
- 11.- Naranja de acridina.
- 12.- Nueva fucsina.
- 13.- Parafina punto fusión 56°C.

Materiales.**Biológicos:**

Muestras de animales asegurados en la línea de inspección de carnes sospechosos y/o positivos a la prueba de la tuberculina. Nódulos linfáticos: traqueobronquiales, mediastínicos, medial retrofaringeo, mandibulares. Parotídeos, hepáticos y mesentéricos en algunos casos pulmón, hígado, bazo y riñón con presencia de lesiones sugestivas.

Condiciones ambientales.

El corte de tejidos para el procesamiento se realizará, en la campana de humos, protegiéndose las manos con guantes de látex y ojos con los lentes de protección, accionando la campana de extracción durante la preparación de los tejidos recibidos para procesamiento. Durante el procesamiento de tejidos se preferiría mantener el equipo de las campanas de extracción de vapores o alternativamente en un área amplia y ventilada.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Las condiciones de recepción de las muestras será recomendado el envío de los tejidos en un tamaño no mayor de 2 cm en una solución de formalina amortiguada al 10% pH 7.2, en una relación de tejido-formalina 1:10 con la identificación clara de las muestras con sus datos generales; órgano(s), nombre del propietario, ubicación de la explotación de origen, donde se obtuvo la muestra, la descripción del animal (especie, raza, sexo, edad, etc.), identificación precisa del animal (arete, marcas u otros), así como el nombre, registro y domicilio del Médico Veterinario oficial o Aprobado que remita la muestra.

Para el estudio histológico de rutina se contará con laminillas control positivo de tejidos con bacterias alcohol-ácido resistente. Para las pruebas de Ziehl Neelsen y auramina o rodamina.

Las muestras serán ordenadas para su registro en los formatos de procesamiento de tejidos, posteriormente se extraen tejidos de los frascos y se colocan sobre toallas desechables para absorber la solución de formalina en la cual están embebidas. Cada tejido se examinará y cortará separadamente con un grosor de 2-5 mm seleccionándose áreas de tejido normal y anormal, reincorporándose nuevamente a los frascos originales de envío de tejidos. Posteriormente se colocan éstos en las cápsulas de procesamiento de tejidos identificadas previamente, cuando éstas hubieran estado calcificados se colocarán después de la formalina en las soluciones descalcificadoras antes del procesamiento de los tejidos*.

Procedimiento Inclusión en parafina:

- 1.- Formalina amortiguada 30 min.
- 2.- Alcohol etílico 70% 60 min.

- 3.- Alcohol etílico 80% 60 min.
- 4.- Alcohol etílico 95% 60 min.
- 5.- Alcohol etílico 95% 60 min.
- 6.- Alcohol etílico 100% 60 min.
- 7.- Alcohol etílico 100% 60 min.
- 8.- Alcohol etílico 100% 60 min.
- 9.- Xilol 60 min.
- 10.- Xilol 60 min.
- 11.- Xilol 60 min.
- 12.- Parafina 60 min. a 60°C.
- 13.- Parafina 60 min. a 60°C.
- 14.- Parafina 60 min. a 60°C.
- 15.- Inclusión de tejidos en parafina punto de fusión 56°C líquida.
- 16.- Corte de los tejidos a partir de los bloques de parafina en micrótopo con un grosor de 4 a 6 micras.
- 17.- Montar el corte sobre la laminilla con el adhesivo, desparafinar en placa caliente u horno de microondas.
- 18.- Se tiñen las laminillas con los procedimientos indicados y se montan con resina sintética para su observación.

Tinciones

Tinción de hematoxilina-eosina contrastada.

Se realizarán al menos cuatro laminillas por bloque de parafina, se realizará la tinción de hematoxilina-eosina a dos de ellas, para identificar cualquier cambio morfológico de los tejidos, así como la presencia de lesiones características de tuberculosis.

Los tejidos procesados serán teñidos rutinariamente para la identificación de lesiones compatibles con tuberculosis bovina y diferenciar con otras entidades patológicas bajo el siguiente procedimiento:

1. Xilol 10 min.
2. Alcohol etílico 100% 5 min.
3. Alcohol etílico 96% 5 min.
4. Alcohol etílico 80% 5 min.
5. Alcohol etílico 70% 5 min.
6. Alcohol etílico 50% 5 min.
7. Lavar con agua corriente.
8. Hematoxilina 5 min (hematoxilina de Harris).
9. Lavar con agua corriente.
10. Clarificar con alcohol ácido.
11. Lavar con agua corriente.
12. Virar con agua amoniacal o carbonato de litio.
13. Eosina 1 a 2 min.
14. Alcohol etílico 96% 5 min.
15. Alcohol etílico 96% 5 min.
16. Alcohol absoluto 5 min.

17. Alcohol-xileno 50% 5 min.
18. Xileno 10 min.
19. Xileno 15 min.

Tinción de nueva fucsina.

De manera alternativa a la tinción de Ziehl Neelsen, este procedimiento puede favorecer la identificación de bacilos ácido-alcohol resistente.

- 1.- Xilol 5 min.
- 2.- Xilol 5 min.
- 3.- Alcohol etílico 100% 1-2 min.
- 4.- Alcohol etílico 100% 2 min. y secar al aire.
- 5.- Lavar con agua destilada.
- 6.- Teñir con nueva fucsina 10 min.
- 7.- Colocar la laminilla individualmente en una solución saturada de cloruro de litio durante 30 seg.
- 8.- Diferenciar en alcohol acético cuando la laminilla sea decolorada.
- 9.- Lavar con agua tamponada corriente.
- 10.- Contrateñir con azul de metileno bórax.
- 11.- Alcohol etílico 95% 2 min.
- 12.- Alcohol etílico 100% 2 min.
- 13.- Clarificar en 2 cambios de xilol 2-3 min. cada uno.
- 14.- Montar con resina sintética.

Tinción de Auramina y/o naranja de acridina para bacilos ácido-alcohol resistente.

Se empleará como prueba confirmatoria en los casos sospechosos de tuberculosis bovina:

- 1.- Xilol 5 min.
- 2.- Xilol 5 min.
- 3.- Alcohol etílico 100% 1-2 min.
- 4.- Alcohol etílico 100% 2 min.
- 5.- Agua destilada 2 min.
- 6.- Auramina 10 min.
- 7.- Agua taponada corriente 1 min.
- 8.- Cloruro férrico 10% 10 min.
- 9.- Agua tamponada corriente 1 min.
- 10.- Naranja de acridina 2.5 min.
- 11.- Agua tamponada corriente 1 min.
- 12.- Alcohol etílico 70% 1 min.
- 13.- Alcohol etílico 95% 1 min.
- 14.- Alcohol etílico 100% 1 min.
- 15.- Xilol 5 min.
- 16.- Xilol 5 min.
- 17.- Cubrir la laminilla con resina.

Tinción de Ziehl Neelsen.

Se realizará la tinción de Ziehl Neelsen a dos laminillas, para identificar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes.

Se emplea como procedimiento de rutina para el diagnóstico confirmatorio de bacilo ácido-alcohol resistente en muestras teñidas con hematoxilina y lesiones compatibles con tuberculosis bovina.

1. Xileno 15 min.
2. Xileno 15 min.
3. Alcohol etílico 100% 5 min.
4. Alcohol etílico 96% 5 min.
5. Alcohol etílico 80% 5 min.
6. Alcohol etílico 70% 5 min.
7. Alcohol etílico 50% 5 min.
8. Lavar con agua corriente.
9. Carbol fucsina 30 min.
10. Lavar con agua corriente.
11. Decolorar con alcohol ácido.
12. Lavar con agua corriente.
13. Contrastar con azul de metileno 1 min.
14. Lavar con agua corriente.
15. Alcohol etílico 96% 5 min.
16. Alcohol etílico 96% 5 min.
17. Alcohol etílico 100% 5 min.
18. Alcohol xileno (50/50) 5 min.
19. Xileno 10 min.
20. Xileno 15 min.

Interpretación de resultados.**1.- Hematoxilina-eosina.**

Núcleos azules y citoplasma rosa, identificándose el granuloma característico de tuberculosis bovina.

2.- Ziehl Neelsen.

Sugestivo a Tuberculosis: Cuando en el campo microscópico se observa únicamente la lesión tuberculosa caracterizada por: lesión necrótica caseosa y/o calcificada por mineralización, células epitelioides multinucleadas, células gigantes de tipo Langhams y macrófagos.

Bacilos ácido-alcohol resistentes color rosa-rojizos, fondo azul tenue.

Compatible a Tuberculosis: Cuando en el campo microscópico se observa la lesión característica de tuberculosis e intra o extracelularmente los bacilos ácido-alcohol resistente.

Cuando en el campo microscópico no se observan las lesiones características de tuberculosis, ni bacilos ácido alcohol resistentes se reporta: que no se observaron lesiones compatibles a tuberculosis ni BAAR, se reportará la concordancia con alguna de las enfermedades del diagnóstico diferencial o que no se observaron lesiones compatibles con enfermedad alguna.

3.- Nueva fucsina.

Bacilos ácido-alcohol resistentes color rojo, fondo color azul.

4.- Auramina-O.

Fluorescencia positiva bacilos ácido-alcohol resistente.

En la técnica de Hematoxilina-eosina contrastada pueden variar ligeramente los tiempos en ambos colorantes.

El tratamiento con sustancias descalcificantes puede afectar la tinción de bacilos ácido-alcohol resistentes en la tinción de Nueva fucsina. Los tiempos requeridos en las etapas de la tinción de Auramina-O y rodamina deben ser exactos por lo que se hace necesario emplear controles positivos para todas las tinciones.

Bibliografía.

Mote F.R., Muhm, L.R and Gigstad, C.D.: A staining method using acridine orange and auramine-O for fungi and mycobacteria in bovine tissue. *Stain technology*. 50: 59 (1975).

Mc Ilroy, G.S., Neill, D.S. and Mc Cracken, M.R. *Veterinary Record*. 118: 718-721 (1986).

Corner, L.A., Melville, L.K., Mc Cubbin, Small, K.J., Mc Cormick, B.S., Wood, R.P., and Rothel, S.I.: Efficiency of inspection procedures for the detection of tuberculosis lesions in cattle. *Australian Veterinary Journal*. 67: 389-392 (1993). Tuberculosis training for regulatory veterinarians. Animal and Plant Health Inspection Service. USDA, NVSL AMES IA (1993).

Aislamiento de Mycobacterim Boris.**Objetivos.**

Determinar bacteriológicamente la presencia de *Mycobacterium bovis* en muestras de origen animal.

Campo de aplicación.

Esta prueba se realizará en muestras de tejidos u órganos de animales con lesiones sospechosas de ser tuberculosas o en nódulos linfáticos de animales positivos a las pruebas de tuberculina que no presentaron lesiones al sacrificio en rastros.

Documentos conexos a consultarse.

Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*).

Generalidades.

El aislamiento bacteriológico de la tuberculosis sirve para corroborar el diagnóstico realizado en el campo por medio de las pruebas de tuberculina y a las lesiones sospechosas de tuberculosis detectadas durante la inspección de la matanza regular en los rastros o mataderos al llevar a cabo un programa de vigilancia epidemiológica.

Equipo e instrumentos.

- 1.- Autoclave.
- 2.- Bisturí y hojas de bisturí.
- 3.- Campana de seguridad biológica tipo II o III con extracción de aire con velocidad promedio de 75 pies por minuto y filtración tipo HEPA.
- 4.- Centrífuga de seguridad biológica con cubetas con tapón de rosca.
- 5.- Congelador.
- 6.- Estufa bacteriológica a 37°C.
- 7.- Estufa bacteriológica regulada a 42°C.
- 8.- Estufa bacteriológica regulada a 22°C.
- 9.- Microscopio de campo claro.
- 10.- Pinzas de ratón.
- 11.- Pipeteador manual o automático.

12.- Refrigerador.

13.- Tijeras.

14.- Licuadoras.

La campana de seguridad biológica, la centrífuga y la incubadora deben estar en una sola área aislada delimitada del resto del laboratorio y que tenga señalamientos de riesgo biológico.

Materiales.

1.- Arena estéril.

2.- Charolas metálicas con y sin tapa.

3.- Frascos color ámbar con gotero.

4.- Matraces aforados.

5.- Matraces Erlenmeyer.

6.- Morteros de porcelana con mano.

7.- Perlas de vidrio.

8.- Pipetas.

9.- Probetas.

10.- Tubos de ensaye de 13 x 100.

11.- Tubos de vidrio con tapón.

12.- Vasos de precipitado.

13.- Vasos de licuadora esterilizables o desechables.

Equipo de seguridad.

1.- Guantes de hule.

2.- Lentes de protección.

3.- Mascarillas protectoras con filtros HEPA.

4.- Bata sanitaria.

5.- Calzado lavable cerrado.

Medidas de bioseguridad.

Las infecciones por el bacilo de la tuberculosis bovina son un riesgo comprobado para el personal de laboratorio especialmente para los individuos expuestos a los aerosoles infecciosos. Existen requisitos mínimos de bioseguridad para el personal que trabaja con micobacterias. Aunque ninguna medida de bioseguridad puede sustituir las buenas prácticas de laboratorio.

Personal.

El personal de laboratorio debe ser tuberculina (PPD) positivo. De resultar negativo, debe vacunarse con BCG y ser admitido en el área hasta que se verifique su positividad.

Debe realizarse un control radiográfico de tórax del personal cada año y conservar las placas para estudios comparativos posteriores.

Area de trabajo.

Debe haber un área delimitada y aislada de las otras secciones del laboratorio donde se encuentre el equipo, se trabajen las muestras y se realicen cultivos y resiembras.

La entrada al área debe ser restringida al momento de trabajar con muestras en la campana, centrifugar, revisar o realizar cultivos.

El equipo de seguridad y prevención de accidentes debe estar disponible, ser suficiente para el personal del área y estar en un lugar visible junto con las instrucciones para su uso.

Siempre debe contarse con propipetas o bombas para pipetear, evitando pipetear con la boca.

Limpieza y desinfección.

Todas las zonas de trabajo deben descontaminarse al menos una vez al día y siempre después de trabajar.

Desecho de material contaminado.

Antes de desecharlo, todo el material biológico contaminado debe ser esterilizado en autoclave.

La cristalería y material utilizados en el procesamiento de muestras presumiblemente contaminadas o material biológico como cultivos deben ser esterilizados antes de ser lavados.

Reactivos.

- 1.- Acido clorhídrico.
- 2.- Alcohol etílico de 96°.
- 3.- Azul de metileno.
- 4.- Fenol en cristales.
- 5.- Fucsina básica.
- 6.- Hidróxido de sodio.
- 7.- Hipoclorito de sodio.
- 8.- Medio de Lowenstein Jensen.
- 9.- Medio de Stonebrink.
- 10.- Medio de Middlebrook 7H10 y 7H11.
- 10.- Rojo de fenol.

Material biológico.

Material sospechoso con lesiones granulomatosas: nódulos linfáticos o tejidos diversos, o nódulos linfáticos o tejidos de animales positivos a la prueba de tuberculina en solución saturada de borato de sodio en una relación de tejido-volumen 1:1 o 1:2. Cuando no se cuente con medios disponibles para siembra inmediata, los órganos deben ser retirados de la solución de borato y ser conservados en congelación a -20°C.

Condiciones ambientales.

El procesamiento de las muestras se debe realizar bajo condiciones estrictas de seguridad biológica, en el interior de cabinas de seguridad microbiológica.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

- Seleccionar previamente la muestra.
- Retirar toda la grasa y tejido conectivo.
- Si la lesión es muy grande o tiene mucho exudado, elegir un fragmento de la parte externa de la lesión (cápsula) y parte del interior de la lesión.
- Cuando la muestra es muy pequeña, incluirla toda.
- En caso de no haber lesiones visibles, seleccionar una porción de tejido representativo de la muestra.

Procedimiento.

Examen directo: Mediante la tinción de Ziehl Neelsen o de Nueva Fucsina para microorganismos ácido alcohol resistente en frotis realizados con el material sospechoso. En caso de ser una muestra positiva, con esta tinción se observarán bacilos de pequeño tamaño, teñidos de color rojo.

Descontaminación. La descontaminación de la muestra puede hacerse por el método de Petroff o por su variante ácido-álcali.

Método de Petroff.

- Colocar la muestra en un mortero con arena y agua destilada, todo estéril y triturar finamente (en licuadora triturar sin arena).
- Trasvasar a un tubo con solución estéril de hidróxido de sodio al 4% en una proporción 1:2.
- Agitar vigorosamente e incubar a 37°C por 20 minutos, agitando cada 5 minutos.
- Centrifugar por 20 minutos a 3,000 rpm y desechar el sobrenadante.
- Agregar al sedimento 1 a 2 gotas de solución de rojo de fenol y unas gotas de una solución de ácido clorhídrico al 10% hasta que vire el indicador del rojo violáceo al amarillo anaranjado.
- Agregar 2 ml de agua destilada estéril y sembrar o bien agregar 3 ml de agua destilada estéril, agitar y centrifugar a 3,000 rpm por 15 minutos.
- Desechar el sobrenadante y sembrar el sedimento.

Variante ácido-álcali del método de Petroff.

- Triturar en un mortero de porcelana agregando un poco de arena y agua destilada estériles (en licuadora sin arena).
- Trasvasar a dos tubos de ensaye estériles con tapón y guardar uno identificado en congelación.
- Añadir al segundo tubo 5 partes de ácido clorhídrico al 10% y añadir 2 a 3 gotas de rojo de fenol al 1% hasta que vire a un color naranja.
- Agitar y dejar en reposo 20 minutos.
- Añadir gota a gota de una solución de hidróxido de sodio 2 N agitando el tubo hasta que vire a un color violáceo (morado a lila).
- Centrifugar a 3,000 rpm por 20 minutos y desechar el sobrenadante. Sembrar el sedimento.

Siembra.

Sembrar el sedimento descontaminado con hisopo, pipeta Pasteur o asa bacteriológica, sobre la superficie de los tubos de medio de cultivo (Lowenstein Jensen, Stonebrink, Middlebrook 7H11 y Middlebrook 7H10). Incubar a 37°C los tubos sembrados con los tapones flojos en posición horizontal el primer día y en posición vertical después del segundo día, para que el sedimento seque sobre toda la superficie del medio. Revisar semanalmente durante 9 semanas. En caso de contaminación de todos los tubos, éstos se deben desechar y se debe procesar la muestra congelada (de réplica). Esta se divide en dos tubos. Se guarda uno en congelación y el otro se procesa para descontaminación y se debe efectuar nueva siembra como ya fue descrito.

Interpretación de resultados.

Las colonias de *Mycobacterium bovis* se aprecian a simple vista a partir de la 4a. semana generalmente, pero pueden tardar hasta 9-10 semanas. Crecen mejor en el medio de Stonebrink (crecimiento eugónico o abundante) que en el medio de Lowenstein Jensen (crecimiento disgónico o pobre).

Morfología colonial.

Medio de Lowenstein Jensen: colonias muy pequeñas (8.0 a 1.5 mm), translúcidas; con el tiempo toman una forma piramidal.

Medio de Stonebrink: colonias generalmente pequeñas, blancas-crema, como pezones, que suelen estar dispersas.

Morfología celular.

Bacilos largos; en el examen microscópico con tinción de Ziehl Neelsen se observan bacilos largos ácido alcohol resistentes (rojos) de 2 a 6 x 0.3 um, que pueden observarse como "cordones" en los medios de cultivo líquidos con adición de suero de equinos.

Todas las cepas aisladas sospechosas de ser *M. bovis* deben ser identificadas por pruebas enzimáticas y morfológicas.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad.

Es del 96% aproximadamente.

Bibliografía.

Balandrano, C.S.; Anzaldo, F.G.; Peña F.G.P. y Betancourt M.X.: Tuberculosis. Manual de Procedimientos de Laboratorio INDRE-SAGAR.

Escobar G. Publicación No. 18 del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos; Secretaría de Salud, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Organización Panamericana de la Salud. México, D.F., junio de 1996.

David, H.; Levy-Frebault, V. et Thorel, M.F.: Methodes de laboratoire pour mycobacteriologie clinique, Comission de Laboratoires de Référence et d'Expertise de l'Institut Pasteur; Institut Pasteur, París, 1989.

Kantor, I.N.: Bacteriología de la Tuberculosis Humana y Animal. Centro Panamericano de Zoonosis. Organización Panamericana de la Salud-Organización Mundial de la Salud, Monografía Científica y Técnica No. II/Rev.1, Martínez, Argentina, 1988.

Prueba de Interferón-Gamma (IFN- γ).

1. Procedimientos y principios.

Esta prueba mide la inmunidad celular y se basa en la producción de Interferón-gamma (IFN- γ) como respuesta a la estimulación in vitro con PPD bovino y aviar, de sangre completa de animales que han estado en contacto con *M. bovis*. Estos animales presentan linfocitos T circulantes, sensibilizados específicamente hacia antígenos de *M. bovis*, en las muestras de sangre y secretan IFN- γ el cual es medido mediante una prueba de ELISA de captura utilizando un kit comercial.

1.1 Con una muestra de 1.5 ml de sangre heparinizada se depositan en placas de cultivo.

1.2 Un pozo se estimula con 100 μ l de PPD bovino (20 μ l/ml).

1.3 El segundo pozo con 100 μ l de PPD aviar (20 μ l/ml).

1.4 Un pozo se deja sin estimular.

1.5 Las placas se incuban durante 24 hrs, a 37°C con 5% de CO₂, al final los plasmas se recolectan.

1.6 Se agregan 100 μ l /pozo de los plasmas diluidos 1:2, en las placas sensibilizadas con el anticuerpo anti-IFN- γ bovino incluidas en el kit y se incuba a temperatura ambiente por 60 min.

1.7 Se lavan las placas con amortiguador de lavado.

1.8 Se agregan 100 μ l de conjugado y se incuban por 60 min., nuevamente se lavan y se adiciona 100 μ l de sustrato incubando por 30 min. más.

1.9 Se adicionan 50 μ l de solución de paro.

1.10 La prueba se realiza e interpreta conforme a las disposiciones del fabricante.

1.11 Los resultados del diagnóstico se calculan considerando los promedios de DO₄₅₀ de las muestras incubadas sin antígeno, o incubadas con PPD bovino y con PPD aviar, de cada animal.

1.12 Los resultados de los plasmas incubados con PPD bovino se comparan con el testigo de IFN- γ negativo de la prueba y también con los resultados de las muestras estimuladas con PPD aviar.

2. Equipo.

2.1 Lector de ELISA.

2.2 Lavador de placas automatizado.

2.3 Juego de pipetas de diferentes volúmenes.

2.4 Puntas de diferentes volúmenes (amarillas y azules).

2.5 Pipeta multicanal de volumen variable.

2.6 Tubos para sangrado con heparina.

2.7 Centrífuga.

2.8 Tubos para almacenamiento de plasma a menos 20°C.

2.9 Estufa de incubación a 37°C con 5% de CO₂.

2.10 Congelador a menos -20°C.

3. Reactivos y material biológico:

3.1 BOVIGAM™ M. bovis gamma-interferon test kit, herd chek, IDEXX, USA.

3.2 Muestras de plasma obtenido de la sangre, estimuladas con PPD bovino, aviar y control sin estimular.

4. Referencias Bibliográficas.

Fernando Díaz O, Felipe Massó, Araceli Páez, Elvira Varela, Francisco Suárez, Luis F. Montaña. 1999. Secretion of IFN- γ by bovine peripheral blood mononuclear cells stimulated with isoelectric-focused mycobacterium bovis protein fraction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 67: 203-212.

Walravens K, Marche S, Rosseels V, Wellemans y, Boelaert F, Huygen K and Godfroid J. 2002. IFN- γ diagnosis tests in the context of bovine mycobacterial infections in Belgium. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 87: 401- 406.

María Teresa Lugo Arriaga. 2003. Expresión de citocinas durante las diferentes etapas de infección en la tuberculosis bovina. Tesis de Maestría. FES-Cuautitlán UNAM. Asesor: Fernando Díaz Otero.

Detección de Acido Nucleico Mycobacterial en tejidos fijados en formol y Embebidos en parafina mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

- Introducción.
- Antecedentes.
- Palabras clave.
- Materiales.
- Equipos/instrumental.
- Reactivos/suministros.
- Preparación para la prueba.
- Aptitudes del personal/entrenamiento.
- Preparación de equipo/instrumental.
- Preparación de reactivos/procedimientos de control.
- Preparación de la muestra.
- Desarrollo de la prueba.
- Interpretación de los resultados de la prueba.
- Reporte de los resultados de la prueba.
- Referencias.
- Apéndices.
- Detección de ácido nucleico mycobacterial en tejidos fijados en formol y embebidos en parafina mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Introducción.

Antecedentes.

La vigilancia de la tuberculosis bovina (TB) se basa en el envío de tejido fresco o preservado en borato de sodio y tejido fijado en formol para el diagnóstico de laboratorio de la enfermedad. La histopatología rutinaria y el cultivo bacteriológico son utilizados como las pruebas diagnósticas de elección. El hallazgo de lesiones histopatológicas típicas de TB se considera como diagnóstico presuntivo de la enfermedad, sin embargo, el

aislamiento bacteriano y la identificación del organismo de *Mycobacterium bovis* es considerado como la prueba diagnóstica definitiva. El aislamiento e identificación de *M. bovis* frecuentemente lleva semanas para completarse, por lo tanto, es de gran beneficio tener un procedimiento que proporcione una identificación rápida de *M. bovis* en tejidos fijados en formol en pocos días.

Este procedimiento ya ha sido desarrollado (referencia 1,2). Dicho procedimiento involucra el uso de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar y detectar ácidos nucleicos en tejidos fijados en formol y embebidos en parafina de casos que incluyen diferentes especies de Micobacterias.

El PCR es aplicado a muestras que presentan lesiones sugestivas y bacterias ácido resistentes cuando se examinan microscópicamente. Esta prueba utiliza los primers IS6110 para identificar especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, 16S rRNA para identificar especies de *Mycobacterium avium* e IS900 para identificar *Mycobacterium avium*, subespecie paratuberculosis. Las muestras de los rumiantes son probadas con los tres primers, mientras que las muestras de los no rumiantes son típicamente probadas sólo con los primers IS6110 y 16S rRNA.

Adviértase que la descalcificación de los tejidos puede afectar adversamente a los ácidos nucleicos del espécimen; las muestras no se debe descalcificar antes o después de embeber. También, es importante considerar que el tejido fijado en formol por más de siete días puede no ser apropiado para PCR debido a la potencial sobrefijación. Si el tejido debe ser mantenido por más de este tiempo se debe transferir el tejido fijado a etanol al setenta por ciento para ayudar a soportar un tiempo de almacenamiento mas prolongado.

1. Palabras clave.

PCR, Micobacteria, TB, Embebido en parafina.

2. Materiales.

2.1 Equipo/instrumentos.

Ver apéndice 8.1 para el corte de tejido.

Ver apéndice 8.2 para la extracción de ADN.

Ver apéndice 8.3 para la amplificación por PCR.

Ver apéndice 8.4 para el gel de electroforesis.

2.2 Reactivos/suministros.

Ver apéndice 8.1 para el corte de tejido.

Ver apéndice 8.2 para la extracción de ADN.

Ver apéndice 8.3 para la amplificación por PCR.

Ver apéndice 8.4 para el gel de electroforesis.

3. Preparación para la prueba.

3.1 Aptitudes del personal y entrenamiento

3.1.1 El individuo debe tener conocimiento práctico sobre la operación de equipo de laboratorio convencional y técnicas asépticas de trabajo.

3.1.2. El individuo debe de tener capacitación en las técnicas de PRC para ser competente en entender y desarrollar exitosamente el procedimiento de la prueba de PCR.

3.2 Equipo/instrumentos.

Ver apéndice 8.1 para el corte de tejido.

Ver apéndice 8.2 para la extracción de ADN.

Ver apéndice 8.3 para la amplificación por PCR.

Ver apéndice 8.4 para el gel de electroforesis.

3.3 Reactivos/procedimientos de control.

Ver apéndice 8.1 para el corte de tejido.

Ver apéndice 8.2 para la extracción de ADN. }

Ver apéndice 8.3 para la amplificación por PCR.

Ver apéndice 8.4 para el gel de electroforesis.

3.4 Preparación de la muestra.

3.4.1. La muestra fijada en formol es rutinariamente cortada y procesada por el procedimiento GPPISOP0020 y luego embebida de acuerdo a GPPISO0019.

4. Desarrollo de la técnica.

Ver apéndice 8.1 para el corte de tejido.

Ver apéndice 8.2 para la extracción de ADN.

Ver apéndice 8.3 para la amplificación por PCR.

Ver apéndice 8.4 para el gel de electroforesis.

5. Interpretación de los resultados de la prueba.

5.1 Todas las muestras son corridas en duplicado (utilizando el primero y cuarto tubo de muestra cortado del block) para cada uno de los primers apropiados con el método de extracto crudo. Si todos los resultados son negativos, se utilizan muestras duplicadas (utilizando el segundo y tercer corte) para el procedimiento de extracto purificado DNA-RNA.

5.2 Los productos de la amplificación que son de tamaño apropiado y consistentemente repetibles son considerados positivos y todos los demás se consideran negativos. La repetición de la prueba se realiza cuando sea necesario para confirmaciones posteriores o clarificar los resultados iniciales. Las bandas débiles, borrosas, indistinguibles y otros resultados cuestionables son las razones comunes para repetir la prueba. La repetición de la prueba puede consistir en la reamplificación del extracto inicial, o repetición del procedimiento entero con cualquiera de los extractos crudo o purificado.

6 Reporte de los resultados de la prueba.

6.1 Refiérase a las instrucciones de trabajo para el reporte de tuberculosis.

7. Referencias.

7.1. Miller J, Jenny A, Rhyan J, Saari D, Suarez D: Detection of Mycobacterium bovis in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue of cattle and elk by PCR amplification of an IS6110 sequence specific for Mycobacterium tuberculosis complex organisms. J. Vet Diagn Invest 9:244-249 (1997).

7.2. Miller J, Jenny A, Payeur J: Polymerase chain reaction detection of Mycobacterium tuberculosis complex and Mycobacterium avium organisms in formalin-fixed tissues from culture-negative ruminants. Vet Microbiol. 2002 June 5;87(1): 15-23

8. Apéndice.

8.1 Corte de tejido embebido en parafina para pruebas.

8.1.1 Equipos/instrumentos.

8.1.1.1 Microtomo.

8.1.2 Reactivos/suministros.

8.1.2.1 Xilol. Grado reactivo.

8.1.2.2. Etanol absoluto.

8.1.2.3 Tubos de micro centrifuga: 1.5 ml.

8.1.2.4 Objetos comunes del laboratorio que incluyen: guantes desechables estériles, pinzas, aplicadores de madera estériles, marcadores de laboratorio, racks para tubos.

8.1.3 Preparación.

Punto crítico: Utilizar guantes y cambiar los guantes entre las muestras y de manera frecuente para prevenir la contaminación de las muestras. Todos los tubos, aplicadores, etc. deben de estar estériles. Utilizar unas pinzas estériles o aplicador estéril para remover los tubos de la bolsa.

8.1.3.1 Limpiar completamente el área de trabajo y el micrótopo (limpiar el sostenedor del block y de la cuchilla con xileno).

8.1.3.2 Colocar el microtomo a 5 micras.

8.1.3.3 Cambiarse los guantes.

8.1.4 Corte.

8.1.4.1 Insertar una nueva cuchilla y un block de tejido.

8.1.4.2 Rebajar el block hasta que se obtenga el corte completo.

8.1.4.3 Utilizando las pinzas previamente remojadas en etanol absoluto y limpiadas del exceso de etanol absoluto remover el block del sostenedor de la cuchilla.

8.1.4.4. Cortar dos secciones por tubo. Utilizando un aplicador de madera recoger las secciones y colocarlas en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml (se debe de utilizar un aplicador nuevo para cada tubo). Después de haber colocado los dos cortes en el tubo cerrar la tapa. Preparar cuatro tubos por block. El primero y el cuarto deben ser utilizados para el extracto crudo y el segundo y tercer tubo se utilizan como sea necesario para el extracto purificado.

8.1.4.5 Limpiar los tubos con etanol absoluto para remover cualquier pérdida de parafina.

8.1.4.6 Marcar los tubos con el correspondiente número del block.

8.1.4.7 Remover el block del tejido, remover y desechar la cuchilla. Limpiar el sostenedor de la cuchilla y del block con xilol.

8.1.4.8 Cambiar los guantes.

Limpiar el sostenedor de la cuchilla y del block otra vez antes de cambiarse los guantes para reducir el riesgo de contaminación de las siguientes muestras.

Proceder de acuerdo al paso 8.1 .4.1. Para blocks adicionales repetir el paso 8.1.4.1.

8.2 Extracción.

8.2.1 Equipo/instrumentos.

8.2.1.1 Micro centrífuga capaz de girar a 13,200 rpm.

8.2.1.2 Baño de agua hirviendo.

8.2.1.3 Campana de flujo laminar.

8.2.1.4 Refrigerador a 4 grados centígrados.

8.2.1.5 Congelador a menos setenta grados centígrados.

8.2.1.6 Centrifuga de vacío.

8.2.2 Reactivos/suministros.

8.2.2.1 Etanol absoluto (NVSL Media 42088).

8.2.2.2. Etanol al 70% (NVSL Media 30184).

8.2.2.3. Solución de Tween 20 al 0.5% en agua ultrapura, esterilizada por filtración (NVSI Media 20127).

8.2.2.4. Paños de cloro comercial o solución de cloro al 10%.

8.2.2.5. Hielo seco.

8.2.2.6. Micropipeta de 200µl.

8.2.2.7. Puntas desechables con filtro para micropipetas estériles.

8.2.2.8. Abridores de tubos.

8.2.2.9. Tapas para tubos de 1.5ml.

8.2.2.10. Gradilla flotante para tubos de 1.5 ml.

8.2.2.11. Caja de unicel tamaño pequeño con tapa.

8.2.2.12. Cloro.

8.2.2.13. Tazón de cristal refractario (Pirex).

8.2.2.14. Objetos comunes del laboratorio que incluyen: guantes desechables libres de polvo, pipetas desechables, tubos de micro centrífuga, tubos desechables, vasos de precipitado.

8.2.2.15. 0.05 M de Tris buffer, pH 8.3 con 1mM EDTA y solución de tween 20 al 0.5%.

8.2.2.16. Proteinasa K (Roche Molecular Biochemicals. Indianápolis, IN).

8.2.2.17. Procipitate (Ligochem, Fairfield, NJ).

8.2.2.18. 4 M LiCl. (NVSL media 20131).

8.2.2.19. Agua Omni Solv (EM Science afiliada a Merck, Darrnstadt, Germany).

8.2.3 Preparación

Punto crítico: si la campana es usada para otros especímenes, limpiar minuciosamente con etanol al 70% antes de comenzar la extracción.

8.2.3.1 Limpiar minuciosamente la campana de flujo laminar con limpiador de cloro al 10% y luego con etanol al 70%, permitir que el etanol se evapore. Reúna los tubos, micropipetas y puntas, pipetas y materiales en la campana, después encienda la luz UV de 20-30 min.

8.2.3.2 Encienda el baño maría, calentar a ebullición (de 30-60 min. antes de empezar la extracción).

8.2.3.3 Prepare un baño con hielo seco/etanol colocando un recipiente de Pirex con etanol dentro de una caja de nieve seca conteniendo hielo seco. (Cambiar el etanol una vez por semana mínimo).

8.2.4 Extracción.

8.2.4.1 Limpie los tubos de las muestras con la toalla con cloro.

8.2.4.2. Centrifugar los tubos a 13,200 rpm durante 1-2 min. Para formar el pellet.

8.2.4.3 En una campana de flujo laminar, adicionar 200 µl de tween 20 al 0.5% en Agua Omni solv a cada tubo para la extracción de extracto crudo. Adicionar 200 µl de Tris a cada tubo para la extracción de extracto purificado. Cerrar el tubo apretando la tapa y poniendo el seguro o con la lapa sujeta tubos y colóquelos en un rack flotante.

8.2.4.4 Colocar el rack flotante en el baño de agua hirviendo por 10 min ± 10 sec.

Punto crítico: este tiempo es crítico, no debe alargarse más de 10 min.

8.2.4.5 Sacuda los tubos vigorosamente para remover el exceso de agua.

8.2.4.6 Colocar los tubos en el baño de etanol/hielo seco para enfriarlos por 2-3 min.

8.2.4.7 Mezclar el tubo rigurosamente para remover el exceso de agua.

8.2.4.8 Repetir el paso 8.2.4.4 después el 8.2.4.7

8.2.4.9 Repetir el paso 8.2.4.4

8.2.4.10 Remover la lapa sujeta tubos y centrifugar a 6000 r/min. por 20 min. ± 1 min. para formar un pellet del tejido.

Nota: La muestra puede ser guardada en refrigeración más de una semana o remover 1 el sobrenadante y guardar el pellet de la muestra en refrigeración más de 6 meses, a -20°C ± 5.

8.2.4.11 Las muestras están listas para ser amplificadas por extracción extracto crudo, o purificado de acuerdo a lo siguiente:

8.2.4.12 Adicionar 2.2µl de proteinasa K a cada tubo.

8.2.4.13 Incubar en baño María toda la noche (de 12 a 18 horas) a 42°C.

8.2.4.14 Enfriar las muestras 1min en un baño de etanol frío.

8.2.4.15 Hervir las muestras por 10 min. para inactivar la proteinasa K.

8.2.4.16 Centrifugar 10 min. a 6000 r/min. para formar el pellet.

8.2.4.17 En un nuevo tubo adicionar 200 µl de procipitate.

8.2.4.18 Colectar el sobrenadante de la muestra y colocarlo en el tubo con Procipitate.

8.2.4.19 Mezclar suavemente por 5 min., dejar reposar por 1 min., centrifugar por 2 min. a 13,200 r/min.

8.2.4.20 En un nuevo tubo, adicionar 25 µl de LiCl 4 M.

8.2.4.21 Adicionar 750 µl de etanol absoluto frío.

8.2.4.22 Colectar el sobrenadante (aproximadamente 200 µl), adicionar el sobrenadante de la muestra en un nuevo tubo y mezclar suavemente de 40-50 veces.

8.2.4.23 Dejar reposar a -70°C por 30 min.-1 hora (En este punto se puede detener el procedimiento de manera indefinida ya que el DNA se conserva en buen estado).

8.2.4.24 Centrifugar a 13,200 rpm por 30 min.

8.2.4.25 Decantar el etanol cuidadosamente.

8.2.4.26 Lavar el pellet con 500 µl de etanol al 70% frío.

8.2.4.27 Centrifugar a 13,200 rpm por 15 min.

8.2.4.28 Decantar cuidadosamente el etanol.

8.2.4.29 Secar al vacío por 5 min. a 45°C

8.2.4.30 Resuspender en 200 µl de agua estéril. Dejar reposar por 1 hora o preferentemente toda la noche a 4°C.

8.2.4.31 La muestra de extracto purificado está lista para ser amplificada.

8.3 Procedimiento de PCR.

8.3.1 Equipo/Instrumental

8.3.1.1 Campana de flujo laminar. Se debe utilizar una diferente de la utilizada para la extracción.

8.3.1.2 Sistema de amplificación de gen PCR (Perkin-Elmer Gene AMP PCR Sistema 9600 o equipo similar). El termociclador para PCR es mantenido siguiendo el manual de referencia. Limpiar el termociclador una vez al mes con una solución al 50 % de alcohol isopropílico y agua.

8.3.2 Reactivos/Suministros.

8.3.2.1 Ampli Taq Gold con GeneAmp PCR Buffer II y solución de MgCl₂ (Perkin Elmer, Foster city, Ca) Kit incluidos: a) TAQ, b) Buffer de reacción 10X, c) solución de MgCl (25mM de Mg⁺²).

8.3.2.2 Nucleótidos de PCR mix. (dNTP') Roche Molecular (Biochemicals Indianápolis, IN)

8.3.2.3 Primers-IDT (Integrated DNA Teenologies, Coralville, IA)

Primer	Secuencia
6110R	5'CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG3'
6110L	5'CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG3'
IS900R	5'CCG CTA ATT GAG AGA TGC GAT TGG-3'
IS900L	5'AAT CAA CTC CAG CAG CGC GGC CTC-G3'
MARC-R	5'AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3'
MARC-L	5'ACC AGA AGA CAT GCG TCT TG3'

8.3.2.4 Buffer TE (Tris-ethylenediamine tetracetato, NVSL Media 30055)

8.3.2.5 Agua OmniSolv (Em Science, Gibbstown, ND)

8.3.2.6 Micropipetas de volúmenes variables 0.5-10µl, 2-20 µl, 20-200 µl, 50-200 µl y 200-1000 µl.

8.3.2.7 Puntas con filtro estéril apropiadas para micropipetas.

8.3.2.8 Tubos de microcentrífuga de 0.2 ml de pared delgada con tapa redondeada.

8.3.2.9 Racks de tubos (autoclavables).

Abridor de Tubos.

8.3.2.11 Etanol al 70% y paños con cloro o solución de cloro al 10%.

8.3.2.12 Objetos comunes de laboratorio: guantes desechables libres de polvo, bata desechable, marcadores, etc.

8.3.3 Preparación de la prueba.

8.3.3.1 Preparar el master mix (un tubo para cada reacción) de la siguiente manera en tubos de centrifuga:

8.3.3.1.1 26.75µl Agua OmniSolv

8.3.3.1.2 5 µl de buffer de reacción 10X

8.3.3.1.3 5 µl de solución de MgCl (con una concentración final de 2.5 mM Mg⁺²).

8.3.3.1.4 1 µl dNTP (0.2 mM de desoxirribonucleicos totales).

8.3.3.1.5 1 µl de primers conteniendo 20 picomoles por cada primer. Preparándolo de la siguiente manera.

Nota: Dilución de primer.

1. Centrifugar brevemente el tubo del primer antes de abrirlo. La cantidad de primer presente está indicada en la hoja de especificaciones.

2. Adicionar un volumen igual de agua estéril o buffer TE al tubo para crear un solución stock (por ejemplo: 0.55 mg algo en 0.55µl de agua o buffer TE).

3. Hacer alícuota de 20 µl de la solución stock en un tubo de 0.5 ml. Crear una solución de trabajo (20 picomoles por microlitro) para adicionar 114 µl de TE o agua. Usar primers de la secuencia 6110R y 6110L para Mycobacterium bovis. Usar la secuencia del primer IS 900R y 1S 900L para Mycobacterium avium paratuberculosis. Usar primers de secuencias MARC-R y MARC-L para Mycobacterium avium.

4. Los primers pueden ser congelados a -20 y guardarlos hasta por 4 años.

Punto crítico: los tubos pueden ser preparados hasta este punto y almacenarlos congelados por mas 4 meses.

Hacer una gran cantidad de master mix, alícuotar y congelar a -70°C. Utilizar un control positivo antes que se pruebe espécimen desconocido (en el procedimiento de PCR igual del punto .8.3.3.4.1 al 8.3.3.4.4 al hacer un cóctel con un volumen igual al volumen deseado y alícuota de 40 µl por tubo).

8.3.3.1.6. 0.25 µl Ampli1TAQ Goid (Perkin Elmer).

8.3.3.1.7 Para preparar 20 tubos de master mix al mismo tiempo. Usar la siguiente tabla:

Master mix para 1 o 20 tubos.

	Volumen para 50 µl	Volumen para 20 X
Agua omni-solv	26.75 µl	535 µl
10X AmplitaQ Gold buffer	5 µl	100 µl
Mg ⁺² conc. (2.5mM)	5 µl l	100 µl
dNTP's	1µl	20 µl
Primers	1.0 µl X2	20µl X2
AmplitaQ Gold	0.25 µl	5 µl
Vol. Por tubo	40.0 µl	40.0 µl

8.3.3.2 Limpiar cuidadosamente la campana de flujo laminar con etanol al 70 %, dejar que el etanol se evapore. Acomodar tubos, micropipetas puntas y materiales, encender la luz UV y esterilizar por 15-30 min.

8.3.3.3 Ponerse una bata limpia y guantes.

8.3.3.4 Etiquetar los tubos de reacción (tubos de 0.2 ml).

Nota: incluir un control positivo y dos controles negativos con cada amplificación. El primer reactivo de control negativo es un tubo con master mix, con 10 µl de agua y el cual se mantiene abierto en la campana durante todo el proceso para ser testigo de contaminación. El segundo tubo de control negativo es un tubo con master mix con 10 µl del extracto de una muestra conocida negativa la cual ha sido cortada al mismo tiempo de las muestras desconocidas.

8.3.3.5 Preparar los tubos de reacción con 40µl de master mix y 10µl de extracto.

8.3.3.6 Colocar los tubos en el termociclador y amplificar usando uno de los siguientes programas:

Para IS6110:

1. Programa inicial (1 ciclo): 94°C x 10 min.
2. Segundo programa (50 ciclos):
 - a. Desnaturalizar a 94°C x 45 seg.
 - b. Alinear y extender a 72°C x 2.15 min.
3. Tercer programa (1 ciclo): extensión a 72°C x 10 min.
4. Cuarto programa (1 ciclo): enfriar a 4°C indefinidamente.

Para 1S900 o 16S rRNA:

1. Programa inicial (1 ciclo): 94°C x 10 min.
2. Segundo programa (50 ciclos):
 - a. desnaturalizar a 94°C x 1 min.
 - b. alinear a 65°C x 15 seg.
 - c. extender a 72°C x 2 min.
3. Tercer programa (1 ciclo): extensión a 72°C x 10 min.
4. Cuarto programa (1 ciclo): enfriar a 4°C indefinidamente.

8.4 Electroforesis del producto amplificado.**8.4.1. Equipo/instrumentación.****8.4.1.1 Unidad completa para geles de electroforesis con fuente de poder.**

8.4.1.2 Fotodocumentador o transiluminador. Chemilmagen™ IS-4400. Alpha Innotech, San Leandro California.

8.4.2 Reactivos/suministros**8.4.2.1** Buffer TBE 1X— Diluir Buffer 10X 1:10 en agua (Midwest Scientific, Valley Park, MO).**8.4.2.1** Buffer de carga.**8.4.2.3** Agua estéril. (EM Scientific, Gihstown, NJ).**8.4.2.4** Marcador molecular (Bio-Rad 100 bp, Hercules, CA).

8.4.2.5 Bolsas destiñidoras para remover el bromuro de etidio del buffer (Midwest Scientific, Valley Park, MO).

8.4.2.6. Micropipetas de volúmenes variables: 0.5-10 µl, y 2-20 µl**8.4.2.7** Puntas con filtro apropiado para las pipetas.**8.4.2.8** Abridor de tubos.

8.4.2.9 Objetos comunes del laboratorio: guantes desechables, racks para tubos, probetas, vasos de precipitado.

8.4.3 Preparación de la electroforesis.**8.4.3.1** Montar la cámara de electroforesis de acuerdo a las instrucciones del fabricante.**8.4.3.2** Adicionar 250 ml de TBE 1 X.

Precaución: el bromuro de etidio es considerado mutagénico. Tratarlo con extremo cuidado y eliminar al medio ambiente de una manera segura.

Ver hojas de seguridad MSDS para un manejo y desecho seguro.

8.4.3.3. Gel de agarosa: Gel de 12 pozos de agarosa al 4% con bromuro de etidio en buffer TBE 1X (Cambrex BioScience Rockland Inc, Rockland Maine).

8.4.3.4 Cargar el gel.

1. Colocar el gel en la cámara de electroforesis (con Buffer ya en la cámara) el buffer debe cubrir el gel.
2. Mezclar 10 µl de muestra con 2.0 µl de buffer de carga—cargar 10 µl en el gel.
3. Marcador molecular: Mezclar 2.5 µl con 1.0 µl de buffer de carga—cargar 25µl en el gel.

8.4.4 Electroforesis

8.4.4.1 Colocar la fuente de poder de la electroforesis en 120 volts .

8.4.4.2 Correr la electroforesis por 70 mm y remover el gel de la cámara.

Nota: el buffer puede ser usado para 3 corridas.

8.4.4.3 Visualizar y fotografiar el gel usando un equipo Chemilmager o similar siguiendo las direcciones del fabricante.

8.5 Fórmulas.

8.5.1 Tween 20 al 0.5%.

1. Tween 20 grado EIA

2. Agua omni-solv.

Colocar 100 ml de agua ultrapura dentro de un matraz o frasco estéril. Utilizar una pipeta estéril para añadir 0.5 ml de Tween 20. Filtrar para esterilizar utilizando filtros de 0.22 μ m.

Los guantes estériles deben de ser utilizados todo el tiempo, la técnica aséptica debe de ser estrictamente seguida y la cristalería y los dispositivos de plástico deben de ser utilizados.

8.5.2 Buffer de carga.

1. Sacarosa

2. Buffer TBE 1 0 X (Boehringer Mannheim Cat No. 100759)

3. Xilencianol

Diluir 10 ml del buffer 10 X + 90 ml de agua destilada. Añadir 40 gramos de sacarosa a 100 ml de buffer TBE 1 X. Añadir un poco de colorante xilencianol, lo suficiente hasta que se adquiera el color azul deseado.

8.5.3 Etanol al 70%

1. Añadir 7 partes de etanol absoluto a 3 partes de agua destilada o

2. Añadir 7 partes de etanol al 95% + 2.5 partes de agua destilada.

8.5.4 Buffer TE (tris etilendiamine-tetracetato).

1 1.21 g de trizma base 10 MM

2. 0.38 g de EDTA 1 MM

3. Agua ultrapura cbp.1 litro con pH de 7.5

Tris buffer 0.0.5 pH 8.3 con EDTA 1 mM y 0.5% de tween 20.

1. 0.31 gr de Tris-HCl

2. 0.37 de trizma base

3. 100 ml de agua ultrapura

4. 0.0372 g de EDTA

5. 0.5 ml Tween 20

Mezclar de 1 a 3 y ajustar el pH a 8.3

Añadir EDTA y tween 20

Filtrar para esterilizar.

8.5.6. Solución de Cloruro de litio 4 M.

8.478 g de cloruro de litio.

50 ml de agua omnisolv .

Mezclar bien y filtrar para esterilizar. El cloruro de litio es un irritante y potente teratógeno. Utilizar guantes y tener cuidado.

Tipificación de Oligonucleótidos Espaciadores (Spoligotyping).

1 Procedimientos y principios.

Esta técnica está basada en la detección de polimorfismo del ADN en la región de "Repetición Directa" (DR, por sus siglas en inglés) que se encuentra en las bacterias del complejo *M. tuberculosis*. La región DR en *M. bovis* BCG, primera en ser descrita, consiste en secuencias de repeticiones de 36 pares de base (pb) las cuales están separadas por segmentos de DNA no repetitivo (espaciadores) de 35 a 41 pb. El número de copias de la secuencia DR en *M. bovis* BCG es de 49, en otras micobacterias del complejo varía significativamente. Algunos de estos segmentos, 37 de *M. tuberculosis* y 6 de *M. bovis* han sido secuenciados y fijados a membranas de nitrocelulosa y la diferenciación entre cepas se hace con base en la presencia o ausencia de algunos de estos espaciadores. Este procedimiento se utiliza generalmente en la tipificación molecular de aislados de micobacterias. Sin embargo, recientemente se ha descrito su utilización como método de diagnóstico directamente en muestras clínicas. El procedimiento comprende dos pasos: 1. amplificación del ADN por PCR. 2 Hibridación de los productos de amplificación con los oligonucleótidos unidos a la membrana.

1.1. PCR para la región DR.

Se utilizan un par de oligonucleótidos específicos dirigidos contra la región DR, uno de ellos biotinilado, con la siguiente secuencia: DRa 5'- GTTTTGGGTCTGACGAC -3', biotinilado en la posición 5', y DRb 5'-CCGAGAGGGGAC GGAAAC -3'.

Las condiciones de amplificación son las siguientes:

Para un volumen final de 50 ml

- ADN 300 ng, 20 pmol de cada iniciador
- 0.2 mM c/dNTP,
- PCR buffer 1X, MgCl₂ 1.25 mM,
- Amplitaq (Applied Biosystems, Roche Molecular Systems, Inc., NJ, USA) 0.5 U.

El programa de amplificación consiste:

Un ciclo a 96°C por 3 minutos,

Seguido por 40 ciclos a 96°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto y 72°C por 30 segundos

U una extensión final a 72°C por 10 min.

1.2 Hibridación de los productos de amplificación.

1.2.1 El producto de amplificación (20 ml) se diluye con SSPE 2X-SDS 0.1%) 50 ml, SDS 10% 5 ml, agua destilada 445 ml) (150 ml) precalentado, y se desnaturaliza mediante calentamiento a 100 °C por 10 min, inmediatamente después se coloca en hielo.

1.2.2 La membrana se lava en 50 ml de SSPE 2X-SDS 0.1% precalentado por 5 min a 60°C, colocándose posteriormente en un miniblatter MN45 de manera que los pozos de este quedarán perpendiculares a la línea de los oligonucleótidos adheridos a la membrana, y removiendo cualquier fluido residual por aspiración.

1.2.3 Cada pozo del miniblatter se llena con 150 ml del producto de PCR diluido (evitando las burbujas de aire y la contaminación de los pozos vecinos).

1.2.4 Se coloca cinta adhesiva para evitar la evaporación, y se hibrida durante 1 hr a 60°C en un horno de hibridación.

1.2.5 Posteriormente se remueven las muestras de los pozos del miniblatter por aspiración, y la membrana se lava dos veces en un tubo de hibridación con 50 ml de SSPE 2X- SDS 0.5% (SSPE 20x 50 ml SDS 10% 25 ml agua destilada 425 ml) a 60°C por 10 min., con movimiento en el horno, para remover los productos no hibridados.

1.2.6 Después de enfriar el tubo para evitar la inactivación de la peroxidasa la membrana se incuba con 20 ml de SSPE 2X-SDS 0.5% y 10 ml de conjugado de estreptavidina-peroxidasa dilución 1:2000, por 45-60 min. a 42°C en movimiento.

1.2.7 Finalmente se lava dos veces la membrana con 30 ml de SSPE 2X-SDS 0.5% por 10 min. a 42°C y se mantiene otros 5 min. en 50 ml de SSPE 2X (SSPE 20x 50 ml, agua destilada 450 ml) a 30°C.

1.2.8 Para la detección por quimioluminiscencia del ADN hibridado, la membrana se incuba por 1 min. en 6 ml del líquido detector quimioluminiscente ECL en dilución 1:1, y se expone la membrana a una película de rayos-X (Kodak Istman) por 10 min.

1.2.9 El análisis de los patrones de hibridación se realiza con el paquete para análisis estadístico SPSS versión para Windows, obteniendo así los dendrogramas o árboles filogenéticos.

Referencias Bibliográficas.

Kamerbeek, J., L. Schouls, A. Kolk, M. van Agterveld, D. van Soolingen, S. Kuijper, A. Bunschoten, H. Molhuizen, R. Shaw, M. Goyal, and J. D. A. Van Embden. 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.* 35:907-914.

Milián-Suazo F., Banda-Ruiz V., Ramírez-Casillas V., Arriaga-Díaz C. 2002. Genotyping of *Mycobacterium bovis* by geographic location within Mexico. *Preventive Veterinary Medicine* 55(4): 255-264.

Robledo Salinas Margarita. Identificación y tipificación molecular de *Mycobacterium bovis* en tejidos conservados. Tesis de Maestría. FMVZ. UNAM. 2003. Asesor: Camila Arriaga Díaz.

Equipo.

3.1 Termociclador automatizado para amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR, con rango de temperatura de 4 a 99.9°C, que permita el almacenamiento de múltiples programas.

3.2 Analizador de geles o en su defecto, Transiluminador de luz UV y Cámara POLAROID.

3.3 Cámaras de electroforesis horizontal para ácidos nucleicos, fuente de poder.

3.4 Microcentrífuga.

3.5 Sistema de transferencia.

3.6 Horno de hibridación.

3.7 Baño maría

3.8 Casetera de revelado.

3.9 Miniblotter MN45 (Immunetics, Cambridge, UK).

3.10 Juego de pipetas de diferentes volúmenes, puntas de diferentes volúmenes, tubos.

4. Reactivos y material biológico.

4.1 TRIS.

4.2 EDTA.

4.3 Lisozima.

4.4 Proteinasa K.

4.5 SDS.

4.6 NaCl.

4.7 N-cetyl- N, N, N, - trimetyl bromuro de amonio (CTAB).

4.8 Cloroformo.

4.9 Alcohol isoamílico.

4.10 Isopropanol.

4.11 Etanol.

4.12 Agarosa.

4.13 Acido acético glacial.

4.14 Bromuro de etidio

4.15 Azul de bromofenol.

4.16 Xilencianol

4.17 Glicerol.

4.18 Buffer de PCR 10X.

4.19 MgCl₂, DNTPs (AGCT).

4.20 Iniciadores.

4.21 Taq Polimerasa.

4.22 Agua MILI-Q (puede ser agua inyectable).

4.23 Membrana de nylon con oligonucleótidos (ISOGEN, Bioscience BV, Maarsseen, Holanda).

4.24 SSPE 20x (Invitrogen life Technologies Ultra Pure, UK Estreptavidina-peroxidasa (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ USA), ECL (Amersham Pharmacia Biotech).

“Apéndice C” (Normativo)

Lineamientos para la Autorización de Corrales Designados.

1. Todos los animales que salgan de las instalaciones deben ir a sacrificio inmediato a una Planta TIF. o a un rastro autorizado por el gobierno federal, en transporte flejado y con la autorización escrita de la SAGARPA a través del veterinario aprobado por la SAGARPA que es responsable de la supervisión de las operaciones en el corral de engorda.
2. Cada corral de engorda debe de estar aprobado por la SAGARPA a través del Comité u otros organismos auxiliares, que verificarán que se cumpla con todos los requisitos mínimos de instalaciones y funcionamiento.
3. Todos los animales de Corrales Designados, serán confinados bajo condiciones de corral intensivo y no se permitirá ningún tipo de pastoreo.
4. Los requisitos de las instalaciones y equipo serán adecuados para manejar a los animales de forma segura y efectiva.
5. Debe contar con cercas perimetrales adecuadas para prevenir el ingreso de otros animales ajenos a las instalaciones o el egreso sin control de los animales del Corral Designado.
6. Se requiere contar con un libro de registro en el que se asentará el origen de todo el ganado que entre a las instalaciones y del destino de todo el ganado que salga.
7. Todos los animales que entren a las instalaciones deben contar con una prueba de tuberculina vigente (60 días), con resultados negativos, los animales enteros deben contar además con una prueba negativa de brucelosis realizada dentro de los últimos 60 días.
8. Cada animal debe de ser identificado en el origen a hierro candente o superfrío (indeleble) con el número oficial del estado de origen reconocido por el INEGI y las siglas de CN (consumo nacional).
9. Sólo se permitirá la salida de ganado de las instalaciones, cuando sean movilizados a una planta TIF. o rastro autorizado, en vehículo flejado, acompañado de la relación de identificaciones individuales de los animales que se movilizan en ese embarque.
10. La Delegación Estatal de la SAGARPA proporcionará a la DGSA una lista de los Corrales de Engorda Designados al igual que la de los rastros TIF y autorizados para este programa.
11. La localización y número de Corrales Designados en cada estado, así como los anteproyectos para cada instalación serán resguardados por la Delegación Estatal de la SAGARPA y podrán estar disponibles para la DGSA cuando se requiera.
12. Las propiedades adyacentes o vecinas serán revisadas para comprobar la presencia de ganado, las instalaciones que tengan ganado adyacente al corral de engorda designado deben de muestrear a sus animales anualmente.
13. Cada lote de ganado que entre a una instalación para engorda aprobada debe de tener un permiso expedido por la SAGARPA en coordinación con el CEFPP.
14. Se debe llevar un registro de todos los animales que mueren o fueron sacrificados de emergencia dentro de las instalaciones de la engorda. Los registros deben de especificar la identificación de estos animales.
15. Los animales que salgan del corral y se dirijan al sacrificio deben de estar identificados individualmente y su identificación debe de ser registrada.
16. Se requiere que los vehículos ingresen flejados desde el origen, se registre el número de fleje en el punto de entrada al estado y se retire hasta el corral de engorda. Asimismo, el transporte debe flejarse del corral de engorda al rastro. Los números de los flejes deben de mantenerse registrados al igual que el personal que los coloque y los retire en el corral de engorda y en el rastro.
17. Se deben de registrar los datos del dueño, su inventario y el número de animales.
18. Todos los requisitos que deben cumplir los Corrales Designados será realizado por médicos veterinarios aprobados por la SAGARPA. Las instalaciones, manejo y registros del Corral Designado, será supervisado por personal oficial de la SAGARPA en coordinación con personal del Gobierno del Estado, cada 15 o 30 días.

19. Estos Corrales Designados están permitidos sólo en los niveles de Erradicación I y Erradicación II.
20. La infraestructura de los corrales debe ser la adecuada para permitir la supervisión de los animales.
21. Se deben de dar todas las facilidades para la inspección de los registros o archivos e instalaciones, cuando se requiera dentro del horario de oficina.
22. Cualquier falta al cumplimiento de los requisitos mínimos establecidos será motivo de la cancelación de la autorización otorgada como Corral Designado.

“Apéndice D” (Normativo)

Protocolo para la movilización y venta de ganado en ferias y exposiciones

Se describen a continuación los requisitos para la celebración y/o participación de ganado bovino con diferentes estatus sanitarios en ferias y exposiciones:

1. Disposiciones generales

1.1. Todo evento relacionado con ferias, exposiciones, subastas, tianguis y eventos similares, deben contar con la autorización de la Secretaría y estarán sujetos a supervisiones periódicas por parte de médicos veterinarios oficiales.

1.2. Los propietarios de los animales que se concentren con fines de exhibición, competencia y/o comercialización, deben demostrar el cumplimiento de las normas oficiales mexicanas que correspondan.

1.3. Todos los animales que ingresen a eventos relacionados con ferias, exposiciones, subastas, tianguis y eventos similares, deben ser inspeccionados por un médico veterinario, médico veterinario oficial o aprobado y no podrán ingresar aquellos animales o lotes de los mismos en donde se identifiquen clínicamente signos de enfermedades infectocontagiosas o parasitarias.

1.4. Para el ingreso y egreso de los animales en ferias, exposiciones, subastas, tianguis y eventos similares, se requerirá del Certificado Zoosanitario.

1.5. Los animales que no cumplan satisfactoriamente con las normas oficiales mexicanas y demás disposiciones de la Secretaría, establecidas, serán rechazados y sus propietarios deben sujetarse a las disposiciones y sanciones que la Secretaría determine, según el caso.

1.6. Cuando dentro del área destinada para la celebración de ferias, exposiciones, subastas, tianguis o eventos similares y durante el tiempo que permanezca el evento, se presente alguna epizootia, la Secretaría debe ser notificada de inmediato, y ésta impondrá las medidas zoosanitarias correspondientes.

1.7. De acuerdo con el capítulo IV, artículos 18 y 19 de la Ley Federal de Sanidad Animal, los propietarios, así como en su caso, el administrador único o los encargados de la administración de establecimientos en donde se concentren animales con motivo de ferias, exposiciones o eventos similares, serán responsables del cumplimiento de las normas oficiales aplicables en los establecimientos correspondientes y estarán obligados a proporcionar las facilidades necesarias al personal de la Secretaría para verificar el cumplimiento de dichas normas.

2.- Ferias, exposiciones, subastas y eventos similares.

2.1. Se contará durante todo el periodo del evento, por lo menos con un médico veterinario, médico veterinario aprobado u oficial permanentemente, quien será encargado de vigilar el estado de salud de los animales, así como el trato humanitario de los mismos.

2.2. Para que la Secretaría autorice la realización de ferias, exhibiciones, subastas y eventos similares, debe efectuarse el siguiente procedimiento:

a) Presentar solicitud de autorización del evento ante la Delegación Estatal de la Secretaría, con un mínimo de 60 días previos al mismo.

b) El documento debe señalar que el solicitante cuenta con las instalaciones adecuadas conforme a lo establecido en el punto 5.4. de la presente Norma.

c) Lo anterior debe ser verificado y determinado por el personal técnico oficial designado por la Secretaría.

d) En caso de negativa por la causa de instalaciones inadecuadas, el solicitante contará con un plazo perentorio para la corrección de las mismas, sujeta a una nueva verificación.

2.3. Antes, durante y después del evento, las instalaciones deben mantenerse limpias y en buenas condiciones.

2.4. Se debe contar por lo menos con lo siguiente:

- a. Rampa de desembarque y corrales de recepción.
- b. Corrales o espacios para cada especie en forma separada.
- c. Area de aislamiento para animales que ameriten esta medida zoonosanitaria.
- d. Area para el manejo de excretas y desechos.
- e. Fuente de abastecimiento de agua.
- f. Sistema de ventilación adecuado a las instalaciones y a los animales.
- g. Enfermería y farmacia.
- h. Area de suministro de alimento.
- i. Tapetes sanitarios entre las áreas.

2.5. Se debe contar y operar con un programa de limpieza y desinfección de vehículos e instalaciones y programa de control de ectoparásitos, de control de fauna nociva y de manejo, tratamiento y desalojo de excretas y desechos, autorizado y supervisado por la Secretaría.

3.- Para obtener el Certificado zoonosanitario de Movilización se deben presentar los siguientes documentos:

- Constancia de Hato Libre de Brucelosis (BR) vigente.
- Constancia de Hato Libre de Tuberculosis (TB) vigente.
- Constancia de tratamiento garrapaticida (GR) y/o libre de ectoparásitos vigente, de los animales a movilizar.

3.1 Los animales a movilizar presentarán pruebas vigentes de tuberculosis y brucelosis (no más de 60 días de realizadas).

3.2 Los animales deben contar con identificación individual, por lo que no es necesario que sean marcados a fuego con las siglas del estado de origen.

4.- Ubicación de las Ferias y Exposiciones.

Los animales se mantendrán en áreas separadas, dependiendo de su región o estado de origen y estatus sanitario.

4.1 Para las ferias que se realicen en regiones y estados en fase de Erradicación I, II y III.

Podrán participar para exposición y venta animales sólo de regiones o estados en fase de Erradicación I, II y III y "Hatos Libres Certificados".

Los animales procedentes de regiones "Sin Clasificación" sólo podrán ser comercializados a regiones con el mismo estatus.

Se debe mantener una separación razonable entre las diferentes ganaderías, así como bebederos y comederos individuales.

Deben contar con tapetes sanitarios a la entrada de las instalaciones.

Las instalaciones se mantendrán limpias y desinfectadas.

4.2. Para las ferias que se realicen en las Regiones en fase de "Control" o estados Sin Clasificación.

Los animales procedentes de regiones y estados en fase de Erradicación I, II y III podrán regresar a su origen o movilizarse a cualquier destino. Si es con destino a una región o estado en fase de Erradicación I, II y III, se les debe realizar una prueba de tuberculina, antes de ser reintegrado a su hato.

Los animales procedentes de regiones en fase de "Control" con Hato "Libre Certificado" podrán ingresar a regiones y estados en fase de Erradicación I, II y III bajo el esquema de prueba posterior a su llegada.

Los animales procedentes de regiones "Sin Clasificación" sólo podrán ser comercializados a regiones con el mismo estatus.

En todas las ferias, los requisitos sanitarios se verifican a la entrada de los animales y a su salida del evento.

5.- El ganado para fines de cría que puede ingresar a regiones o estados en fase de Erradicación I, II y III, sólo debe proceder de otra región o estado en fase de Erradicación I, II y III o de una región en fase de Control, siempre y cuando presente Hato Libre Certificado.

6.- Todo ganado movilizado a ferias y exposiciones que transite por regiones o estados Sin Clasificación, debe ser en vehículo flejado. Debe ser monitoreado, revisado y documentado por todos los puntos de inspección, federales o estatales, hasta ingresar a zonas o estados con estatus.

7.- Cuando en las pruebas resulten animales positivos a las pruebas de tuberculina, se debe iniciar una investigación y un reporte (cuando sea finalizada la investigación), si de ésta resultara un hato infectado en una región o estado en fase de Erradicación I, II y III, se debe enviar un informe a la Dirección de campañas Zoonositarias.

8.- Cuando el ganado sujeto a este protocolo, retorne a una región o estado en fase de Erradicación I, II y III, debe ser segregado y probado (no antes de 60 días de la última prueba) antes de incorporarse al hato.

“Apéndice E” (Normativo)

Certificación de Hatos Libres de Tuberculosis Bovina

Este programa se implementará en estados o regiones en fase de Control.

A continuación se presentan los requisitos a cumplir por los hatos (sección A) y los requisitos a cumplir para la movilización de animales (sección B).

A) Requisitos a Cumplir por los Hatos.

Sólo participarán hatos que cumplan con:

1.- Estar oficialmente reconocidos por SAGARPA como “Hatos Libres” por un mínimo de 2 años, si no han tenido antecedentes de infección por tuberculosis. Los hatos que estuvieron infectados en el pasado y que la cuarentena fue liberada, requieren haber permanecido con constancia de hato libre por los últimos 5 años en forma consecutiva.

2.- Realizar una prueba a todo el hato.

- Esta prueba será realizada por personal oficial de SAGARPA y será válida por un año para efecto de la certificación de hato libre. Las pruebas de re-certificación serán realizadas por personal oficial de SAGARPA.

3.- Los hatos adyacentes deben tener una prueba negativa antes de la movilización de los animales del hato libre certificado. Estos hatos adyacentes deben ser probados anualmente.

- Estas pruebas podrán realizarse por personal oficial o médicos verificadores supervisados por SAGARPA.

4.- Se debe llevar a cabo una investigación epidemiológica del “hato libre”.

- Los incrementos por compra del hato acreditado libre deben ser registrados. Los próximos incrementos deben cumplir con los requisitos de prueba de movilización existentes para la fase de Erradicación I, II o III (ganado para reproducción).

B) Requisitos a cumplir por los animales a movilizar.

Para llevar a cabo la movilización de animales para pie de cría (reproducción) de regiones en fase de Control a estados o regiones en Fase de Erradicación I, II o III se deben cumplir los siguientes requisitos:

1.- Los propietarios que quieran movilizar animales para cría a las regiones o Estados en Fase de Erradicación I, II o III deben solicitarlo por escrito a la SAGARPA.

2.- Para obtener el permiso de movilización, deben cumplir con los siguientes requisitos:

- a) Los animales deben proceder de un “Hato Libre Certificado”.
- b) El ganado procedente de las regiones en fase de Control que introduzca a regiones o Estados en Fase de Erradicación I, II y III, debe hacerlo en vehículos flejados.
- c) Todo el ganado debe estar identificado en forma permanente.
- d) Contar con prueba de tuberculina vigente (60 días)

- Los bovinos a movilizar, después de los 60 días de la prueba del hato, deben tener una prueba negativa del lote a movilizar realizada por personal de SAGARPA.
- Se exentará de la prueba individual para la movilización, si el hato no tiene más de 60 días de haberse probado.
- Los animales que respondan a la prueba caudal y resulten negativos a la prueba cervical comparativa, no se les permitirá su movilización a regiones o estados en fase de Erradicación I, II o III. El resto del lote podrá ser movilizado después que la prueba cervical (de los animales que respondieron a la prueba caudal) sea negativa.

3.- El comprador firmará un escrito en el que se compromete a mantenerlos aislados hasta que se les practique otra prueba de tuberculina, la cual debe realizarse dentro de los 90 días de la llegada de los animales y no menos de 60 días de la prueba anterior .

Esta prueba se realizará por un veterinario verificador, bajo la supervisión de un veterinario oficial de SAGARPA.

Carta Compromiso

Certificamos que las siguientes condiciones se cumplirán a fin de permitir que se movilice ganado a la feria de _____ que se realizará del _____ de _____ al _____ de _____ de 200__.

1. El ganado a movilizar es procedente de "Hato Libre" oficialmente reconocido por SAGARPA con el Número de Constancia de TB _____. Con una vigencia de _____ y ha sido hato libre por lo menos durante 2 años consecutivos, de la cual se adjunta una copia. (en donde están todos los datos del hato)

2. El ganado debe ser probado por médicos oficiales de SAGARPA y obtener resultados negativos, antes de su movilización a la feria.

- El ganado que responda a la prueba caudal no será elegible para ser movilizado a la feria, aunque en una prueba posterior sea clasificado como negativo.

3. Los animales procedentes de las regiones en fase de Control de Estados en fase de Erradicación I, II o III deben ser transportados en vehículos flejados y tener una identificación permanente.

4. Personal de SAGARPA revisará los papeles para verificar que se cumplen los requisitos, en caso contrario, no se les permitirá la entrada a las instalaciones de la feria.

5. Los animales que se movilicen bajo este permiso especial, deben mantenerse en instalaciones separadas de los animales que procedan de otras regiones.

6. Al ganado que se venda a otros estados o regiones con situación sanitaria superior, el personal de SAGARPA le expedirá un permiso de movilización, enviando una copia del mismo al estado de destino. Este permiso indicará con precisión el predio de destino.

7. En el destino, el comprador se compromete a mantener aislados los animales hasta que se les realice una prueba de tuberculina dentro de los 90 días de la llegada de los animales y no menos de 60 días de la prueba anterior.

ORIGEN	DESTINO
NOMBRE DEL HATO:	NOMBRE DEL HATO:
MUNICIPIO DE UBICACION DEL HATO DE ORIGEN:	MUNICIPIO DE UBICACION DEL HATO DE DESTINO:
NOMBRE DEL DUEÑO DEL HATO LIBRE DE ORIGEN (VENDEDOR)	NOMBRE DEL DUEÑO DEL HATO DE DESTINO (COMPRADOR).
FIRMA:	FIRMA:
FECHA:	FECHA:
LUGAR:	LUGAR:

PERSONAL OFICIAL SAGARPA/SENASICA	
NOMBRE	CARGO
FIRMA	SELLO OFICIAL
FECHA	
LUGAR	

“Apéndice F” (Normativo)

Formato para la evaluación de requisitos sanitarios para el reconocimiento de países o zonas de riesgo insignificante de tuberculosis bovina

**FORMATO PARA LA EVALUACION DE REQUISITOS SANITARIOS
PARA EL RECONOCIMIENTO DE PAISES O ZONAS DE RIESGO INSIGNIFICANTE
DE TUBERCULOSIS BOVINA**

Antecedentes

¿Cuándo fue el último foco de tuberculosis bovina?

¿Cuenta con soporte legal y técnico en la legislación sanitaria de su país para tuberculosis bovina?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar documentación de soporte.

¿Existe normatividad para su control, erradicación y mantenimiento como de riesgo insignificante en la legislación sanitaria de su país?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar documentación de soporte.

¿Existe algún Acuerdo Federal o regional que la hace de interés público o su equivalente?

Sí () No ()

¿Cómo está clasificado el país o zona ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE)?

FASE DE RECONOCIMIENTO	Cumple con los requisitos establecidos por la OIE (sí/no)	Existe soporte documental de acuerdo a los requisitos establecidos por la OIE (sí/no)	Indique la fecha de dicho reconocimiento
Riesgo de tuberculosis bovina insignificante			
Riesgo de tuberculosis bovina controlado			
Riesgo de tuberculosis bovina indeterminado			

En caso afirmativo, anexar la información documental.

Indique la prevalencia de tuberculosis bovina por hato, en el País y en su caso de regiones reconocidas.

	Censo Hatos	Hatos Infectados	Prevalencia
País			
Región 1			
Región 2			

Indique si existe documentación oficial del (de los) foco(s) de tuberculosis bovina registrado (s) en los últimos 5 años.

Sí () No ()

En caso afirmativo anexar la información documental

Indique la(s) fecha(s) del (de los) último(s) foco(s) de los últimos 5 años, así como sus características:

Fecha de inicio del foco	Ubicación del foco	Tipo de explotación afectada (tecnificada/traspatio)	Número de bovinos afectados		Número de bovinos expuestos o bajo riesgo		Fecha del cierre del foco
			Estabulado	En pastoreo	Estabulado	En pastoreo	

En caso de proceder, adjuntar documentación de soporte para cada foco

¿Se realizaron actividades contraepidémicas ante la sospecha y/o confirmación de los casos de tuberculosis bovina?

Sí () No ()

Actividad realizada	SI	NO
Diagnóstico		
Notificación oficial		
Cuarentena		
Control de las movilizaciones		
Sacrificio		
Destrucción de cadáveres		
Vigilancia epidemiológica		
Trazabilidad de bovinos afectados, expuestos y bajo riesgo.		
Otra (especificar)		

En caso afirmativo, anexar la información documental de soporte por cada actividad realizada.

¿Se ha efectuado un análisis de riesgo, de conformidad con lo dispuesto en los lineamientos establecidos por la OIE para esta enfermedad y que identifique todos los factores que pueden contribuir a la presencia de la tuberculosis bovina?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar el análisis de riesgo.

- Desde hace por lo menos 5 años, ¿se lleva a cabo un programa continuo de concientización destinado a los veterinarios, los ganaderos y las personas que trabajan en el transporte, comercio y sacrificio de bovinos para fomentar la declaración de todos los casos de tuberculosis bovina?

Sí () No ()

En caso afirmativo, anexar la información documental de soporte.

Desde hace por lo menos 5 años, ¿la tuberculosis bovina es una enfermedad de notificación obligatoria y se lleva a cabo el diagnóstico en todos los bovinos?

Sí () No ()

En caso afirmativo, anexar la información documental de soporte.

Del total de casos de tuberculosis bovina en el país o zona, ¿se han confirmado con la tipificación del *M. bovis*?

Sí () No ()

¿Cuenta con un sistema de identificación permanente que permita la trazabilidad de los bovinos afectados por tuberculosis bovina, así como de los bovinos que convivieron con los afectados y que estuvieron expuestos al agente infeccioso?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar información de soporte que incluya la metodología utilizada.

¿Se lleva a cabo un estricto control en la movilización de los bovinos afectados por tuberculosis bovina, así como de los bovinos que convivieron con los afectados y que estuvieron expuestos al agente infeccioso?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar información de soporte que incluya la metodología utilizada.

Recursos humanos federales y regionales

Describa la estructura de los servicios veterinarios oficiales de su país (adjuntar organigrama)

¿Cuántos Médicos Veterinarios (MVs) y otros técnicos trabajan en el área de salud animal por parte del Gobierno Federal o Regional o su equivalente en actividades de prevención contra la tuberculosis bovina (no incluir personal de cuarentenas)?

	Médicos Veterinarios
	Técnicos pecuarios
	Otros (describir)

3. ¿Cuántos MVs y otros técnicos trabajan en el sector privado o su equivalente en actividades de prevención contra la tuberculosis bovina (no incluir personal de cuarentenas)?

	Médicos Veterinarios
	Técnicos pecuarios
	Otros (describir)

Actividades de diagnóstico

¿Cuales son las pruebas oficiales para el diagnóstico de tuberculosis bovina que se realizan en campo?

¿Cual es el procedimiento para la aplicación de las pruebas de campo para el diagnóstico de tuberculosis bovina?

¿Como clasifican los resultados en las pruebas de campo para el diagnóstico de tuberculosis bovina?

¿Que personal aplica las pruebas de campo para el diagnóstico de tuberculosis bovina?

¿Personal oficial supervisa la realización de las pruebas?

¿Existen laboratorios aprobados y/o autorizados por los Servicios Veterinarios Oficiales de su país para el diagnóstico de Tuberculosis bovina?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar relación de laboratorios.

¿Cuántos laboratorios y tipo de aprobación vinculados al diagnóstico de Tuberculosis bovina en el país o región bajo estudio?

No. laboratorios	Tipo de Aprobación y/o autorización
	Oficiales federales
	Estatales/ Regionales
	Aprobados
	Particulares
	Investigación/Docencia
	Otros

Adjuntar documentación de soporte

¿Se apoya el diagnóstico de la vigilancia epidemiológica para Tuberculosis bovina en otro laboratorio externo de Referencia Internacional?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar la relación del (o de los) laboratorio(s).

En caso de que no exista un laboratorio por cada región, como se cubre el diagnóstico de Tuberculosis.

Cuál es el área de interacción de cada laboratorio.

Anexar mapa con la ubicación del laboratorio y su interacción

¿Que técnica(s) utilizan los laboratorios para el diagnóstico de Tuberculosis bovina?

Técnica diagnóstica utilizada	Nombre del laboratorio
Histopatología	
Aislamiento bacteriológico	
Tipificación	
Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	
Gamma Interferón	
ELISA	
Otros (nombre de la técnica y validación)	

Adjuntar documentación de soporte

¿Los laboratorios que realizan diagnóstico de Tuberculosis bovina, reportan al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de su país o su equivalente, la totalidad de los diagnósticos realizados en forma oportuna, tanto positivos como negativos y no trabajados?

Sí () No ()

En caso afirmativo, ¿se cuenta con los reportes de los últimos siete años?, indicar en el cuadro el cumplimiento por laboratorio.

Sí () No ()

Nombre del laboratorio	¿Cumplió con el reporte inmediato de sus informes?

Adjuntar información documental de soporte de cada laboratorio

Quien cubre los costos del diagnóstico de Tuberculosis bovina.

El laboratorio reporta los resultados de histopatología en _____ días en promedio y los de bacteriología en _____ días.

15 ¿El Laboratorio de diagnóstico realiza tipificación de Mycobacterias? Sí () No ()

16 En caso afirmativo, ¿hasta que nivel la realizan? _____

Vigilancia epidemiológica

En función de los resultados del análisis de riesgo para tuberculosis bovina, ¿se estableció el sistema de vigilancia epidemiológica activa y pasiva para esta enfermedad y guarda proporción con el mismo?

Sí () No ()

En caso afirmativo adjuntar documentación de soporte.

2. ¿Existe información sobre la vigilancia epidemiológica activa y pasiva, realizada durante los últimos 7 años para la tuberculosis bovina?

Sí () No ()

3. ¿Se cuenta con documentación del seguimiento epidemiológico y de las medidas contraepidémicas adoptadas oficialmente por su país, para los casos de tuberculosis bovina?

Sí () No ()

En caso afirmativo adjuntar documentación de soporte.

4. ¿Se cuenta con algún tipo de documentación oficial que avale dicho seguimiento y medidas contraepidémicas adoptadas?

Sí () No ()

En caso afirmativo adjuntar documentación de soporte.

5. Describir con detalle, ¿cuáles son los criterios que se utilizan para establecer la vigilancia epidemiológica activa para la tuberculosis bovina y cuál es la población blanco a la que se enfoca esta vigilancia y si ésta se basa en las disposiciones establecidas por la OIE para la vigilancia de esta enfermedad?

Adjuntar documentación de soporte.

6. ¿Cuál es el número de rastros que sacrifican bovinos en el país y cuantas cabezas se sacrifican en promedio por año?

7. ¿Se realizaron actividades de inspección sanitaria para tuberculosis en rastros donde sacrifican bovinos y cuántos rastros realizan esta inspección?

En caso afirmativo adjuntar documentación de soporte.

¿Qué criterio epidemiológico se utiliza para establecer la toma de muestras en rastros o mataderos en donde se sacrifican bovinos? Describir con detalle.

Los registros relativos al número de animales inspeccionados para la tuberculosis bovina y sus resultados ¿se conservan por lo menos desde hace 5 años?

Sí () No ()

En caso afirmativo adjuntar documentación de soporte.

¿Se cuenta con inventarios anuales actualizados por explotaciones, función zootécnica y población de ruminantes susceptibles a tuberculosis bovina tanto domésticos como silvestres en cautiverio?.

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar documentación de soporte de los últimos cinco años.

¿Se lleva desde hace por lo menos 5 años, el examen en un laboratorio autorizado de muestras o de otros tejidos colectados en el marco del sistema de vigilancia epidemiológica y seguimiento continuo antes señalado para tuberculosis bovina?

Grupos de emergencia y fondos de contingencia.

¿Existen grupos de emergencia en salud animal en el país o región bajo estudio para atender un foco de tuberculosis bovina?

Sí () No ()

2. ¿Se mantiene una actualización permanente del grupo de emergencia?

Sí () No ()

Adjuntar documentación de soporte.

3. Indique la fecha en la cual se realizó la última capacitación del grupo.

/	/
---	---

Adjuntar documentación de soporte.

4. ¿Se cuenta con un plan de emergencia en caso de un foco de tuberculosis bovina?

Sí () No ()

Adjuntar documentación de soporte.

5. ¿Existe algún fondo de contingencia en el caso de un foco de tuberculosis bovina?

Sí () No ()

A cuánto asciende:

Sistema Federal, regional o estatal para el control de la movilización de animales, sus productos y subproductos.

¿Existe un sistema federal, estatal o regional para el control de la movilización de animales, sus productos y subproductos?

Sí () No ()

En caso afirmativo, describir metodología y procedimientos. Adjuntar documentación de soporte.

2. ¿Indicar cuántas vías terrestres permiten el ingreso al país o región de animales, sin importar la cantidad?.

Cantidad	Tipo
	Vías primarias
	Vías secundarias
	Otras con tránsito de vehículos automotores

Adjuntar mapa actualizado del país o región a reconocer, que indique las vías de ingreso y los puntos de control de la movilización establecidos.

3. ¿Cuántas de estas vías terrestres cuentan con casetas de vigilancia para el control de la movilización de animales, sus productos y subproductos?

Cantidad	Tipo
	Vías primarias
	Vías secundarias
	Otras con tránsito de vehículos automotores

4. ¿Cuántas de estas casetas cuentan con infraestructura y personal técnico que permita la inspección interna de vehículos y el control de la movilización de animales, sus productos y subproductos?

Cantidad	Tipo
	Vías primarias
	Vías secundarias
	Otras con tránsito de vehículos automotores

5. ¿Cuántas vías aéreas permiten el ingreso al país o región bajo estudio de animales, sus productos y subproductos en cualquier cantidad?

Cantidad	Tipo
	Aeropuertos internacionales
	Aeropuertos nacionales
	Aeropuertos locales

6. ¿Cuántas de estas vías aéreas cuentan con infraestructura y personal técnico para controlar la introducción de animales, sus productos y subproductos?

Cantidad	Tipo
	Aeropuertos internacionales
	Aeropuertos nacionales
	Aeropuertos locales

Adjuntar mapa actualizado del país o región que indique las vías de ingreso y los puntos de control de la movilización establecidos.

7. ¿Cuántas vías marítimas/fluviales permiten el ingreso al país o región bajo estudio de animales, sus productos y subproductos en cualquier cantidad?

Cantidad	Tipo
	Puertos internacionales
	Puertos nacionales
	Puertos locales
	Fluviales (según sea el caso)

Adjuntar mapa actualizado del país o región que indique las vías de ingreso y los puntos de control de la movilización establecidos.

8. ¿Cuántas de estas vías marítimas/fluviales cuentan con infraestructura y personal técnico para controlar la introducción de animales, sus productos y subproductos?

Cantidad	Tipo
	Puertos internacionales
	Puertos nacionales
	Puertos locales

9. ¿Cuántos inspectores laboran en fronteras terrestres, puertos aéreos y marítimos (según sea el caso)?

Cantidad	Tipo
	Fronteras terrestres
	Aeropuertos
	Puertos marítimos/fluviales

10. ¿Cuántos de estos inspectores dependen de los servicios veterinarios federales de su país, del gobierno estatal, condado o provincia (según sea el caso) o su equivalente?

DEPENDENCIA	Fronteras terrestres	Aeropuertos	Puertos marítimos/fluviales	TOTAL
Federal o su equivalente				
Gobierno Regional, Condado o Provincia o su equivalente				
Otros (especificar y detallar)				

Adjuntar documentación de soporte

11. Para cada una de las casetas existentes, en el país o región, contestar las siguientes preguntas:

a) ¿En qué tipo de vía de comunicación se encuentra ubicada la caseta?

TP: Terrestre primaria; TS: Terrestre secundaria; OT: Otra con tránsito de vehículos automotores; AI: Aeropuerto internacional; AN: Aeropuerto nacional; AL: Aeropuerto local; PI: Puerto internacional; PN: Puerto nacional.

b) ¿De qué tipo es la caseta?:

(CV): Caseta de vigilancia; (EC): Estación cuarentenaria; (V): Volanta (caseta móvil).

c) ¿La caseta se ubica en el carril de entrada al país, entidad o región bajo estudio?

Sí () No ()

d) ¿La caseta cuenta con anuncios alusivos previos a la inspección y una señalización adecuada?

Sí () No ()

e) ¿La caseta cuenta con carriles de desaceleración?

Sí () No ()

f) ¿La caseta cuenta con iluminación artificial adecuada para las actividades de inspección?

Sí () No ()

g) ¿La caseta cuenta con: corrales de manejo, arco de desinfección, bombas manuales, servicio de radiocomunicación u otros servicios?

Sí () No ()

h) ¿La caseta cuenta con vehículos automotores de apoyo para las actividades de inspección de manera permanente u ocasional?

Sí () No ()

i) ¿El personal que labora en la caseta cuenta con la dotación de equipo, vehículos y uniformes, entre otros, para el desempeño de sus funciones?

Sí () No ()

j) ¿El sistema de registro que se emplea en la caseta es adecuado e incluye las siguientes variables: los números de los certificados zoonosanitarios para su movilización o su equivalente?

Sí () No ()

k) ¿La caseta es operada por personal de:

(GF): Gobierno federal; (GE): Gobierno Regional o Condado o Provincia o su equivalente (SP): Servicios privados autorizados o su equivalente.

l) ¿Cuántos inspectores están asignados para cada caseta de inspección?

m) ¿La caseta de inspección cuenta con personal federal y/o regional con autorización para levantar actas, incinerar o destruir los decomisos o su equivalente?

Sí () No ()

n) ¿De cuántas horas se constituyen los turnos en los que laboran los inspectores?

o) ¿La caseta cuenta con el apoyo de policía municipal, judicial, del ejército o su equivalente?

Sí () No ()

p) ¿El tipo de inspección que se realiza en la caseta es:

(P): pecuaria, (V): vegetal o (M): mixta?

¿La inspección en las casetas permite identificar la introducción parcial o total de los animales, sus productos y subproductos que ingresan al país o región bajo estudio?

Parcial () Total ()

Durante el proceso de inspección, ¿se realiza la revisión documental que ampara dichas movilizaciones, especialmente aquellas que pongan en riesgo la ganadería del país o región, en especial por tuberculosis bovina?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar documentación de soporte

¿La recopilación de la información en las casetas, permite la trazabilidad adecuada de los animales, sus productos y subproductos desde su origen hasta su destino final?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar la información de soporte, su operatividad se evaluará por parte de la Dirección General de Salud Animal de México.

¿Existe capacitación y actualización continua y permanente del 100% de los inspectores?

Sí () No ()

En caso afirmativo, indique las fechas y documentos de soporte sobre los cursos de capacitación realizados en los últimos doce meses.

¿La totalidad de las movilizaciones internacionales e interestatales, se movilizan bajo el amparo de un certificado zoosanitario o su equivalente?

Sí () No ()

En caso afirmativo adjuntar estadísticas del número de certificados movilizadas o su equivalente.

¿Cuentan las casetas de inspección con la legislación sanitaria actualizada, la situación zoosanitaria nacional e internacional sobre la tuberculosis bovina o su equivalente y operativos realizados para la prevención de la misma?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar documentación de soporte.

¿Cuentan los inspectores con un conocimiento adecuado sobre los requisitos zoosanitarios que deben solicitar para la movilización de animales, sus productos y subproductos hacia la zona, región o país bajo estudio?

Sí () No ()

Indique el número de casetas de inspección terrestre y su ubicación en el país o región bajo estudio para permitir un mejor control de la inspección sanitaria de la movilización.

Tipo de ubicación	Cantidad
Casetas ubicadas a la entrada de la zona o país	
Casetas ubicadas a la salida de la zona o país	
Total de casetas bajo operación en la zona o país	

¿La totalidad de vehículos que transportan animales, sus productos y subproductos hacia la zona o país bajo estudio o en tránsito, hacen alto total en las casetas para la inspección zoosanitaria?

Sí () No ()

¿Los vehículos que transportaron animales vivos y sus productos fuera del país o región bajo estudio reingresan a ésta lavados y desinfectados?

Sí () No ()

¿La aplicación de flejes está regulada en la zona o país bajo estudio?

Sí () No ()

Adjuntar metodología y estadísticas sobre el cumplimiento de tal regulación.

Comercio Exterior

¿Existen leyes y reglamentos para tuberculosis bovina que regulan la importación y exportación de bovinos, sus productos y subproductos, incluyendo biológicos?

Sí () No ()

En caso afirmativo, adjuntar la información de soporte.

1. ¿Cuáles son los requisitos zoosanitarios referentes a tuberculosis bovina, necesarios para la importación de bovinos vivos?

Describir y adjuntar la información de soporte.

Establecimientos que sacrifican bovinos

Enliste los rastros o mataderos oficiales, del país o región bajo estudio que sacrifican bovinos y el número de médicos veterinarios supervisores que trabajan en cada uno de ellos.

Enliste los rastros privados dentro del área de estudio o su equivalente y el número de médicos veterinarios supervisores que trabajan en cada uno de ellos.

Enliste los rastros o plantas tipo inspección federal (TIF), así como mencionar si se lleva a cabo inspección de tuberculosis dentro del área de estudio o su equivalente, el número de médicos veterinarios supervisores que trabajan en cada uno de ellos, y el tipo de planta a que corresponde.

Nota.- Para todas las respuestas afirmativas, se deberá adjuntar la documentación técnica que las avale.

La Dirección General de Salud Animal, corroborará la información técnica proporcionada en el área bajo estudio.

“Apéndice G” (Normativo)

Lineamientos para la autorización de engordas aprobadas con pastoreo restringido.

1. Solo se permitirá el funcionamiento de este tipo de instalación a las empresas que cuenten con un corral de engorda designado que cumple con el protocolo establecido.
2. Cada Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido debe estar autorizada por la SAGARPA a través del Comité Estatal de Fomento y Protección Pecuaria (CEFPP) que verificará que se cumpla con todos los requisitos mínimos de instalaciones y funcionamiento in situ, realizando también una evaluación epidemiológica.
3. Todos los animales que salgan de las instalaciones deben ir a una engorda designada o a una planta Tipo Inspección Federal o un rastro autorizado por el gobierno federal, en transporte flejado y con Certificado Zoonosanitario de Movilización expedido para tal efecto, indicando el número de registro de la Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido, y el número de corral de engorda designado de destino o el número de registro de la planta TIF o rastro autorizado.
4. Las instalaciones y equipo serán adecuados para manejar a los animales de forma segura y efectiva. Debe contar con corrales de manejo, embarcadero y equipo como básculas y prensa exclusivos para el manejo de la Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido.
5. Para prevenir el ingreso de otros animales ajenos a las instalaciones o el egreso sin control de los animales de la Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido, debe contar con una cerca perimetral y otra interna adecuadas (doble cerco) o medidas equivalentes.
6. Se requiere contar con el registro en el que se asentarán el origen de todo el ganado que entre a las instalaciones y del destino de todo el ganado que salga.
7. Todos los animales que entren a las instalaciones deben contar con una prueba de tuberculina vigente (60 días) con resultados negativos, los animales enteros deben contar además con una prueba de brucelosis negativa realizada dentro de los últimos 60 días.
8. Cada animal debe ser identificado individualmente en el origen con arete oficial; con hierro candente o superfrío (marca indeleble) con el número oficial del estado de origen reconocido por el INEGI y las siglas CN (consumo nacional).
9. Solo se permitirá la salida de ganado de las instalaciones, cuando sean movilizados a una engorda designada, planta Tipo Inspección Federal o rastro autorizado, en vehículo flejado, identificados de manera individual y se registrará la salida de manera individual.
10. La Delegación Estatal de la SAGARPA proporcionará a la Dirección General de Sanidad Animal una lista de las Engordas Aprobadas con Pastoreo Restringido igual que la de los rastros TIF y autorizados para este programa.
11. La información relativa a la localización y número de Engordas Aprobadas con Pastoreo Restringido en cada Estado, serán resguardados por la Delegación Estatal de la SAGARPA y podrán estar disponibles para Dirección General de Sanidad Animal cuando se requiera.
12. Las propiedades adyacentes o vecinas serán revisadas para comprobar la presencia de ganado. Si se comprueba la existencia, como una medida de vigilancia epidemiológica deben probarse los animales anualmente.
13. Cada lote de ganado que entre a una instalación de Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido debe de tener un permiso expedido por la SAGARPA en coordinación con CEFPP.
14. Se debe llevar un registro de todos los animales que mueren o fueron sacrificados de emergencia dentro de las instalaciones. Los registros deben especificar la identificación de estos animales.

15. Previo a la salida del ganado a un corral de engorda, se realizará la prueba de tuberculina en el pliegue caudal, y a las 72 horas se procederá a efectuar la lectura de la misma.
16. Si existiera un animal reactor, se realizará la prueba cervical comparativa en un término no mayor de 10 días, si el resultado fuese positivo el o los animales serán marcados de manera permanente en el masetero izquierdo con la letra "T" y enviados inmediatamente al rastro, donde se inspeccionarán minuciosamente y se enviarán muestras al laboratorio. Dependiendo del resultado, se hará la investigación epidemiológica correspondiente.
17. Se requiere que los vehículos ingresen flejados desde el origen, que se registre el número de fleje en el punto de entrada al Estado y que se retire hasta la Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido. Asimismo, el transporte debe flejarse de la Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido al corral de engorda designado, a la planta TIF o al rastro autorizado. Deben mantenerse registrados los números de flejes, así como el personal que los coloca y los retira en la pradera, en el corral de engorda y en el rastro.
18. Se deben registrar tanto los datos del dueño, así como el inventario de la Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido.
19. Los procedimientos para el cumplimiento de los requisitos que debe efectuar la Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido serán realizados por médicos veterinarios aprobados por la SAGARPA. Las instalaciones, manejo y registro de la pradera designada, será supervisado por personal oficial de la SAGARPA en coordinación con personal del Gobierno del Estado, al menos cada 30 días.
20. Las Engordas Aprobadas con Pastoreo Restringido estarán permitidas en los niveles de Erradicación I y Erradicación II, para recibir ganado de zonas en Fase de Control con una prueba negativa del lote, realizada en el origen.
21. La infraestructura de las Engordas Aprobadas con Pastoreo Restringido debe ser la adecuada para permitir la supervisión de los animales.
22. Se deben dar todas las facilidades para la inspección de los registros o archivos e instalaciones, cuando se requiera dentro del horario de oficina.
23. Cualquier falta al cumplimiento de los requisitos mínimos establecidos serán motivo de suspensión de la autorización otorgada como Engorda Aprobada con Pastoreo Restringido.

"Apéndice H" (Normativo)

Protocolo para la Movilización a Ferias y Exposiciones de Ganado Inscrito en El Programa de Manejo de la Unidad de Producción Lechera Afectada por Tuberculosis Bovina

1. Disposiciones generales

1.1. Todo evento relacionado con ferias, exposiciones y eventos similares debe contar con la autorización de la Secretaría y estarán sujetos a supervisiones periódicas por parte de médicos veterinarios oficiales.

1.2. Los propietarios de los animales que se concentren con fines de exhibición, competencia y/o comercialización, deben demostrar el cumplimiento de las normas oficiales mexicanas que correspondan.

1.3. Todos los animales que ingresen a eventos relacionados con ferias, exposiciones y eventos similares, deben ser inspeccionados por un médico veterinario, médico veterinario oficial o aprobado y no podrán ingresar aquellos animales o lotes de los mismos en donde se identifiquen clínicamente signos de enfermedades infectocontagiosas o parasitarias.

1.4. Para el ingreso y egreso de los animales en ferias, exposiciones y eventos similares, se requerirá del Certificado Zoosanitario.

1.5. Los animales que no cumplan satisfactoriamente con las normas oficiales mexicanas y demás disposiciones establecidas por la Secretaría, serán rechazados y sus propietarios deben sujetarse a las disposiciones y sanciones que la Secretaría determine, según el caso.

1.6. Cuando dentro del área destinada para la celebración de ferias, exposiciones o eventos similares y durante el tiempo que permanezca el evento, se presente alguna epizootia, la Secretaría debe ser notificada de inmediato, y ésta impondrá las medidas zoosanitarias correspondientes.

1.7. De acuerdo con el capítulo IV, artículos 18 y 19 de la Ley Federal de Sanidad Animal, los propietarios, así como en su caso, el administrador único o los encargados de la administración de establecimientos en donde se concentren animales con motivo de ferias, exposiciones o eventos similares, serán responsables del cumplimiento de las normas oficiales aplicables en los establecimientos correspondientes y estarán obligados a proporcionar las facilidades necesarias al personal de la Secretaría para verificar el cumplimiento de dichas normas.

2.- Ferias, exposiciones y eventos similares

2.1. Se contará durante todo el periodo del evento, por lo menos con un médico veterinario, médico veterinario aprobado u oficial permanentemente, quien será encargado de vigilar el estado de salud de los animales, así como el trato humanitario de los mismos.

2.2. Para que la Secretaría autorice la realización de ferias, exhibiciones y eventos similares, debe efectuarse el siguiente procedimiento:

a) Presentar solicitud de autorización del evento ante la Delegación Estatal de la Secretaría, con un mínimo de 60 días previos al mismo.

b) El documento debe señalar que el solicitante cuenta con las instalaciones adecuadas conforme a lo establecido en el punto 2.4. del presente Protocolo.

c) Lo anterior debe ser verificado y determinado por el personal técnico oficial designado por la Secretaría.

d) En caso de negativa por la causa de instalaciones inadecuadas, el solicitante contará con un plazo perentorio para la corrección de las mismas, sujeta a una nueva verificación.

2.3. Antes, durante y después del evento, las instalaciones deben mantenerse limpias y en buenas condiciones.

2.4. Se debe contar por lo menos con lo siguiente:

- a. Rampa de desembarque y corrales de recepción.
- b. Corrales o espacios para cada especie en forma separada.
- c. Area de aislamiento para animales que ameriten esta medida zoonosanitaria.
- d. Area para el manejo de excretas y desechos.
- e. Fuente de abastecimiento de agua.
- f. Sistema de ventilación adecuado a las instalaciones y a los animales.
- g. Enfermería y farmacia.
- h. Area de suministro de alimento.
- i. Tapetes sanitarios entre las áreas.

2.5. Se debe contar y operar con un programa de limpieza y desinfección de vehículos e instalaciones y programa de control de ectoparásitos, de control de fauna nociva y de manejo, tratamiento y desalojo de excretas y desechos, autorizado y supervisado por la Secretaría.

2.6 Para minimizar el riesgo de contagio entre animales procedentes de diferentes orígenes, cada grupo de animales debe contar con bebederos, comederos y contenedores de basura y residuos propios.

2.7 Los animales movilizados bajo este protocolo deben regresar a sus hatos de origen al finalizar el evento.

3.- Para obtener el Certificado zoonosanitario de Movilización se deben presentar los siguientes documentos:

- Constancia de adhesión al Programa de Manejo de la Unidad de Producción Lechera Afectada por Tuberculosis Bovina.
- Prueba de tuberculina negativa del lote a movilizar.
- Constancia de Hato Libre de Brucelosis vigente o prueba negativa del lote a movilizar.
- Constancia de tratamiento garrapaticida (GR) y/o libre de ectoparásitos vigente, de los animales a movilizar.

3.1 Los animales deben contar con identificación individual, por lo que no es necesario que sean marcados a fuego con las siglas del estado de origen.
