

I N D I C E
PRIMERA SECCION
PODER EJECUTIVO

SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES

Convenio de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de Sabinas Hidalgo, N.L.	2
Convenio de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de San Nicolás de los Garza, N.L.	5
Convenio de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de San Pedro Garza García, N.L.	8
Convenio de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de Santa Catarina, N.L.	12

SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL

Relación de declaratorias de libertad de terreno número 37/97	15
---	----

SECRETARIA DE COMUNICACIONES Y TRANSPORTES

Reglamento de la Policía Federal de Caminos	15
Aviso por el que se da a conocer los participantes en la licitación de títulos representativos del capital social de Satélites Mexicanos, S.A. de C.V.	31

SECRETARIA DEL TRABAJO Y PREVISION SOCIAL

Acuerdo mediante el cual se convoca a la Convención Obrero Patronal para la Revisión Integral del Contrato Ley de la Industria Textil del Ramo de Listones, Elásticos, Encajes, Cintas y Etiquetas Tejidas en Telares de Tablas Jacquard o Agujas de la República Mexicana	32
--	----

SECRETARIA DE LA REFORMA AGRARIA

Acuerdo por el que se delegan facultades al Director General de Ordenamiento y Regularización y a los coordinadores agrarios de la Secretaría de la Reforma Agraria	33
---	----

PROCURADURIA GENERAL DE JUSTICIA DEL DISTRITO FEDERAL

Acuerdo número A/009/97 del Procurador General de Justicia del Distrito Federal, por el que se establecen normas y procedimientos en materia de bienes asegurados por el Ministerio Público del Distrito Federal	34
--	----

BANCO DE MEXICO

Tipo de cambio para solventar obligaciones denominadas en moneda extranjera pagaderas en la República Mexicana	37
Tasas de interés de instrumentos de captación bancaria en moneda nacional	38
Tasa de interés interbancaria de equilibrio	38
Costo de captación de los pasivos a plazo denominados en dólares de los EE.UU.A. (CCP-Dólares)	38
Resolución por la que se delegan facultades en favor de los Jefes de Operación, de Administración y de Auditoría de las sucursales del Banco de México, así como del Contador y de los Jefes de Administración y de Auditoría de la sucursal del propio Banco, ubicada en Ciudad Juárez, Chihuahua	39

TRIBUNAL UNITARIO AGRARIO

Sentencia pronunciada en el juicio agrario número 185/94, relativo al reconocimiento y titulación de bienes comunales, solicitado por un grupo de habitantes del poblado de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro, Mich.	39
---	----

AVISOS

Judiciales y generales	50
------------------------------	----

SEGUNDA SECCION PODER EJECUTIVO

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA Y DESARROLLO RURAL

Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-056-ZOO-1995, Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria	58
---	----

PODER EJECUTIVO

SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES

CONVENIO de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de Sabinas Hidalgo, N.L.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Relaciones Exteriores.

CONVENIO DE COLABORACION ADMINISTRATIVA PARA EL ESTABLECIMIENTO Y OPERACION DE UNA "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES" PARA LA RECEPCION Y MANEJO DE DOCUMENTACION REQUERIDA PARA LA EXPEDICION DE PASAPORTES ORDINARIOS, ASI COMO PARA SU ENTREGA, Y LA PRESTACION DE OTROS SERVICIOS QUE SUSCRIBEN LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES, QUE EN LO SUCESIVO SE DENOMINARA "LA SECRETARIA", REPRESENTADA POR EL LIC. ILDEFONSO GUAJARDO VILLARREAL, OFICIAL MAYOR, ASISTIDO POR EL LIC. ARTURO GARCIA ESPINOSA, DIRECTOR GENERAL DE DELEGACIONES, Y POR OTRA PARTE EL H. AYUNTAMIENTO DE SABINAS HIDALGO,

N.L., REPRESENTADO POR EL PRESIDENTE MUNICIPAL, SR. ELOY TREVIÑO RODRIGUEZ, Y EL SECRETARIO DEL AYUNTAMIENTO, LIC. RAUL MARIO MIRELES GARZA, QUE EN LO SUCESIVO SE LE DENOMINARA "EL AYUNTAMIENTO", DE ACUERDO CON LOS SIGUIENTES CONSIDERANDOS Y CLAUSULAS:

CONSIDERANDO

Que la desconcentración de funciones y recursos impulsa la democratización de la vida nacional, la actividad económica y social del país, así como el acercamiento efectivo a sus diferentes regiones y sectores;

Que el propósito de ofrecer un mejor servicio a los ciudadanos ha originado la desconcentración de funciones para asegurar en todas las regiones del país la prestación adecuada de los servicios que otorga "LA SECRETARIA" y, consecuentemente, mejorar la eficiencia de dichos servicios;

Que es un objetivo prioritario de "LA SECRETARIA" continuar atendiendo la creciente demanda de servicios que se prestan en el territorio nacional;

Que "LA SECRETARIA", para llevar a cabo eficientemente sus labores, requiere trabajar coordinadamente con los Gobiernos Estatales o Municipales, para aprovechar al máximo todos los recursos disponibles, y de esta manera contribuir al proceso de desconcentración del Gobierno Federal;

Que "EL AYUNTAMIENTO" se propone coadyuvar en la desconcentración administrativa, participando en la ampliación de la cobertura de servicios que brindan las dependencias del Ejecutivo Federal, para beneficio de los habitantes de su Municipio;

Que una de las estrategias que el Plan Nacional de Desarrollo contempla para la consolidación del Estado de Derecho es la provisión de las medidas para ofrecer condiciones de seguridad jurídica, que garanticen la propiedad y posesión de los bienes y favorezcan la transparencia de las relaciones particulares entre sí y de éstos con el Gobierno, a fin de promover la inversión productiva e impulsar el desarrollo económico y social del país;

Que mediante la utilización de instrumentos jurídicos idóneos, como los convenios de colaboración, puede contribuirse eficazmente al logro de los propósitos enunciados, al acercar al público usuario la prestación de los servicios encomendados a las distintas dependencias y entidades de la Administración Pública.

En virtud de lo anterior y con fundamento en los artículos 1o., 2o., 14, 16, 17, 18 y 28 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; artículos 1o., 3o., 4o., 6o. fracción XVIII, 8o. fracción I, 29 fracciones II, IV, VI, VIII y X, 32 y 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores, 7o. y 9o. del Reglamento para la Expedición de Pasaportes, primero, segundo y noveno del Acuerdo por el que se autoriza la operación de Oficinas Estatales y Municipales de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores para la recepción de documentos y entrega de pasaportes ordinarios, así como de otros servicios que presta dicha dependencia, y 1o. y 9o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales, así como de conformidad con el artículo 6 de la Ley Orgánica de la Administración Pública del Estado de Nuevo León, y los artículos 119 y 120 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Municipal del Estado de Nuevo León, se conviene en suscribir el presente Convenio, de conformidad con las siguientes:

CLAUSULAS

PRIMERA. El objeto del presente instrumento consiste en establecer una "Oficina Municipal de Enlace" en la ciudad de Sabinas Hidalgo, N.L.

SEGUNDA. En términos generales las funciones de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" serán las siguientes:

- a).- Proporcionar información sobre los requisitos y trámites necesarios para la obtención de pasaportes ordinarios; permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana; sobre posgrados de especialización en el exterior, protección preventiva y difusión de la política exterior de México.
- b).- Distribuir gratuitamente a los solicitantes las formas de solicitudes necesarias para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, y los folletos sobre protección preventiva y de difusión de la política exterior de México.
- c).- Asesorar y auxiliar al público en el llenado de las solicitudes para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado de especialización en el exterior.
- d).- Recibir las solicitudes y documentos necesarios, aplicando única y exclusivamente los requisitos que señalen los respectivos Reglamentos para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, para la obtención de becas de posgrado y cursos de especialización y aquellos que específicamente señale "LA SECRETARIA".

- e).- Recibir el documento que ampare el pago de los derechos que establece la Ley Federal de Derechos vigente, para el trámite del pasaporte y de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones.
- f).- Efectuar, en su caso, el cobro de derechos que "EL AYUNTAMIENTO" aplique por los servicios que presta la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE".
- g).- Remitir a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los expedientes completos de los solicitantes en los términos y modalidades indicados.
- h).- Canalizar a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los asuntos que sean de su competencia.
- i).- Entregar los pasaportes procesados y, en su caso, los expedientes que no prosperen, a los interesados en exacto cumplimiento de los lineamientos correspondientes.
- j).- Los demás que expresamente sean autorizados por "LA SECRETARIA".

TERCERA. No obstante las funciones enunciadas en la cláusula anterior, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho unilateral de determinar cuáles de ellas podrán realizarse en la Oficina Municipal de la ciudad de Sabinas Hidalgo, N.L. La autorización de esas funciones será dada a conocer en su oportunidad por "LA SECRETARIA" al "AYUNTAMIENTO" en comunicación oficial, y formará parte integrante del presente instrumento.

CUARTA. "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará los recursos humanos y el mobiliario indispensable para la atención expedita de los trámites.

QUINTA. Para el establecimiento de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" en la ciudad de Sabinas Hidalgo, N.L., "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará sin cargo alguno, un local acorde a lo que establece el artículo 3o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales de Relaciones Exteriores.

El local que proporcione "EL AYUNTAMIENTO" deberá tener el espacio suficiente para que el público realice sus trámites cómodamente; deberá instalarse un mostrador, con espacio para tres ventanillas; los interiores y exteriores del local deberán ser de color gris medio claro y sus puertas azul marino, por ser éstos los colores distintivos de "LA SECRETARIA".

SEXTA. El acondicionamiento del local se llevará a cabo por "EL AYUNTAMIENTO", con arreglo a los lineamientos inmobiliarios establecidos para este propósito por "LA SECRETARIA", e incluirá la señalización adecuada en tableros de acrílico, de acuerdo con las estipulaciones que emita "LA SECRETARIA", incluyéndose la información inherente a quejas, y los teléfonos de la Contraloría Interna de "LA SECRETARIA" y la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo, así como la información de que se trata de una "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES", especificando los servicios que se ofrecen, bajo la supervisión de "LA SECRETARIA".

SEPTIMA. "LA SECRETARIA" designará a un comisionado que se encargará de supervisar permanentemente y de manera directa, la recepción y manejo de la documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de certificados de nacionalidad mexicana, así como de otorgar los servicios adicionales requeridos en la oficina.

OCTAVA. Siempre que para efectos de supervisión sea necesaria una visita a la Oficina Municipal, "EL AYUNTAMIENTO" deberá proporcionar pasajes y viáticos a la persona que designe la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L.

NOVENA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" se organizará y desarrollará sus actividades conforme a las disposiciones administrativas aplicables, así como las instrucciones y demás lineamientos que autorice "LA SECRETARIA".

DECIMA. "EL AYUNTAMIENTO" otorgará toda su cooperación, facilidades e información que se requiera para la práctica de las auditorías que periódicamente lleve a cabo el personal autorizado de la Dirección General de Delegaciones de "LA SECRETARIA".

DECIMOPRIMERA. "LA SECRETARIA", a través de su Delegación en la ciudad de Monterrey, N.L., procesará en un término que no excederá de TRES días hábiles, los pasaportes cuyos expedientes, adecuadamente integrados, le remita la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", así como los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana, siempre y cuando la documentación cumpla con las disposiciones normativas aplicables.

DECIMOSEGUNDA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", previa supervisión del comisionado de "LA SECRETARIA", deberá entregar los pasaportes, los permisos para constitución de sociedades o asociaciones y los certificados de nacionalidad mexicana a los solicitantes, en un plazo no mayor de TREINTA días naturales, contado a partir de la fecha en que la Delegación haya recibido la documentación respectiva. En forma mensual remitirán a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., aquellos pasaportes y permisos que no hayan sido entregados a los solicitantes.

DECIMOTERCERA. Las formas y demás papelería relacionada con el trámite de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y difusión de becas, así como el material informativo relacionado con protección preventiva y difusión de la política exterior de México, serán proporcionados por "LA SECRETARIA", misma que cubrirá los gastos de envío y flete.

DECIMOCUARTA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" será responsable de remitir la documentación relacionada con la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana el día de su recepción, pagando el flete de estos envíos.

DECIMOQUINTA. "EL AYUNTAMIENTO" colocará en un lugar fácilmente visible de la oficina destinada a la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" la señalización que exige la normatividad establecida por "LA SECRETARIA" y que se refiere a:

- a).- Los requisitos para obtener el pasaporte, los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado en el exterior.
- b).- La indicación del monto de los derechos que correspondan por la expedición del pasaporte ordinario y por los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de acuerdo con la Ley Federal de Derechos vigente, y por separado, el importe que aplique, en su caso, "EL MUNICIPIO" por brindar el servicio en la localidad, así como el costo del servicio de fotocopiado y fotografía.
- c).- Tablero y buzón de quejas y denuncias, con teléfonos de la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo y de la Auditoría Interna de "LA SECRETARIA".

DECIMOSEXTA. Las relaciones laborales del personal de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" son responsabilidad directa y exclusiva de "EL AYUNTAMIENTO" y se regirán por la legislación correspondiente, sin que exista relación jurídica con "LA SECRETARIA".

DECIMOSEPTIMA. La probidad del comportamiento oficial de los empleados comisionados en la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" es responsabilidad directa de "EL AYUNTAMIENTO", independientemente de las acciones legales que competan a "LA SECRETARIA", en caso de ser lesionados sus intereses por la comisión de ilícitos o conductas irregulares en el manejo de la documentación federal.

DECIMOCTAVA. El presente Convenio podrá revisarse, adicionarse y modificarse con la conformidad de las partes y deberá hacerse constar por escrito.

DECIMONOVENA. El presente Convenio entrará en vigor a partir de la fecha de su firma con una vigencia indefinida, no obstante, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho de suspenderlo unilateralmente por el incumplimiento de las cláusulas precedentes o por irregularidades detectadas en el ejercicio de las facultades otorgadas a la "Oficina Municipal de Enlace" en detrimento de la transparencia de los procedimientos, lo que comunicará al "AYUNTAMIENTO" con 30 días de anticipación al cierre de la oficina.

VIGESIMA. De las disensiones que se susciten en la aplicación del presente Convenio, ambas partes acuerdan resolverlas de común acuerdo, no obstante, en caso de que surjan controversias respecto a su interpretación y alcance legal, las partes están conformes en que conozca de las mismas la Suprema Corte de Justicia de la Nación, con fundamento en lo dispuesto por el artículo 105 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y demás disposiciones aplicables.

El presente Convenio se suscribe por quintuplicado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los treinta y un días del mes de octubre de mil novecientos noventa y seis.- Por la Secretaría de Relaciones Exteriores y con fundamento en lo dispuesto por el artículo 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores: el Oficial Mayor, **Ildefonso Guajardo Villarreal**.- Rúbrica.- El Director General de Delegaciones, **Arturo García Espinosa**.- Rúbrica.- Por el H. Ayuntamiento: el Presidente Municipal Constitucional, **Eloy Treviño Rodríguez**.- Rúbrica.- El Secretario del Ayuntamiento, **Raúl Mario Mireles Garza**.- Rúbrica.

CONVENIO de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de San Nicolás de los Garza, N.L.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Relaciones Exteriores.

CONVENIO DE COLABORACION ADMINISTRATIVA PARA EL ESTABLECIMIENTO Y OPERACION DE UNA "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES" PARA LA RECEPCION Y MANEJO DE DOCUMENTACION REQUERIDA PARA LA EXPEDICION DE PASAPORTES ORDINARIOS, ASI COMO PARA SU ENTREGA, Y LA PRESTACION DE OTROS SERVICIOS QUE SUSCRIBEN LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES, QUE EN LO SUCESIVO SE DENOMINARA "LA SECRETARIA", REPRESENTADA POR EL LIC. ILDEFONSO GUAJARDO VILLARREAL, OFICIAL MAYOR, ASISTIDO POR EL LIC. ARTURO GARCIA ESPINOSA, DIRECTOR GENERAL DE DELEGACIONES, Y POR OTRA PARTE EL H. AYUNTAMIENTO DE SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L., REPRESENTADO POR EL PRESIDENTE MUNICIPAL, LIC. ADALBERTO NUÑEZ RAMOS, Y EL SECRETARIO DEL AYUNTAMIENTO, LIC. FRANCISCO FELIX GARZA, QUE EN LO SUCESIVO SE LE DENOMINARA "EL AYUNTAMIENTO", DE ACUERDO CON LOS SIGUIENTES CONSIDERANDOS Y CLAUSULAS:

CONSIDERANDO

Que la desconcentración de funciones y recursos impulsa la democratización de la vida nacional, la actividad económica y social del país, así como el acercamiento efectivo a sus diferentes regiones y sectores;

Que el propósito de ofrecer un mejor servicio a los ciudadanos ha originado la desconcentración de funciones para asegurar en todas las regiones del país la prestación adecuada de los servicios que otorga "LA SECRETARIA" y, consecuentemente, mejorar la eficiencia de dichos servicios;

Que es un objetivo prioritario de "LA SECRETARIA" continuar atendiendo la creciente demanda de servicios que se prestan en el territorio nacional;

Que "LA SECRETARIA", para llevar a cabo eficientemente sus labores, requiere trabajar coordinadamente con los Gobiernos Estatales o Municipales, para aprovechar al máximo todos los recursos disponibles, y de esta manera contribuir al proceso de desconcentración del Gobierno Federal;

Que "EL AYUNTAMIENTO" se propone coadyuvar en la desconcentración administrativa, participando en la ampliación de la cobertura de servicios que brindan las dependencias del Ejecutivo Federal, para beneficio de los habitantes de su Municipio;

Que una de las estrategias que el Plan Nacional de Desarrollo contempla para la consolidación del Estado de Derecho es la provisión de las medidas para ofrecer condiciones de seguridad jurídica, que garanticen la propiedad y posesión de los bienes y favorezcan la transparencia de las relaciones particulares entre sí y de éstos con el Gobierno, a fin de promover la inversión productiva e impulsar el desarrollo económico y social del país;

Que mediante la utilización de instrumentos jurídicos idóneos, como los convenios de colaboración, puede contribuirse eficazmente al logro de los propósitos enunciados, al acercar al público usuario la prestación de los servicios encomendados a las distintas dependencias y entidades de la Administración Pública.

En virtud de lo anterior y con fundamento en los artículos 1o., 2o., 14, 16, 17, 18 y 28 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; artículos 1o., 3o., 4o., 6o. fracción XVIII, 8o. fracción I, 29 fracciones II, IV, VI, VIII y X, 32 y 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores, 7o. y 9o. del Reglamento para la Expedición de Pasaportes, primero, segundo y noveno del Acuerdo por el que se autoriza la operación de Oficinas Estatales y Municipales de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores para la recepción de documentos y entrega de pasaportes ordinarios, así como de otros servicios que presta dicha dependencia, y 1o. y 9o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales, así como de conformidad con el artículo 6 de la Ley Orgánica de la Administración Pública del Estado de Nuevo León, y los artículos 119 y 120 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Municipal del Estado de Nuevo León, se conviene en suscribir el presente Convenio, de conformidad con las siguientes:

CLAUSULAS

PRIMERA. El objeto del presente instrumento consiste en establecer una "Oficina Municipal de Enlace" en la ciudad de San Nicolás de los Garza, N.L.

SEGUNDA. En términos generales las funciones de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" serán las siguientes:

- a).- Proporcionar información sobre los requisitos y trámites necesarios para la obtención de pasaportes ordinarios; permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana; sobre posgrados de especialización en el exterior, protección preventiva y difusión de la política exterior de México.
- b).- Distribuir gratuitamente a los solicitantes las formas de solicitudes necesarias para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, y los folletos sobre protección preventiva y de difusión de la política exterior de México.
- c).- Asesorar y auxiliar al público en el llenado de las solicitudes para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado de especialización en el exterior.

- d).- Recibir las solicitudes y documentos necesarios, aplicando única y exclusivamente los requisitos que señalen los respectivos Reglamentos para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, para la obtención de becas de posgrado y cursos de especialización y aquellos que específicamente señale "LA SECRETARIA".
- e).- Recibir el documento que ampare el pago de los derechos que establece la Ley Federal de Derechos vigente, para el trámite del pasaporte y de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones.
- f).- Efectuar, en su caso, el cobro de derechos que "EL AYUNTAMIENTO" aplique por los servicios que presta la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE".
- g).- Remitar a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los expedientes completos de los solicitantes en los términos y modalidades indicados.
- h).- Canalizar a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los asuntos que sean de su competencia.
- i).- Entregar los pasaportes procesados y, en su caso, los expedientes que no prosperen, a los interesados en exacto cumplimiento de los lineamientos correspondientes.
- j).- Los demás que expresamente sean autorizados por "LA SECRETARIA".

TERCERA. No obstante las funciones enunciadas en la cláusula anterior, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho unilateral de determinar cuáles de ellas podrán realizarse en la Oficina Municipal de la ciudad de San Nicolás de los Garza, N.L. La autorización de esas funciones será dada a conocer en su oportunidad por "LA SECRETARIA" al "AYUNTAMIENTO" en comunicación oficial, y formará parte integrante del presente instrumento.

CUARTA. "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará los recursos humanos y el mobiliario indispensable para la atención expedita de los trámites.

QUINTA. Para el establecimiento de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" en la ciudad de San Nicolás de los Garza, N.L., "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará sin cargo alguno, un local acorde a lo que establece el artículo 3o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales de Relaciones Exteriores.

El local que proporcione "EL AYUNTAMIENTO" deberá tener el espacio suficiente para que el público realice sus trámites cómodamente; deberá instalarse un mostrador, con espacio para tres ventanillas; los interiores y exteriores del local deberán ser de color gris medio claro y sus puertas azul marino, por ser éstos los colores distintivos de "LA SECRETARIA".

SEXTA. El acondicionamiento del local se llevará a cabo por "EL AYUNTAMIENTO", con arreglo a los lineamientos inmobiliarios establecidos para este propósito por "LA SECRETARIA", e incluirá la señalización adecuada en tableros de acrílico, de acuerdo con las estipulaciones que emita "LA SECRETARIA", incluyéndose la información inherente a quejas, y los teléfonos de la Contraloría Interna de "LA SECRETARIA" y la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo, así como la información de que se trata de una "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES", especificando los servicios que se ofrecen, bajo la supervisión de "LA SECRETARIA".

SEPTIMA. "LA SECRETARIA" designará a un comisionado que se encargará de supervisar permanentemente y de manera directa, la recepción y manejo de la documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de certificados de nacionalidad mexicana, así como de otorgar los servicios adicionales requeridos en la oficina.

OCTAVA. Siempre que para efectos de supervisión sea necesaria una visita a la Oficina Municipal, "EL AYUNTAMIENTO" deberá proporcionar pasajes y viáticos a la persona que designe la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L.

NOVENA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" se organizará y desarrollará sus actividades conforme a las disposiciones administrativas aplicables, así como las instrucciones y demás lineamientos que autorice "LA SECRETARIA".

DECIMA. "EL AYUNTAMIENTO" otorgará toda su cooperación, facilidades e información que se requiera para la práctica de las auditorías que periódicamente lleve a cabo el personal autorizado de la Dirección General de Delegaciones de "LA SECRETARIA".

DECIMOPRIMERA. "LA SECRETARIA", a través de su Delegación en la ciudad de Monterrey, N.L., procesará en un término que no excederá de TRES días hábiles, los pasaportes cuyos expedientes, adecuadamente integrados, le remita la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", así como los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana, siempre y cuando la documentación cumpla con las disposiciones normativas aplicables.

DECIMOSEGUNDA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", previa supervisión del comisionado de "LA SECRETARIA", deberá entregar los pasaportes, los permisos para constitución de sociedades o asociaciones y los certificados de nacionalidad mexicana a los solicitantes, en un plazo no mayor de TREINTA días naturales, contados a partir de la fecha en que la Delegación haya recibido la documentación respectiva. En forma mensual remitirán a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., aquellos pasaportes y permisos que no hayan sido entregados a los solicitantes.

DECIMOTERCERA. Las formas y demás papelería relacionada con el trámite de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y difusión de becas, así como el material informativo relacionado con protección preventiva y difusión de la política exterior de México, serán proporcionados por "LA SECRETARIA", misma que cubrirá los gastos de envío y flete.

DECIMOCUARTA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" será responsable de remitir la documentación relacionada con la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana el día de su recepción, pagando el flete de estos envíos.

DECIMOQUINTA. "EL AYUNTAMIENTO" colocará en un lugar fácilmente visible de la oficina destinada a la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" la señalización que exige la normatividad establecida por "LA SECRETARIA" y que se refiere a:

- a).- Los requisitos para obtener el pasaporte, los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado en el exterior.
- b).- La indicación del monto de los derechos que correspondan por la expedición del pasaporte ordinario y por los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de acuerdo con la Ley Federal de Derechos vigente, y por separado, el importe que aplique, en su caso, "EL MUNICIPIO" por brindar el servicio en la localidad, así como el costo del servicio de fotocopiado y fotografía.
- c).- Tablero y buzón de quejas y denuncias, con teléfonos de la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo y de la Auditoría Interna de "LA SECRETARIA".

DECIMOSEXTA. Las relaciones laborales del personal de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" son responsabilidad directa y exclusiva de "EL AYUNTAMIENTO" y se regirán por la legislación correspondiente, sin que exista relación jurídica con "LA SECRETARIA".

DECIMOSEPTIMA. La probidad del comportamiento oficial de los empleados comisionados en la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" es responsabilidad directa de "EL AYUNTAMIENTO", independientemente de las acciones legales que competan a "LA SECRETARIA", en caso de ser lesionados sus intereses por la comisión de ilícitos o conductas irregulares en el manejo de la documentación federal.

DECIMOCTAVA. El presente Convenio podrá revisarse, adicionarse y modificarse con la conformidad de las partes y deberá hacerse constar por escrito.

DECIMONOVENA. El presente Convenio entrará en vigor a partir de la fecha de su firma con una vigencia indefinida, no obstante, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho de suspenderlo unilateralmente por el incumplimiento de las cláusulas precedentes o por irregularidades detectadas en el ejercicio de las facultades otorgadas a la "Oficina Municipal de Enlace" en detrimento de la transparencia de los procedimientos, lo que comunicará al "AYUNTAMIENTO" con 30 días de anticipación al cierre de la oficina.

VIGESIMA. De las disensiones que se susciten en la aplicación del presente Convenio, ambas partes acuerdan resolverlas de común acuerdo, no obstante, en caso de que surjan controversias respecto a su interpretación y alcance legal, las partes están conformes en que conozca de las mismas la Suprema Corte de Justicia de la Nación, con fundamento en lo dispuesto por el artículo 105 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y demás disposiciones aplicables.

El presente Convenio se suscribe por quintuplicado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los treinta y un días del mes de octubre de mil novecientos noventa y seis.- Por la Secretaría de Relaciones Exteriores y con fundamento en lo dispuesto por el artículo 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores: el Oficial Mayor, **Ildefonso Guajardo Villarreal**.- Rúbrica.- El Director General de Delegaciones, **Arturo García Espinosa**.- Rúbrica.- Por el H. Ayuntamiento: el Presidente Municipal Constitucional, **Adalberto Núñez Ramos**.- Rúbrica.- El Secretario del Ayuntamiento, **Francisco Félix Garza**.- Rúbrica.

CONVENIO de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de San Pedro Garza García, N.L.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Relaciones Exteriores.

CONVENIO DE COLABORACION ADMINISTRATIVA PARA EL ESTABLECIMIENTO Y OPERACION DE UNA "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES" PARA LA RECEPCION Y MANEJO DE DOCUMENTACION REQUERIDA PARA LA EXPEDICION DE PASAPORTES ORDINARIOS, ASI COMO PARA SU ENTREGA, Y LA PRESTACION DE OTROS SERVICIOS QUE SUSCRIBEN LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES, QUE EN LO SUCESIVO SE DENOMINARA "LA SECRETARIA", REPRESENTADA POR EL LIC. ILDEFONSO GUAJARDO VILLARREAL, OFICIAL MAYOR, ASISTIDO POR EL LIC. ARTURO GARCIA ESPINOSA, DIRECTOR GENERAL DE DELEGACIONES, Y POR OTRA PARTE EL H. AYUNTAMIENTO DE SAN PEDRO GARZA GARCIA, N.L., REPRESENTADO POR EL PRESIDENTE MUNICIPAL, LIC. FERNANDO MARGAIN BERLANGA, Y EL SECRETARIO DEL AYUNTAMIENTO, LIC. MARIA TERESA GARCIA DE MADERO, QUE EN LO SUCESIVO SE LE DENOMINARA "EL AYUNTAMIENTO", DE ACUERDO CON LOS SIGUIENTES CONSIDERANDOS Y CLAUSULAS:

CONSIDERANDO

Que la desconcentración de funciones y recursos impulsa la democratización de la vida nacional, la actividad económica y social del país, así como el acercamiento efectivo a sus diferentes regiones y sectores;

Que el propósito de ofrecer un mejor servicio a los ciudadanos ha originado la desconcentración de funciones para asegurar en todas las regiones del país la prestación adecuada de los servicios que otorga "LA SECRETARIA" y, consecuentemente, mejorar la eficiencia de dichos servicios;

Que es un objetivo prioritario de "LA SECRETARIA" continuar atendiendo la creciente demanda de servicios que se prestan en el territorio nacional;

Que "LA SECRETARIA", para llevar a cabo eficientemente sus labores, requiere trabajar coordinadamente con los Gobiernos Estatales o Municipales, para aprovechar al máximo todos los recursos disponibles, y de esta manera contribuir al proceso de desconcentración del Gobierno Federal;

Que "EL AYUNTAMIENTO" se propone coadyuvar en la desconcentración administrativa, participando en la ampliación de la cobertura de servicios que brindan las dependencias del Ejecutivo Federal, para beneficio de los habitantes de su Municipio;

Que una de las estrategias que el Plan Nacional de Desarrollo contempla para la consolidación del Estado de Derecho es la provisión de las medidas para ofrecer condiciones de seguridad jurídica, que garanticen la propiedad y posesión de los bienes y favorezcan la transparencia de las relaciones particulares entre sí y de éstos con el Gobierno, a fin de promover la inversión productiva e impulsar el desarrollo económico y social del país;

Que mediante la utilización de instrumentos jurídicos idóneos, como los convenios de colaboración, puede contribuirse eficazmente al logro de los propósitos enunciados, al acercar al público usuario la prestación de los servicios encomendados a las distintas dependencias y entidades de la Administración Pública.

En virtud de lo anterior y con fundamento en los artículos 1o., 2o., 14, 16, 17, 18 y 28 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; artículos 1o., 3o., 4o., 6o. fracción XVIII, 8o. fracción I, 29 fracciones II, IV, VI, VIII y X, 32 y 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores, 7o. y 9o. del Reglamento para la Expedición de Pasaportes, primero, segundo y noveno del Acuerdo por el que se autoriza la operación de Oficinas Estatales y Municipales de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores para la recepción de documentos y entrega de pasaportes ordinarios, así como de otros servicios que presta dicha dependencia, y 1o. y 9o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales, así como de conformidad con el artículo 6 de la Ley Orgánica de la Administración Pública del Estado de Nuevo León y los artículos 119 y 120 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Municipal del Estado de Nuevo León, se conviene en suscribir el presente Convenio, de conformidad con las siguientes:

CLAUSULAS

PRIMERA. El objeto del presente instrumento consiste en establecer una "Oficina Municipal de Enlace" en la ciudad de San Pedro Garza García, N.L.

SEGUNDA. En términos generales las funciones de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" serán las siguientes:

- a).- Proporcionar información sobre los requisitos y trámites necesarios para la obtención de pasaportes ordinarios; permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados

- de nacionalidad mexicana; sobre posgrados de especialización en el exterior, protección preventiva y difusión de la política exterior de México.
- b).- Distribuir gratuitamente a los solicitantes las formas de solicitudes necesarias para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, y los folletos sobre protección preventiva y de difusión de la política exterior de México.
 - c).- Asesorar y auxiliar al público en el llenado de las solicitudes para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado de especialización en el exterior.
 - d).- Recibir las solicitudes y documentos necesarios, aplicando única y exclusivamente los requisitos que señalen los respectivos Reglamentos para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, para la obtención de becas de posgrado y cursos de especialización y aquellos que específicamente señale "LA SECRETARIA".
 - e).- Recibir el documento que ampare el pago de los derechos que establece la Ley Federal de Derechos vigente, para el trámite del pasaporte y de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones.
 - f).- Efectuar, en su caso, el cobro de derechos que "EL AYUNTAMIENTO" aplique por los servicios que presta la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE".
 - g).- Remitar a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los expedientes completos de los solicitantes en los términos y modalidades indicados.
 - h).- Canalizar a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los asuntos que sean de su competencia.
 - i).- Entregar los pasaportes procesados y, en su caso, los expedientes que no prosperen, a los interesados en exacto cumplimiento de los lineamientos correspondientes.
 - j).- Los demás que expresamente sean autorizados por "LA SECRETARIA".

TERCERA. No obstante las funciones enunciadas en la cláusula anterior, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho unilateral de determinar cuáles de ellas podrán realizarse en la Oficina Municipal de la ciudad de San Pedro Garza García, N.L. La autorización de esas funciones será dada a conocer en su oportunidad por "LA SECRETARIA" al "AYUNTAMIENTO" en comunicación oficial, y formará parte integrante del presente instrumento.

CUARTA. "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará los recursos humanos y el mobiliario indispensable para la atención expedita de los trámites.

QUINTA. Para el establecimiento de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" en la ciudad de San Pedro Garza García, N.L., "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará sin cargo alguno, un local acorde a lo que establece el artículo 3o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales de Relaciones Exteriores.

El local que proporcione "EL AYUNTAMIENTO" deberá tener el espacio suficiente para que el público realice sus trámites cómodamente; deberá instalarse un mostrador, con espacio para tres ventanillas; los interiores y exteriores del local deberán ser de color gris medio claro y sus puertas azul marino, por ser éstos los colores distintivos de "LA SECRETARIA".

SEXTA. El acondicionamiento del local se llevará a cabo por "EL AYUNTAMIENTO", con arreglo a los lineamientos inmobiliarios establecidos para este propósito por "LA SECRETARIA", e incluirá la señalización adecuada en tableros de acrílico, de acuerdo con las estipulaciones que emita "LA SECRETARIA", incluyéndose la información inherente a quejas, y los teléfonos de la Contraloría Interna de "LA SECRETARIA" y la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo, así como la información de que se trata de una "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES", especificando los servicios que se ofrecen, bajo la supervisión de "LA SECRETARIA".

SEPTIMA. "LA SECRETARIA" designará a un comisionado que se encargará de supervisar permanentemente y de manera directa, la recepción y manejo de la documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de certificados de nacionalidad mexicana, así como de otorgar los servicios adicionales requeridos en la oficina.

OCTAVA. Siempre que para efectos de supervisión sea necesaria una visita a la Oficina Municipal, "EL AYUNTAMIENTO" deberá proporcionar pasajes y viáticos a la persona que designe la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L.

NOVENA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" se organizará y desarrollará sus actividades conforme a las disposiciones administrativas aplicables, así como las instrucciones y demás lineamientos que autorice "LA SECRETARIA".

DECIMA. "EL AYUNTAMIENTO" otorgará toda su cooperación, facilidades e información que se requiera para la práctica de las auditorías que periódicamente lleve a cabo el personal autorizado de la Dirección General de Delegaciones de "LA SECRETARIA".

DECIMOPRIMERA. "LA SECRETARIA", a través de su Delegación en la ciudad de Monterrey, N.L., procesará en un término que no excederá de TRES días hábiles, los pasaportes cuyos expedientes, adecuadamente integrados, le remita la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", así como los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana, siempre y cuando la documentación cumpla con las disposiciones normativas aplicables.

DECIMOSEGUNDA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", previa supervisión del comisionado de "LA SECRETARIA", deberá entregar los pasaportes, los permisos para constitución de sociedades o asociaciones y los certificados de nacionalidad mexicana a los solicitantes, en un plazo no mayor de TREINTA días naturales, contados a partir de la fecha en que la Delegación haya recibido la documentación respectiva. En forma mensual remitirán a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., aquellos pasaportes y permisos que no hayan sido entregados a los solicitantes.

DECIMOTERCERA. Las formas y demás papelería relacionada con el trámite de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y difusión de becas, así como el material informativo relacionado con protección preventiva y difusión de la política exterior de México, serán proporcionados por "LA SECRETARIA", misma que cubrirá los gastos de envío y flete.

DECIMOCUARTA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" será responsable de remitir la documentación relacionada con la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana el día de su recepción, pagando el flete de estos envíos.

DECIMOQUINTA. "EL AYUNTAMIENTO" colocará en un lugar fácilmente visible de la oficina destinada a la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" la señalización que exige la normatividad establecida por "LA SECRETARIA" y que se refiere a:

- a).- Los requisitos para obtener el pasaporte, los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado en el exterior.
- b).- La indicación del monto de los derechos que correspondan por la expedición del pasaporte ordinario y por los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de acuerdo con la Ley Federal de Derechos vigente, y por separado, el importe que aplique, en su caso, "EL MUNICIPIO" por brindar el servicio en la localidad, así como el costo del servicio de fotocopiado y fotografía.
- c).- Tablero y buzón de quejas y denuncias, con teléfonos de la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo y de la Auditoría Interna de "LA SECRETARIA".

DECIMOSEXTA. Las relaciones laborales del personal de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" son responsabilidad directa y exclusiva de "EL AYUNTAMIENTO" y se regirán por la legislación correspondiente, sin que exista relación jurídica con "LA SECRETARIA".

DECIMOSEPTIMA. La probidad del comportamiento oficial de los empleados comisionados en la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" es responsabilidad directa de "EL AYUNTAMIENTO", independientemente de las acciones legales que competan a "LA SECRETARIA", en caso de ser lesionados sus intereses por la comisión de ilícitos o conductas irregulares en el manejo de la documentación federal.

DECIMOCTAVA. El presente Convenio podrá revisarse, adicionarse y modificarse con la conformidad de las partes y deberá hacerse constar por escrito.

DECIMONOVENA. El presente Convenio entrará en vigor a partir de la fecha de su firma con una vigencia indefinida, no obstante, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho de suspenderlo unilateralmente por el incumplimiento de las cláusulas precedentes o por irregularidades detectadas en el ejercicio de las facultades otorgadas a la "Oficina Municipal de Enlace" en detrimento de la transparencia de los procedimientos, lo que comunicará al "AYUNTAMIENTO" con 30 días de anticipación al cierre de la oficina.

VIGESIMA. De las desavenencias que se susciten en la aplicación del presente Convenio, ambas partes acuerdan resolverlas de común acuerdo, no obstante, en caso de que surjan controversias respecto a su interpretación y alcance legal, las partes están conformes en que conozca de las mismas la Suprema Corte de Justicia de la Nación, con fundamento en lo dispuesto por el artículo 105 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y demás disposiciones aplicables.

El presente Convenio se suscribe por quintuplicado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los treinta y un días del mes de octubre de mil novecientos noventa y seis.- Por la Secretaría de Relaciones Exteriores y con fundamento en lo dispuesto por el artículo 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores: el Oficial Mayor, **Ildefonso Guajardo Villarreal**.- Rúbrica.- El Director General de Delegaciones, **Arturo García Espinosa**.- Rúbrica.- Por el H. Ayuntamiento: el Presidente Municipal Constitucional, **Fernando Margain Berlanga**.- Rúbrica.- El Secretario del Ayuntamiento, **María Teresa García de Madero**.- Rúbrica.

CONVENIO de Colaboración Administrativa para el establecimiento y operación de una Oficina Municipal de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores, para la recepción y manejo de documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, así como para su entrega y la prestación de otros servicios que suscriben la Secretaría de Relaciones Exteriores y el H. Ayuntamiento de Santa Catarina, N.L.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Relaciones Exteriores.

CONVENIO DE COLABORACION ADMINISTRATIVA PARA EL ESTABLECIMIENTO Y OPERACION DE UNA "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES" PARA LA RECEPCION Y MANEJO DE DOCUMENTACION REQUERIDA PARA LA EXPEDICION DE PASAPORTES ORDINARIOS, ASI COMO PARA SU ENTREGA, Y LA PRESTACION DE OTROS SERVICIOS QUE SUSCRIBEN LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES, QUE EN LO SUCESIVO SE DENOMINARA "LA SECRETARIA", REPRESENTADA POR EL LIC. ILDEFONSO GUAJARDO VILLARREAL, OFICIAL MAYOR, ASISTIDO POR EL LIC. ARTURO GARCIA ESPINOSA, DIRECTOR GENERAL DE DELEGACIONES, Y POR OTRA PARTE EL H. AYUNTAMIENTO DE SANTA CATARINA, N.L., REPRESENTADO POR EL PRESIDENTE MUNICIPAL, C.P. ARTURO AYALA MARTINEZ, Y EL SECRETARIO DEL AYUNTAMIENTO, LIC. LEOPOLDO H. SALINAS GAYTAN, QUE EN LO SUCESIVO SE LE DENOMINARA "EL AYUNTAMIENTO", DE ACUERDO CON LOS SIGUIENTES CONSIDERANDOS Y CLAUSULAS:

CONSIDERANDO

Que la desconcentración de funciones y recursos impulsa la democratización de la vida nacional, la actividad económica y social del país, así como el acercamiento efectivo a sus diferentes regiones y sectores;

Que el propósito de ofrecer un mejor servicio a los ciudadanos ha originado la desconcentración de funciones para asegurar en todas las regiones del país la prestación adecuada de los servicios que otorga "LA SECRETARIA" y, consecuentemente, mejorar la eficiencia de dichos servicios;

Que es un objetivo prioritario de "LA SECRETARIA" continuar atendiendo la creciente demanda de servicios que se prestan en el territorio nacional;

Que "LA SECRETARIA", para llevar a cabo eficientemente sus labores, requiere trabajar coordinadamente con los Gobiernos Estatales o Municipales, para aprovechar al máximo todos los recursos disponibles, y de esta manera contribuir al proceso de desconcentración del Gobierno Federal;

Que "EL AYUNTAMIENTO" se propone coadyuvar en la desconcentración administrativa, participando en la ampliación de la cobertura de servicios que brindan las dependencias del Ejecutivo Federal, para beneficio de los habitantes de su Municipio;

Que una de las estrategias que el Plan Nacional de Desarrollo contempla para la consolidación del Estado de Derecho es la provisión de las medidas para ofrecer condiciones de seguridad jurídica, que garanticen la propiedad y posesión de los bienes y favorezcan la transparencia de las relaciones particulares entre sí y de éstos con el Gobierno, a fin de promover la inversión productiva e impulsar el desarrollo económico y social del país;

Que mediante la utilización de instrumentos jurídicos idóneos, como los convenios de colaboración, puede contribuirse eficazmente al logro de los propósitos enunciados, al acercar al público usuario la prestación de los servicios encomendados a las distintas dependencias y entidades de la Administración Pública.

En virtud de lo anterior y con fundamento en los artículos 1o., 2o., 14, 16, 17, 18 y 28 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; artículos 1o., 3o., 4o., 6o. fracción XVIII, 8o. fracción I, 29 fracciones II, IV, VI, VIII y X, 32 y 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores, 7o. y 9o. del Reglamento para la Expedición de Pasaportes, primero, segundo y noveno del Acuerdo por el que se autoriza la operación de Oficinas Estatales y Municipales de Enlace con la Secretaría de Relaciones Exteriores para la recepción de documentos y entrega de pasaportes ordinarios, así como de otros servicios que presta dicha dependencia, y 1o. y 9o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales, así como de conformidad con el artículo 6 de la Ley Orgánica de la Administración Pública del Estado de Nuevo León, y los artículos 119 y 120 de

la Ley Orgánica de la Administración Pública Municipal del Estado de Nuevo León, se conviene en suscribir el presente Convenio de conformidad con las siguientes:

CLAUSULAS

PRIMERA. El objeto del presente instrumento consiste en establecer una "Oficina Municipal de Enlace" en la ciudad de Santa Catarina, N.L.

SEGUNDA. En términos generales las funciones de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" serán las siguientes:

- a).- Proporcionar información sobre los requisitos y trámites necesarios para la obtención de pasaportes ordinarios; permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana; sobre posgrados de especialización en el exterior, protección preventiva y difusión de la política exterior de México.
- b).- Distribuir gratuitamente a los solicitantes las formas de solicitudes necesarias para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, y los folletos sobre protección preventiva y de difusión de la política exterior de México.
- c).- Asesorar y auxiliar al público en el llenado de las solicitudes para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado de especialización en el exterior.
- d).- Recibir las solicitudes y documentos necesarios, aplicando única y exclusivamente los requisitos que señalen los respectivos Reglamentos para la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana, para la obtención de becas de posgrado y cursos de especialización y aquellos que específicamente señale "LA SECRETARIA".
- e).- Recibir el documento que ampare el pago de los derechos que establece la Ley Federal de Derechos vigente, para el trámite del pasaporte y de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones.
- f).- Efectuar, en su caso, el cobro de derechos que "EL AYUNTAMIENTO" aplique por los servicios que presta la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE".
- g).- Remitir a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los expedientes completos de los solicitantes en los términos y modalidades indicados.
- h).- Canalizar a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., los asuntos que sean de su competencia.
- i).- Entregar los pasaportes procesados y, en su caso, los expedientes que no prosperen, a los interesados en exacto cumplimiento de los lineamientos correspondientes.
- j).- Los demás que expresamente sean autorizados por "LA SECRETARIA".

TERCERA. No obstante las funciones enunciadas en la cláusula anterior, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho unilateral de determinar cuáles de ellas podrán realizarse en la Oficina Municipal de la ciudad de Santa Catarina, N.L. La autorización de esas funciones será dada a conocer en su oportunidad por "LA SECRETARIA" al "AYUNTAMIENTO" en comunicación oficial, y formará parte integrante del presente instrumento.

CUARTA. "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará los recursos humanos y el mobiliario indispensable para la atención expedita de los trámites.

QUINTA. Para el establecimiento de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" en la ciudad de Santa Catarina, N.L., "EL AYUNTAMIENTO" proporcionará sin cargo alguno, un local acorde a lo que establece el artículo 3o. del Reglamento para la Operación de Oficinas Estatales y Municipales de Relaciones Exteriores.

El local que proporcione "EL AYUNTAMIENTO" deberá tener el espacio suficiente para que el público realice sus trámites cómodamente; deberá instalarse un mostrador, con espacio para tres ventanillas; los interiores y exteriores del local deberán ser de color gris medio claro y sus puertas azul marino, por ser éstos los colores distintivos de "LA SECRETARIA".

SEXTA. El acondicionamiento del local se llevará a cabo por "EL AYUNTAMIENTO", con arreglo a los lineamientos inmobiliarios establecidos para este propósito por "LA SECRETARIA", e incluirá la señalización adecuada en tableros de acrílico, de acuerdo con las estipulaciones que emita "LA SECRETARIA", incluyéndose la información inherente a quejas, y los teléfonos de la Contraloría Interna de "LA SECRETARIA" y la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo, así como la información de que se trata de una "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE CON LA SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES", especificando los servicios que se ofrecen, bajo la supervisión de "LA SECRETARIA".

SEPTIMA. "LA SECRETARIA" designará a un comisionado que se encargará de supervisar permanentemente y de manera directa, la recepción y manejo de la documentación requerida para la expedición de pasaportes ordinarios, de permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de certificados de nacionalidad mexicana, así como de otorgar los servicios adicionales requeridos en la oficina.

OCTAVA. Siempre que para efectos de supervisión sea necesaria una visita a la Oficina Municipal, "EL AYUNTAMIENTO" deberá proporcionar pasajes y viáticos a la persona que designe la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L.

NOVENA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" se organizará y desarrollará sus actividades conforme a las disposiciones administrativas aplicables, así como las instrucciones y demás lineamientos que autorice "LA SECRETARIA".

DECIMA. "EL AYUNTAMIENTO" otorgará toda su cooperación, facilidades e información que se requiera para la práctica de las auditorías que periódicamente lleve a cabo el personal autorizado de la Dirección General de Delegaciones de "LA SECRETARIA".

DECIMOPRIMERA. "LA SECRETARIA", a través de su Delegación en la ciudad de Monterrey, N.L., procesará en un término que no excederá de TRES días hábiles, los pasaportes cuyos expedientes, adecuadamente integrados, le remita la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", así como los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana, siempre y cuando la documentación cumpla con las disposiciones normativas aplicables.

DECIMOSEGUNDA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE", previa supervisión del comisionado de "LA SECRETARIA", deberá entregar los pasaportes, los permisos para constitución de sociedades o asociaciones y los certificados de nacionalidad mexicana a los solicitantes, en un plazo no mayor de TREINTA días naturales, contados a partir de la fecha en que la Delegación haya recibido la documentación respectiva. En forma mensual remitirán a la Delegación de "LA SECRETARIA" en la ciudad de Monterrey, N.L., aquellos pasaportes y permisos que no hayan sido entregados a los solicitantes.

DECIMOTERCERA. Las formas y demás papelería relacionada con el trámite de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y difusión de becas, así como el material informativo relacionado con protección preventiva y difusión de la política exterior de México, serán proporcionados por "LA SECRETARIA", misma que cubrirá los gastos de envío y flete.

DECIMOCUARTA. La "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" será responsable de remitir la documentación relacionada con la expedición de pasaportes, permisos para la constitución de sociedades o asociaciones y certificados de nacionalidad mexicana el día de su recepción, pagando el flete de estos envíos.

DECIMOQUINTA. "EL AYUNTAMIENTO" colocará en un lugar fácilmente visible de la oficina destinada a la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" la señalización que exige la normatividad establecida por "LA SECRETARIA" y que se refiere a:

- a).- Los requisitos para obtener el pasaporte, los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, certificados de nacionalidad mexicana y para la obtención de becas de posgrado en el exterior.
- b).- La indicación del monto de los derechos que correspondan por la expedición del pasaporte ordinario y por los permisos para la constitución de sociedades o asociaciones, de acuerdo con la Ley Federal de Derechos vigente, y por separado, el importe que aplique, en su caso, "EL MUNICIPIO" por brindar el servicio en la localidad, así como el costo del servicio de fotocopiado y fotografía.
- c).- Tablero y buzón de quejas y denuncias, con teléfonos de la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo y de la Auditoría Interna de "LA SECRETARIA".

DECIMOSEXTA. Las relaciones laborales del personal de la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" son responsabilidad directa y exclusiva de "EL AYUNTAMIENTO" y se regirán por la legislación correspondiente, sin que exista relación jurídica con "LA SECRETARIA".

DECIMOSEPTIMA. La probidad del comportamiento oficial de los empleados comisionados en la "OFICINA MUNICIPAL DE ENLACE" es responsabilidad directa de "EL AYUNTAMIENTO", independientemente de las acciones legales que competan a "LA SECRETARIA", en caso de ser lesionados sus intereses por la comisión de ilícitos o conductas irregulares en el manejo de la documentación federal.

DECIMOCTAVA. El presente Convenio podrá revisarse, adicionarse y modificarse con la conformidad de las partes y deberá hacerse constar por escrito.

DECIMONOVENA. El presente Convenio entrará en vigor a partir de la fecha de su firma con una vigencia indefinida, no obstante, "LA SECRETARIA" se reserva el derecho de suspenderlo unilateralmente por el incumplimiento de las cláusulas precedentes o por irregularidades detectadas en el ejercicio de las facultades otorgadas a la "Oficina Municipal de Enlace" en detrimento de la transparencia de los procedimientos, lo que comunicará al "AYUNTAMIENTO" con 30 días de anticipación al cierre de la oficina.

VIGESIMA. De las desavenencias que se susciten en la aplicación del presente Convenio, ambas partes acuerdan resolverlas de común acuerdo, no obstante, en caso de que surjan controversias respecto a su interpretación y alcance legal, las partes están conformes en que conozca de las mismas la Suprema Corte de Justicia de la Nación, con fundamento en lo dispuesto por el artículo 105 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y demás disposiciones aplicables.

El presente Convenio se suscribe por quintuplicado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los treinta y un días del mes de octubre de mil novecientos noventa y seis.- Por la Secretaría de Relaciones Exteriores y con fundamento en lo dispuesto por el artículo 39 del Reglamento Interior de la Secretaría de Relaciones Exteriores: el Oficial Mayor, **Ildefonso Guajardo Villarreal**.- Rúbrica.- El Director General de Delegaciones, **Arturo García Espinosa**.- Rúbrica.- Por el H. Ayuntamiento: el Presidente Municipal Constitucional, **Arturo Ayala Martínez**.- Rúbrica.- El Secretario del Ayuntamiento, **Leopoldo H. Salinas Gaytán**.- Rúbrica.- El Síndico Segundo, **José Ramírez de la Rosa**.- Rúbrica.

SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL

RELACION de declaratorias de libertad de terreno número 37/97.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.

RELACION DE DECLARATORIAS DE LIBERTAD DE TERRENO 37/97

La Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, a través de su Dirección General de Minas, con fundamento en los artículos 1o. y 14 párrafo segundo de la Ley Minera, y 8o. fracción IV de su Reglamento; 34 fracción VIII del Reglamento Interior de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, y con motivo de haber sido desaprobadas las solicitudes de exploración correspondientes, en términos de lo dispuesto por el artículo 21 párrafo segundo del Reglamento de la Ley Minera, resuelve.

PRIMERO.- Se declara la libertad de terreno de los lotes mineros que a continuación se listan, sin perjuicio de terceros:

AGENCIA	EXPEDIENTE	NOMBRE DEL LOTE	SUPERFICIE	MUNICIPIO	ESTADO
DURANGO, DGO.	21728	AMPL. LA MEXICANA	1,405.0000	SAN DIMAS	DGO.
DURANGO, DGO.	21762	BELGICA	100.0000	TOPIA	DGO.
GUANAJUATO, GTO.	8503	SAN PEDRO	50.0000	SAN FELIPE	GTO.
CHILPANCINGO, GRO.	8068	EL ACORAZADO	100.0000	CHILPANCINGO	GRO.
CHILPANCINGO, GRO.	8203	TERE	80.0000	ACAPULCO	GRO.
GUADALAJARA, JAL.	14349	SAN JOSE	20.0000	CHIQUILISTLAN	JAL.
GUADALAJARA, JAL.	14353	LA ESPERANZA	20.0000	AYUTLA	JAL.
MORELIA, MICH.	6803	EL CONDE DE AUSTRIA II	455.0000	TUZANTLA	MICH.
TEPIC, NAY.	6128	ZAPOTAN	5,000.0000	COMPOSTELA	NAY.
MONTERREY, N.L.	14100	EL RAM	250.0000	BUSTAMANTE	N.L.
MONTERREY, N.L.	14128	LOS SABINOS III	50.0000	LAMPAZOS DE NARANJO	N.L.
OAXACA, OAX.	9140	LA SOLEDAD	30.0000	SAN AGUSTIN ETLA	OAX.
ZACATECAS, ZAC.	15779	SAN JUANITO	40.0000	VILLA NUEVA	ZAC.
CULIACAN, SIN.	8881	SANTO NIÑO	3,000.0000	SINALOA	SIN.
CULIACAN, SIN.	8882	SANTA MATILDE	3,000.0000	SINALOA	SIN.

SEGUNDO.- Conforme a lo dispuesto por los artículos 8o. último párrafo y 9o. párrafo segundo del Reglamento de la Ley Minera, los terrenos que se listan en el resolutivo anterior se considerarán libres una vez transcurridos 30 días naturales después de la fecha de publicación de la presente declaratoria en el **Diario Oficial de la Federación**, a partir de las 10:00 horas.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 1 de octubre de 1997.- El Director General de Minas, **Luis R. Escudero Chávez**.- Rúbrica.

SECRETARIA DE COMUNICACIONES Y TRANSPORTES

REGLAMENTO de la Policía Federal de Caminos.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Presidencia de la República.

ERNESTO ZEDILLO PONCE DE LEÓN, Presidente de los Estados Unidos Mexicanos, en ejercicio de la facultad que me confiere el artículo 89, fracción I, de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y con fundamento en los artículos 21 y 123, apartado B, fracción XIII, de la propia Constitución; 17 y 36 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, 3o. de la Ley de Vías Generales de Comunicación; 5o., fracción VII, de la Ley de Caminos, Puentes y Autotransporte Federal; 3o., 6o., fracción VIII y 71 de la Ley de Aeropuertos; 4o. y 6o., fracción IV, de la Ley Reglamentaria del Servicio Ferroviario y 3o., 16 y 18 de la Ley de Puertos, he tenido a bien expedir el siguiente

REGLAMENTO DE LA POLICÍA FEDERAL DE CAMINOS

TÍTULO PRIMERO

Disposiciones generales

Capítulo único

Artículo 1. La Policía Federal de Caminos es un órgano desconcentrado dependiente de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes, con autonomía técnica y operativa.

La Policía Federal de Caminos tendrá por objeto vigilar y mantener el orden, procurar la seguridad pública y prestar el servicio de policía en la zona federal terrestre de las vías generales de comunicación, así como verificar que la seguridad y vigilancia interna en dicha zona se lleve a cabo de conformidad con las disposiciones legales aplicables.

Artículo 2. Para los efectos del presente Reglamento se entenderá por:

I. Corporación: a la Policía Federal de Caminos;

II. Escuela: a la Escuela Profesional de la Policía Federal de Caminos;

III. Secretaría: a la Secretaría de Comunicaciones y Transportes;

IV. Secretario: al Titular de la Secretaría;

V. Servicio activo: a la ejecución de funciones que el miembro de la Corporación realiza en el servicio o comisión encomendados en el ejercicio de su cargo;

VI. Subsecretario: al Subsecretario de Transporte, y

VII. Zona terrestre de las vías generales de comunicación: a aquella que comprende la zona federal terrestre en caminos, puentes, puertos, instalaciones ferroviarias y aeropuertos civiles.

Artículo 3. El Ejecutivo Federal, por conducto del Secretario, emitirá los manuales y las órdenes para el funcionamiento de la Corporación. En los casos previstos en el artículo 29 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, el Presidente de la República dispondrá de la Corporación, de conformidad con las disposiciones aplicables.

Artículo 4. Las políticas, lineamientos y acciones de coordinación con las fuerzas armadas, corporaciones policiales federales, estatales, municipales, del Distrito Federal, así como con otras autoridades, se llevarán a cabo mediante la suscripción de los convenios respectivos o con base en los acuerdos y resoluciones que se tomen en el Consejo Nacional de Seguridad Pública y en las demás instancias de coordinación previstas en la Ley General que Establece las Bases de Coordinación del Sistema Nacional de Seguridad Pública.

Artículo 5. La Corporación se regirá conforme a la disciplina militar y sus miembros disfrutarán de las medidas de protección al salario y gozarán de los beneficios de la seguridad social. De conformidad con el artículo 123, apartado B, fracción XIII, de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos los miembros de la Corporación se regirán por las disposiciones del presente Reglamento.

Artículo 6. La conducta de los miembros de la Corporación se regirá por los principios de legalidad, disciplina, ética, eficiencia, profesionalismo, honradez, lealtad e imparcialidad señalados en los artículos 21, 109 y 113 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, 22 de la Ley General que Establece las Bases de Coordinación del Sistema Nacional de Seguridad Pública y 47 de la Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos, así como en el Manual de Disciplina y Ética de la propia Corporación.

Para comprobar que los miembros de la Corporación cumplen con los principios establecidos en este artículo, deberán aprobar, entre otros requisitos, las evaluaciones periódicas siguientes:

I. Médica y de aptitudes físicas;

II. Toxicológica;

III. Psicológica;

IV. Del entorno social y situación patrimonial;

V. Poligráfica, y

VI. Las demás que establezca el Secretario.

El Secretario, a través del Subsecretario, determinará las características, términos, modalidades y periodicidad con que se practicarán las evaluaciones previstas en el presente artículo, mismas que servirán para garantizar la adecuada selección, promoción, permanencia y alto nivel profesional de los servidores públicos de la Policía Federal de Caminos.

Los miembros de la Corporación que no aprueben cualquiera de dichas evaluaciones causarán baja de la misma, por terminación de los efectos de su nombramiento.

Artículo 7. La Corporación, de acuerdo con su disponibilidad presupuestal, adquirirá armas, municiones, equipo móvil y de comunicación, vestuario y demás recursos materiales necesarios para el cumplimiento de las funciones que este Reglamento le confiere, de conformidad con las disposiciones legales aplicables.

Artículo 8. Los grados en la escala jerárquica de la Corporación serán, en orden ascendente, los siguientes:

- I. Cabo;
- II. Guardia de Servicio Interior de Segunda;
- III. Guardia de Servicio Interior de Primera;
- IV. Suboficial;
- V. Oficial;
- VI. Primer Oficial;
- VII. Segundo Comandante;
- VIII. Comandante de Destacamento, y
- IX. Comandante de Región.

Artículo 9. La Corporación tendrá, además de las atribuciones que establece el Reglamento Interior de la Secretaría para los órganos desconcentrados de la misma, las funciones siguientes:

I. Vigilar y mantener el orden, garantizar la seguridad pública y prestar el servicio de policía preventiva en la zona terrestre de las vías generales de comunicación;

II. Ordenar y organizar dispositivos, así como supervisar el tránsito de personas y vehículos en las zonas de su jurisdicción;

III. Conocer, en el ámbito de su competencia, de los hechos y accidentes, formular el reporte correspondiente y proporcionar informes, orientación y auxilio a los usuarios de la zona terrestre de las vías generales de comunicación;

IV. Coadyuvar con las autoridades competentes, cuando así se le requiera, en la prevención, persecución e investigación de los delitos;

V. Elaborar, calificar y graduar las infracciones que correspondan al ámbito de sus atribuciones por violación a las disposiciones legales y reglamentarias relativas al uso de la zona terrestre de las vías generales de comunicación, así como llevar el resguardo de garantías y, cuando así proceda, devolverlas;

VI. Conocer y resolver los recursos que interpongan los particulares contra los actos administrativos emitidos por miembros de la Corporación, los que se substanciarán y resolverán de conformidad con lo previsto en la Ley Federal de Procedimiento Administrativo;

VII. Proporcionar la capacitación técnica y profesional a los miembros de la Corporación y a los aspirantes a ésta;

VIII. Elaborar y aplicar, en coordinación con las unidades administrativas de la Secretaría, los programas de vigilancia y supervisión de las zonas de su jurisdicción, dándoles el seguimiento correspondiente;

IX. Participar en los estudios para el señalamiento en la zona federal terrestre y en los de ingeniería de tránsito para la prevención de accidentes, en coordinación con las unidades administrativas de la Secretaría;

X. Intervenir en los programas de seguridad nacional de conformidad con las disposiciones aplicables en la materia;

XI. Promover acciones que mejoren la atención a los usuarios de la zona terrestre de las vías generales de comunicación y desarrollar programas de colaboración comunitaria en el ámbito de sus atribuciones, y

XII. Todas las demás que determinen las disposiciones aplicables y que dicte el Ejecutivo Federal.

TÍTULO SEGUNDO

Organización y funcionamiento

Capítulo I

Organización

Artículo 10. La Corporación se organizará de la forma siguiente:

- I. Comandancia General;
- II. Jefatura de Estado Mayor;
- III. Jefatura de Inspección General;
- IV. Jefatura de Operaciones Especiales;
- V. Jefatura de la Escuela;
- VI. Dirección de Asuntos Jurídicos;
- VII. Dirección de Inspecciones;
- VIII. Dirección de Sistemas;
- IX. Dirección de Administración;
- X. Jefaturas de Distrito;
- XI. Comandancia del Cuerpo de Cadetes;
- XII. Subdirecciones;
- XIII. Comandancias de Región;
- XIV. Comandancias de Destacamento;
- XV. Centros Tácticos Operativos, y
- XVI. Grupos Especiales.

Asimismo, contará con los siguientes cuerpos colegiados:

- a) Consejo Consultivo;
- b) Comisión de Ascensos, y
- c) Comisión de Honor y Justicia.

Capítulo II

Funciones

Artículo 11. Corresponde a la Comandancia General:

- I. Ejercer las facultades establecidas en el artículo 35 del Reglamento Interior de la Secretaría, así como planear y coordinar los asuntos relacionados con las funciones de la Corporación;
- II. Representar a la Corporación ante toda clase de autoridades nacionales o extranjeras, así como ante particulares, en el ámbito de su competencia;
- III. Dirigir la prestación de servicios y operativos de inspección, seguridad y vigilancia en la zona terrestre de las vías generales de comunicación;
- IV. Vigilar el desempeño y la disciplina de sus miembros, procurando que todas las labores se realicen elevando el espíritu de cuerpo;
- V. Acordar con el Secretario y el Subsecretario los asuntos técnicos, administrativos y operacionales de la Corporación que así lo requieran;
- VI. Someter a la consideración del Secretario los proyectos de manuales de la Corporación;
- VII. Informar oportunamente al Secretario y Subsecretario las novedades que se presenten en el ámbito de su competencia;
- VIII. Convocar a sesión extraordinaria a cualesquiera de los cuerpos colegiados de la Corporación;
- IX. Someter al Consejo Consultivo el Programa General de Educación Policial de la Corporación;
- X. Proponer al Subsecretario los nombramientos a que se refiere la fracción II, del artículo 38 de este Reglamento, así como otorgar los que sean de su competencia;
- XI. Ordenar visitas de investigación socio-económica de los miembros de la Corporación, así como inspecciones, auditorías administrativas y operativas que sean necesarias en las unidades de la misma y las investigaciones administrativas que le permitan conocer de los hechos en donde intervengan miembros de la Corporación para deslindar responsabilidades;
- XII. Ordenar, cuando resulte procedente, la instalación de las Comisiones de Ascensos y de Honor y Justicia, así como designar a los miembros de la Corporación que formarán parte de las mismas;
- XIII. Crear y establecer, de acuerdo con las necesidades del servicio, Jefaturas de Distrito, Comandancias de Región, Comandancias de Destacamento y Centros Tácticos Operativos. Estos últimos, serán dependientes de las Comandancias de Destacamento y tendrán las mismas funciones operativas que aquéllas, en el ámbito de la jurisdicción territorial que se les asigne;
- XIV. Ordenar la integración de grupos especiales que por las necesidades del servicio se requieran;
- XV. Imponer las medidas disciplinarias de su competencia;
- XVI. Ejecutar las resoluciones de cese en los términos previstos en el presente Reglamento, y
- XVII. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicten el Secretario y el Subsecretario.

Artículo 12. Corresponde a la Jefatura de Estado Mayor:

- I. Dirigir y controlar el funcionamiento de las áreas a su cargo;

II. Obtener elementos de juicio en asuntos de carácter técnico, operativo y logístico para la toma de decisiones del mando superior;

III. Dirigir el funcionamiento de las Jefaturas de Distrito, de las Comandancias de Región y de las Comandancias de Destacamento, así como planear y programar los operativos y la coordinación del flujo de información al interior y exterior de la Corporación;

IV. Coordinar, desde el punto de vista operativo, la administración de los recursos humanos y materiales asignados para las funciones de inspección, seguridad y vigilancia;

V. Clasificar y analizar la información relativa a la operación de la Corporación;

VI. Proponer a la superioridad, en coordinación con la Jefatura de la Escuela, las políticas, normas, sistemas y procedimientos de la Corporación, que tendrán por objeto salvaguardar los principios de legalidad, eficiencia, profesionalismo y honradez que consagran los artículos 21, 109 y 113 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y que comprenderán, entre otros aspectos, los requisitos y procedimientos de selección, ingreso, reingreso, formación, capacitación, permanencia, promoción, especialización, evaluación y separación del servicio;

VII. Coordinar y supervisar la elaboración de los informes de avance físico y de metas operativas;

VIII. Convertir las decisiones y directivas del mando superior en órdenes y verificar su cumplimiento;

IX. Actualizar los programas operativos y formular el informe de actividades;

X. Llevar el control, registro y seguimiento administrativo de las infracciones que formulen los miembros de la Corporación, y

XI. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 13. Corresponde a la Jefatura de Inspección General:

I. Vigilar y adoptar las medidas preventivas conducentes, a efecto de que los miembros de la Corporación observen el cumplimiento de las normas establecidas en la Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos, en el presente Reglamento y en los manuales respectivos, dando cuenta a la superioridad de las irregularidades que, en su caso, se detecten;

II. Programar visitas, inspecciones y auditorías operativo-administrativas a las áreas de la Corporación, previo acuerdo superior, así como proponer y vigilar la aplicación de las recomendaciones y medidas correctivas, producto del resultado de las mismas;

III. Participar en el proceso para la determinación de los criterios de selección de los aspirantes a ingresar a la Escuela, así como vigilar el desarrollo del mismo;

IV. Informar a la superioridad de las quejas y denuncias presentadas en contra de los miembros de la Corporación, así como de las investigaciones administrativas que, en su caso, le corresponda realizar, las cuales podrán llevarse a cabo con el auxilio de las unidades administrativas regionales de la Corporación;

V. Ordenar, sin perjuicio de lo dispuesto en el artículo 6, penúltimo párrafo, del presente Reglamento, la práctica de los exámenes toxicológicos que se consideren convenientes a los miembros de la Corporación;

VI. Imponer, por acuerdo del Comandante General, las sanciones de su competencia, así como notificar aquéllas que se hayan determinado por resolución de la Comisión de Honor y Justicia o de la Contraloría Interna de la Secretaría;

VII. Presentar a las autoridades competentes el resultado de las Investigaciones que realice, previa opinión de la Dirección de Asuntos Jurídicos;

VIII. Fungir como parte acusadora en los asuntos que se sometan a la Comisión de Honor y Justicia, y

IX. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 14. Corresponde a la Jefatura de Operaciones Especiales:

I. Dirigir y controlar el funcionamiento de los grupos especiales de la Corporación y del personal asignado a la seguridad y vigilancia en la zona terrestre de las vías generales de comunicación distintas de las carreteras federales, que por acuerdo del Comandante General se integren, así como evaluar su funcionamiento;

II. Dar parte diario al Comandante General de las novedades ocurridas en los grupos especiales a su mando;

III. Cumplir las órdenes de operación en acciones especiales e informar a la superioridad de los resultados alcanzados, y

IV. Observar las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como atender las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 15. Corresponde a la Jefatura de la Escuela:

I. Someter a la consideración del Comandante General el Programa Anual de Educación Policial y sus modificaciones, el cual señalará los cursos de formación, capacitación, especialización y actualización que deban impartirse a los miembros de la Corporación, así como el valor curricular de los mismos;

II. Vigilar que el funcionamiento técnico y administrativo de la Escuela se realice adecuadamente;

III. Coordinar la actualización de políticas y normas para el reclutamiento y selección de aspirantes a la Escuela, así como diseñar el examen de admisión;

IV. Ordenar que se imparta la instrucción militar, de armamento y capacitación policial que sean necesarias a los cadetes para el mejor desempeño de sus actividades, así como supervisar que se mantenga la estricta disciplina en el plantel;

V. Coordinar la elaboración de convocatorias de ingreso a la Corporación, de programas de cursos de actualización, capacitación y adiestramiento, así como llevar el control de la plantilla de profesores;

VI. Difundir en los medios de comunicación las convocatorias para la selección de aspirantes al curso de formación policial de la Corporación;

VII. Proponer la celebración de bases de coordinación con las autoridades competentes para el reconocimiento de los estudios que se imparten en la Escuela;

VIII. Coordinar, con el área competente de la Secretaría, la programación de exámenes para el ingreso de los aspirantes a la Escuela;

IX. Ordenar la cancelación de la matrícula de los cadetes, cuando así proceda, en términos del Manual de la Escuela;

X. Representar a la corporación en el seno de la Academia Nacional de Seguridad Pública, y

XI. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 16. Corresponde a la Dirección de Asuntos Jurídicos:

I. Representar a la Corporación en los asuntos contenciosos en que ésta sea parte;

II. Elaborar y proponer los informes previos y justificados que en materia de amparo deban rendir los miembros de la Corporación como autoridades responsables, así como los demás que se les requieran por cualquier otra autoridad;

III. Apoyar a las áreas de la Corporación en todos los asuntos que se deriven de la aplicación e interpretación de las disposiciones jurídicas de la materia y asesorar a los miembros de ésta, cuando tengan la necesidad de comparecer ante las instancias judiciales o administrativas, con motivo de actos derivados del servicio;

IV. Actuar como órgano de consulta, así como definir, unificar, sistematizar y difundir los criterios jurídicos en materia de aplicación e interpretación de las disposiciones jurídicas que normen el funcionamiento de la Corporación;

V. Formular, en coordinación con las áreas operativas correspondientes, los proyectos de manuales que se sometan a la consideración del Secretario;

VI. Formular, en coordinación con las áreas operativas correspondientes, las circulares y demás disposiciones que se emitan por la Corporación;

VII. Conocer, llevar el control, registro y seguimiento de los actos de impugnación que se formulen por los usuarios de la zona terrestre de las vías generales de comunicación en contra de las infracciones que les elaboren los miembros de la Corporación;

VIII. Elaborar, dictaminar y llevar el registro y control de los contratos y convenios que se suscriban por la Corporación;

IX. Certificar copias de documentos que obren en los archivos de la Corporación, y

X. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 17. Corresponde a la Dirección de Inspecciones:

I. Establecer y ejecutar las medidas preventivas tendientes a la observancia, por parte de los miembros de la Corporación, del debido cumplimiento de las normas que regulan el ejercicio de sus funciones;

II. Informar a su superior jerárquico de las presuntas irregularidades operativo-administrativas detectadas con motivo de las inspecciones o investigaciones que realice;

III. Practicar las inspecciones y auditorías operativo-administrativas que se ordenen a las Comandancias de Región, de Destacamento y Centros Tácticos Operativos;

IV. Realizar las actuaciones de investigación de los miembros de la Corporación que se encuentren involucrados en las quejas y denuncias que se reciban, así como informar a la superioridad de los resultados de las propias actuaciones y de las investigaciones que se desprendan de las mismas;

V. Proponer a la superioridad las medidas correctivas a aplicar como resultado de las actuaciones, investigaciones e inspecciones realizadas;

VI. Llevar el control de los exámenes toxicológicos que se consideren convenientes a los miembros de la Corporación;

VII. Mantener en custodia los expedientes de las actuaciones, investigaciones, inspecciones y auditorías administrativas que se practiquen, y

VIII. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 18. Corresponde a la Dirección de Sistemas:

I. Auxiliar a las áreas de la Corporación en los asuntos que se deriven de la operación de los equipos y sistemas de cómputo y de comunicación;

II. Efectuar el análisis, diseño, programación, implementación y mantenimiento de los sistemas de información que utilice la Corporación;

III. Operar el sistema de comunicación institucional, así como programar, diseñar, implementar y dar mantenimiento a los equipos de comunicación que utilice la Corporación;

IV. Diagnosticar las necesidades de capacitación y adiestramiento en las materias de su competencia y, en su caso, proponer a la Escuela los cursos correspondientes;

V. Opinar sobre la adquisición y mantenimiento de equipos y sistemas de cómputo para la Corporación, así como respecto de la ampliación y modernización de la red informática de la misma;

VI. Proponer la adquisición de equipo de cómputo, servicios de mantenimiento y la contratación de consultorías para el desarrollo de programas de cómputo para la debida sistematización de la información de la Corporación, y

VII. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 19. Corresponde a la Dirección de Administración:

I. Formular el anteproyecto del programa-presupuesto anual de la Corporación, así como vigilar su ejercicio;

II. Llevar el control contable del presupuesto de la Corporación;

III. Integrar la información contable de la Corporación para la elaboración de la cuenta pública;

IV. Atender los requerimientos de recursos humanos, materiales y financieros que soliciten las áreas, así como su distribución para cada periodo;

V. Presidir el Comité de Adquisiciones, Arrendamientos y Servicios de la Corporación;

VI. Controlar y aplicar los sistemas, políticas y lineamientos para la óptima y racional administración de los recursos asignados a la Corporación, y

VII. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 20. Corresponde a las Jefaturas de Distrito:

I. Planear, coordinar y controlar las actividades operativas y administrativas de las Comandancias de Región y de Destacamento de su jurisdicción, así como vigilar el manejo de los recursos humanos, materiales y financieros asignados a las mismas;

II. Rendir el parte diario de novedades a la superioridad;

III. Coadyuvar con las autoridades competentes en la prevención, persecución e investigación de los delitos;

IV. Controlar y supervisar el buen funcionamiento de los operativos ordenados por la superioridad y que se tome conocimiento de los hechos que sucedan en la zona terrestre de las vías generales de comunicación de su jurisdicción en tiempo y forma, así como conocer y analizar sus resultados, y

V. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 21. Corresponde a la Comandancia del Cuerpo de Cadetes:

I. Mantener la disciplina del personal de cadetes dentro y fuera de la Escuela, así como adoptar las medidas preventivas conducentes, a efecto de que los cadetes observen el cumplimiento de las normas disciplinarias de la Escuela, dando cuenta al Jefe de la misma de las irregularidades que se detecten;

- II. Dar a conocer al cuerpo de cadetes las normas de disciplina y ética de la Escuela;
- III. Conocer, resolver e imponer, previo acuerdo del Jefe de la Escuela, las medidas disciplinarias correctivas a los cadetes por las faltas cometidas que contravengan las normas disciplinarias;
- IV. Llevar el control de la información correspondiente a cada cadete;
- V. Informar a la superioridad del estado de fuerza diario con que cuenta la Escuela;
- VI. Guardar la seguridad de las instalaciones de la Escuela y del buen funcionamiento de los servicios que se proporcionen en la misma;
- VII. Coordinar la participación de los cadetes en todos aquellos eventos o maniobras de carácter cívico en donde se requiera la participación de la Escuela, incluida la Banda de Guerra y la Escolta;
- VIII. Reportar a la superioridad las actividades y participación de los instructores de la Escuela, en las actividades diarias y extraordinarias de la misma, y
- IX. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 22. Corresponde a las Comandancias de Región:

- I. Acordar con el Jefe de Distrito los asuntos de su competencia;
- II. Vigilar el manejo de los recursos humanos, materiales y financieros asignados a los destacamentos;
- III. Dar cumplimiento a las acciones operativas, informando al superior jerárquico los resultados logrados;
- IV. Establecer programas de prevención de delitos y accidentes de tránsito, garantizando que se preste el auxilio y toda clase de ayuda a las personas en la zona terrestre de las vías generales de comunicación;
- V. Vigilar y supervisar el desarrollo de la región asignada, así como el desempeño y la disciplina de los miembros adscritos a la misma, controlando su organización y operación, procurando que todas las labores se realicen elevando el espíritu de cuerpo;
- VI. Proponer a la superioridad los cambios de adscripción del personal dentro de la jurisdicción a su mando;
- VII. Dar parte de las novedades diarias al Jefe de Distrito, sin perjuicio de aquéllas que, por su relevancia, deban hacerse del conocimiento inmediato del Comandante General;
- VIII. Atender al público en general, resolviendo los asuntos que sean de su competencia;
- IX. Responder de la seguridad y el orden público en la zona terrestre de las vías generales de comunicación de su adscripción, ordenando lo conducente al personal bajo su mando, y
- X. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 23. Corresponde a las Comandancias de Destacamento:

- I. Garantizar el máximo de eficiencia en el empleo de los recursos humanos, materiales y financieros asignados a la unidad operativa bajo su mando, incluyendo los Centros Tácticos Operativos correspondientes, verificando que los mismos cumplan con sus funciones;
- II. Responder de las acciones operativas, informando al Comandante de Región los resultados logrados;
- III. Dar cumplimiento a los programas de prevención de delitos y accidentes de tránsito, garantizando que se preste el auxilio y toda clase de ayuda a las personas en la zona terrestre de las vías generales de comunicación de su jurisdicción y que en caso de accidente, se otorguen a los usuarios de la zona terrestre de las vías generales de comunicación, sin restricción alguna, los beneficios que las disposiciones aplicables contemplen;
- IV. Cumplir y hacer que se cumplan las normas legales, órdenes, directrices, políticas y disposiciones de la superioridad, que regulen la organización y funcionamiento del área a su cargo;
- V. Responder del desarrollo del destacamento a su cargo, así como del desempeño y la disciplina de los miembros de la Corporación adscritos al mismo, controlar su organización y operación y procurar que todas las labores se realicen elevando el espíritu de cuerpo;
- VI. Llevar el registro, custodia y control de los talonarios de boletas de infracción, así como de los documentos o bienes retenidos en garantía del pago de éstas y proveer su liberación cuando así proceda;
- VII. Resolver, previa opinión de la Dirección de Asuntos Jurídicos, los recursos que interpongan los usuarios de la zona terrestre de las vías generales de comunicación contra los actos de autoridad que imponga el personal policial bajo su mando;
- VIII. Dar parte de las novedades diarias al Comandante de Región, sin perjuicio de aquéllas que por su relevancia deban hacerse del conocimiento del Comandante General;

IX. Responder de la seguridad y el orden público en la zona terrestre de las vías generales de comunicación de su jurisdicción; coadyuvar con las autoridades competentes en la prevención, persecución e investigación de los delitos, y ordenar lo conducente al personal bajo su mando;

X. Hacer del conocimiento de la autoridad competente los hechos que pudieran ser constitutivos de delitos, así como poner a su disposición, en su caso, los elementos probatorios de los mismos;

XI. Recibir y tramitar los avisos sobre las denuncias y querellas que los particulares formulen, ante las autoridades competentes, sobre robo de vehículos y expedir las constancias correspondientes, y

XII. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 24. Corresponde a los Centros Tácticos Operativos:

I. Ejercer en la jurisdicción territorial que se les asigne las facultades operativas conferidas a las Comandancias de Destacamento;

II. Informar a la superioridad de su actividad diaria, y

III. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 25. Corresponde a los Grupos Especiales:

I. Desempeñar las funciones que les encomiende el Jefe de Operaciones Especiales;

II. Coordinar la integración y participación de los miembros de la Policía Federal de Caminos en los demás grupos especiales de carácter permanente y transitorio que por acuerdo del Comandante General se decidan establecer dentro de la Corporación o en los que se les instruya para intervenir;

III. Informar a la superioridad de la actividad diaria del grupo a su cargo, y

IV. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Artículo 26. Las Subdirecciones, los Segundos Comandantes y el personal de apoyo, tendrán las funciones comprendidas en los Manuales de Organización y de Procedimientos de la Corporación.

Capítulo III

Funciones policiales

Artículo 27. El personal policial de la Corporación se organiza de acuerdo con los grados de la escala jerárquica que se relacionan en el artículo 8 del presente Reglamento. El personal policial, conforme al grado que ocupan, se clasifica de la manera siguiente:

I. Personal de apoyo: Se compone por el personal que ocupa los grados comprendidos en las fracciones I a III del artículo 8, quienes desempeñarán funciones auxiliares y de apoyo administrativo a las de inspección, seguridad y vigilancia;

II. Personal de inspección, seguridad y vigilancia: Se compone por el personal que ocupa los grados comprendidos en las fracciones IV a VI del artículo 8, quienes desempeñarán las funciones operativas de inspección, seguridad y vigilancia en la zona federal terrestre de las vías generales de comunicación que en el artículo siguiente se relacionan, y

III. Cuerpo de mando: Se compone por el personal que ocupa los grados comprendidos en las fracciones VII a IX del artículo 8, quienes además de realizar las funciones del personal de inspección, seguridad y vigilancia, realizarán las de control, supervisión y vigilancia del personal a que se refiere la fracción anterior.

Artículo 28. Son funciones del Personal de Inspección, Seguridad y Vigilancia de la Policía Federal de Caminos:

I. Vigilar que no se cometan actos indebidos que destruyan o deterioren los pavimentos, señales, servicios auxiliares y demás bienes de la Nación, así como rendir los partes informativos correspondientes;

II. Auxiliar a otras corporaciones policiales en la persecución y detención de delincuentes;

III. Imponer, calificar y graduar las sanciones previstas en la legislación aplicable al tránsito de vehículos y personas en la zona federal de su jurisdicción, haciendo constar en las boletas de infracción correspondientes, las transgresiones que cometan los usuarios de la zona terrestre de las vías generales de comunicación a las disposiciones aplicables en la materia;

IV. Elaborar el reporte de accidente, mismo que se entregará a la brevedad a su jefe inmediato superior, acompañándolo de la documentación respectiva;

V. Adoptar las medidas necesarias para evitar accidentes y colaborar en las campañas preventivas de seguridad;

VI. Adoptar, cuando ocurran accidentes, las medidas siguientes:

a) Atenderlos de inmediato;

b) Procurar el traslado, a la brevedad posible, de los heridos para su atención médica;

c) Detener, en su caso, a los presuntos responsables y presentarlos, a la brevedad posible, ante la autoridad correspondiente, de conformidad con las disposiciones aplicables;

d) Proteger con el máximo cuidado los bienes que queden en el lugar del accidente, y

e) Procurar, a la brevedad posible, el retiro de los vehículos que entorpezcan la circulación;

VII. Responder del equipo, armamento y vestuario, debiendo conservarlos en perfectas condiciones de limpieza y servicio, así como poner el debido cuidado en la conservación del equipo móvil y de comunicación, y

VIII. Cumplir con las disposiciones aplicables en el ámbito de su competencia, así como con las órdenes que dicte la superioridad.

Capítulo IV

Cuerpos colegiados

Sección primera

Consejo Consultivo

Artículo 29. La Policía Federal de Caminos contará con un Consejo Consultivo, que tendrá por objeto promover la realización de estudios en la materia y coadyuvar al eficiente desempeño de las atribuciones de la Corporación.

Artículo 30. El Consejo estará integrado por los servidores públicos de la Secretaría siguientes:

I. El Secretario, quien lo presidirá;

II. El Subsecretario;

III. El Subsecretario de Infraestructura;

IV. El Oficial Mayor;

V. El Coordinador General de Puertos y Marina Mercante;

VI. El Coordinador General de Planeación y Centros SCT;

VII. El Comandante General, y

VIII. El Director General de Asuntos Jurídicos.

Corresponderá al Subsecretario, en ausencia del Secretario, presidir las sesiones del Consejo.

El Presidente invitará a otros servidores públicos de la propia Secretaría o de otras dependencias y entidades públicas, así como a representantes de instituciones académicas y de usuarios de la zona terrestre de las vías generales de comunicación, para tratar asuntos específicos.

El Consejo se reunirá de manera ordinaria cada dos meses y en forma extraordinaria cuando para tal efecto sea convocado por el Secretario o el Subsecretario.

Artículo 31. El Consejo tendrá las funciones siguientes:

I. Proponer, en congruencia con el Plan Nacional de Desarrollo y los programas que del mismo se deriven, las políticas generales de la Corporación, definiendo las prioridades a que ésta deberá sujetarse;

II. Proponer los lineamientos generales a los que deberá someterse la Corporación, en lo relativo a administración, desarrollo profesional y equipamiento;

III. Opinar sobre las propuestas de modificación a la estructura orgánica de la Corporación, para su presentación a las autoridades competentes;

IV. Evaluar periódicamente los objetivos, metas y resultados de los programas y actividades de la Corporación;

V. Revisar los mecanismos de coordinación y colaboración interinstitucionales, así como la concertación de acciones con los sectores social y privado, para el cumplimiento de los objetivos de la Corporación;

VI. Opinar sobre los anteproyectos de programa-presupuesto de la Corporación, para su integración en el correspondiente al de la Secretaría;

VII. Verificar que exista la debida congruencia entre los recursos financieros asignados y los programas autorizados, de manera que se garantice la transparencia de los primeros y la ejecución de los segundos;

VIII. Conocer el informe anual que rinda el Comandante General;

IX. Opinar, previamente a su emisión, los manuales de la Corporación;

X. Emitir opiniones sobre los asuntos que someta a su consideración el Comandante General;

XI. Proponer acciones y emitir recomendaciones para el más eficiente desempeño de las atribuciones de la Corporación;

XII. Promover investigaciones y estudios en materia de seguridad pública en la zona terrestre de las vías generales de comunicación, y

XIII. Las demás que sean necesarias para el cumplimiento de su objeto.

Sección II

Comisión de Ascensos

Artículo 32. La Comisión de Ascensos es un cuerpo auxiliar del mando superior cuyo objeto es llevar a cabo el procedimiento de promoción de ascensos para cubrir las vacantes que se presenten en los distintos grados de la escala jerárquica de la Corporación.

Artículo 33. La Comisión de Ascensos se integrará en la forma siguiente:

- I. El Jefe de la Escuela, quien fungirá como su presidente;
- II. Un Jefe de Distrito, quien actuará como secretario;
- III. Un representante de la Contraloría Interna de la Secretaría, como primer vocal;
- IV. Un representante de la Jefatura de Estado Mayor, como segundo vocal;
- V. Un representante de la Jefatura de Inspección General, como tercer vocal, y
- VI. Un Comandante de Región, como cuarto vocal.

Artículo 34. La Comisión de Ascensos, previa autorización del Comandante General, dará a conocer a todos los miembros de la Corporación la convocatoria para la promoción, con una anticipación mínima de 30 días naturales a la fecha de celebración del examen de conocimientos.

Artículo 35. Los requisitos para que los miembros de la Corporación puedan participar en los procesos de promoción de ascensos, que se convoquen por la Comisión en términos del Manual de Promoción y Ascensos, serán los siguientes:

- I. Estar en servicio activo;
- II. Presentar la solicitud y la documentación que les sea requerida conforme al procedimiento y plazo establecidos en la convocatoria;
- III. Contar con el grado inmediatamente inferior al que se pretenda ascender;
- IV. Contar con la antigüedad en el grado y en la Corporación, que se establezca en la convocatoria respectiva;
- V. Acumular el número de créditos requeridos para cada grado en la escala jerárquica de la Corporación y que hayan sido reconocidos por la Escuela, y
- VI. Aprobar los exámenes que se señalen en la convocatoria respectiva.

Sección III**Comisión de Honor y Justicia**

Artículo 36. La Comisión de Honor y Justicia es un Cuerpo que tendrá las facultades siguientes:

- I. Analizar y calificar los actos meritorios de los miembros de la Corporación velando porque éstos sean objeto del reconocimiento que corresponda a sus acciones, con fundamento en el espíritu de sacrificio, la lealtad a la institución y el servicio a la patria;
- II. Analizar las conductas de los miembros de la Corporación que se consideren presuntivamente constitutivas de infracción y, en su caso, imponer las sanciones de su competencia en términos del presente Reglamento, de acuerdo a lo previsto en el Manual de Disciplina y Ética que al efecto se expida;
- III. Absolver, sancionar o imponer el cese en el empleo a los miembros de la Corporación en los términos del presente Reglamento y de conformidad con el procedimiento que establezca el manual a que se refiere la fracción anterior, y
- IV. Estudiar y resolver las solicitudes de reingreso que formulen exmiembros de la Corporación.

Artículo 37. La Comisión de Honor y Justicia se integrará en la forma siguiente:

- I. Un presidente, que será designado por el Comandante General, de entre los Comandantes de Región en servicio activo;
- II. Un secretario, que será el titular del área encargada de evaluar el estado de fuerza de la Corporación, quien participará con voz pero sin voto;
- III. Un representante de la Contraloría Interna de la Secretaría, y
- IV. Cuatro vocales designados conforme a las bases siguientes:
 - a) Cuando se analice la situación de un Segundo Comandante, Primer Oficial o de grado menor, incluyendo al personal de apoyo, los vocales serán dos Segundos Comandantes y dos Comandantes de Destacamento;
 - b) Cuando se analice la situación de un Comandante de Destacamento, los vocales serán dos Comandantes de Destacamento y dos Comandantes de Región, y
 - c) Cuando se analice la situación de un Comandante de Región, los vocales serán un Jefe de Distrito y tres Comandantes de Región.

En ningún caso, los vocales podrán conocer de asuntos relacionados con miembros de la corporación que ostenten un grado superior a ellos.

Las resoluciones en el seno de la Comisión se adoptarán por mayoría de votos de sus miembros, teniendo el presidente voto de calidad para el caso de empate. La Comisión sesionará en pleno sólo para la audiencia de alegatos y para emitir resolución de los asuntos que conozca.

Los acuerdos de trámite serán siempre autorizados por el presidente de la Comisión y sancionados por el secretario de la misma.

La recepción de promociones, preparación y desahogo de pruebas, se hará ante la presidencia de la Comisión.

Cuando la Comisión de Honor y Justicia se reúna para analizar hechos relevantes de los miembros de la Corporación, no se requerirá de la presencia del representante de la Contraloría Interna de la Secretaría.

TÍTULO TERCERO

Del personal

Capítulo I

Nombramientos, altas, bajas y reingresos

Artículo 38. El personal de la Corporación será nombrado de la forma siguiente:

- I. El Secretario, por Acuerdo del Presidente de la República, nombrará al Comandante General;
- II. El Subsecretario, por acuerdo del Secretario, nombrará a los Jefes de Estado Mayor, de Inspección General, de Operaciones Especiales y de la Escuela, a propuesta del Comandante General, de entre los Comandantes de Región en servicio activo en la Corporación, y
- III. El resto del personal, previo el cumplimiento de los requisitos de ingreso o reingreso, será nombrado por el Comandante General.

Artículo 39. Sólo podrán ingresar a la Policía Federal de Caminos, las personas que hayan obtenido resultados satisfactorios en las evaluaciones a que se refiere el artículo 6 de este Reglamento y que cursen y aprueben las materias impartidas en la Escuela conforme al plan de estudios y los exámenes que establezcan las convocatorias respectivas. Asimismo, deberán cumplir con los requisitos siguientes:

- I. No haber sido condenado por delito doloso que amerite pena privativa de la libertad, aunque hubiere sido conmutada, o por delitos patrimoniales, contra la propiedad o la salud cualquiera que haya sido la pena; tratándose de delitos culposos únicamente cuando la pena haya sido conmutada;
- II. Presentar la documentación que les sea requerida;
- III. No estar en los supuestos a que se refiere el artículo 53, fracción VI, de la Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos, y
- IV. Los demás que se establezcan en el Manual de la Escuela, de acuerdo con el perfil del puesto y función requerido.

Artículo 40. Las bajas o terminación de los efectos del nombramiento del personal de la Corporación procederán en los casos siguientes:

- I. Por muerte;
- II. Por no aprobar cualquiera de las evaluaciones a que se refiere el artículo 6 de este Reglamento;
- III. Por cese en términos del presente Reglamento;
- IV. Por dejar de asistir a sus funciones injustificadamente más de cuatro días consecutivos, o de cinco discontinuos en un periodo de treinta días naturales;
- V. Por renuncia;
- VI. Por jubilación;
- VII. Por incapacidad permanente física o mental determinada en los términos de la Ley del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, que interfiera o pueda interferir en la prestación de los servicios a que se refiere este Reglamento, salvo en aquellos casos en que la incapacidad se derive del cumplimiento del servicio;
- VIII. Por haber sido condenado por delito doloso que amerite pena privativa de la libertad, aunque fuere conmutada; por delitos patrimoniales, contra la propiedad o la salud, cualquiera que haya sido la pena; tratándose de delitos culposos, únicamente cuando la pena no haya sido conmutada, y
- IX. Por destitución del cargo o inhabilitación para desempeñar el empleo, dictada en términos de las disposiciones aplicables.

Artículo 41. La renuncia deberá dirigirse por escrito al Comandante General. La respuesta a la solicitud de baja por renuncia deberá darse por escrito en un plazo máximo de cinco días hábiles, contados a partir de la fecha de presentación de la misma; si transcurrido el plazo señalado no se emite comunicado alguno al respecto por la Corporación, se entenderá que la renuncia presentada ha sido admitida, por lo que surtirá todos sus efectos legales.

Al momento de presentar su renuncia, el personal deberá hacer entrega al superior jerárquico del equipo que tenga bajo su resguardo, así como de la credencial que lo acredite como miembro de la Corporación.

Artículo 42. Los miembros de la Corporación tendrán derecho a tramitar su jubilación y pensión correspondiente en los términos previstos en la Ley del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado.

Independientemente de lo anterior, la Secretaría tendrá la facultad de ordenar el retiro del servicio activo de los miembros de la Corporación al cumplir éstos 35 años de servicio o 65 años de edad, lo que suceda primero, quienes podrán ser reubicados para la realización de labores de apoyo administrativo, consultivo o docente en la propia Corporación.

Sin menoscabo de lo previsto en los párrafos precedentes, la edad máxima para que el personal policial de la Corporación realice funciones de inspección, seguridad y vigilancia será la siguiente:

a. Suboficiales	50 años
b. Oficiales	53 años
c. Primeros Oficiales	56 años
d. Segundos Comandantes	59 años
e. Comandantes de Destacamento	62 años
f. Comandantes de Región	65 años

En el caso del personal que se ubique en los supuestos anteriores y no cubra requisitos de jubilación, se estará a lo dispuesto en el segundo párrafo del artículo siguiente.

Artículo 43. A partir de los 60 años de edad, todo miembro de la Corporación deberá someterse anualmente a los exámenes psicofísicos que permitan determinar su grado de aptitud para continuar en el servicio.

El miembro de la Corporación que no resulte apto para el servicio de inspección, seguridad y vigilancia y que no cubra los requisitos de jubilación, tendrá derecho a permanecer en funciones administrativas, consultivas o docentes, hasta en tanto pueda jubilarse en términos de este Reglamento.

Artículo 44. El miembro de la Corporación que haya renunciado por cualquier circunstancia que no implique cese, sanción judicial o administrativa consistente en destitución o inhabilitación, podrá reingresar como miembro de la Corporación, siempre y cuando exista disponibilidad de plaza y cumpla con los requisitos establecidos en el artículo siguiente.

Artículo 45. Para poder reingresar a la Corporación en funciones policiales, los interesados deberán cumplir, además de los requisitos establecidos en los artículos 6 y 39, los siguientes:

- I.** No tener más de 35 años de edad al momento de presentar su solicitud de reingreso;
- II.** No haber estado separado de la Corporación por un periodo mayor a 2 años;
- III.** Haber observado un nivel de operación óptimo durante el tiempo en que prestó sus servicios en la Corporación, y
- IV.** Aprobar el curso de actualización que imparta la Escuela, que corresponda al grado con el que se pretenda reingresar.

Corresponderá a la Comisión de Honor y Justicia analizar y resolver las solicitudes de reingreso a la Corporación.

Artículo 46. La adscripción del personal será la que determine el Comandante General, de acuerdo con las necesidades del servicio, pero en ningún caso los Comandantes de Región y de Destacamento deberán permanecer más de tres años continuos en el mismo lugar de adscripción.

Para los casos de cambio de adscripción ordenados por el Comandante General, la Corporación, de acuerdo con la normatividad aplicable, proporcionará a su personal los gastos de menaje de casa y transporte desde el lugar de su adscripción anterior hasta el de nueva residencia para ellos y sus dependientes económicos, con excepción de los casos en que el cambio se haya ordenado a solicitud del interesado.

Capítulo II

Prestaciones

Artículo 47. El personal al servicio de la Corporación, así como el que se jubile o pensione, disfrutará de las prestaciones que por ley le correspondan, además de las que se le otorguen, de acuerdo a las disponibilidades presupuestales de la propia Corporación, a través del Fondo de Prestaciones que para tal efecto establezca.

Artículo 48. Todo el personal de la Corporación que se encuentre en servicio activo y en el desempeño de sus funciones tendrá derecho a disfrutar, con base en las necesidades del servicio, de las prestaciones siguientes:

I. Descansos, como mínimo:

- a)** Un día por semana, o
- b)** Tres días por quincena, o
- c)** Seis días por mes;

II. Dos periodos de vacaciones al año de diez días hábiles cada uno;**III. Hasta tres días económicos durante un mes, sin exceder de 12 días en el año;****IV. Licencias con y sin goce de sueldo, en los términos que se prevean en el Manual de Procedimientos, y****V. Baja temporal, la cual no deberá exceder de 2 años.**

Los descansos y periodos vacacionales se podrán disfrutar de manera continua, sin exceder de dos periodos a la vez y siempre que éstos no excedan de veinte días hábiles.

Artículo 49. Los gastos de transporte y hospedaje que deba erogar el personal, con motivo de cursos, comisiones, diligencias judiciales o extrajudiciales inherentes al ejercicio de su función se harán por cuenta de la Corporación, de conformidad con la normatividad aplicable.

Capítulo III**Estímulos**

Artículo 50. Los servicios relevantes de los miembros de la Corporación se reconocerán por las condecoraciones y estímulos siguientes:

- I.** Valor Heroico;
- II.** Mérito Policial;
- III.** Nota Meritoria;
- IV.** Reconocimiento, y
- V.** Perseverancia.

Los supuestos conforme a los cuales se podrán otorgar las condecoraciones y los estímulos citados, así como las características de diseño, materiales y forma en que dichas condecoraciones podrán ser usadas por el miembro condecorado, se establecerán en el Manual de Disciplina y Ética.

Los premios, estímulos y recompensas al personal de apoyo, se otorgarán en términos de las disposiciones aplicables en la materia.

Capítulo IV**Uniformes, insignias y divisas**

Artículo 51. Los miembros de la Corporación, excepto en el caso del personal comisionado, deberán portar uniformes cuyas características y uso de insignias, medallas, divisas, gafetes, colores y forma que los distingan de los de las fuerzas armadas, se especificarán en el Manual de Uniformes, Insignias y Divisas.

La Corporación, de acuerdo con sus disponibilidades presupuestales, establecerá el número de uniformes que corresponderán a sus miembros, así como la periodicidad con que los mismos serán dotados.

Artículo 52. El diseño, distribución de los colores marfil-blanco mate y negro brillante y las demás características del equipo móvil se establecerán en el manual a que se refiere el artículo anterior, y serán de uso oficial y exclusivo de la Corporación.

TÍTULO CUARTO**Escuela Profesional de la Policía Federal de Caminos****Capítulo único****Organización y funcionamiento**

Artículo 53. La Escuela se organizará y funcionará en los términos que disponga el Manual de la Escuela Profesional de la Policía Federal de Caminos.

Artículo 54. Son requisitos indispensables para ingresar a la Escuela, además de los previstos en los artículos 6 y 39 de este Reglamento, los siguientes:

- I.** Ser de nacionalidad mexicana por nacimiento y no haber adquirido otra nacionalidad;
- II.** Haber cumplido con lo dispuesto en la Ley del Servicio Militar Nacional y su Reglamento, tratándose de varones;
- III.** No tener antecedentes penales;
- IV.** Aprobar los exámenes que prevea la convocatoria respectiva, y
- V.** Los demás que se señalen en el Manual de la Escuela y en la convocatoria correspondiente.

Artículo 55. En coordinación con la Secretaría de Educación Pública, la Secretaría establecerá los planes y programas de estudio que imparta la Escuela, a efecto de que esta última tenga la posibilidad de otorgar constancias, certificados, títulos o diplomas con reconocimiento de validez oficial que acrediten los estudios realizados, de conformidad con la legislación de la materia.

Los miembros de la Corporación estarán obligados a participar en los cursos de capacitación, adiestramiento y actualización que para su debida profesionalización establezca para cada grado la propia Corporación.

Artículo 56. Para el debido cumplimiento del objetivo institucional de profesionalización y actualización permanente, se integrará el Consejo Académico de la Escuela, con un representante de la Jefatura de Estado Mayor y uno por cada una de las áreas que componen el plan de estudios de formación policial, así como por el titular de la Escuela, quien lo presidirá.

TÍTULO QUINTO

Sanciones

Capítulo único

Artículo 57. Para las faltas u omisiones en que incurran los miembros de la Corporación, se aplicará alguna de las sanciones siguientes:

- I.** Amonestación;
- II.** Suspensión Simple;
- III.** Suspensión Severa, y
- IV.** Cese.

Artículo 58. El Manual de Disciplina y Ética preverá los supuestos de ejecución y las condiciones atenuantes o agravantes de las conductas en que incurran los miembros de la Corporación, que sean susceptibles de tomarse en cuenta para la aplicación de cualquiera de las medidas disciplinarias antes citadas. Para la imposición de cualquier sanción se deberán tomar en cuenta los elementos previstos en los artículos 54 y 63 de la Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos.

Las sanciones anteriores serán independientes de las responsabilidades administrativas, civiles o penales que en cada caso procedan. En el Manual de Disciplina y Ética se establecerán los puntos de demérito que en el expediente personal del miembro de la Corporación se deban registrar por cada sanción firme que se le imponga, en términos del presente Reglamento.

El superior jerárquico inmediato del miembro de la Corporación que tenga el carácter de presunto infractor podrá imponer y ejecutar amonestaciones y suspensiones simples, siempre que cuente con la aprobación del jefe de la Unidad Operativa a la cual se encuentre adscrito el citado miembro; el Jefe de Inspección General podrá imponer y ejecutar amonestaciones y suspensiones simples y severas. Los ceses únicamente podrán ser impuestos por la Comisión de Honor y Justicia y ejecutados por el Comandante General.

Las infracciones que constituyan violación a lo previsto en las disposiciones en materia de responsabilidades de los servidores públicos, serán analizadas y resueltas por la Contraloría Interna de la Secretaría, de conformidad con lo previsto en la Ley de la materia.

Artículo 59. La amonestación es el acto por medio del cual un superior jerárquico en vía de disciplina señala, a un subordinado, la falta u omisión que ha cometido por incumplir con las normas disciplinarias establecidas en la Corporación y lo exhorta a no reincidir.

Artículo 60. Se entiende por suspensión simple, la suspensión en los servicios de inspección, seguridad y vigilancia que se impone al miembro de la Corporación hasta por ocho días, sin que éste deje de asistir a sus labores, las que deberá desarrollar en el área administrativa de su unidad de adscripción.

Artículo 61. Se entiende por suspensión severa, la suspensión en labores hasta por ciento veinte días que se impone al miembro de la Corporación, constituyendo ésta una interrupción de la relación laboral del citado miembro, lapso durante el cual no estará obligado a prestar sus servicios, ni la Corporación a cubrirle sus percepciones.

Será motivo de suspensión severa, el hecho de que un miembro de la Corporación incurra en cualquiera de las conductas siguientes:

- I.** Comprometer los planes operativos de la Corporación produciendo riesgo o incumplimiento de las obligaciones de aquélla, por faltar al servicio o por negligencia u omisión;
- II.** Incumplir órdenes o instrucciones dadas directamente por un superior o insubordinarse de palabra, aunque no haya alteración del orden interno;
- III.** Dar a un subordinado una instrucción contraria a la ley y demás ordenamientos que afecte los intereses de la sociedad o de la Corporación, aunque no constituya delito;
- IV.** Reincidir en la falta que generó una suspensión simple, dentro del término de un año;
- V.** Ocasionar por negligencia daños materiales durante el desempeño de sus funciones a bienes propiedad de la Nación o de terceros;
- VI.** Abandonar el lugar de su adscripción sin autorización por escrito de la superioridad;
- VII.** Incumplir la suspensión simple, sin causa justificada;

VIII. Desempeñar funciones auxiliándose por personas ajenas a la Corporación;

IX. Ocultar a las autoridades competentes las irregularidades, faltas o hechos delictivos de los que tenga conocimiento con motivo de sus funciones;

X. Vejar o insultar a cualquier usuario en el desempeño de su servicio o en uso del uniforme de la Corporación;

XI. Poner en peligro por negligencia o por temeridad su seguridad personal, la de otros miembros de la Corporación o la de terceros;

XII. Encubrir conductas de sus subordinados que se encuadren en algunas de las fracciones anteriores, y

XIII. Las demás que infrinjan los principios contenidos en el primer párrafo del artículo 6 de este Reglamento y que, a juicio de la superioridad, sean de tal naturaleza que no constituyan motivo de baja por cese.

En el Manual de Disciplina y Ética se establecerán los plazos que corresponderán a cada una de las faltas mencionadas.

Artículo 62. El cese de un miembro de la Policía Federal de Caminos es la sanción consistente en la terminación de los efectos de su nombramiento, misma que se le impone como resultado del procedimiento administrativo previsto en el Manual de Disciplina y Ética, en cual se deberán atender las bases que establece el artículo siguiente.

Será motivo de cese el que un miembro de la Corporación incurra en cualquiera de las conductas siguientes:

I. Reincidir en cualquier falta que amerite suspensión severa de sesenta días naturales o más, en un término de tres años;

II. Acumular tres suspensiones severas o cinco quejas procedentes en el término de un año;

III. Distraer de su objeto para la comisión de actos ilícitos, el armamento, equipo o recursos materiales que se le hubieren proporcionado para el desempeño de sus funciones;

IV. Asistir al servicio bajo los efectos de bebidas alcohólicas o con presencia de metabolitos en su organismo, de estupefacientes, psicotrópicos y demás sustancias o vegetales previstos en el Código Penal para el Distrito Federal en materia de Fuero Común y para toda la República en materia de Fuero Federal, así como en la Ley General de Salud, o bien, consumirlas durante el desempeño del servicio o, fuera de él;

V. Poner en riesgo en forma intencional el desempeño de una comisión relevante asignada a la Corporación;

VI. Negar indebidamente la protección o servicio que tenga obligación de prestar a quien se lo solicite;

VII. Revelar asuntos secretos o reservados de que tuviere conocimiento por razón de sus funciones;

VIII. Ejercer violencia sin causa justificada en contra de cualquier usuario en el desempeño de su servicio;

IX. Cometer actos de violencia contra sus superiores, compañeros o subordinados, ya sea dentro o fuera del servicio;

X. Asentar en forma dolosa información falsa en un reporte de accidente o en un parte informativo;

XI. Proporcionar a la superioridad información falsa relacionada con asuntos del servicio, y

XII. Violación grave a las leyes y reglamentos que deba aplicar en el desempeño de sus funciones.

Artículo 63. Los procedimientos para la imposición de las sanciones a los miembros de la Corporación a que se refiere el presente Reglamento, se establecerán en el Manual de Disciplina y Ética, en el cual se señalarán, entre otros principios, el pleno respeto a la garantía de audiencia y el debido proceso legal. El miembro de la Corporación que se someta a procedimiento disciplinario podrá hacerse asistir, en todo momento, de abogado o persona de su confianza.

En el procedimiento administrativo de cese, invariablemente, se deberán observar las etapas siguientes:

a) Emplazamiento;

b) Contestación, ofrecimiento y desahogo de pruebas;

c) Alegatos, y

d) Resolución.

Para tal efecto, se aplicará de manera supletoria el Código Federal de Procedimientos Civiles.

Artículo 64. Los miembros de la Corporación que sean objeto de las sanciones a que se refiere este Reglamento podrán interponer recurso de revocación, en los términos y condiciones previstos en el Código Federal de Procedimientos Civiles.

TÍTULO SEXTO

Suplencias

Capítulo único

Artículo 65. El Comandante General será suplido en sus ausencias por los Jefes de Estado Mayor, de Inspección General, de Operaciones Especiales y de la Escuela, en el orden indicado, así como por el Director de Asuntos Jurídicos, en la materia de su competencia.

Las ausencias de los titulares de área serán suplidas por los servidores públicos del nivel jerárquico inmediato inferior que de ellos dependan, de acuerdo con la estructura orgánica autorizada, en los asuntos de su respectiva competencia.

TRANSITORIOS

PRIMERO. El presente Reglamento entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

SEGUNDO. Se abrogan:

I. El Reglamento de la Policía Federal de Caminos, publicado en el **Diario Oficial de la Federación** el 25 de agosto de 1978;

II. El Reglamento de la Escuela de la Policía Federal de Caminos, publicado en el **Diario Oficial de la Federación** el 2 de agosto de 1961, y

III. El Acuerdo que dispone que los colores marfil-blanco-mate y negro brillante se declaren de uso oficial y exclusivo para distinguir el equipo de la Policía Federal de Caminos, publicado en el **Diario Oficial de la Federación** el 18 de abril de 1958.

TERCERO. Se reforma el artículo 2, en lo referente a la mención que se hace a la Dirección General de la Policía Federal de Caminos, para que en su lugar se haga referencia al órgano desconcentrado Policía Federal de Caminos y, se deroga el artículo 20, ambos del Reglamento Interior de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes.

CUARTO. Los recursos humanos, materiales y financieros asignados a la Dirección General de la Policía Federal de Caminos pasarán al órgano desconcentrado Policía Federal de Caminos, al entrar en vigor el presente Reglamento.

Dentro de los 30 días naturales siguientes a la entrada en vigor del presente ordenamiento, deberán transferirse a la Policía Federal de Caminos los recursos financieros y materiales de la Dirección General de la Policía Federal de Caminos que administran los Centros SCT, así como los expedientes y documentos en trámite ante dichos Centros y la Dirección General de Autotransporte Federal, que por virtud de lo previsto en el artículo 9, fracción V, de este Reglamento, pasan a ser competencia del órgano desconcentrado Policía Federal de Caminos.

QUINTO. Los manuales a que se refiere el presente Reglamento deberán expedirse dentro de los tres meses siguientes a la entrada en vigor del presente ordenamiento, mismos que deberán publicarse en el **Diario Oficial de la Federación**. En tanto se expidan los citados manuales, se aplicarán las disposiciones vigentes en lo que no se opongan al presente ordenamiento. En lo no previsto, resolverá el titular de la Secretaría a través del Subsecretario.

SEXTO. Los derechos de los servidores públicos de la Dirección General de la Policía Federal de Caminos, que pasen a prestar sus servicios al Órgano Desconcentrado Policía Federal de Caminos, serán respetados en sus términos.

SÉPTIMO. Los asuntos en trámite ante la Dirección General de la Policía Federal de Caminos, serán resueltos por el Órgano Desconcentrado Policía Federal de Caminos, de conformidad con las disposiciones vigentes al momento en que se iniciaron.

Dado en la residencia del Poder Ejecutivo Federal, en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los dos días del mes de octubre de mil novecientos noventa y siete.- **Ernesto Zedillo Ponce de León.**- Rúbrica.- El Secretario de Comunicaciones y Transportes, **Carlos Ruiz Sacristán.**- Rúbrica.

AVISO por el que se da a conocer los participantes en la licitación de títulos representativos del capital social de Satélites Mexicanos, S.A. de C.V.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Comunicaciones y Transportes.- Comité de Reestructuración del Sistema Satelital Mexicano.

PARTICIPANTES EN LA LICITACION DE TITULOS REPRESENTATIVOS DEL CAPITAL SOCIAL DE SATELITES MEXICANOS, S.A. DE C.V.

La Secretaría de Comunicaciones y Transportes, de conformidad con el numeral 2.4 de la convocatoria y bases de licitación para la adquisición de títulos representativos del capital social de Satélites Mexicanos, S.A. de C.V., publicada en el **Diario Oficial de la Federación** el pasado 1 de agosto de 1997, comunica que, previo conocimiento de la Comisión Intersecretarial de Desincorporación, los grupos cuyos datos relevantes se señalan a continuación, han acreditado la capacidad jurídica, técnica, administrativa y financiera necesarias para obtener autorización:

Grupo conformado por ControlSat, S.A. de C.V., y GE American Communications, Inc.

ControlSat, S.A. de C.V., es una empresa subsidiaria de Megacable Comunicaciones de México, S.A. de C.V., que pretende operar una red pública de telefonía local básica en las ciudades de México, Guadalajara y Monterrey. Dicha empresa es, a su vez, subsidiaria de Megacable, S.A. de C.V., la cual opera, a través de sus subsidiarias, sistemas de televisión por cable en diversas ciudades del país.

Los principales socios de Megacable, S.A. de C.V., son miembros de las familias Robinson Bours y Mazón.

Por su parte, GE American Communications, Inc., es subsidiaria de GE Capital Services y es un proveedor global de servicios de comunicación satelital.

GE American Communications, Inc., se constituyó en 1975 y opera un sistema de 10 satélites de comunicación geostacionaria que dan servicio a los Estados Unidos de Norteamérica. Actualmente desarrollan satélites geostacionarios en banda Ka, como parte de su sistema mundial de comunicaciones.

Grupo conformado por Telefónica Autrey, S.A. de C.V., y Loral Space and Communications, Ltd.

Telefónica Autrey, S.A. de C.V., es una empresa en la que participan miembros de la familia Autrey Maza.

Telefónica Autrey, S.A. de C.V., adquirió recientemente Optel Telecomunicaciones, S.A. de C.V., empresa operadora de datos de Sprint en México. Adicionalmente, presta servicios de valor agregado de transmisión de datos y telepuertos.

Por otra parte, Telefónica Autrey, S.A. de C.V., con Loral Space and Communications, Ltd. y AirTouch Satellite Services, constituyeron Globalstar de México, S. de R.L. de C.V., a fin de ofrecer servicios telefónicos digitales a terminales fijas y móviles a partir de 1998.

Loral Space and Communications, Ltd., es una de las empresas líderes a nivel mundial en comunicación satelital, con intereses tanto en la construcción como en la operación de sistemas satelitales geosincrónicos y de órbita baja.

Grupo conformado por Industrias Peñoles, S.A. de C.V., y PanAmSat Corporation.

El grupo de Industrias Peñoles, S.A. de C.V., es el mayor productor mundial de plata refinada y sulfato de sodio. En México, es el único refinador de oro, plomo, bismuto refinado y el mayor productor de zinc y óxido de magnesio.

Se fundó en 1887, y a lo largo de su desarrollo ha logrado integrar un conjunto de empresas mexicanas dedicadas a la exploración, minado, fundición, refinación de metales preciosos e industriales, así como a la producción de minerales no metálicos, químicos inorgánicos y fertilizantes.

Mediante su participación en este proceso, busca desarrollar tecnología de vanguardia, promover la investigación y la mejora continua de sus procesos. Basado en su experiencia, su posición financiera sana y prestigio nacional e internacional, ha decidido incursionar en los negocios de las telecomunicaciones, lo que le proporcionaría oportunidades rentables de crecimiento en el largo plazo.

Por su parte, PanAmSat Corporation opera el primer sistema privado a nivel mundial de comunicación global, vía satélite. Presta servicios satelitales a los proveedores de televisión abierta, televisión por cable, radiodifusión, televisión directa a los hogares, operadores de larga distancia y de comunicaciones especializadas, a través de su red global integrada por 15 satélites.

En mayo de 1997, PanAmSat Corporation se fusionó con la división de servicios satelitales Galaxy, de Hughes Communications, Inc.

Toda vez que dichos grupos han constituido sus respectivas garantías de seriedad y suscrito sus respectivos compromisos de confidencialidad, se ha procedido a registrarlos como participantes en la licitación de que se trata, conforme se indica en el numeral 2.4 de las bases.

Atentamente

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 13 de octubre de 1997.- El Secretario Técnico del Comité, **Jorge Silberstein**.- Rúbrica.

SECRETARIA DEL TRABAJO Y PREVISION SOCIAL

ACUERDO mediante el cual se convoca a la Convención Obrero Patronal para la Revisión Integral del Contrato Ley de la Industria Textil del Ramo de Listones, Elásticos, Encajes, Cintas y Etiquetas Tejidas en Telares de Tablas Jacquard o Agujas de la República Mexicana.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría del Trabajo y Previsión Social.- Coordinación General de Funcionarios Conciliadores.- Contratos Ley. Cintas y Listones.

CONVOCATORIA PARA LA CONVENCION OBRERO PATRONAL PARA LA REVISION INTEGRAL DEL CONTRATO LEY DE LA INDUSTRIA TEXTIL DEL RAMO DE LISTONES, ELASTICOS, ENCAJES, CINTAS Y ETIQUETAS TEJIDAS EN TELARES DE TABLAS JACQUARD O AGUJAS DE LA REPUBLICA MEXICANA

Visto el expediente administrativo número 12/212(72)6, Legajo 44, formado en la Coordinación General de Funcionarios Conciliadores de la Secretaría del Trabajo y Previsión Social, con motivo de la solicitud de trabajadores sindicalizados, para que se convoque a una Convención Obrero Patronal Revisora del Contrato Ley de la Industria Textil del Ramo de Listones, Elásticos, Encajes, Cintas y Etiquetas Tejidas en Telares de Tablas Jacquard o Agujas de la República Mexicana, en su forma integral, presentada en esta dependencia el día cinco de septiembre de mil novecientos noventa y siete, y con fundamento en el artículo 419 fracciones I y II de la Ley Federal del Trabajo, firmada por representantes de los Sindicatos: de Trabajadores de la Industria Textil, de la Confección, Similares y Conexos de la República Mexicana (C.T.M.); Unión Nacional de Trabajadores Textiles y Labores Similares y Conexas (C.R.O.M.); Unión Textil de Fibras Sintéticas, Algodón, su Manufactura y Terminado (C.R.O.C.); Industrial de Obreros y Obreras de la Industria Textil, Similares y Conexos de México (C.G.T.); "Francisco Villa" de la Industria Textil, Similares y Conexos (C.T.M.); Nacional Mártires de San Angel, de la Industria Textil, Similares y Conexos (C.R.O.C.); Industrial de Obreros Textiles (F.R.O.T.) e Industrial "Siete de Enero" de Trabajadores Textiles y Conexos (C.R.O.M.), todos ellos formando parte de la Coalición Nacional Obrera de la Industria Textil, y

CONSIDERANDO

PRIMERO.- Que por convenio de doce de julio de mil novecientos noventa y cinco, firmado por patrones y trabajadores sindicalizados representantes del interés profesional de la Industria Textil del Ramo de Listones, Elásticos, Encajes, Cintas y Etiquetas Tejidas en Telares de Tablas Jacquard o Agujas de la República Mexicana, se dio por revisado anticipadamente y en su forma integral, el Contrato Ley de esta rama industrial, señalándose en la cláusula tercera, una vigencia del nueve de diciembre de mil novecientos noventa y cinco al ocho de diciembre de mil novecientos noventa y siete. Dicho convenio se publicó en el **Diario Oficial de la Federación** el dos de agosto de mil novecientos noventa y cinco.

SEGUNDO.- Que el Contrato Ley en su integridad, fue publicado en el **Diario Oficial de la Federación** de ocho de septiembre de mil novecientos noventa y cinco, indicándose en la cláusula primera transitoria, su vigencia del nueve de diciembre de mil novecientos noventa y cinco al ocho de diciembre de mil novecientos noventa y siete.

TERCERO.- Que el Contrato Ley mencionado fue revisado en su aspecto salarial, por convenio de fecha cuatro de diciembre de mil novecientos noventa y seis. Dicho convenio fue publicado en el **Diario Oficial de la Federación** el dieciocho de diciembre de mil novecientos noventa y seis.

CUARTO.- Que atendiendo la solicitud formulada en tiempo por los sindicatos afectos al Contrato Ley de esta rama industrial, que se mencionan en el proemio de la presente convocatoria y previa verificación de los datos que obran en el expediente respectivo, proporcionados por la Dirección General de Registro de Asociaciones a la Coordinación General de Funcionarios Conciliadores, se comprobó que se satisfacen los requisitos del artículo 419 fracciones II y III de la Ley Federal del Trabajo, por lo que es de dictarse y se dicta el siguiente

ACUERDO

I.- Se tienen por presentadas en tiempo y forma las solicitudes de revisión del Contrato Ley de la Industria Textil del Ramo de Listones, Elásticos, Encajes, Cintas y Etiquetas Tejidas en Telares de Tablas Jacquard o Agujas de la R.M. en su forma integral, formuladas por trabajadores sindicalizados del Ramo Industrial, y por comprobado que se satisfacen los requisitos de ley.

II.- Se convoca a los trabajadores sindicalizados de la República Mexicana afectos a la Industria Textil del Ramo de Listones, Elásticos, Encajes, Cintas y Etiquetas Tejidas en Telares de Tablas Jacquard o Agujas de la R.M., y a los patrones que tienen a su servicio a trabajadores sindicalizados de la propia industria, a una Convención Obrero Patronal, para la Revisión Integral del Contrato Ley.

III.- Tanto los trabajadores sindicalizados como los patrones del ramo industrial mencionado, deberán acreditar a sus delegados a más tardar el día doce de noviembre de mil novecientos noventa y siete, ante la Coordinación General de Funcionarios Conciliadores de la Secretaría del Trabajo y

Previsión Social, con domicilio en Periférico Sur número 4271, colonia Fuentes del Pedregal, México, D.F.

Los Delegados Obreros acudirán investidos de la representación que corresponda al número de los agremiados mandantes. La representación patronal se computará de acuerdo con el número de trabajadores sindicalizados que tengan a su servicio.

IV.- En cumplimiento a lo dispuesto en el artículo 411 de la Ley Federal del Trabajo, el ciudadano Secretario del Trabajo y Previsión Social o la persona que designe, instalará la Convención y se iniciarán las labores de la misma a las once horas del día dieciocho de noviembre de mil novecientos noventa y siete, en el auditorio de la propia Secretaría, ubicado en la dirección mencionada en el punto anterior.

V.- En acatamiento al ordenamiento legal antes invocado, se formulará un Reglamento Interior de Labores de la Convención, en el que se fijarán las normas para su funcionamiento.

VI.- Publíquese este acuerdo, por una sola vez, en el **Diario Oficial de la Federación**, en cumplimiento a lo señalado en el artículo 410 de la Ley Federal del Trabajo.

Así lo proveyó y firmó el ciudadano licenciado Javier Bonilla García, Secretario del Trabajo y Previsión Social.

Atentamente

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, Distrito Federal, a veinticinco de septiembre de mil novecientos noventa y siete.- El Secretario del Trabajo y Previsión Social, **Javier Bonilla García**.- Rúbrica.

SECRETARIA DE LA REFORMA AGRARIA

ACUERDO por el que se delegan facultades al Director General de Ordenamiento y Regularización y a los coordinadores agrarios de la Secretaría de la Reforma Agraria.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de la Reforma Agraria.- Dirección General de Asuntos Jurídicos.

ACUERDO POR EL QUE SE DELEGAN FACULTADES AL DIRECTOR GENERAL DE ORDENAMIENTO Y REGULARIZACION Y A LOS COORDINADORES AGRARIOS DE LA SECRETARIA DE LA REFORMA AGRARIA.

ARTURO WARMAN GRYJ, Secretario de la Reforma Agraria, con fundamento en lo dispuesto por los artículos 14, 16 y 41 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 1o., 2o., 4o., 12 fracciones XIX y XXII del Reglamento Interior de esta Secretaría, y

CONSIDERANDO

Que acorde con el nuevo marco jurídico agrario, uno de los propósitos fundamentales de la Secretaría de la Reforma Agraria, en el ámbito de su competencia, es evitar el acaparamiento de tierras rústicas por parte de propietarios privados, ejidatarios, comuneros, colonos y sociedades mercantiles, para garantizar el cumplimiento del artículo 27 constitucional; 47, 126, 132 y 133 de la Ley Agraria; 7, 12, 16, 17, 21, 22 y 23 al 52 del Reglamento de la Ley Agraria en Materia de Ordenamiento de la Propiedad Rural.

Que entre las líneas de acción previstas en el Programa Sectorial Agrario 1995-2000 se encuentra la de instaurar los procedimientos de investigación, instauración y, en su caso, la enajenación de excedentes de tierras ejidales, derivado de violaciones a la Ley Agraria y su Reglamento en Materia de Ordenamiento de la Propiedad Rural.

Que para la eficaz y pronta resolución de los procedimientos derivados de la investigación de excedencias de tierras ejidales o de sociedades mercantiles o civiles representadas en acciones serie "T" o la de sus socios, se requiere establecer mecanismos que permitan darles mayor agilidad y atención oportuna a las acciones que por su naturaleza deban atenderse en la Entidad Federativa o región correspondiente, para lo cual he tenido a bien expedir el siguiente:

ACUERDO

PRIMERO.- Se delega en el Director General de Ordenamiento y Regularización la facultad de emitir y suscribir Resoluciones en los expedientes que se instauran en materia de excedencias en tierras ejidales, y de sociedades civiles o mercantiles propietarias de acciones "T".

SEGUNDO.- Se delega en los Titulares de las Coordinaciones Agrarias la facultad de instaurar y sustanciar el procedimiento relativo a excedencias en tierras ejidales, sociedades mercantiles o civiles propietarias de acciones serie "T" o la de sus socios en particular, y una vez sustanciado el mismo deberá remitir a la Dirección General de Ordenamiento y Regularización el expediente respectivo para su resolución correspondiente.

TERCERO.- La delegación de facultades a que se contrae el presente Acuerdo, es sin perjuicio del ejercicio directo por el suscrito.

TRANSITORIO

UNICO.- El presente Acuerdo entrará en vigor a partir del día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

México, Distrito Federal, a los veintinueve días del mes de julio de mil novecientos noventa y siete.- El Secretario de la Reforma Agraria, **Arturo Warman Gryj**.- Rúbrica.

PROCURADURIA GENERAL DE JUSTICIA DEL DISTRITO FEDERAL

ACUERDO número A/009/97 del Procurador General de Justicia del Distrito Federal, por el que se establecen normas y procedimientos en materia de bienes asegurados por el Ministerio Público del Distrito Federal.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal.

ACUERDO A/009/97

ACUERDO POR EL QUE SE ESTABLECEN NORMAS Y PROCEDIMIENTOS EN MATERIA DE BIENES ASEGURADOS POR EL MINISTERIO PUBLICO DEL DISTRITO FEDERAL.

Con fundamento en los artículos 21 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos; 40 y 41 del Código Penal para el Distrito Federal en materia de Fuero Común y para toda la República en materia de Fuero Federal; 87, 89, 90, 94, 95, 96, 98, 99 100, 121 y 160 del Código de Procedimientos Penales para el Distrito Federal, así como los artículos 2 fracciones IV y VIII, 3 fracciones V y VI, 4 fracción IV de la Ley Orgánica de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal; 7 fracción XVII y 10 fracciones XIX y XX del Reglamento de la Ley Orgánica de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal; 308 y 310 del Código Financiero para el Distrito Federal; las Bases Generales de Coordinación celebradas por el Departamento del Distrito Federal y la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal de fecha 16 de febrero de 1995, y

CONSIDERANDO

Que acorde con las políticas de simplificación administrativa y modernización tecnológica, se requiere de mecanismos que optimicen el manejo, control y procedimientos de los bienes relacionados con alguna averiguación previa que obren bajo custodia en los depósitos de esta Procuraduría, hasta en tanto se resuelve su destino final;

Que se hace necesario regular de manera uniforme e integral lo relativo a los bienes asegurados por el Ministerio Público que no sean reclamados por quienes pudieran tener derecho o interés jurídico en ello;

Que es necesario crear lineamientos específicos para que los bienes asegurados sean devueltos a su propietario, poseedor o a su representante legal, de manera inmediata a la orden del Ministerio Público, en mérito de proteger los bienes patrimoniales de las personas, restituirles el disfrute de sus derechos de propiedad o posesión y simultáneamente evitar el deterioro de los bienes asegurados y la saturación de los depósitos de esta Procuraduría;

Que para garantizar la legalidad, imparcialidad, honradez y eficiencia en el control y devolución inmediata de los bienes o valores asegurados, así como para transparentar su recepción, inventario, guarda, conservación y definición del uso y destino final que realiza la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal en cumplimiento de sus atribuciones, o con la representación de la Secretaría de Finanzas de la Administración Pública del Distrito Federal, he tenido a bien expedir el siguiente

ACUERDO

PRIMERO.- Son objeto de este Acuerdo los bienes o valores relacionados con la investigación de un ilícito penal y que se encuentren, por mandato del Ministerio Público, asegurados en los depósitos de esta Procuraduría.

SEGUNDO.- Para los efectos de este Acuerdo, se entenderá por bienes asegurados, aquellos a que se refiere el artículo 40 del Código Penal para el Distrito Federal en materia de Fuero Común y para toda la República en materia de Fuero Federal, así como los que, por comisión o por hallazgo, sean capturados por la Policía Judicial del Distrito Federal en ejercicio de sus funciones.

TERCERO.- Cuando la Policía Judicial del Distrito Federal, en el ejercicio de sus funciones capture bienes, deberá ponerlos inmediatamente a disposición del Ministerio Público, a efecto de que éste de fe y los identifique plenamente, ordenando su guarda y custodia.

CUARTO.- Cuando se trate de vehículos con reporte de robo o abandono en la vía pública, se estará a lo dispuesto en el Acuerdo A/009/95 de fecha 18 de octubre de 1995, emitido por esta Procuraduría.

QUINTO.- Cuando el Ministerio Público o la Policía Judicial retenga bienes relacionados con una averiguación previa, deberá realizar, en el ámbito de su competencia, las siguientes acciones:

- I. Extender en forma inmediata el recibo correspondiente por duplicado, a favor de la persona en cuyo poder se encontraron los bienes, y recabar, de ser posible, la firma de conformidad o, en caso contrario, asentar la inconformidad o las razones por las cuales no se recaba la firma;
- II. Identificar e individualizar plenamente todos y cada uno de los bienes retenidos;
- III. Levantar el inventario de los bienes de manera circunstanciada, colocando, en su caso, los sellos, marcas o señales que permitan de manera indubitable su identificación, detallando el estado que presenten, para evitar su alteración, destrucción o pérdida, y
- IV. De conformidad con la naturaleza de los bienes, solicitar la intervención de peritos, para efecto de identificación, descripción y embalaje de los mismos.

Todo lo anterior se hará constar expresamente en la averiguación previa de que se trate.

SEXTO.- Tratándose de objetos personales del o de los probables responsables, siempre que no incidan en la conformación de elementos de tipos penales y no sean elementos de prueba, el Ministerio Público deberá ordenar su devolución al inculcado o a persona de su confianza, sin que para ello medie la comprobación de su legítima procedencia.

SEPTIMO.- El Ministerio Público procederá a la entrega inmediata de los bienes que no tengan relación directa con la averiguación previa a su propietario, poseedor o a su representante legal. En el supuesto de que no sea posible dicha entrega por no presentarse el interesado en un plazo de 24 horas o no ser posible su identificación, acordará su remisión a la Oficialía Mayor para que ésta proceda de conformidad con sus facultades.

OCTAVO.- Para los efectos señalados en los numerales Sexto y Séptimo del presente Acuerdo, el Ministerio Público notificará a quien pudiera tener derecho o interés jurídico que cuenta con 90 días para recoger esos bienes y remitirá, con los mismos, copia de la notificación a la Oficialía Mayor.

En el supuesto de que la notificación no pudiera realizarse por desconocerse la identidad o el domicilio del interesado, la notificación será instrumentada por la Oficialía Mayor mediante edictos, publicados por tres veces en un diario de circulación nacional. Realizado lo anterior sin que se recoja el bien dentro del plazo indicado, se estará a lo dispuesto en los numerales Décimo Quinto y Décimo Séptimo del presente Acuerdo.

NOVENO.- Los bienes asegurados que estén relacionados con una averiguación previa no deberán permanecer en las oficinas o en el interior de las agencias investigadoras del Ministerio Público ni en lugares adyacentes a las mismas, por un término mayor de veinticuatro horas, que se computará a partir del momento en que los bienes o valores hayan sido puestos a disposición del Ministerio Público correspondiente.

Durante ese término el Ministerio Público procederá, en su caso, con el auxilio de los Servicios Periciales, a:

- I.- Dictar el acuerdo de aseguramiento de los bienes, precisando:
 - a) Que se trata de bienes o valores cuya naturaleza permite su guarda o custodia en condiciones de que no sufran deterioro por el transcurso del tiempo.
 - b) Que se trata de bienes o valores que no se deben destruir, que no se pueden conservar o son de costoso mantenimiento.El acuerdo respectivo pondrá a disposición de la Oficialía Mayor los bienes involucrados en el inciso b), a efecto de instrumentar lo conducente para su enajenación inmediata, de conformidad con el artículo 308 del Código Financiero del Distrito Federal.
- II.- Remitir a la Oficialía Mayor, mediante oficio, los bienes o valores asegurados, agregando copia del acuerdo de aseguramiento y demás diligencias inherentes y, en su caso, copia del pliego de consignación, haciendo mención de la autoridad administrativa o judicial a cargo de la cual quedan a disposición dichos bienes.

DECIMO.- El Ministerio Público y, en su caso, los Servicios Periciales tendrán la disponibilidad de los bienes asegurados en los depósitos de esta Procuraduría, para la práctica eficaz de sus investigaciones e intervenciones.

DECIMO PRIMERO.- Cuando el Ministerio Público acuerde ser incompetente para seguir conociendo de los hechos por los cuales se inició una averiguación previa, ordenará que la Oficialía Mayor remita y entregue los bienes asegurados y recabe el comprobante de que fueron recibidos por la autoridad competente.

DECIMO SEGUNDO.- Cuando se haya acordado la consignación de la averiguación previa, el Ministerio Público ordenará que los bienes asegurados sean remitidos ante el Juez correspondiente y

puestos a su disposición para guarda o custodia. El traslado de los bienes estará a cargo de la Oficialía Mayor.

DECIMO TERCERO.- Cuando se haya determinado el no ejercicio de la acción penal, el Subprocurador que autorice la ponencia respectiva ordenará, de inmediato, que los bienes asegurados sean entregados a su propietario, poseedor o representante legal. Para tal efecto remitirá copia a la Oficialía Mayor, surtiendo efectos de puesta a disposición, para que esta unidad administrativa instrumente la devolución de los bienes.

DECIMO CUARTO.- Cuando se haya acordado la reserva de la averiguación previa el Ministerio Público ordenará, en la misma diligencia, la devolución inmediata de los bienes asegurados. Dicha devolución se hará a título de depósito a favor de su propietario, poseedor o representante legal, quienes tendrán la obligación de conservarlos en el lugar que ellos mismos fijen dentro del Distrito Federal, hasta en tanto se dé por concluida la indagatoria correspondiente conforme a la ley. Dicho término no excederá del establecido para la prescripción de la acción penal. Operando ésta, deberá notificarse al interesado.

DECIMO QUINTO.- La Oficialía Mayor, para el cumplimiento de las atribuciones que le corresponden en materia de bienes asegurados, deberá:

- I. Dictar los lineamientos y procedimientos y diseñar los formatos a que se sujetará la administración de los bienes asegurados;
- II. Recibir bajo resguardo los bienes o valores asegurados que le sean remitidos mediante oficio, única y exclusivamente por determinación del Ministerio Público;
- III. Revisar el oficio de remisión y la documentación a que se refieren los numerales Octavo y Noveno fracción II del presente Acuerdo. Si dicha documentación presenta enmiendas, no viene acompañada del inventario o tiene alguna omisión que pudiera afectar su validez o dificulte la individualización de los bienes, requerirá al Ministerio Público la aclaración correspondiente;
- IV. Realizar una adecuada clasificación de los bienes o valores para facilitar su manejo, ubicación e identificación;
- V. Levantar y mantener actualizado el listado que contenga la información sobre bienes asegurados;
- VI. Realizar el traslado de los bienes o valores asegurados, cuando así se requiera en razón de incompetencia, consignación o por acuerdo del Ministerio Público;
- VII. Entregar los bienes o valores asegurados a su propietario, poseedor o a su representante legal, cuando exista orden del Ministerio Público en tal sentido, previa identificación del interesado;
- VIII. Cuando así proceda, realizar la incineración o destrucción de ropas de occisos y lesionados, con la autorización del Ministerio Público;
- IX. Remitir a la autoridad competente las armas, municiones o explosivos que le hubiere enviado el Ministerio Público;
- X. Realizar las notificaciones previstas en el artículo Octavo del presente Acuerdo, y
- XI. Realizar todas aquellas actividades que resulten necesarias para la debida administración de los bienes asegurados.

DECIMO SEXTO.- La Dirección General de Asuntos Especiales y Relevantes del Procedimiento Penal y la Dirección General de Control de Procesos Penales, en su caso, a través del Ministerio Público adscrito a juzgados, proveerán lo conducente para solicitar a la autoridad que las sentencias jurisdiccionales determinen el destino final de bienes y valores asegurados.

DECIMO SEPTIMO.- La Oficialía Mayor procederá a ejecutar la determinación ministerial del destino final de los bienes asegurados que se encuentren a su disposición en los depósitos de esta Procuraduría, de conformidad con el tipo de bien de que se trate, pudiendo ser cualquiera de los siguientes:

- I. Devolución a favor de los propietarios, poseedores o representantes legales;
- II. Subasta pública: Cuando el bien esté dentro del comercio, no afecte la salud humana, animal o vegetal ni el medio ambiente y tenga un valor en el mercado superior al costo que implica la subasta pública, para lo cual deberá convocarse mediante publicación en un diario de los de mayor circulación nacional;
- III. Venta inmediata: Cuando se trate de bienes que no se deben destruir, que no se pueden conservar, que su mantenimiento sea costoso y/o que se trate de bienes perecederos; debiendo participar la Contraloría Interna y la Dirección General Jurídico Consultiva;
- IV. Destrucción: Cuando se trate de bienes que puedan atentar contra el medio ambiente, la salud de personas o animales, que su estado así lo amerite, que implique regresar al mercado bienes irregulares que puedan propiciar actos ilícitos, o bien que carezcan de valor o éste sea menor a lo que pudiera costar su enajenación, por lo que pudiera considerarse como basura, así como las

sustancias nocivas o peligrosas; contando siempre con la participación de la Contraloría Interna y la Dirección General Jurídico Consultiva, y

- V. Aprovechamiento por la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal: Cuando se trate de moneda de curso legal, ya sea nacional o de cualquier otro país, y otros bienes que estén fuera del comercio y puedan ser utilizables; para lo cual se levantará un acta administrativa en la que se funde y se motive la causa.

DECIMO OCTAVO.- Las dudas que surjan con motivo de la interpretación o aplicación del presente Acuerdo, serán resueltas por el Subprocurador Jurídico y de Derechos Humanos.

Los titulares de las diversas unidades administrativas de la Institución proveerán, en la esfera de su competencia, lo necesario para su estricta observancia y debida difusión.

TRANSITORIOS

PRIMERO.- El presente Acuerdo entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

SEGUNDO.- Se abroga el Acuerdo A/052/89, así como la Circular C/014/89 y las disposiciones administrativas que se opongan al presente Acuerdo.

TERCERO.- Los bienes y valores que hubiesen sido asegurados e ingresados al Depósito de Objetos de esta Dependencia con antelación al 31 de diciembre de 1992 y que no hubiesen sido recogidos por quien tenga derecho o interés jurídico en ello, quedan a disposición virtual, real y jurídica de la Oficialía Mayor, a efecto de que determine su destino final y ejecute las acciones correspondientes, de conformidad con el presente Acuerdo.

Por lo que respecta a los vehículos que hubiesen sido asegurados e ingresados al Depósito de Vehículos de esta Dependencia, la fecha a considerar será el 31 de diciembre de 1995.

CUARTO.- Publíquese en el **Diario Oficial de la Federación** y en la Gaceta Oficial del Distrito Federal para su mayor difusión.

Dado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los seis días del mes de octubre de mil novecientos noventa y siete.- El Procurador General de Justicia del Distrito Federal, **Lorenzo Manuel Thomas Torres**.- Rúbrica.

BANCO DE MEXICO

TIPO de cambio para solventar obligaciones denominadas en moneda extranjera pagaderas en la República Mexicana.

Con fundamento en el artículo 35 de la Ley del Banco de México, así como en los artículos 8o. y 10o. del Reglamento Interior del Banco de México; de conformidad con lo dispuesto en la Ley Reglamentaria de la fracción XVIII del artículo 73 Constitucional, en lo que se refiere a la facultad del Congreso para dictar reglas para determinar el valor relativo de la moneda extranjera y en los términos del numeral 1.2 de las Disposiciones Aplicables a la Determinación del Tipo de Cambio para Solventar Obligaciones Denominadas en Moneda Extranjera Pagaderas en la República Mexicana, publicadas en el **Diario Oficial de la Federación** el 22 de marzo de 1996, el Banco de México informa que el tipo de cambio citado obtenido el día de hoy conforme al procedimiento establecido en el numeral 1 de las Disposiciones mencionadas, fue de \$7.7592 M.N. (SIETE PESOS CON SIETE MIL QUINIENTOS NOVENTA Y DOS DIEZMILESIMOS MONEDA NACIONAL) por un dólar de los EE.UU.A.

La equivalencia del peso mexicano con otras monedas extranjeras se calculará atendiendo a la cotización que rija para estas últimas contra el dólar de los EE.UU.A., en los mercados internacionales el día en que se haga el pago. Estas cotizaciones serán dadas a conocer, a solicitud de los interesados, por las instituciones de crédito del país.

Atentamente

México, D.F., a 10 de octubre de 1997.

BANCO DE MEXICO

Lic. **Héctor Tinoco Jaramillo**

Director de Disposiciones
de Banca Central
Rúbrica.

Dr. **José Quijano León**

Director de Operaciones
Rúbrica.

TASAS de interés de instrumentos de captación bancaria en moneda nacional.

	TASA BRUTA	TASA BRUTA
I. DEPOSITOS A PLAZO FIJO		II. PAGARES CON RENDI- MIENTO LIQUIDABLE AL VENCIMIENTO

A 60 días		A 28 días	
Personas físicas	13.87	Personas físicas	13.73
Personas morales	13.87	Personas morales	13.73
A 90 días		A 91 días	
Personas físicas	13.83	Personas físicas	14.47
Personas morales	13.83	Personas morales	14.47
A 180 días		A 182 días	
Personas físicas	13.91	Personas físicas	14.98
Personas morales	13.91	Personas morales	14.98

Las tasas a que se refiere esta publicación, corresponden al promedio de las determinadas por las instituciones de crédito para la captación de recursos del público en general a la apertura del día 10 de octubre de 1997. Se expresan en por ciento anual y se dan a conocer para los efectos a que se refiere la publicación de este Banco de México en el **Diario Oficial de la Federación** de fecha 11 de abril de 1989.

México, D.F., a 10 de octubre de 1997.

BANCO DE MEXICO

Lic. **Héctor Tinoco Jaramillo**

Director de Disposiciones
de Banca Central
Rúbrica.

Lic. **Cuauhtémoc Montes Campos**

Gerente de Evaluación y Cobertura de Riesgos
en la Operación de Intermediarios Financieros
Rúbrica.

TASA de interés interbancaria de equilibrio.

Según resolución del Banco de México publicada en el **Diario Oficial de la Federación** del 23 de marzo de 1995, y de conformidad con lo establecido en el Anexo 1 de Circular 2019/95, modificada mediante Circular-Telefax 4/97 del propio Banco del 9 de enero de 1997, dirigida a instituciones de banca múltiple, se informa que la Tasa de Interés Interbancaria de Equilibrio a plazo de 28 días, obtenida el día de hoy, fue de 20.0250 por ciento.

La tasa de interés citada se calculó con base a las cotizaciones presentadas por: Bancomer S.A., Confía S.A., Banca Serfin S.A., Banco del Atlántico S.A., Banco Mexicano S.A., Banco Internacional S.A., Banco Nacional de México S.A., Banco Invex S.A., Banco Santander de Negocios México S.A., Chase Manhattan Bank México S.A., Banco J.P.Morgan S.A., Banco Inverlat S.A., Banca Promex S.A., y Bancrecer S.A.

México, D.F., a 10 de octubre de 1997.

BANCO DE MEXICO

Lic. **Héctor Tinoco Jaramillo**

Director de Disposiciones
de Banca Central
Rúbrica.

Dr. **José Quijano León**

Director de Operaciones
Rúbrica.

COSTO de captación de los pasivos a plazo denominados en dólares de los EE.UU.A. (CCP-Dólares).

Según resolución del Banco de México publicada en el **Diario Oficial de la Federación** el día 6 de mayo de 1996, el costo de captación de los pasivos a plazo denominados en dólares de los EE.UU.A (CCP-Dólares), expresado en por ciento anual, de las instituciones de banca múltiple del país, fue de 6.55 (seis puntos y cincuenta y cinco centésimas) en el mes de septiembre de 1997.

México, D.F., a 10 de octubre de 1997.

BANCO DE MEXICO

Lic. **Héctor Tinoco Jaramillo**

Director de Disposiciones
de Banca Central
Rúbrica.

Lic. **Cuauhtémoc Montes Campos**

Gerente de Evaluación y Cobertura de Riesgos
en la Operación de Intermediarios Financieros
Rúbrica.

RESOLUCION por la que se delegan facultades en favor de los Jefes de Operación, de Administración y de Auditoría de las sucursales del Banco de México, así como del Contador y de los Jefes de Administración y de Auditoría de la sucursal del propio Banco, ubicada en Ciudad Juárez, Chihuahua.

RESOLUCION POR LA QUE SE DELEGAN FACULTADES EN FAVOR DE LOS JEFES DE OPERACION, DE ADMINISTRACION Y DE AUDITORIA DE LAS SUCURSALES DEL BANCO DE MEXICO, ASI COMO DEL CONTADOR Y DE LOS JEFES DE ADMINISTRACION Y DE AUDITORIA DE LA SUCURSAL DEL PROPIO BANCO, UBICADA EN CIUDAD JUAREZ, CHIHUAHUA

De conformidad con lo previsto en el artículo 11 del Reglamento Interior del Banco de México, se expide esta Resolución por la que se delegan las facultades que se indican:

ARTICULO PRIMERO.- Por acuerdo del Gobernador se delegan en favor de los Jefes de Operación, de Administración y de Auditoría de las Sucursales del Banco de México, así como del Contador y de los Jefes de Auditoría y de Administración de la Sucursal del propio Banco, ubicada en Ciudad Juárez, Chihuahua, las facultades a que se refiere el artículo 8o. del Reglamento Interior del Banco de México en cuanto a las atribuciones del Director de Emisión contenidas en la fracción VII del artículo 16 del propio Reglamento.

ARTICULO SEGUNDO.- El ejercicio de las facultades anteriores estará limitado a que los Jefes de Operación, de Administración y de Auditoría de las Sucursales, deberán firmar los actos relativos, invariablemente en forma mancomunada cualquiera de ellos con el Gerente o el Subgerente de la Sucursal de que se trate, y en ausencia de ambos funcionarios, mancomunadamente cualesquiera dos de los referidos Jefes.

Para el caso de la Sucursal del Banco, ubicada en Ciudad Juárez, Chihuahua, los referidos actos deberán ser suscritos mancomunadamente por el Contador, o los Jefes de Administración o de Auditoría con el Gerente. En las ausencias de este último, dichos actos deberán ser suscritos mancomunadamente por cualquiera de los referidos Jefes con el Contador.

ARTICULO TERCERO.- La delegación de facultades de que trata la presente Resolución, se hace sin perjuicio de las facultades que corresponda ejercer a otros funcionarios de la Institución.

Se publica la presente Resolución en cumplimiento a lo dispuesto en el artículo 11, párrafo segundo del Reglamento Interior del Banco de México.

TRANSITORIOS

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

SEGUNDO. Se deja sin efectos la "Resolución por la que se delegan facultades en favor de los Jefes de Operación y de Administración de las sucursales del Banco de México, así como del Contador y del Jefe de Auditoría de la sucursal del propio Banco, ubicada en Ciudad Juárez, Chih.", publicada en el **Diario Oficial de la Federación** el 18 de noviembre de 1994.

México, Distrito Federal, a los nueve días del mes de octubre de mil novecientos noventa y siete.

BANCO DE MEXICO

Ing. **Luis Jaime Marentes Manzanilla**

Director de Emisión

Rúbrica.

TRIBUNAL UNITARIO AGRARIO

SENTENCIA pronunciada en el juicio agrario número 185/94, relativo al reconocimiento y titulación de bienes comunales, solicitado por un grupo de habitantes del poblado de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro, Mich.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Tribunal Unitario Agrario.- Secretaría de Acuerdos.

Visto para resolver en definitiva el expediente número 185/94, relativo al procedimiento agrario de reconocimiento y titulación de bienes comunales solicitado por un grupo de pobladores del poblado de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro, Estado de Michoacán; y,

RESULTANDO

PRIMERO.- Con escrito del 26 veintiséis de noviembre de 1974 mil novecientos setenta y cuatro, un grupo de campesinos solicitaron al entonces Departamento de Asuntos Agrarios y Colonización en el Estado de Michoacán, se les instaurara expediente de Confirmación y Titulación de Bienes Comunales sobre tierras y montes, que según su decir vienen poseyendo desde muchos años atrás (obra a foja de la 9 a la 12 de autos); el expediente fue iniciado, quedando registrado bajo el número 276.1/3583 publicándose la referida solicitud en el **Diario Oficial de la Federación** el 4 cuatro de marzo de 1976 mil novecientos setenta y seis, y en el Periódico Oficial del Gobierno del Estado de Michoacán el 20 veinte de enero de 1975 mil novecientos setenta y cinco.

SEGUNDO.- Mediante oficio 8032 del 27 veintisiete de junio de 1975 mil novecientos setenta y cinco, se comisionó al jefe de zona ejidal Angel García Cabrera, para que llevara a efecto la elección del representante comunal; mediante acta del 15 quince de julio de 1975 mil novecientos setenta y cinco, se eligieron como representantes de bienes comunales para que gestionen la acción de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales ante las autoridades agrarias, a los CC. Tranquilino Aguilar Vázquez como propietario y Fidel Estrella Estrella (documento que obra a fojas de la 224 a la 265 de autos). Mediante acta del 28 veintiocho de julio de 1979 mil novecientos setenta y nueve,

fueron removidos de su encargo los representantes comunales antes citados, habiendo sido elegidos en su lugar los CC. Saúl Vázquez Reynaga e Ignacio Garibay Mendoza (obra a fojas de la 542 a la 544 de autos).

TERCERO.- Mediante oficio número 4209 del 11 once de abril de 1977 mil novecientos setenta y siete (obra a foja 1157 de autos), la Delegación de la Secretaría de la Reforma Agraria en el Estado, comisionó al C. Pedro Ramírez López para que realizara los trabajos administrativos y levantara el censo general del núcleo peticionario y la ratificación o rectificación de los representantes comunales.

El comisionado emitió el 12 doce de abril de 1977 mil novecientos setenta y siete, convocatoria para realizar Asamblea General Extraordinaria con la finalidad de integrar la junta censal, dicha Asamblea General Extraordinaria se llevó a cabo el 21 veintiuno de abril de 1977 mil novecientos setenta y siete, eligiéndose como representantes censales a los CC. Emiliano Fernández Reyes, Rosalío Vázquez Montelongo, Pedro Ramírez López y Juan Valerio Irueta; los trabajos censales fueron clausurados mediante acta del 2 dos de mayo de 1977 mil novecientos setenta y siete, y por acta de esa misma fecha fueron ratificados como representantes comunales los CC. Tranquilino Aguilar Vázquez y Silvino Soberano Mora. El comisionado rindió su informe el 8 ocho de mayo de 1977 mil novecientos setenta y siete, y del que se desprende que existe una población total de 366 habitantes, clasificados en 77 jefes de familia; 36 jóvenes solteros mayores de 16 años; 253 esposas y niños (obra a fojas de la 1158 a la 1190 de autos).

Mediante oficio número 222 del 21 veintiuno de julio de 1980 mil novecientos ochenta, el Cuerpo Consultivo Agrario, sala Meseta Tarasca, comisionó al C. Manuel Moreno Portillo para que realizara una rectificación del censo general de comuneros, del poblado de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro, habiendo rendido su informe el 29 veintinueve de octubre de 1980 mil novecientos ochenta, y del que se desprende que existe una población total de 366 habitantes, clasificados en 77 jefes de familia; 48 jóvenes solteros mayores de 16 años; 253 esposas y niños, concluyéndose que existen 98 individuos capacitados (obra a fojas de la 1200 a la 1208 de autos), mismos que a continuación se citan: 1.- Juan Fernández Reyes. 2.- Rosalío Vázquez Montelongo. 3.- José Montero Cuéllar. 4.- Adolfo Vázquez Vázquez. 5.- Salvador Vázquez Jerónimo. 6.- Dionisio Vázquez Jerónimo. 7.- V. Manuel Vázquez Jerónimo. 8.- Francisco Montelongo A. 9.- Javier Montelongo Zúñiga. 10.- Adolfo Estrella Castillo. 11.- Francisco Garibay Vázquez. 12.- Cayetano Garibay Mendoza. 13.- Daniel Garibay Mendoza. 14.- Cornelio Garibay Mendoza. 15.- Darío Soberano Castillo. 16.- Luis Soberano Mora. 17.- Silvino Soberano Mora. 18.- Jesús Quezada López. 19.- Camerino Aguilar Vázquez. 20.- Esteban Aguilar Estrella. 21.- Marcos Estrella Fernández. 22.- Miguel Vázquez Montelongo. 23.- Rosendo Vázquez Esquivel. 24.- Juan Vázquez Zúñiga. 25.- Luis Fernández Birrueta. 26.- Reinaldo Mesa Pulido. 27.- Genaro Mesa Montelongo. 28.- Rosendo Vázquez Zúñiga. 29.- Benjamín López Moreno. 30.- Senobio Estrella Castillo. 31.- Benicio Castillo Rico. 32.- Javier Castillo Estrella. 33.- Raúl Castillo Estrella. 34.- Rafael Fernández Reyes. 35.- Cornelio Aguilar Vázquez. 36.- Serafín Estrella Estrella. 37.- José Aguilar Soberano. 38.- Adelaido Vázquez Estrella. 39.- Antonio Moreno Estrella. 40.- Guadalupe Estrella Sánchez. 41.- Eulalio Mesa Pulido. 42.- Emiliano Fernández Reyes. 43.- Santiago Vázquez Esquivel. 44.- Basilio Vázquez Fernández. 45.- Ignacio Vázquez Fernández. 46.- Graciano Dimas Vázquez. 47.- Isabel Quiroz Lucas. 48.- David Lucas Dimas. 49.- Víctor Vázquez Garibay. 50.- José Vázquez Vázquez. 51.- Leonel Vázquez Vázquez. 52.- José Luis Vázquez Vázquez. 53.- Jesús Vázquez Vázquez. 54.- Ramón Talavera Vázquez. 55.- Federico Vázquez Estrella. 56.- Adolfo Vázquez Vázquez. 57.- José Sánchez Vázquez. 58.- Serafín Castro Morales. 59.- Leonardo Castro Sánchez. 60.- Ignacio Aguilar Sánchez. 61.- Eleodoro Aguilar Montiel. 62.- Narciso Lunas Fernández. 63.- Martín Lucas Pulido. 64.- Jesús Lucas Pulido. 65.- Estanislao Lucas Pulido. 66.- Jesús Vázquez Estrella. 67.- Abel Estrella Estrella. 68.- Rafael Quiroz Birrueta. 69.- Ramiro Quiroz Clemente. 70.- Miguel Vázquez Estrella. 71.- Manuel Vázquez Estrella. 72.- Pablo Mesa Montelongo. 73.- Leonides Vázquez R. 74.- Saúl Vázquez Reinaga. 75.- Pablo Aguilar Zavala. 76.- Modesto Lucas Pulido. 77.- Ignacio Garibay Mendoza. 78.- Ramiro Vázquez Reynosa. 79.- Antonio Vázquez Aguilar. 80.- Abel Mesa Pulido. 81.- Eulalio Mesa Pulido. 82.- Rafael Mesa Montiel. 83.- Tranquilino Aguilar V. 84.- Aurelio Castillo Estrella. 85.- Abel Vázquez Soberano. 86.- Ignacio Sánchez Vázquez. 87.- Rafael Cuevas Sánchez. 88.- Alberto Cuevas Castro. 89.- Antonio López Sánchez. 90.- Gabriel López Montiel. 91.- Pedro Montero Cuéllar. 92.- Roberto Montero Castro. 93.- Antonio López Sánchez. 94.- Vicente Sánchez Medina. 95.- Abraham Sánchez Castro. 96.- Roque Sánchez Morales. 97.- Ramón Rodríguez Rodríguez. 98.- Guadalupe Montero Sánchez.

CUARTO.- Mediante oficio 1029 del 23 veintitrés de enero de 1979 mil novecientos setenta y nueve (obra a foja 1084 de autos), el Delegado de la Secretaría de la Reforma Agraria, comisionó al Ing. Benito Fregoso Camba, para la realización de los trabajos técnicos e informativos, quien rindió su

informe el 8 de agosto de 1980 mil novecientos ochenta (documento que obra a fojas de la 1080 a la 1151 de autos) y del que se desprende "...el cálculo de las superficies fue realizado en forma analítica, la poligonal general dando un total de 3877-83-04.36 hectáreas; y las correspondientes a las pequeñas propiedades se midieron planimétricamente dando un total de 392-20-00 hectáreas, además de una pequeña fracción que corresponde al ejido definitivo de ZIRIMONDIRO de 23-00-00 hectáreas, que al descontar las superficies de 392-20-00 hectáreas y 23-00-00 hectáreas quedan el total de 3462-03-04 hectáreas, para reconocer y titular correctamente al poblado de ZIRIMONDIRO y su anexo LA AGUA NUEVA, las cuales han tenido en posesión desde tiempo inmemorial. También se hace del conocimiento que la zona urbana, no fue localizada por encontrarse demasiado dispersa y no dar una forma real del poblado, además que se encuentran ahí también radicados ejidatarios de ZIRIMONDIRO..."

Mediante oficio 362 del 13 trece de noviembre de 1980 mil novecientos ochenta, se comisionó al C. Juan Luis Ornelas Orozco (obra a foja 277 de autos), para que emplazara a los presuntos pequeños propietarios enclavados dentro del perímetro de los terrenos comunales que se pretenden confirmar a favor del poblado citado con anterioridad; así como para realizar levantamiento de las actas de conformidad o inconformidad de linderos con los poblados colindantes de Zirimondiro. Así por oficio del 10 diez de octubre de 1980 mil novecientos ochenta, emplazó a los CC. Rufino López, Daniel Ureña, Senobia Fernández, Luis Mendoza, Arturo Mondragón, Rafael Birrueta, Rafael Barragán, Guadalupe Estrella y Samuel Estrada, todos ellos supuestos pequeños propietarios, los cuales tienen predios enclavados dentro del área reclamada por la comunidad en cita (obran a fojas de la 3506 a la 3522 de autos), levantó actas de conformidad de linderos entre los siguientes: Comunidad de Zirimondiro y la Comunidad de Santa Ana Zirosto el 16 dieciséis de noviembre de 1980 mil novecientos ochenta (obra a foja 278 de autos); Comunidad de Zirimondiro y el poblado La Peña, el 15 quince de noviembre de 1980 mil novecientos ochenta (obra a foja 279 de autos), Comunidad de Zirimondiro y el Pueblo de La Soledad el 15 quince de noviembre de 1980 mil novecientos ochenta (obra a foja 280 de autos); Comunidad de Zirimondiro y la Comunidad de Caltzontzin el 27 veintisiete de octubre de 1980 mil novecientos ochenta (obra a foja 281 de autos).

Realizada la notificación a los pequeños propietarios se apersonaron a juicio para aportar pruebas y alegatos los siguientes:

A).- J. Guadalupe Estrella, quien presentó copia certificada de su escritura número 2282 del 28 veintiocho de abril de 1967 mil novecientos sesenta y siete, amparando una superficie de 2-49-90 hectáreas.

B).- Rufino López, quien presentó copias certificadas de sus escrituras número 3760 y 3761 del 6 seis de octubre de 1969 mil novecientos sesenta y nueve, mismas que amparan una superficie de 5-50-00 hectáreas.

C).- Samuel Estrada Martínez, quien presentó copia certificada de las diligencias de información AD Perpetuam para suplir título de dominio, del 19 diecinueve de marzo de 1952 mil novecientos cincuenta y dos, la cual ampara una superficie de 11-34-43 hectáreas.

D).- Luis Mendoza, quien presentó copias certificadas de sus escrituras números 567, 1588, 2089 y otra sin número visible de fechas 7 siete de noviembre de 1957 mil novecientos cincuenta y siete, 16 dieciséis de noviembre de 1961 mil novecientos sesenta y uno, 6 seis de marzo de 1959 mil novecientos cincuenta y nueve y 29 veintinueve de julio de 1965 mil novecientos sesenta y cinco, respectivamente, las cuales amparan una superficie total de 58-24-00 hectáreas.

E).- Senobia Fernández, quien presentó copia certificada de su escritura sin número visible del 23 veintitrés de enero de 1958 mil novecientos cincuenta y ocho, la cual ampara una superficie de 13-00-24 hectáreas.

El 6 seis de diciembre de 1980 mil novecientos ochenta, se llevó a efecto acta de asamblea general extraordinaria celebrada en la comunidad indígena denominada Zirimondiro, Municipio de Tancitaro, y en la que se acordó por unanimidad "Que las propiedades enclavadas en los terrenos comunales. Localizadas y ubicadas en el plano proyecto y de las cuales fueron presentados los documentos que las amparan, por acuerdo unánime de los comuneros y en nombre de la comunidad a que pertenecen, están de acuerdo en que se respete y que dicha superficie será la amparada por los documentos de propiedad presentados oportunamente la cual deberá excluirse de la superficie total que ampare la Resolución Presidencial correspondiente, tomándose dicho acuerdo con la finalidad de evitarle a la comunidad problemas de trámite posteriores" (obra a fojas de la 842 a 846 de autos).

QUINTO.- El 15 quince de diciembre de 1980 mil novecientos ochenta, la Dirección General de la Tenencia de la Tierra y Subdirección de Bienes Comunales emitió su opinión, en el sentido de que se reconozca y titule correctamente a favor del poblado denominado Zirimondiro, Municipio de

Tancítaro, Estado de Michoacán, 3772-48-47 hectáreas, de las cuales 3462-63-04 hectáreas las ha venido poseyendo el poblado promovente y 309-85-43 hectáreas que resultaron como excedencias al ajustar las pequeñas propiedades a la superficie que amparan los títulos (obra a fojas de la 678 a la 694 de autos).

En sesión plenaria del 16 dieciséis de diciembre de 1980 mil novecientos ochenta, el Cuerpo Consultivo Agrario emitió dictamen sobre la solicitud de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales planteada por el poblado de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro, declarándolo procedente y reconociéndole en consecuencia como bien comunal la superficie de 3772-48-47 hectáreas de terreno en general, excluyendo del mencionado reconocimiento y titulación las pequeñas propiedades de los CC. Rufino López, J. Guadalupe Estrella, Luis Mendoza, Senobia Fernández y Samuel Estrada Martínez; ordenándose turnar el dictamen referido a la Subdirección de Derechos Agrarios, a efecto de que conforme al mismo, elabore el proyecto de Resolución Presidencial y el Plano Proyecto de localización correspondiente (obra a fojas de la 896 a la 912 de autos).

SEXTO.- Mediante escrito del 3 tres de abril de 1981 mil novecientos ochenta y uno, la Federación de la Pequeña Propiedad Agrícola, Ganadera y Forestal de Michoacán, en representación de los CC. Humberto Suárez Madrigal, Rubén Bolaños Cervantes, María de los Angeles Olivera Silva, Rosa Elena Trava Bolio, Daniel Ureña Acosta, Miguel, Julia y Victoria Fernández Gómez, María Salud Vaca Estrada, Agustín, Roberto y María de Jesús Barragán Garibay, Francisco Barragán Viva, Francisco Barragán Garibay, Martha Isidora Olivera Silva, Abel Escalante Heredia, Agustín Medina Rivera, J. Jesús Medina Rivera, Rosendo Vallejo Esquivel y Francisco Ortiz Esquivel, quienes manifestaron ser propietarios de predios enclavados dentro de los terrenos solicitados como bienes comunales, inconformándose en contra de la acción ejercitada por la comunidad de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro, y para acreditar su dicho presentaron escrituras con las que pretenden amparar sus presuntas propiedades, así mismo aportaron diversa documentación con la que pretenden comprobar que están en posesión de los predios en cuestión, así como la explotación a que los dedican, señalando que sus representados jamás han sido notificados en ninguna forma, para ser oídos en defensa de sus intereses, y que ya en otras ocasiones sus predios han quedado reconocidos como auténticas pequeñas propiedades de origen, inafectables para efectos agrarios, presentando al efecto dos periódicos oficiales del Gobierno del Estado de Michoacán, en los cuales se publicó una acción de dotación de tierras y una de ampliación de ejido, por mandamiento gubernamental y por lo que respecta a la capacidad jurídica de los solicitantes, informan que aproximadamente 18 de los que fueron censados como comuneros, son propietarios de predios en el lugar y no comuneros como pretenden hacerse pasar, aclarando que sus propiedades tienen valores catastrales desde \$ 2,400.00 (dos mil cuatrocientos pesos) hasta \$ 200,000.00 (doscientos mil pesos), siendo el valor real de las mismas mucho mayor al que tienen trazado actualmente, motivo por el cual estas personas, cuentan con su capital económico muy por encima de lo que marca la Ley para ser solicitantes de tierras, por lo tanto, carecen de capacidad individual en materia agraria como comuneros y que los demás supuestos comuneros no tienen nada en posesión (obra a fojas de la 71 a la 86 de autos).

En base a lo anterior, en sesión de pleno del 6 seis de junio de 1984 mil novecientos ochenta y cuatro, el Cuerpo Consultivo Agrario aprobó como punto de acuerdo, suspender los efectos del dictamen aprobado por el Cuerpo Consultivo Agrario el 16 dieciséis de diciembre de 1980 mil novecientos ochenta, ordenando girar instrucciones al C. Delegado Agrario en el Estado, a fin de que realizara los trabajos técnicos informativos complementarios, tendientes a comprobar en el campo la superficie real que el poblado solicitante tenga en posesión en concepto de Bienes Comunales, para los cuales se instauró la presente acción en relación con la existencia o inexistencia de las presuntas propiedades particulares, ubicadas en el Municipio de Tancítaro, Estado de Michoacán, y que supuestamente se encuentran dentro de los terrenos para los cuales se promovió Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, contra lo cual se inconformaron, debiéndose verificar en el campo los datos que demuestren la posesión y demás actos de dominio (obra a fojas de la 729 a la 751 de autos); y una vez realizados los trabajos antes citados se recaben las opiniones del Delegado Agrario, del Instituto Nacional Indigenista y de la Subdirección de Bienes Comunales. Los pequeños propietarios para acreditar su propiedad sobre los predios rústicos ubicados en el Municipio de Tancítaro, presentaron pruebas y formularon alegatos, siendo estos los siguientes:

1.- Flora Fernández Birrueta de Talavera, Ricardo Talavera Fernández, María Montelongo Vázquez y J. Angel Fernández Montelongo, predio La Mina o La Lobera, superficie de 116-00-00 hectáreas (obra a fojas de la 93 a la 101 y de la 3591 a la 3598 de autos).

2.- María Candelaria Estrada Raya, predio La Mesa y El Cerrito, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 50-82-31 hectáreas (obra a fojas de la 102 a la 107 y de la 3228 a la 3234 y de la 3599 a la 3603 de autos).

3.- Samuel Estrada Raya, predio La Mesa, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 45-00-00 hectáreas (obra a fojas de la 108 a la 124 y de la 3235 a la 3244 y de la 3604 a la 3609 de autos).

4.- Senobia Fernández Ortiz, predios La Mina o La Lobera y La Joya, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 128-87-20 y 1-12-04 hectáreas respectivamente (obran a fojas de la 126 a la 132, de la 1828 a la 1841 y de la 3610 a la 3616 de autos).

5.- Lucrecia Edith Méndez de González, predio Agua Puerca, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 9-33-66 hectáreas (obra a fojas de la 137 a la 141 y de la 3786 a la 3790 de autos).

6.- Catalina Aguilar Carranza, predio La Vigía, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 45-00-00 hectáreas (obra a fojas de la 142 a la 147, de la 1844 a la 1850 y de la 3434 a la 3438 de autos).

7.- Laura López Luján, predio Agua Nueva, superficie de 1-75-00 hectáreas (obra a fojas de la 153 a la 160 de autos).

8.- Juan López Luján, predio Terreno Joya de Villegas, ubicado en el rancho de La Peñita, superficie de 14-63-35 hectáreas (fojas de la 160 a la 167 y de la 3617 a la 3663 de autos).

9.- Juan López Luján, predio Joya del Alambre, ubicado en el rancho de Agua Nueva, superficie de 16-20-62 hectáreas (obra a fojas de la 170 a la 176 y de la 3634 a la 3642 de autos).

10.- Florencio Sánchez Valerio, predio denominado "Fracción terreno en Zirimondiro", ubicado en el rancho de su mismo nombre, superficie de 1-72-50 hectáreas (obra a foja 1283).

11.- Juan Vázquez Zúñiga, predio La Mesa, superficie de 9-91-08 hectáreas (obra a fojas 1284 a la 1293 de autos).

12.- Rosendo Vázquez Zúñiga, predio sin nombre, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 1-70-54 hectáreas (obra a fojas de la 1294 a la 1301 de autos).

13.- Rosendo Vázquez Esquivel, predio La Joya, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 1-90-20 hectáreas (obra a fojas de la 1303 a la 1307 de autos).

14.- Rosendo, Carmen y José Manuel Vázquez Zúñiga, predio denominado La Vigía, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 45-00-00 hectáreas (obra a fojas de la 1310 a la 1317 de autos).

15.- Agustín, Roberto y María de Jesús Barragán Garibay, predio denominado El Capulín y El Durazno, superficie de 51-77-50 hectáreas (obra a fojas de la 1311 a la 1340, de la 1985 a la 2012 y de la 3211 a la 3219 de autos).

16.- Francisco Barragán Vivas y Francisco Barragán Garibay, predios Las Barrancas y La Mesa, superficie de 74-38-17 hectáreas (obra a fojas de la 1341 a la 1348, de la 2031 a la 2055 y de la 3220 a la 3227 de autos).

17.- Daniel Ureña Acosta, predio Cony, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 15-35-60 hectáreas (obra a fojas de la 1349 a la 1356 y de la 3136 a la 3168 de autos).

18.- Daniel Ureña Acosta, predios El Capulín y La Cruz, La Mesa y La Fábrica, ubicados en el rancho de Zirimondiro, superficie total de 63-65-68.04 hectáreas (obra a fojas de la 1357 a la 1385 y de la 2372 a la 2423 de autos).

19.- Humberto Suárez Madrigal, predio denominado El Socorro, ubicado en el rancho de Zirimondiro, superficie de 13-50-00 hectáreas (obra a fojas de la 1386 a la 1390, de la 2271 a la 2280, de la 3027 a la 3032 y de la 3674 a la 3694 de autos).

20.- Catalina Villanueva Chávez, predio Charapondiro, superficie de 11-39-23 hectáreas (obra a fojas de la 1392 a la 1403, de la 2305 a la 2316 y de la 3058 a la 3085 de autos).

21.- María del Rosario Olivera Silva, predio Potrero de la Barranca, superficie de 35-93-05 hectáreas (obra a fojas de la 1404 a la 1418, de la 2260 a la 2269 y de la 3389 a la 3400 de autos).

22.- Ana Luisa Barragán Garibay, dos predios conocidos como La Mesa, superficie total de 19-66-58 hectáreas (obra a fojas de la 1419 a la 1434 y de la 3196 a la 3210 de autos).

23.- Francisco Martínez Velázquez, predios El Mondragón y La Cuchilla del Escorpión, superficie total de 113-75-85 hectáreas (obra a fojas de la 14

24.- Luis Mendoza Díaz y Soledad Alvarez, predios Los Desmontes, Los Encinos Boludos, La Mesa de Zirimondiro, Terrenos de Zirimondiro, superficies de 18-00-00 hectáreas, 14-00-00 hectáreas, 1-50-00 hectáreas y 10-00-00 hectáreas respectivamente (obran a fojas de la 1809 a la 1826 y de la 1851 a la 1858 de autos).

25.- Arturo Mondragón Méndez, predio San Isidro, superficie de 106-18-00 hectáreas (obra a fojas de la 1860 a la 1893 y de la 3177 a la 3195 de autos).

26.- Ambrosio Lucatero Villanueva, predio La Joya Grande, superficie de 6-12-50 hectáreas (obra a fojas de la 1895 a la 1900 y de la 3429 a la 3433 de autos).

27.- José Esquivel Núñez, predio El Casco del Rancho, superficie de 24-50-00 hectáreas (obra a fojas de la 1902 a la 1911, de la 3033 a la 3039 y de la 3695 a la 3698 de autos).

28.- Francisco Javier Ortiz Esquivel, predio Terreno del Granado y Terreno El Aguacate, superficies de 8-50-00 y 10-50-94 hectáreas respectivamente (obran a fojas de la 1913 a la 1931 de autos).

29.- Agustín Medina Rivera, predio Terreno La Mesa Norte, superficie de 5-63-70 hectáreas (obra a fojas de la 1933 a la 1946 de autos).

30.- Martha Isidora Olivera Silva, predio El Desmonte, superficie de 28-31-63 hectáreas (obra a fojas de la 1948 a la 1961 y de la 3401 a la 3403 de autos).

31.- Rosendo Vallejo Esquivel, predio La Joya o El Alambre, superficie de 18-66-63 hectáreas (obra a fojas de la 1963 a la 1983, de la 3289 a la 3301 y de la 3712 a la 3713 de autos).

32.- Juan Manuel y Fernando Andrade Ferrer, predio Joya de Zirimondiro, superficie de 5-00-24 hectáreas (obra a fojas de la 2014 a la 2029 y de la 3302 a la 3319 de autos).

33.- Alfonso Mendoza Alvarez y Lucila Oliden Ramírez de Mendoza, predios Agua Puerca y fracción de Terreno en Zirimondiro, superficie de 24-97-93 hectáreas (obra a fojas de la 2057 a la 2098 de autos).

34.- Abel Escalante Heredia, predio La Mesa, superficie de 40-08-28 hectáreas (obra a fojas de la 2100 a la 2132 y de la 3245 a la 3251 de autos).

35.- J. Jesús Medina Rivera, predio La Bueyera, superficie de 7-55-10 hectáreas (obra a fojas de la 2135 a la 2149 de autos).

36.- María de los Angeles Olivera Silva, predio El Potrero de la Casa, superficie de 13-33-33 hectáreas (obra a fojas de la 2152 a la 2154, de la 2359 a la 2370 y de la 3385 a la 3388 de autos).

37.- Efigenia Olivera Alvarez viuda de Urbina, predio El Tejocote, superficie de 3-50-00 hectáreas (obra a fojas de la 2157 a la 2165 y de la 3048 a la 3057 de autos).

38.- Sara Fernández Ortiz, predio La Joya, superficie de 11-82-23 hectáreas (obra a fojas de la 2197 a la 2206 de autos).

39.- Rubén Bolaños Cervantes, predio La Joya de Zirimondiro, superficie de 1-00-00 hectáreas, predio El Tepamo, superficie de 11-82-23 hectáreas (obran a fojas de la 2207 a la 2243 de autos).

40.- Aurora Núñez Santoyo, predio El Casco del Rancho, superficie de 24-50-00 hectáreas (obra a fojas de la 2245 a la 2257, de la 3040 a la 3047 y de la 3699 a la 3792 de autos).

41.- José Medina Rivera, predio La Bueyera, superficie de 7-55-10 hectáreas (obra a fojas de la 2282 a la 2303 de autos).

42.- María Salud Vaca Estrada, predio Al Pie de la Mesa, superficie de 16-05-38 hectáreas (obra a fojas de la 2320 a la 2329 de autos).

43.- Antonio Vallejo Esquivel, predio La Joya, superficie de 22-60-93 hectáreas (obra a fojas de la 2332 a la 2423, de la 3321 a la 3332 y de la 3714 a la 3721 de autos).

44.- Salvador Montes Zamora, predio La Mesa, superficie de 5-25-00 hectáreas (obra a fojas de la 2426 a la 2432 de autos).

45.- Benjamín Murillo Flores, predios Agua Puerca con superficie de 9-30-66 hectáreas y predio El Aguacate con superficie de 28-48-25 hectáreas (obra a fojas de la 2434 a la 2357 y de la 3439 a la 3446 de autos).

46.- Herminio, Guillermo, Imelda, Alfredo y María del Refugio Heredia Méndez y Enrique Hernández Santana, predio Al Pie de la Mesa, superficie de 16-00-00 hectáreas (obra a fojas de la 2925 a la 2972 de autos).

47.- Saúl Sánchez y Oliva Sánchez Velázquez, predios El Derrumbadero, superficie de 49-47-05 hectáreas, predio Agua Puerca, superficie de 90-39-43 hectáreas y predio El Jaral, superficie de 65-08-69 hectáreas (obran a fojas de la 2973 a la 3026 de autos).

48.- Rufino López Núñez, predio Charapondiro, superficie de 6-25-60 hectáreas (obra a fojas de la 3086 a la 3092 de autos).

49.- Evangelina, Cristina, Nieves y Victoria López Torres, predio denominado Terreno en Zirimondiro, superficie de 9-24-27 hectáreas (obra a fojas de la 3093 a la 3098 de autos).

50.- Rebeca Moreno Dimas, predio denominado Terreno en Zirimondiro, superficie de 2-36-62 hectáreas (obra a fojas de la 3099 a la 3103 de autos).

51.- Rosa Elena Trava Bolio, predio Potrero de Chapóndiro, superficie de 13-50-00 hectáreas (obra a fojas de la 3104 a la 3111 de autos).

52.- Taurino Mora Medina, predio La Barranca del Chivo, superficie de 10-92-10 hectáreas (obra a fojas de la 3112 a la 3115 de autos).

53.- Anarbol Ceja Mendoza, predio Ojo de Agua, superficie de 5-50-00 hectáreas (obra a fojas de la 3116 a la 3123 de autos).

54.- Herminio Heredia Méndez, predio Terreno de Pie de la Mesa, superficie de 18-00-00 hectáreas (obra a fojas de la 3124 a la 3135 de autos).

55.- Luis Mendoza Díaz, predio El Potrero del Encino, superficie de 6-19-48 hectáreas (obra a fojas de la 3169 a la 3176 de autos).

56.- Teresa Cachú Andrade, predio La Mesa, superficie de 9-70-88 hectáreas (obra a fojas de la 3252 a la 3261 de autos).

57.- Manuel y Raúl Rodríguez Estrella, predio La Joya de Zirimondiro, superficie de 16-48-40 hectáreas (obra a fojas de la 3262 a la 3268 de autos).

58.- María Otilia Soberano Rosales, predio La Joya Grande, superficie de 10-37-64 hectáreas (obra a fojas de la 3269 a la 3277 de autos).

59.- Rosendo y Antonio Vallejo Esquivel, predio Terreno La Joya Grande, superficie de 7-90-36 hectáreas (obra a fojas de la 3278 a la 3288 de autos).

60.- José Barrón Torres y J. Jesús Barrón Villanueva, predio La Joya, superficie de 9-11-38 hectáreas (obra a fojas de la 3333 a la 3340 de autos).

61.- Cornelio Aguilar Vázquez, predio La Joya, superficie de 3-75-00 hectáreas (obra a fojas de la 3343 a la 3353 de autos).

62.- Juan Andrade Porto, predio La Bueyera, superficie de 7-26-41, (obra a fojas de la 3354 a la 3362 de autos).

63.- Federico Medina Rivera, predio La Bueyera, superficie de 7-55-10 hectáreas (obra a fojas de la 3363 a la 3384 de autos).

64.- José Luis Mendoza Alvarez, predio Los Desmontes, superficie de 6-43-48 hectáreas (obra a fojas de la 3404 a la 3409 de autos).

65.- María de Lourdes Mendoza Alvarez, predio Los Desmontes, superficie de 6-43-48 hectáreas (obra a fojas de la 3410 a la 3413 de autos).

66.- Rafael Mendoza Alvarez, predio Los Encinos Boludos, superficie de 7-03-84 hectáreas (obra a fojas de la 3414 a la 3419 de autos).

67.- Martha Mendoza Alvarez y Enrique Casas de la Garza, predio Los Encinos Boludos, superficie de 7-03-84 hectáreas (obra a fojas de la 3422 a la 3428 de autos).

68.- Antonio Moreno Medina, predio Los Itunez o El Paso de Zirimo, superficie de 25-81-64 hectáreas (fojas de la 3448 a la 3459 de autos).

69.- Bonifacio Mejía Segundo, predio Los Itunez, superficie de 7-53-00 hectáreas (obra a fojas de la 3460 a la 3477 de autos).

70.- Fernando Villicaña Coronado, predio El Aguacate, superficie de 12-51-14 hectáreas (obra a fojas de la 3478 a la 3491 de autos).

71.- María Salud Vázquez Solórzano, predio Los Capulines, superficie de 7-45-03 hectáreas (obra a fojas de la 3492 a la 3497 de autos).

72.- Antonia Rodríguez Sánchez, predio El Amapolar, superficie de 34-57-78 hectáreas (obra a fojas de la 3498 a la 3503 de autos).

SEPTIMO.- La Asociación de la Pequeña Propiedad de Tancítaro presentó 19 diecinueve certificaciones de pequeñas propiedades expedidas por el C. Salvador Cuara Amezcua, Recaudador de Rentas en el Estado, y que amparan diversos predios y que fueron expedidas el 28 veintiocho y 29 veintinueve de agosto de 1981 mil novecientos ochenta y uno (obran a fojas de la 3653 de la 3671 de autos).

OCTAVO.- Mediante oficio número 571 del 18 dieciocho de julio de 1986 mil novecientos ochenta y seis, la Delegación de la Secretaría de la Reforma Agraria con residencia en la ciudad de Uruapan, Michoacán, comisionó al Ing. Delfino Ochoa Ochoa (obra a foja 1453 de autos), para que realizara trabajos técnicos informativos complementarios, de conformidad con lo solicitado en el acuerdo del Cuerpo Consultivo Agrario del 6 seis de junio de 1984 mil novecientos ochenta y cuatro. El Ing. comisionado rindió su informe el 7 siete de enero de 1987 mil novecientos ochenta y siete (obra a fojas de la 1454 a la 1469 de autos); en el que describe pequeñas propiedades y posesiones de 65 personas no comuneros, enmarcándolas en 49 predios; en dicho informe indica que los trabajos se realizaron previo citatorio a propietarios, tal y como obra a fojas de la 1470 a la 1503 y

1585 de autos, dirigido en forma personal para algunos y por cédula común para otros, misma que fue publicada en la Presidencia Municipal con fechas 25 veinticinco y 28 veintiocho de agosto, y 3 tres de noviembre de 1986 mil novecientos ochenta y seis; de los trabajos técnicos realizados se desprende que se localizó y planificó los 49 predios de presunta propiedad particular, dentro de los linderos de los terrenos que solicita el poblado gestor como Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, y que después se presentaron 24 más que aportaron documentos de sus predios; que en el desarrollo de los trabajos se trazó una poligonal general que encierra a todos los predios particulares, ya que forman una unidad topográfica, así mismo trazó otra poligonal en los linderos de todos los predios que son divididos por la línea de transmisión de la Comisión Federal de Electricidad y una vez encerrados todos los predios que serían materia de los trabajos, los localizó por medio de poligonales abiertas; que localizó la zona urbana con superficie de 59-01-59.37 hectáreas, y que no levantó el acta de conformidad con el ejido de Zirimondiro, porque en la Delegación Agraria existe la documentación relativa a la ejecución del ejido y el plano definitivo.

En atención a la solicitud de los señores Saúl y Oliva Sánchez (obra a fojas de la 1626 a la 1632 de autos) para que se localizaran los predios Agua Puerca, El Derrumbadero y El Jaral, y sean considerados como propiedades particulares a excluirse en el procedimiento de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, el Delegado Agrario comisionó al técnico Roberto Hernández Torres, para que localizara dichos predios; del informe que rindió el 3 tres de noviembre de 1987 mil novecientos ochenta y siete (obra a foja 1582 de autos), se tiene que la superficie del polígono general que se consigna en los trabajos del Ing. Benito Fregoso Camba es de 3877-83-04.36 hectáreas; que la superficie del ejido de Zirimondiro en dos fracciones es de 20-62-97.37 hectáreas; que la superficie de la zona urbana es de 59-01-59.37 hectáreas; que la superficie de las propiedades particulares es de 911-79-88.24 hectáreas y que la superficie que divide la línea de la Comisión Federal de Electricidad es de 195-68-99.92 hectáreas; por lo que presuntamente la superficie total a confirmar o reconocer como bienes comunales al grupo solicitante es de 2690-69-59.46 hectáreas.

De los trabajos técnicos informativos realizados por el Ing. Delfino Ochoa Ochoa y los cuales fueron revisados por el Ing. Roberto Hernández Torres se elaboró plano informativo sobre reconocimiento y titulación de bienes comunales del poblado de Tancitaro en el que se ubican 57 predios, así como la zona urbana de Zirimondiro, el ejido definitivo de Zirimondiro y los terrenos que presuntamente tienen en posesión el grupo solicitante (obra a foja 1592 de autos).

NOVENO.- Por oficio 632411, del 7 siete de marzo de 1991 mil novecientos noventa y uno (obra a fojas 892 de autos) el Director de Bienes Comunales devolvió el expediente que nos ocupa a la Delegación Agraria, con residencia en la ciudad de Uruapan, Michoacán, con el objeto de que subsanara las deficiencias detectadas a los trabajos técnicos e informativos complementarios practicados por el Ing. Delfino Ochoa Ochoa, para dar exacto cumplimiento a lo ordenado por el Cuerpo Consultivo Agrario en su acuerdo aprobado el 6 seis de junio de 1984 mil novecientos ochenta y cuatro.

En razón de lo anterior, el Delegado Agrario en Uruapan, Michoacán, por oficio número 2280 del 17 diecisiete de junio de 1991 mil novecientos noventa y uno (obra a foja 1688 de autos) comisionó al Ing. Jesús Salvador Martínez Amparan, para que realizara los trabajos técnicos, informativos y administrativos complementarios, necesarios para la debida integración del expediente de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales del poblado de Zirimondiro. El comisionado rindió su informe el 4 cuatro de julio de 1991 mil novecientos noventa y uno (obra a fojas de la 1689 a la 1696 de autos), en el que manifiesta que la asamblea general extraordinaria de comuneros fue debidamente convocada y constituida el 3 tres de julio de 1991 mil novecientos noventa y uno, en la que estuvo presente el C. Saúl Vázquez Reynaga representante de bienes comunales del poblado, así como el C. Baltazar Vázquez Vega, encargado del orden del lugar, estuvieron presentes también 24 campesinos solicitantes y 10 avecindados, y que la asamblea general extraordinaria se llevó a cabo en el domicilio del señor José Sánchez Vázquez, ya que es el lugar acostumbrado para sesionar; procediendo a dar cumplimiento al orden del día, por lo que en primer lugar dio lectura al oficio de su comisión, enseguida pasó lista de asistencia en base al censo levantado por el C. Pedro Ramírez López, comprobando que asistieron 24 personas con las que declaró legalmente instalada la asamblea general extraordinaria, por tratarse de una segunda convocatoria; que los asambleístas permitieron la participación de 10 personas que no están censadas; posteriormente dio lectura al oficio 632411 del 7 siete de marzo de 1991 mil novecientos noventa y uno, girado por el Director de Bienes Comunales, así como que hizo del conocimiento de la asamblea el acuerdo del Cuerpo Consultivo Agrario aprobado el 6 seis de junio de 1984 mil novecientos ochenta y cuatro, procediendo a analizar ampliamente la consideración VII del citado acuerdo que establece: "...Verificar en el campo la

superficie exacta que tienen en posesión los solicitantes de la presente acción, consignándose los datos con los que demuestren la posesión y demás actos de dominio realizados dentro de las superficies que se reclaman o hayan de titularse como bienes comunales y el tiempo de ésta...". Del acta levantada se desprende en los incisos a, b y c lo siguiente: **"A).-** No existen terrenos en posesión de comuneros, es decir, no hay terrenos comunales materia de confirmación y titulación de bienes comunales. **B).-** Manifiestan los comuneros en voz de los CC. TRANQUILINO AGUILAR VAZQUEZ y SAUL VAZQUEZ REYNAGA quienes han sido los representantes comunales, y el principal interés y motivo de la solicitud de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales es porque tienen conocimiento de que un gran número de personas que se ostentan como pequeños propietarios tienen excedencias de terreno entre lo que registran en los documentos y la superficie real en el terreno. **C).-** Habiendo conocido de parte del comisionado de la Delegación Agraria el trámite de los expedientes de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, manifiestan los comuneros que no es de su conformidad firmar el acta y por eso no la firman, en un intento de buscar los caminos legales para que el expediente agrario que se tiene instaurado culmine a su favor."

DECIMO.- El 22 veintidós de febrero de 1993 mil novecientos noventa y tres, la Delegación Agraria con residencia en la ciudad de Uruapan, Michoacán (obra a fojas de la 649 a la 657 de autos) emitió su opinión en el sentido siguiente "...Con fundamento en el artículo 361 de la Ley Federal de Reforma Agraria, toda vez que el poblado de ZIRIMONDIRO, Municipio de Tancítaro, estado de Michoacán, no posee la superficie reclamada en tal concepto de buena fe, en forma pacífica, continua y pública y las tierras que trabajan las tienen en calidad de pequeña propiedad, esta Delegación formula opinión improcedente de reconocer y titular la superficie reclamada y después de analizar la documentación por esa Dirección a su cargo, se archive el expediente como asunto concluido, por no ajustarse al procedimiento por la Ley Federal de Reforma Agraria..".

La Dirección General de Tenencia de la Tierra, Dirección de Bienes Comunales, emitió su opinión en el siguiente sentido "...**II.-** Que de la revisión y estudio de los trabajos técnicos e informativos y complementarios, llevados al cabo durante la tramitación del expediente que nos ocupa, se llegó al conocimiento que los terrenos que reclama como suyos el poblado de ZIRIMONDIRO, Municipio de Tancítaro, estado de Michoacán, son predios que desde su origen han estado sujetos al régimen de propiedad particular los cuales están en posesión de personas ajenas al mismo, en forma pacífica y continua, sin perjuicio de terceros con derecho. **III.-** Que a mayor abundamiento, se tiene que el núcleo de población peticionario no se encuentra en posesión de los terrenos que solicita se le reconozcan y titulen y toda vez que la naturaleza jurídica de los bienes comunales son los actos posesorios que se ejerzan sobre ellos, se concluye que el poblado gestor no ha guardado de hecho o por derecho el estado comunal. **IV.-** Que en tal virtud, se considera que es improcedente la acción de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales intentada por campesinos del poblado ZIRIMONDIRO, Municipio de Tancítaro, estado de Michoacán, porque no satisfacen la hipótesis normativa prevista en el artículo 267 de la Ley Federal de Reforma Agraria. **V.-** Consecuentemente, es procedente dejar sin efectos jurídicos, la opinión emitida por la subdirección de Bienes Comunales del 15 quince de diciembre de 1980 mil novecientos ochenta. **OPINION. UNICO.-** "Es improcedente el procedimiento de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, intentado por campesinos del poblado denominado "ZIRIMONDIRO", Municipio de Tancítaro, estado de Michoacán, en razón de que no ha guardado de hecho o por derecho el estado comunal."

El Instituto Nacional Indigenista fue omiso en emitir opinión sobre el procedimiento que nos ocupa, no obstante que le fue solicitado por la entonces Subdirección de Bienes Comunales, mediante oficio número 22 del 10 diez de octubre de 1980 mil novecientos ochenta (obra a foja 3869 de autos).

DECIMO PRIMERO.- La Delegación de la Secretaría de la Reforma Agraria, con residencia en la Ciudad de Uruapan, Michoacán, con la finalidad de integrar debidamente el expediente sobre Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, aportó al expediente los datos existentes en el Catastro Rural que sirvieron para elaborar el plano fotogramétrico, y del que se desprende que no existen terrenos correspondientes a bienes comunales, anexándose al mismo la relación de los predios, así como de los ejidos definitivos existentes en el poblado de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro (obran a fojas de la 2625 a la 2923 de autos).

DECIMO SEGUNDO.- Con fundamento en el artículo tercero transitorio, último párrafo del decreto publicado en el **Diario Oficial de la Federación** del día 6 seis de enero de 1992 mil novecientos noventa y dos, que reforma el artículo 27 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, el Tribunal Superior Agrario remitió el expediente número 276.1/3583, integrado por la

Secretaría de la Reforma Agraria, a este Tribunal Unitario Agrario del Distrito 17, y de antecedentes se desprende que dictó auto de radicación el 17 diecisiete de junio de 1994 mil novecientos noventa y cuatro; y a efecto de reponer el citado auto de radicación por no haberse localizado en el expediente que nos ocupa, el 4 cuatro de abril de 1995 mil novecientos noventa y cinco, se dictó nuevo auto de radicación; y estando debidamente substanciado el procedimiento conforme lo establecen los artículos del 356 al 362 de la Ley Federal de Reforma Agraria Derogada, se ordenó traer los autos a la vista para dictar resolución; y,

CONSIDERANDO

PRIMERO.- Este Tribunal Unitario Agrario del Distrito 17, es competente para conocer y resolver el procedimiento de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, conforme lo establecen los artículos 27 fracción XIX de la Constitución General de la República, tercero transitorio del decreto que reformó al citado precepto constitucional, 1, 2, 163, 164 y tercero transitorio de la Ley Agraria vigente, 1, 2, 18 fracción III y cuarto fracción I transitorio de la Ley Orgánica de los Tribunales Agrarios.

SEGUNDO.- La personalidad de la parte actora en el juicio quedó debidamente acreditada en los términos de los artículos 9, 32 y 99 de la Ley Agraria, y 1 del Código Federal de Procedimientos Civiles de Aplicación supletoria a la Ley Agraria; de constancias en autos se desprende que fueron oportunamente notificados de las etapas procesales en este juicio a los núcleos de población y presuntos pequeños propietarios colindantes; que se han satisfecho los extremos de los artículos 14 y 16 de la Constitución General de la República.

TERCERO.- Que del análisis al censo general de población rendido el 8 ocho de mayo de 1977 mil novecientos setenta y siete, por el Comisionado Pedro Ramírez López se desprende: que existe una población total de 366 habitantes, clasificados en 77 jefes de familia; 36 jóvenes solteros mayores de 16 años; 253 esposas y niños (obra a fojas de la 1158 a la 1190 de autos). Se ordenó la rectificación del censo general de comuneros, misma que fue practicada por el C. Manuel Moreno Portillo, quien rindió su informe el 29 veintinueve de octubre de 1980 mil novecientos ochenta, y del que se desprende que existen 98 individuos capacitados que pudieran ser reconocidos como comuneros (obra a fojas de la 1200 a la 1208 de autos).

En el expediente que nos ocupa se ordenaron la realización de 4 trabajos técnicos informativos, mismos que fueron realizados por distinto personal adscrito a la Delegación de la Secretaría de la Reforma Agraria y de los que se desprende:

A).- De los trabajos realizados por el Ing. Benito Fregoso Camba (obra a fojas de la 1080 a la 1151 de autos), quien rindió su informe el 8 ocho de agosto de 1980 mil novecientos ochenta, al verificar el levantamiento topográfico de la superficie solicitada como bienes comunales, se concretó a medir la poligonal general por los lugares que el mismo grupo solicitante le indicó, sin asistirse de colindantes, de propietarios y de poseedores que quedaban comprendidos en la misma poligonal, dejando a estos últimos en completo estado de indefensión, y en ningún momento se constató la existencia real de alguna área comunal e incluso no localizó la zona urbana, ya que señaló que ésta se encontraba demasiado dispersa.

B).- De los trabajos que realizó el Ing. Delfino Ochoa Ochoa (obran a fojas de la 1454 a la 1469 de autos), quien rindió su informe el 7 siete de enero de 1988, se desprende que dichos trabajos técnicos informativos se basaron en la misma poligonal levantada por el Ing. Benito Fregoso Camba y únicamente en sus trabajos técnicos hizo la localización de los predios de aquellos particulares que objetaron los trabajos técnicos anteriores y que presentaron la documentación que amparaba su pequeña propiedad; en estos trabajos se localizó la zona urbana, así como la superficie que divide la línea de la Comisión Federal de Electricidad, sin embargo de ninguna forma agotó la investigación para determinar sobre la presunta existencia de alguna área comunal.

C).- También se comisionó al técnico Roberto Hernández Torres, quien rindió su informe el 3 tres de noviembre de 1987 (obra a foja 1582 de autos), sin embargo no existe constancia de trabajos de campo y los datos que aporta ya habrán sido consignados por los anteriores comisionados, razón por la cual estos trabajos técnicos de ninguna manera esclarecen sobre la presunta existencia de alguna área comunal.

D).- De la investigación desarrollada por el Ing. Jesús Salvador Martínez Amparan (obra a fojas de la 1689 a la 1696 de autos), quien rindió su informe el 4 de julio de 1991, y que de dichos trabajos quedó precisado que el núcleo gestor no tiene en posesión terrenos que de hecho por derecho guarden el estado comunal, aun cuando algunos de sus integrantes tienen predios pero en calidad de propiedad particular. Habiéndose asentado en el acta que al efecto se levantó que la intención del grupo solicitante, al promover la solicitud de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales, era

allegarse aquellos terrenos que como excedencias tuvieran las propiedades particulares; concluyendo esta investigación con la demostración de que no existe área comunal ninguna, y en consecuencia el grupo gestor no se encuentra dentro de la hipótesis prevista por el artículo 267 de la Ley Federal de Reforma Agraria.

Que atento al estudio, análisis y valoración en los términos de los artículos 197, 129, 133 y demás relativos del Código Federal de Procedimientos Civiles de aplicación supletoria a la materia agraria, a los trabajos técnicos informativos y conforme lo establece el artículo 359 de la Ley Federal de Reforma Agraria, este Tribunal Unitario Agrario llega a la conclusión y certeza de que los solicitantes no tienen en posesión superficie alguna sobre la cual están solicitando el Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales; situación esta que ha quedado debidamente acreditada con los informes técnicos antes citados y en los cuales intervinieron los representantes del grupo solicitante; al efecto es aplicable la siguiente tesis jurisprudencial, "Bienes Comunales, Reconocimiento y Titulación. Resoluciones Presidenciales de ese carácter. No son constitutivas sino declarativas de los derechos cuya existencia reconocen.- En los términos del artículo 306 del Código Agrario, esta Segunda Sala ha sostenido el criterio de que el procedimiento incoado para reconocer y titular los derechos sobre bienes comunales, cuando no haya conflicto de linderos, constituye una vía de simple jurisdicción voluntaria en la que las autoridades deben constatar o comprobar que el poblado comunal promovente tiene la posesión de las tierras, por lo que las resoluciones que en estos casos se emitan, no tienen el carácter jurídico de constitutivas, sino de declarativas de los derechos del poblado cuya existencia reconocen. Séptima Época, Tercera parte, Volumen 36, página 23, A.R.4775/69. Poblado La Loma, Municipio del Valle de Santiago, Guanajuato. 5 votos. De la anterior tesis jurisprudencial, así como de los numerales 356 y 359 de la Ley Federal de Reforma Agraria se desprende como requisito sine qua non, para la procedencia del Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales que el grupo petionario tenga la posesión de la superficie reclamada, lo cual en el caso que nos ocupa no fue acreditada.

CUARTO.- En el expediente de Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales que nos ocupa, no se aportaron títulos que demuestren la existencia de alguna comunidad indígena denominada "Zirimondiro". Que al efectuar su investigación el Ing. Jesús Salvador Martínez Amparan, los integrantes del grupo gestor manifestaron, sin aportar documentación comprobatoria alguna, que la comunidad de Zirimondiro sí existió pero que desapareció con un repartimiento que concluyó en el mes de junio de 1872. Pero con ningún medio de convicción fue comprobada la existencia legal de la presunta comunidad que se cita (obra a foja 1692 de autos). Por otra parte y con fundamento en lo establecido por los artículos 197, 199, 202 y 203 del Código Federal de Procedimientos Civiles de aplicación supletoria a la materia agraria, así como del artículo 359 de la Ley Federal de Reforma Agraria, este Tribunal Unitario Agrario determina que los pequeños propietarios han acreditado ser los titulares de los predios que se encuentran en el área que la comunidad pretende se les reconozca a su favor, lo cual administrado con la confesional de los representantes de la comunidad en cita en la que reconocen que no existen terrenos en posesión de los comuneros; en razón de lo cual se deja sin efectos legales el dictamen aprobado por el Cuerpo Consultivo Agrario del 16 dieciséis de diciembre de 1980 mil novecientos ochenta.

QUINTO.- Que de la revisión a los trabajos técnicos realizados, así como de los datos del catastro rural y del plano fotogramétrico que fue realizado por la Delegación de la Secretaría de la Reforma Agraria, con residencia en la ciudad de Uruapan, Michoacán, mismos que obran a fojas de la 2625 a la 2923 de autos, se desprende: que en el poblado de Zirimondiro, Municipio de Tancítaro, Estado de Michoacán, no existen superficies en posesión de los solicitantes y que en su mayoría corresponden a pequeños propietarios, por lo cual los pequeños propietarios en lo particular, así como la Federación de la Pequeña Propiedad Agrícola, Ganadera y Forestal de Michoacán, aportó a este procedimiento probanzas consistentes en documentales públicas y privadas que han quedado detalladas en el resultando sexto de esta sentencia y con las cuales acreditan que 72 pequeños propietarios, quienes tienen la posesión y usufructo de los terrenos amparados con sus respectivos títulos de propiedad, documentales que no fueron desvirtuadas por ningún medio de convicción por la parte solicitante.

En lo referente a la omisión del Instituto Nacional Indigenista sobre la opinión en cuanto a la acción instaurada por el grupo solicitante, como ya quedó asentado en antecedentes, dicha opinión le fue requerida mediante oficio número 22 del 10 de diciembre de 1980 (obra a foja 3869 de autos); razón por la cual es de deducirse que se dio cabal cumplimiento a lo previsto en el artículo 360 de la Ley Federal de Reforma Agraria, y como ya quedó asentado en el resultando décimo de esta sentencia, se recabó la opinión de la Delegación Agraria con residencia en la Ciudad de Uruapan, Michoacán (obra a fojas de la 649 a la 657 de autos) y de la Dirección General de la Tenencia de la

Tierra y ambas coinciden en declarar improcedente el Reconocimiento y Titulación de bienes comunales intentado por el grupo solicitante.

Por lo anterior no es procedente el Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales solicitado por los pobladores de Zirimondiro, Municipio de Tancitaro, Estado de Michoacán, además de que el procedimiento pretendido únicamente tendría un efecto meramente declarativo, por lo que no sería constitutivo de derechos agrarios; es decir, a través de este procedimiento se reconoce un derecho que con antelación podría tener cualquier núcleo agrario, y tales derechos serían confirmados a través de una resolución; en el caso que nos ocupa, ha quedado demostrado que los solicitantes como comunidad no son propietarios de las tierras que reclaman, así como que tampoco acreditaron tener la posesión de las mismas, y al ser ésta un requisito indispensable para la procedencia de la acción que nos ocupa, no se cumple con los requisitos establecidos en los artículos 356 y 358 de la Ley Federal de Reforma Agraria, en concordancia con el artículo tercero del Reglamento para la Tramitación de los Expedientes de Titulación y Confirmación de Bienes Comunales, en cuyo texto se señalaba: "La confirmación y titulación procede aún y cuando la comunidad o el comunero carezcan de título de propiedad, siempre que posean a título de dueños, de buena fe, en forma pacífica, continua y pública". Razón por la cual, este Tribunal Unitario Agrario determina la improcedencia de la acción de Reconocimiento y Titulación solicitado por los pobladores de Zirimondiro, Municipio de Tancitaro, Estado de Michoacán.

En mérito de lo anteriormente expuesto y con apoyo en los artículos 27 fracción VII, de la Constitución General de la República, los artículos 267, 356 al 366 de la Ley Federal de la Reforma Agraria derogada; 3, 4, 9, 10, 11, 14, 15, 16, fracción II del Reglamento para la Tramitación de los Expedientes de Confirmación y Titulación de Bienes Comunales; 1, 2, 98, 99, 163, 164, 189 y tercero transitorio de la Ley Agraria; 1, 2, 18 fracción III y cuarto transitorio de la Ley Orgánica de los Tribunales Agrarios, es de resolverse y se

RESUELVE

PRIMERO.- Se deja sin efectos el dictamen aprobado por el Cuerpo Consultivo Agrario el 16 dieciséis de diciembre de 1980 mil novecientos ochenta, en base a lo expuesto en el considerando cuarto de esta sentencia.

SEGUNDO.- No es procedente el Reconocimiento y Titulación de Bienes Comunales solicitado por un grupo de pobladores de Zirimondiro, Municipio de Tancitaro, Estado de Michoacán, de conformidad con lo expuesto en los considerandos tercero y quinto de esta resolución.

TERCERO.- Remítase copia certificada de la presente resolución a la Delegación del Registro Agrario Nacional para su conocimiento. Publíquese en el **Diario Oficial de la Federación** y en el Periódico Oficial del Estado de Michoacán.

CUARTO.- Notifíquese personalmente a los promoventes, así como a los pretendidos afectados y a la Secretaría de la Reforma Agraria, a través de su coordinación en el Estado de Michoacán. Archívese en su momento procesal oportuno como asunto totalmente concluido.

Así lo resolvió y firma el C. Lic. **Agustín Hernández González**, Magistrado del Tribunal Unitario Agrario del Distrito XVII, ante el C. Lic. **Miguel García Hurtado**, Secretario de Acuerdos que autoriza y da fe, a los veintinueve días del mes de marzo de 1996 mil novecientos noventa y seis.- Conste.- Rúbricas.

AVISOS JUDICIALES Y GENERALES

PROMOTORA TURISTICA DON CARLOS, S.A. DE C.V.

BALANCE FINAL DE LIQUIDACION AL 2 DE SEPTIEMBRE DE 1997

Activo

Efectivo e inversiones temporales	\$ 80,941.72
Cuentas por cobrar	<u>22,016,833.45</u>
Total del activo	<u>\$ 22,097,775.17</u>

Pasivo

Accionistas en liquidación	\$ 21,520,465.17
----------------------------	------------------

Capital

Capital social	<u>577,310.00</u>
Total del pasivo y capital	<u>\$ 22,097,775.17</u>

El presente balance se publica en cumplimiento a lo establecido en el artículo 247 fracción II de la Ley General de Sociedades Mercantiles.

De conformidad al resultado del balance que antecede, le corresponde a cada acción la cantidad de \$ 31.0226.

México, D.F., a 4 de septiembre de 1997.

Santos Emilio Briz Pintos

Liquidador

Rúbrica.

(R.- 11162)

EMPRESAS SILK, S.A. DE C.V.

(EN LIQUIDACION)

BALANCE FINAL DE LIQUIDACION DE ACTIVOS

AL 31 DE JULIO DE 1997

Activo

Total activo	0.00	
Pasivo a corto plazo		
Acreedores diversos		0.00
Capital contable		
Capital social fijo	1,000.00	
Pérdidas acumuladas		<u>1,000.00</u>
	<u>1,000.00</u>	<u>1,000.00</u>

El presente balance se publica en cumplimiento al artículo 247 fracción segunda de la Ley General de Sociedades Mercantiles.

México, D.F., a 1 de agosto de 1997.

Efraín Sánchez Celis

Liquidador

Rúbrica.

(R.- 11250)

AVISO NOTARIAL

TOMAS LOZANO MOLINA, Notario número diez del Distrito Federal, hago saber para efectos del artículo 873 del Código de Procedimientos Civiles, que en escritura número 269,389 de fecha 2/09/97 ante mí, se inició la tramitación notarial de la sucesión testamentaria a bienes de don Fermín Perochena Lournagaray. Doña Margarita Barquín Soto viuda de Perochena reconoció la validez del testamento otorgado por el autor de la sucesión, aceptó la herencia, así como el cargo de albacea que le fue conferido y manifestó que en su oportunidad formulará el inventario correspondiente.

México, D.F., a 3 de septiembre de 1997.

Lic. Tomás Lozano Molina

Notario No. 10

Rúbrica.

(R.- 11271)

AVISO NOTARIAL

GEORGINA SCHILA OLIVERA GONZALEZ, Notario número doscientos siete del Distrito Federal, hago saber para los efectos del artículo 873 del Código de Procedimientos Civiles que en escritura número 269,447 de fecha 8/09/97, ante mí, se inició la tramitación notarial de la sucesión testamentaria a bienes de doña María de Lourdes González Carmona viuda de Velasco.

Don Alberto Velasco González, doña María de Lourdes Velasco González, don Jorge Velasco González, don Luis Velasco González y don Octavio Velasco González, reconocieron la validez de testamento otorgado por la autora de la sucesión, aceptaron la herencia, así como los tres primeros el cargo de albaceas que les fue conferido y manifestaron que en su oportunidad formularán el inventario correspondiente.

México, D.F., a 9 de septiembre de 1997.

Lic. Georgina Schila Olivera González

Notario No. 207

Rúbrica.

(R.- 11272)

ASESORIA CONTABLE FISCAL Y ADMINISTRATIVA, S.C.

AVISO

Por junta extraordinaria de socios, celebrada el día 30 de abril de 1997, se acordó disminuir el capital social en la suma de quince mil pesos.

Lo anterior se hace saber para los efectos del artículo noveno de la Ley General de Sociedades Mercantiles.

24 de septiembre de 1997.

Abel Puszkas Kessel

Socio Administrador

Rúbrica.

(R.- 11275)

GASOPE, S.A. DE C.V.

BALANCE FINAL DE LIQUIDACION AL 30 DE SEPTIEMBRE DE 1997

Activo

Circulante

Bancos e inversiones

1,017,668

Clientes

1,394,848

Total del activo circulante

2,412,517

Fijo

Total del activo fijo

0

Diferido

0

Total del activo

2,412,517

Pasivo

A corto plazo

Impuestos por pagar

64,264

Total pasivo a corto plazo

64,264

Total a largo plazo

0

Total del pasivo

64,264

Capital y utilidades retenidas

Capital social

300,000

Reserva legal

75,151

Resultado de Ejerc. anteriores

1,527,050

Resultado del ejercicio

446,051

Total del capital y Util. Ret.

2,348,253

Total del pasivo y capital

2,412,517

México, D.F., a 30 de septiembre de 1997.

C.P. María Guadalupe López Rodríguez

Liquidadora

Rúbrica.

(R.- 11277)

MAQUILAS ODIN, S. DE R.L. DE C.V.

BALANCE FINAL DE LIQUIDACION AL 31 DE AGOSTO DE 1997

Activo

Circulante

Caja

1,048.00

Suma del activo

1,048.00

Capital contable

Capital social

10,000.00

Resultado ejercicios anteriores

(4,697.00)

Pérdida ejercicio 1997

(4,764.00)

Cuenta final de la liquidación por acción

539.00

25 de septiembre de 1997.

509.00

Yolanda Margarita Hernández Castillo

Liquidadora

Rúbrica.

(R.- 11282)

SU TRANSPORTE, S.A. DE C.V.

AVISO

Por asamblea extraordinaria de fecha 26 de enero de 1996, los accionistas de Su Transporte, S.A. de C.V., tomaron el acuerdo de disminuir el capital social en la parte fija de la sociedad en la cantidad de \$35,000.00 (treinta y cinco mil pesos 00/100 M.N.), para quedar el capital social mínimo fijo en la cantidad de \$4,970,000.00 (cuatro millones novecientos setenta mil pesos 00/100 M.N.), reformando al efecto los estatutos sociales, lo anterior con fundamento en el artículo 9o. de la Ley General de Sociedades Mercantiles.

México, D.F., a 9 de septiembre de 1997.

Lic. Francisco Javier Romero Gil

Delegado de la Asamblea

Rúbrica.

(R.- 11288)

ACRO, S.A.

BALANCE FINAL DE LIQUIDACION AL 31 DE AGOSTO DE 1997

Activo circulante	Agosto de 1997	Reexpresión	Saldo reexpresión
Caja y bancos	3,222.46		3,222.46
Inversiones	362,948.92		362,948.92
Activo fijo			
Terreno	3,828.30	5,639.08	9,467.38
Edificio	585,566.34	823,255.20	1'408,821.54
Depreciación acumulada	(562,725.25)	828,894.28	(1'391,619.53)
Suma de activo	392,840.77	0.00	392,840.77
Pasivo y capital			
Capital contable			
Capital social	3'410,848.20	5'024,179.53	8'435,027.82
Reserva legal	5,523.35		5,523.35
Resultado ejercicio	387,317.42		387,317.42
Déficit por revaluación	(3'410,848.29)	5'024,179.53	(8'435,027.82)
Suma pasivo y capital	392,840.77	0.00	392,840.77

ESTADO DE RESULTADOS AL 31 DE AGOSTO DE 1997

Ingresos por ventas e intereses bancarios \$ 467,067.42

Menos:

Gastos de administración

\$ 79,750.00

Utilidad antes del I.S.R.

\$ 387,317.42

El resultado del balance de liquidación de la sociedad será distribuido a cada accionista en proporción a su participación en el haber social.

Esta publicación se realiza en cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 247 de la Ley General de Sociedades Mercantiles.

México, D.F., a 19 de septiembre de 1997.

Ing. Rafael Acuña Braun

Liquidador

Rúbrica.

(R.- 11302)

Estados Unidos Mexicanos

Poder Judicial Federal

Juzgado Quinto de Distrito

Mesa IV

Amparos

Cd. Juárez, Chih.

EDICTO

Juicio de Amparo número 383/97-IV, promovido José Guillermo Dowell Delgado, apoderado general de Bancomer, S.A., Institución de Banca Múltiple, Grupo Financiero, contra actos de la Junta Local de Conciliación y Arbitraje y otra autoridad, residentes en Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, por acuerdo nueve de septiembre del año en curso, se ordenó, en lo conducente, que por ignorarse domicilio de terceros perjudicados Enrique Sáenz Joannis, Guillermo Sáenz Joannis, José Humberto Trejo Mendoza, Martha Catalina Sáenz Joannis, Raúl Mario Villegas Seañez, Luis Raúl Martínez de Alba, Pedro Sáenz Anderson, Martha Joannis González, Alfonso Marrufo Guajardo, María de los Angeles Quintana Quezada, León Sáenz Joannis, María Luisa del Rosario Mora González, sean emplazados por edictos. Audiencia

constitucional diez horas del día veintiuno de octubre de mil novecientos noventa y siete, quedando a su disposición copias de ley en la Secretaría del Juzgado.

Cd. Juárez, Chih., a 9 de septiembre de 1997.

Por acuerdo de la Juez Quinto de Distrito en el Estado de Chihuahua

La Secretaria

Lic. María Guadalupe Hernández Ortiz

Rúbrica.

(R.- 11349)

Estados Unidos Mexicanos

Poder Judicial Federal

Juzgado Quinto de Distrito

Mesa I

Amparos

Cd. Juárez, Chih.

EDICTO

Juicio de Amparo número 384/97-I, promovido José Guillermo Dowell Delgado, apoderado general de Bancomer, S.A., Institución de Banca Múltiple, Grupo Financiero, contra actos de la Junta Local de Conciliación y Arbitraje y otra autoridad, residentes en Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, por acuerdo nueve de septiembre del año en curso, se ordenó, en lo conducente, que por ignorarse domicilio de terceros perjudicados Enrique Sáenz Joannis, Guillermo Sáenz Joannis, José Humberto Trejo Mendoza, Martha Catalina Sáenz Joannis, Raúl Mario Villegas Seañez, Luis Raúl Martínez de Alba, Pedro Sáenz Anderson, Martha Joannis González, Alfonso Marrufo Guajardo, María de los Angeles Quintana Quezada, León Sáenz Joannis, María Luisa del Rosario Mora González, Pedro Sáenz Joannis y Hugo Valencia Torres, sean emplazados por edictos. Audiencia constitucional diez horas con diez minutos del día cuatro de noviembre de mil novecientos noventa y siete, quedando a su disposición copias de ley en la Secretaría del Juzgado.

Ciudad Juárez, Chih., a 9 de septiembre de 1997.

Por acuerdo de la Juez Quinto de Distrito en el Estado de Chihuahua

El Secretario

Lic. Saúl Espinoza Berrueto

Rúbrica.

(R.- 11350)

Estados Unidos Mexicanos

Poder Judicial del Estado

Juzgado Tercero del Ramo Civil

San Luis Potosí, S.L.P.

Secretaría

EDICTO

C.C. Acreedores.

Por medio de éste se les convoca para que asistan, en las instalaciones de este Juzgado, a la Junta de Acreedores para el reconocimiento, rectificación y graduación de créditos que se llevará a cabo dentro del expediente número 1441/95 Suspensión de Pagos, promovido por Nacional Productora de Empaquez, S.A. de C.V., a las 11:00 horas del día 14 de octubre de 1997, haciéndose del conocimiento que solamente podrán participar en la misma los acreedores a quienes se les han reconocido sus créditos por la sindicatura.- Con el siguiente orden del día: **1.-** Lista de asistencia.- **2.-** Lectura por la Sindicatura de la lista provisional de acreedores.- **3.-** Debate contradictorio sobre el reconocimiento, rectificación y graduación de los créditos.- **4.-** Conclusiones respecto al punto anterior.- **5.-** Asuntos generales.

San Luis Potosí, S.L.P., a 26 de septiembre de 1997.

El Secretario del Juzgado Tercero del Ramo Civil

Lic. José Santos Posadas García

Rúbrica.

(R.- 11410)

Estados Unidos Mexicanos

Tribunal Superior de Justicia del Distrito Federal

México

Juzgado Primero de lo Concursal

Secretaría B

Expediente 54/95

EDICTO

El veintiséis de septiembre de 1997, el ciudadano Juez Primero de lo Concursal de esta capital, dictó sentencia en los autos relativos a la quiebra de Autotransportes Urbanos de Pasajeros R-100, en torno al convenio forzoso propuesto por la misma deudora común, cuyos puntos resolutivos son del tenor literal siguiente: **PRIMERO.-** Se aprueba en sus términos el convenio forzoso para la extinción de la quiebra de Autotransportes Urbanos de Pasajeros R-100, propuesto por la fallida, debidamente transcrito en el considerando segundo de este fallo.- **SEGUNDO.-** Se aprueba el convenio y se declara concluida la quiebra de Autotransportes Urbanos de Pasajeros R-100 y, por ende, cesan en sus funciones el síndico y la intervención designados, quedando bajo la responsabilidad del Consejo de Incautación el cumplimiento de las obligaciones pendientes respecto de los acreedores laborales como de los acreedores concursales, así como todos aquellos derivados de la administración del síndico, el cual contará con todas las facultades de representación y acorde a lo que dispone el artículo 2554 del Código Civil, podrá sustituir poderes.- **TERCERO.-** Proceda la Sindicatura a entregar los bienes que integran el activo de Autotransportes Urbanos de Pasajeros R-100, al Consejo de Incautación, para los efectos contemplados en el convenio forzoso, debiendo aquel órgano concursal formular su cuenta final.- **CUARTO.-** Publíquese un extracto de esta resolución, por tres veces consecutivas, en el **Diario Oficial de la Federación** y en el periódico El Nacional de esta ciudad.- **QUINTO.-** Notifíquese, sáquese copia autorizada de esta resolución para agregarse al legajo de sentencias. Así, interlocutoriamente juzgando lo resolvió y firma el ciudadano Juez.-Doy fe.

México, D.F., a 30 de septiembre de 1997.

El C. Secretario de Acuerdos "B"

Lic. Eduardo Herrera Rosas

Rúbrica.

(R.- 11427)

Estados Unidos Mexicanos

Tribunal Superior de Justicia del Distrito Federal

México

Juzgado Sexto de lo Civil

Secretaría B

Expediente 74/97

EDICTO

En los autos del Juicio Ordinario Mercantil promovido por Edificadora y Urbanizadora Morelos, S.A. de C.V., en contra de Mexicana de Prefabricación, S.A. de C.V., la ciudadana Juez Sexto de lo Civil, licenciada Martha Lucía Elizondo Téllez, dictó un auto mediante el cual ordena se emplace a la parte demandada Mexicana de Prefabricación, S.A. de C.V., por medio de edictos, indicándole que tiene el término de treinta días hábiles, contados a partir de la última publicación, para que conteste la demanda entablada en su contra, quedando a su disposición en la Secretaría "B" de Acuerdos del Juzgado, las copias de traslado.

México, D.F., a 25 de septiembre de 1997.

La C. Secretaria de Acuerdos

Lic. Ma. Elena Urrutia Alvarez

Rúbrica.

(R.- 11436)

CINEMEX, S.A. DE C.V.

CONVOCATORIA

Por acuerdo del Consejo de Administración, se convoca a los accionistas de Grupo Cinemex, S.A. de C.V., en términos del artículo 186 de la Ley General de Sociedades Mercantiles y de la cláusula vigésima segunda de los estatutos sociales, a las Asambleas General Ordinaria y Extraordinaria de Accionistas, que tendrán lugar en el hotel Four Seasons, ubicado en Paseo de la Reforma 500, colonia Juárez, 06600, México, Distrito Federal, a las 18:00 horas del día 28 de octubre de 1997, conforme al siguiente:

ORDEN DEL DIA DE LA ASAMBLEA ORDINARIA

I. Análisis y aprobación, en su caso, del informe del Consejo de Administración sobre las actividades y operaciones de la sociedad durante el ejercicio social concluido el 31 de diciembre de 1996.

II. Análisis y aprobación, en su caso, de los estados financieros de la sociedad al 31 de diciembre de 1996, previo informe del comisario y resolución sobre la aplicación de utilidades, en su caso.

III. Propuesta de remuneraciones a consejeros, comisarios, miembros del Comité Ejecutivo y secretario de la sociedad; resoluciones al respecto.

ORDEN DEL DÍA DE LA ASAMBLEA EXTRAORDINARIA

I. Propuesta respecto de la fusión de la sociedad, como fusionante, con Cadena Mexicana de Exhibición, S.A. de C.V., como fusionada, discusión y, en su caso, aprobación del balance general de la sociedad al 30 de septiembre de 1997, con base en el cual se pretende llevar a cabo la fusión; discusión y, en su caso, aprobación del convenio de fusión que se celebrará con Cadena Mexicana de Exhibición, S.A. de C.V.

II. Propuesta de aumento del capital de la sociedad como consecuencia de lo anterior; resoluciones al respecto.

III. Propuestas de reforma de la cláusula segunda de los estatutos sociales; resoluciones al respecto.

IV. Propuesta de aumento del capital de la sociedad mediante suscripción por sus accionistas; resoluciones al respecto.

V. Propuesta de ratificación de ciertos créditos recibidos por Cadena Mexicana de Exhibición, S.A. de C.V. y aprobación de ciertos créditos a recibir por la sociedad; resoluciones al respecto.

VI. Propuesta sobre otorgamiento de poderes especiales para formalizar los acuerdos tomados por la Asamblea Extraordinaria, incluyendo la celebración del convenio de fusión, para llevar a cabo las inscripciones necesarias en el Registro Público de Comercio del domicilio social, y para llevar a cabo las publicaciones necesarias en el **Diario Oficial de la Federación**; resoluciones al respecto.

VII. Propuesta de nombramiento de delegados especiales; resoluciones al respecto.

Los accionistas que deseen concurrir a las asambleas deberán obtener la tarjeta de entrada correspondiente mediante el depósito en las oficinas de la Secretaría del Consejo de Administración de la sociedad, ubicadas en bulevar Manuel Avila Camacho número 40, piso 16, colonia Lomas de Chapultepec, 11000, México, Distrito Federal, cuando menos 48 (cuarenta y ocho) horas antes de la fecha fijada para las asambleas, de las acciones de las que sean titulares.

México, D.F., a 7 de octubre de 1997.

Miguel Angel Dávila Guzmán

Secretario del Consejo de Administración

Rúbrica.

(R.- 11492)

RONNY PRODUCTOS, S.A. DE C.V.

AVISO

Se celebró el día 1 de octubre de 1997 la asamblea extraordinaria de accionistas de Ronny Productos S.A. de C.V., que acuerdan aumentar el capital social en \$200,000.00 (doscientos mil pesos M.N.), para quedar fijada en \$300,000.00 (trescientos mil pesos M.N.). Se hace la siguiente publicación para que los accionistas ausentes en dicha asamblea, ejecuten su ejercicio preferente para suscribirlo, en los términos del artículo 132 de Sociedades Mercantiles.

México, D.F., a 8 de octubre de 1997.

Lic. Francisco López Zenteno

Delegado Especial de la Asamblea

Rúbrica.

(R.- 11493)

UNION DE CREDITO PARA EL AUTOTRANSPORTE, S.A. DE C.V.

ORGANIZACION AUXILIAR DE CREDITO

CONVOCATORIA

Por acuerdo tomado por el Consejo de Administración de esta sociedad, y de conformidad con los artículos 178, 179, 180, 183, 186, 187 y demás relativos a la Ley General de Sociedades Mercantiles, y de la cláusula trigésima cuarta de los estatutos de la sociedad, se convoca a los accionistas de la Unión de Crédito para el Autotransporte, S.A. de C.V., a la Asamblea General Ordinaria de Accionistas que tendrá verificativo el día 30 de octubre de 1997 a las 11:00 horas, en el domicilio social de la Unión, ubicado en avenida Ingenieros Militares número 111- A, colonia Lomas de Sotelo, con código postal 11200, en México, D.F., conforme al siguiente:

ORDEN DEL DÍA

I.- Lista de asistencia.

II.- Designación e informe de los escrutadores.

III.- Instalación de la Asamblea.

IV.- Informe del Consejo de Administración conforme a lo previsto por el artículo 172 de la Ley General de Sociedades Mercantiles con respecto de las operaciones de la sociedad por el ejercicio terminado el 31 de

diciembre de 1996, incluyendo el informe del comisario y los estados financieros al 31 de diciembre de 1996, en los términos de la cláusula vigésima de los estatutos sociales.

V.- Presentación del proyecto de aplicación de resultados, su discusión, modificación o aprobación, en su caso.

VI.- Nombramiento de delegados de la Asamblea para que protocolicen el acta respectiva ante notario público y, en su caso, den cumplimiento a las resoluciones tomadas por la Asamblea Ordinaria.

Se recuerda a los señores accionistas que podrán comparecer personalmente o por medio de representante, bastando para el efecto simple carta poder.

La sociedad considera como accionistas a quienes aparezcan inscritos como dueños de las acciones en su registro de acciones nominativas, en los términos del artículo 129 de la Ley General de Sociedades Mercantiles.

Las acciones o constancias de las mismas y, en su caso, la carta poder en donde se nombra representante, deberán ser entregadas a más tardar con un día de anticipación a la celebración de la Asamblea, en las oficinas de la Secretaría, ubicadas en avenida Ingenieros Militares número 111- A, colonia Lomas de Sotelo, en la Ciudad de México, código postal 11200; contra dicha entrega, la Secretaría proporcionará la tarjeta de entrada a la Asamblea.

México, D.F., a 7 de octubre de 1997.

Emilio Dipp Jones

Secretario del Consejo de Administración

Rúbrica.

(R.- 11494)

Estados Unidos Mexicanos

Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo

Subsecretaría de Normatividad y Control de la Gestión Pública

Unidad de Normatividad de Adquisiciones,

Obras Públicas, Servicios y Patrimonio Federal

Oficio UNAOPSPF/309/DS/799/97

Expediente DS/166/96

NOTIFICACION POR EDICTO

Ofiservicio Equipo de Oficina, S.A. de C.V.

Presente

Con fundamento en los artículos 50 primer párrafo, 87 y 92 fracción I de la Ley de Adquisiciones y Obras Públicas; 2, 35 fracción III y 70 fracción II de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; octavo Transitorio del Decreto que reforma, adiciona y deroga diversas disposiciones de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, publicado en el **Diario Oficial de la Federación** el 28 de diciembre de 1994; 18, 26 y 37 fracción XXV de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 1, 2 y 12 fracción XIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo, publicado en el **Diario Oficial de la Federación** el 12 de abril de 1995 y único, fracción II del Acuerdo mediante el cual se adscriben orgánicamente las unidades administrativas correspondientes a la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo, publicado en el **Diario Oficial de la Federación** el 18 de abril de 1995, se notifica a esa sociedad mercantil, el inicio del procedimiento para imponerle, en su caso, la sanción administrativa que se regula por el artículo 87 de la Ley de Adquisiciones y Obras Públicas, ya que por causas imputables a esa empresa no se formalizó el contrato que el Instituto de Investigaciones Eléctricas le adjudicó en el procedimiento de la Licitación Pública Internacional LI/IE/11/96.

Por tal motivo, tiene quince días hábiles, contados a partir del día siguiente al en que surta efectos la presente notificación, para exponer dentro de dicho plazo lo que a su derecho convenga y, en su caso, aportar las pruebas que estime pertinentes ante la Unidad de Normatividad de Adquisiciones, Obras Públicas, Servicios y Patrimonio Federal, ubicada en el noveno piso, ala sur del edificio que tiene destinado la Secretaría de Contraloría y Desarrollo Administrativo, sito en avenida Insurgentes Sur número 1735, colonia Guadalupe Inn, código postal 01020, Delegación Alvaro Obregón, de la Ciudad de México, Distrito Federal, en donde además podrá consultar el expediente del presente asunto.

Asimismo, se le apercibe que si en el plazo para exponer lo que a su derecho convenga y aportar las pruebas que estime pertinentes, no lo hace, precluirá su derecho en los términos del artículo 288 del Código Federal de Procedimientos Civiles, de aplicación supletoria, y esta Unidad Administrativa procederá a dictar la resolución correspondiente.

Así lo proveyó y firma, el Titular de la Unidad de Normatividad de Adquisiciones, Obras Públicas, Servicios y Patrimonio Federal, C. Antonio Gilberto Schleske Farah, al segundo día del mes de octubre de 1997.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

El Titular de la Unidad

Antonio Gilberto Schleske Farah

Rúbrica.

(R.- 11497)

AVISO

Se comunica que para la inserción de edictos en esta Sección se deberá presentar obligatoriamente el documento original con sello, firma autógrafa y fecha de expedición del mismo, sin alteraciones y acompañado de dos copias legibles.

Atentamente

Diario Oficial de la Federación

AVISO AL PUBLICO

Se informa que para la inserción de documentos en el **Diario Oficial de la Federación**, se deberán cubrir los siguientes requisitos:

Oficio o escrito dirigido al Director del **Diario Oficial de la Federación**, licenciado Carlos Justo Sierra, solicitando la publicación del documento, con dos copias legibles.

Documento a publicar en original con sello, firma autógrafa y fecha de expedición del mismo, sin alteraciones y acompañado de dos copias legibles. En caso de no ser Aviso Judicial, el documento a publicar deberá estar impreso en papel membretado y no será necesario el sello.

En caso de licitación pública o estado financiero, forzosamente deberá entregar su documentación por escrito y en medio magnético, en cualquier procesador Word. Los estados financieros en Word para Windows se presentarán sin tablas de edición.

El pago por derecho de publicación deberá efectuarse en efectivo, con cheque certificado o de caja a nombre de la Tesorería de la Federación.

Las publicaciones se programarán de la forma siguiente:

Las licitaciones recibidas los miércoles, jueves y viernes se publicarán el siguiente martes, y las de los días lunes y martes, el siguiente jueves.

Avisos, edictos y balances finales de liquidación, cinco días hábiles después de la fecha de recibo y pago, mientras que los estados financieros, siete días hábiles después del mismo.

Por ningún motivo se recibirá la documentación en caso de no cubrir los requisitos.

Teléfonos 535-74-54 y 546-40-21, extensión 275, fax extensión 237.

Atentamente

Diario Oficial de la Federación

Fe de erratas al Aviso de Fusión de Electro Componentes Mexicana, S.A. de C.V., publicado el 3 de octubre de 1997.

En la página 71, del Balance General al 31 de marzo de 1997, renglón 16, dice: (900,568)

Debe decir: 900,568

SEGUNDA SECCION

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA Y DESARROLLO RURAL

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-056-ZOO-1995, Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.

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

PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-056-ZOO-1995, ESPECIFICACIONES TECNICAS PARA LAS PRUEBAS DIAGNOSTICAS QUE REALICEN LOS LABORATORIOS DE PRUEBAS APROBADOS EN MATERIA ZOOSANITARIA

ANGEL OMAR FLORES HERNANDEZ, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoosanitaria, con fundamento en los artículos 45, 46 fracción II y 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** del Proyecto de Norma Oficial Mexicana por el que se establecen las especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.

El presente Proyecto se publica a efecto de que los interesados, dentro de los 90 días naturales siguientes a la fecha de publicación del mismo, presenten sus comentarios ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoosanitaria, sito en Recreo número 14, piso 11, colonia Actipan, Delegación Benito Juárez, código postal 03230, México, D.F.

Durante el plazo mencionado, los análisis que sirvieron de base para la elaboración del Proyecto de Norma, estarán a disposición del público para su consulta en el domicilio del Comité.

Dado en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los veintitrés días del mes de julio de mil novecientos noventa y siete.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Protección Zoosanitaria, **Angel Omar Flores Hernández**.- Rúbrica.

PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-056-ZOO-1995, ESPECIFICACIONES TECNICAS PARA LAS PRUEBAS DIAGNOSTICAS QUE REALICEN LOS LABORATORIOS DE PRUEBAS APROBADOS EN MATERIA ZOOSANITARIA
PREFACIO

Unidad responsable de elaborar el Proyecto de Norma:

DIRECCION GENERAL DE SALUD ANIMAL

En la elaboración de este Proyecto de Norma participaron los siguientes organismos e instituciones:

- CENID-MICROBIOLOGIA.
- COMISION MEXICO-ESTADOS UNIDOS PARA LA PREVENCION DE LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS ENFERMEDADES EXOTICAS DE LOS ANIMALES.
- COMISION NACIONAL DE ERRADICACION DE LA TUBERCULOSIS BOVINA Y BRUCELOSIS.
- COMITE DE LABORATORIOS DE DIAGNOSTICO DEL CONASA.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACION DE ESTUDIOS AVANZADOS EN SALUD ANIMAL-UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO.
- FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.
- LABORATORIOS BAER, S.A.

INDICE

- 1.- OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION**
- 2.- REFERENCIAS**
- 3.- DEFINICIONES**
- 4.- DISPOSICIONES GENERALES**
- 5.- IDENTIFICACION DE ABEJAS AFRICANAS**
- 6.- VARROASIS DE LAS ABEJAS**
- 7.- ENFERMEDAD DE NEWCASTLE**
- 8.- INFLUENZA AVIAR**
- 9.- SALMONELOSIS AVIAR**
- 10.- DIAGNOSTICO TAXONOMICO DE GARRAPATAS**
- 11.- BRUCELOSIS BOVINA Y CAPRINA**
- 12.- RABIA**
- 13.- TUBERCULOSIS BOVINA**
- 14.- ENFERMEDAD DE AUJESZKY**
- 15.- FIEBRE PORCINA CLASICA**
- 16.- SANCIONES**
- 17.- CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES**
- 18.- DISPOSICIONES TRANSITORIAS**

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1. La presente Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer las especificaciones técnicas de las pruebas diagnósticas que deben observar los laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria que sean aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

1.2. La vigilancia del cumplimiento de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural y a los gobiernos de los estados en el ámbito de sus respectivas circunscripciones territoriales, de conformidad con los acuerdos que se suscriban.

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

2. Referencias

Para la correcta aplicación de esta Norma se deben consultar las siguientes normas oficiales mexicanas.

NOM-001-ZOO-1994. Campaña Nacional contra la Varroosis de las Abejas.

NOM-002-ZOO-1994. Actividades técnicas y operativas aplicables al programa nacional para el control de la abeja africana.

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

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

NOM-007-ZOO-1994. Campaña Nacional contra la enfermedad de Aujeszky.

NOM-013-ZOO-1994. Campaña Nacional contra la Enfermedad de Newcastle, presentación velogénica.

NOM-019-ZOO-1994. Campaña Nacional contra la Garrapata *Boophilus* spp.

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

NOM-037-ZOO-1996. Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales.

NOM-044-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Influenza Aviar.

NOM-011-SSA2-1993. Norma Oficial Mexicana para la Prevención y Control de la Rabia.

3.- Definiciones

Para efecto de esta Norma, se entiende por:

3.1. Abeja: Insecto himenóptero *Apis mellifera* sp.

3.2. Abeja africanizada: Es el insecto conocido como *Apis mellifera* en cualquier forma de desarrollo y que incluye características genéticas de las especies africana y europea.

3.3. Abeja obrera: Abeja hembra reproductivamente incompleta.

3.4. Abeja reina: Es la abeja hembra sexualmente desarrollada, cuya función principal es depositar huevos fértiles en las celdas del panal y regir la vida de la colonia.

3.5. Análisis: Operación técnica que consiste en la determinación de una o varias características de un producto, proceso o servicio, con base en un procedimiento específico.

3.6. Aislamiento viral: Prueba diagnóstica realizada por un laboratorio aprobado para la Campaña Nacional contra la Enfermedad de Newcastle, consiste en la inoculación de muestras procedentes de aves en embrión de pollo, para el aislamiento e identificación del virus de la enfermedad de Newcastle.

3.7. Alojamiento para animales en proceso de pruebas: Local dedicado exclusivamente para la permanencia temporal de animales de laboratorio u otras especies animales empleados en desarrollo de pruebas y/o análisis, el cual debe cumplir con los requisitos necesarios para un trato humanitario.

3.8. Análisis: Operación técnica que consiste en la determinación de una o varias características de un producto, proceso o servicio, con base en un procedimiento específico.

3.9. Anaplasmosis: Enfermedad infecciosa no contagiosa del ganado, caracterizada por anemia progresiva, fiebre e ictericia y en ocasiones abortos y muerte en los animales, ocasionada por *Anaplasma marginale*, rickettsia que es transmitida por artrópodos como moscas, mosquitos, tábanos, garrapatas; o bien, por objetos contaminados como instrumental de cirugía y agujas.

3.10. Anticuerpos: Son inmunoglobulinas formadas en respuesta a la introducción de sustancias que, una vez dentro del organismo, son reconocidas por éste como exógenas. Su propiedad característica es que se cambian en condiciones fisiológicas, con la sustancia que indujo su formación.

3.11. Antígeno: Sustancia que puede inducir una respuesta inmunitaria.

3.12. Antígeno K Polivalente: Producto biológico constatado y autorizado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, utilizado para la detección serológica de aves portadoras de Púlorosis (*S. pullorum*) y Tifoidea Aviar (*S. gallinarum*) a nivel de campo, compuesto por las siguientes cepas:

cepa intermedia- 4

cepa estandar - 11

cepa variante - 77

cepa variante - 79

cepa variante - 269

3.13. Apiario: Es el conjunto de colmenas instaladas en un lugar determinado.

3.14. APSP: Prueba de aglutinación rápida en placa (con sangre completa) para *S. pullorum* y *S. gallinarum*.

3.15. Babesiosis: Enfermedad parasitaria del ganado causada por *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, transmitida por garrapatas del género *Boophilus*, que infecta a los eritrocitos, manifestada por anemia, ocasionalmente hemoglobinuria y fiebre. En casos agudos se presenta muerte súbita y en algunas ocasiones signos nerviosos.

3.16. Boophilus: Garrapata de un hospedero, transmisor de la babesiosis y anaplasmosis a los animales domésticos y silvestres. Existen cinco especies reconocidas a nivel mundial de las cuales *boophilus microplus* (*B. microplus*) y *Boophilus annulatus* (*B. annulatus*) están distribuidas en México, encontrándose en manera simultánea en la región centro sur. *B. microplus* se encuentra con mayor frecuencia y abundancia en las zonas tropicales bajas, donde coexisten con *Amblyomma cajennense*; *B. annulatus* soportan menor temperatura y humedad y se localizan en la parte norte del país principalmente en el norte de Sinaloa, Coahuila, Nuevo León, Baja California, Durango y Jalisco.

3.17. Bastidor: Marco y/o cuadro de madera con alambres sobre el cual se fija la cera estampada para la formación del panal.

3.18. Cadáver: Cuerpo de un organismo animal después de su muerte.

3.19. Campañas: Las campañas nacionales establecidas a través de las normas oficiales mexicanas.

3.20. Cepas de alta patogenicidad: Son aquellas cepas de virus de la Influenza Aviar, que inoculadas mediante fluido alantoideo o cultivo celular en ocho pollos susceptibles (libres de patógenos específicos) de cuatro a ocho semanas de edad, causan una mortalidad por lo menos el 75% de las aves dentro de ocho días subsecuentes a la inoculación de las mismas.

3.21. Cepas de baja patogenicidad: Son aquellas cepas de virus de Influenza Aviar, que inoculadas mediante fluido alantoideo en ocho susceptibles (libres de patógenos específicos) de cuatro a ocho semanas de edad infectados con fluido alantoideo o cultivo celular, pueden causar una mortalidad menor al 75% de las aves dentro de ocho días subsecuentes a la inoculación de las mismas.

3.22. Colmena: Alojamiento de una colonia o familia de abejas.

3.23. Constancia de resultados de pruebas o análisis: Documento que presenta los resultados obtenidos de las pruebas y/o análisis realizados y otra información relevante derivada de los mismos.

3.24. Dirección: La Dirección General de Salud Animal.

3.25. Desinfección: Utilización de medios físicos o químicos para la destrucción de microorganismos o gérmenes.

3.26. EA: Enfermedad de Aujeszky.

3.27. ENC: Enfermedad de Newcastle.

3.28. ENV: Enfermedad de Newcastle presentación velógena.

3.29. Enfermedades transmitidas por garrapatas: La babesiosis y la anaplasmosis.

3.30. Enfermedad de Aujeszky, también conocida como Pseudorabia: Enfermedad infectocontagiosa de origen viral, altamente transmisible, que afecta principalmente a los porcinos, ocasionando disminución en la fertilidad, abortos, mortinatos, signos respiratorios en cerdos en crecimientos, así como alta mortalidad de cerdos jóvenes y de otras especies susceptibles.

3.31. Equipo para laboratorio de pruebas: Conjunto de aparatos y/o instrumentos mecánicos, eléctricos, mecánico-eléctricos y/o computarizados que son utilizados para llevar a cabo algunos procedimientos de pruebas o la totalidad de estas.

3.32. Esterilización: Procedimiento que tiene por objeto la destrucción total de microorganismos, que se puede llevar a cabo por métodos físicos o químicos. Debe ser verificado por pruebas de esterilidad apropiadas para cada caso.

3.33. Fluido: Sustancia líquida o gaseosa que por sus características fisicoquímicas no tienen forma propia, sino que adoptan la del producto que las contienen.

3.34. Fiebre Porcina Clásica, antes denominada "Cólera Porcino": Enfermedad altamente contagiosa, causada por un virus de la familia togaviridae, de curso generalmente agudo, pero que puede tener una presentación atípica. En la presentación típica los cerdos pueden presentar anorexia, fiebre de 41°C o más, temblores musculares, postración, constipación intestinal que alterna con periodos de diarrea, secreción mucopurulenta en los ojos y eritema en la piel. En los estudios finales de la enfermedad puede observarse trastornos nerviosos, parálisis y por último la muerte.

3.35. FPC: Fiebre Porcina Clásica.

3.36. Infestación: Es la presencia de garrapatas o ectoparásitos en los animales.

3.37. Laboratorio aprobado: Laboratorio reconocido por la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos para realizar pruebas o análisis específicos en materia zoonosanitaria.

3.38. Laboratorio de pruebas o análisis: Aquella instalación que opera en una localidad específicamente determinada, que dispone del equipo necesario y el personal calificado para efectuar pruebas y análisis en materia zoonosanitaria.

3.39. Método de prueba o análisis: Procedimiento técnico específico para la realización de una prueba o análisis.

3.40. Muestra: Espécimen que representa las características de un todo.

3.41. Muestras: Sangre, suero, tejidos, órganos, leche y lactacinios u otros que se relacionen con la Brucelosis y que sean definidos por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, con el propósito de ser analizados mediante pruebas de diagnóstico para identificar la presencia de la enfermedad.

3.42. Panal: Estructura formada por celdas de cera, que sirve como depósito de alimentos o que aloja crías.

3.43. Parásito: Organismo que vive a expensas del hospedero del cual obtiene protección y sustento. Vive en el interior o sobre la superficie del individuo que lo alberga.

3.44. Precipitación: Es una reacción de identificación que conserva unidas las moléculas solubles de antígeno por acción de los anticuerpos; lo cual produce un precipitado visible, que contiene tanto el antígeno como el anticuerpo.

3.45. Parvada: Conjunto de aves, para fines de esta Norma se consideran aquellas de aves progenitoras o reproductoras.

3.46. Prueba: Procedimiento para identificar un constituyente, descubrir cambios de una función o establecer la naturaleza verdadera de un trastorno.

3.47. Reactivo: Sustancia empleada para producir una reacción o descubrir la presencia de otra sustancia.

3.48. Repetibilidad y reproducibilidad de pruebas o análisis: Concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas de la misma muestra, efectuadas con la aplicación de la totalidad de las condiciones siguientes:

Mismo método de prueba o análisis.

Mismas características del instrumento de medición.

Mismas condiciones de uso.

Repetición en periodos cortos.

Misma muestra.

3.49. Salmonelosis Aviar: Enfermedad bacteriana contagiosa, cuyos agentes causales son *S. pullorum* que produce la Pulorosis y *S. gallinarum* que produce la Tifoidea Aviar.

3.50. Secretaría: La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

3.51. Taxonomía: Clasificación sistemática de los seres vivos, basándose en las diferencias que existen entre ellos.

3.52. UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

3.53. Varroasis: Enfermedad parasitaria externa de las abejas ocasionada por el ácaro *Varroa jacobsoni*.

3.54. Zángano: Abeja macho.

4. Disposiciones generales

Los laboratorios de pruebas en materia zoonosanitaria dedicados al diagnóstico tendrán reconocimiento oficial de la Secretaría, en aquellas técnicas en que demuestren su capacidad operativa conforme a los dictámenes del Comité de Evaluación para la Aprobación de Laboratorios de Pruebas en Materia Zoonosanitaria.

De conformidad con las disposiciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ZOO-1994 "Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoonosanitaria", los laboratorios de pruebas en materia zoonosanitaria deben emplear los métodos y procedimientos prescritos en esta Norma Oficial Mexicana, de acuerdo a las pruebas y/o análisis para la cual el laboratorio fue aprobado.

5. Identificación de abejas africanas

Título

Identificación taxonómica de abejas africanizadas.

Objetivo

Diagnóstico morfométrico de abejas melíferas africanizadas mediante técnicas microscópicas y computarizadas.

Campo de aplicación

El método es utilizado para el diagnóstico de africanización en enjambres de abejas melíferas, en apiarios y en la certificación de criaderos de abejas reinas.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-002-ZOO-1994, Actividades técnicas y operativas aplicables al programa nacional para el control de la abeja africana.

Generalidades

A partir de la introducción de la abeja africana en México se estableció la metodología para el diagnóstico de africanización de abejas en diversos laboratorios de morfometría en nuestro país. Actualmente la determinación se realiza para certificar criaderos de reinas como 100% europeas o determinar el grado de hibridismo en una colonia. El diagnóstico se realiza por los métodos denominados Fabis y Daily.

Equipo e instrumentos

- 1.- Computadora PC-AT 286 o superior.
- 2.- Estufa bacteriológica.
- 3.- Micrómetro en marco para diapositiva.
- 4.- Microscopio estereoscópico.
- 5.- Platina.
- 6.- Proyector de diapositivas.
- 7.- Proyector para microscopio compuesto.
- 8.- Ratón digitalizador para computadora.

Materiales

- 1.- Caja de petri.
- 2.- Crisol de porcelana.
- 3.- Cubreobjetos 24 x 40 mm.
- 4.- Gotero.
- 5.- Papel secante.
- 6.- Pincel de cerda fina.
- 7.- Pinzas de punta fina.
- 8.- Portaobjetos.
- 9.- Regla de plástico transparente de 50 cm.
- 10.- Monturas para diapositiva.
- 11.- Placa de porcelana con excavaciones.

Reactivos

- 1.- Agua destilada.
- 2.- Alcohol 70%.
- 3.- Fucsina básica 2%.
- 4.- Hidróxido de potasio 10%.

Condiciones ambientales

Las regulares de un laboratorio de pruebas.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

La muestra de abejas una vez recibida en laboratorio e identificada, se retira del frasco contenedor y se procede a realizar el diagnóstico.

Procedimiento

El procedimiento para el diagnóstico de africanización puede ser de Fabis I, Fabis II y Daily y su aplicación depende de los resultados encontrados en cada uno de ellos dando inicio siempre por Fabis I.

1.- Fabis I

Se toman diez abejas y se depositan sobre un papel secante, el cual absorberá el líquido conservador sobrante.

Se toma con cuidado una abeja y se desprende el ala anterior izquierda (vista dorsal) desde la base de la ala (microscopio), procurando no romper o desgarrar el ala. Esto se facilita si se utilizan dos pinzas de punta fina (pinzas de relojero). Una para sujetar la región del tórax y la otra para desprender el ala.

Para comprobar que las alas han sido bien desprendidas se observan en un microscopio estereoscópico, y debe apreciarse claramente la canaladura de la vena costal del ala y la parte distal del borde del ala completa. Cuando un ala esté mal desprendida o rota, se desecha y se toma la del lado derecho.

Se toman las diez alas delanteras izquierda, ya desprendidas, completas y bien diseccionadas. Se montan sobre un cubreobjetos de 24 X 40 mm., éste se cubre con un segundo cubreobjeto, y se pega con diurex por la parte angosta, ésta debe de quedar en forma de bizagra.

Las alas deben tener la misma orientación procurando que queden lo más pegadas ocultas posible, y también intercaladas para que cuando se tomen las medidas, la última no quede muy abajo, también se puede colocar en los dos cubres cinco alas por cubre, lo cual quita más tiempo y material. Se sellan en los extremos con diurex y se enmarcan en una montura o marco para diapositivas. Estas molduras pueden ser de cartón o plástico.

Las monturas deben llevar el número del caso o muestra.

Previo a la lectura del tamaño de las alas se realiza el ajuste del proyector que consiste en:

Se fija el lente micrométrico en un cubreobjetos, y se monta en una montura.

La montura con el ocular micrométrico se proyecta en la pared. La proyección en la pared se mide con una regla de cincuenta centímetros hasta que el centímetro proyectado del ocular milimétrico, equivalga a los cincuenta centímetros; si se ajusta a 50 cm, el resultado de las medidas se multiplica por dos.

El ajuste se puede hacer acercando o retirando el proyector de la pared. El proyector no debe moverse o la lectura resultará falsa, y de ser posible se deberá fijar por algún medio. Cuando al ajuste esté terminado se monta la primera muestra.

Teniendo la primera diapositiva con las diez alas se procede a efectuar las mediciones. Para ello se coloca la regla en el centro de la canaladura de la vena costal, y se traza una línea recta hasta la parte más distal del ala, se mide la distancia, se va anotando el resultado, y se procede con las mediciones de las restantes diapositivas.

Cuando se tienen las mediciones de las cinco o diez alas, se introducen éstas en el programa de computadora previamente cargado según se indica en fórmulas para el cálculo de resultados.

Si el resultado del análisis es dudoso, las muestras deben trabajarse para realizar el segundo nivel de complejidad, que es en este caso Fabis II.

2.- Fabis II

Este método consiste en el desprendimiento cuidadoso del tercer par de patas de las abejas, teniendo en cuenta que se tomaron estas estructuras de un solo lado, y se tendrá como complemento la elaboración del Fabis I.

Una vez desprendidas las estructuras para el Fabis I se procederá a tomar las mismas diez abejas para el desprendimiento del tercer par de patas, teniendo como ayuda unas pinzas de relojero de punta fina.

Ya desprendidas las patas se hace una separación de ésta, eliminando la coxa y el trocánter, quedando la tibia y el fémur que son los segmentos principales que nos interesan en este caso.

Los segmentos bien definidos se colocan ordenados en un trozo de diurex unido a un cubreobjetos de 24 x 42 mm, para luego ser fijados totalmente en el cubreobjetos.

Montadas las estructuras se procede a hacer la medición de igual forma que en el Fabis I. Los datos resultantes de este procedimiento se introducen en el programa de computadora como en el caso anterior.

3.- Daily

Las muestras deben conservarse en alcohol al 70%. Se toma una abeja y se desprende con la ayuda de unas pinzas desde la base del ala anterior, ala posterior, tercer pata posterior (no importa el lado, siempre y cuando sean todas las estructuras del mismo lado) y el tercer esternito abdominal, todas las partes se colocan en una caja petri con alcohol al 70%.

En el microscopio estereoscópico se hace un corte inclinado en el ala anterior con el bisturí de tal forma que no cortemos la canaladura de la vena costal del ala, posteriormente se hace un corte a la ala posterior en línea recta antes de la línea de unión.

Se desprende una pata posterior, los segmentos V, IV, III y II del tarso, estas piezas se desechan. Se desprende el primer segmento del tarso, si queda adherido algo de tejido muscular se corta con el bisturí.

Se desprende la coxa y el trocánter con mucho cuidado, tratando de no cortar la parte terminal del fémur.

Al tercer esternito abdominal se le quita el tejido que tiene adherido con la ayuda de un pincel fino, tratando de no rasgar los espejos.

Al ala posterior se le corta con el bisturí la base. El esternito se coloca en un crisol de porcelana con 10 ml. de hidróxido de potasio al 10%, se pone a calentar en una platina y cuando empieza a hervir se retira y se deja enfriar.

Se lava perfectamente con agua destilada para quitar el exceso de hidróxido de potasio.

Se coloca el esternito en una placa de porcelana con excavaciones y se le agregan unas gotas (hasta cubrirlo) de fucsina básica al 2%. Se tapa con una placa de vidrio y se deja teñir durante 20 minutos. Se le quita el exceso de colorante con alcohol al 70%, si es necesario se deja un poco más de tiempo, se pone a secar en el papel secante.

Se montan en el portaobjeto, en un extremo se ponen seis gotas de bálsamo de Canadá para colocar el fémur y la tibia (bien dobladas) y posteriormente el basitarso colocando el cubreobjetos de 22 x 22 tratando que quede perfectamente adherido sin que se arruguen ni se doblen los espejos y que no se formen bolsas de aire.

En el mismo portaobjetos se acomodan el ala anterior posterior, el tercer esternito (las partes blandas). El fémur y la tibia (partes duras) se cubren con bálsamo de Canadá y se coloca un cubreobjetos tratando de que no se formen burbujas. Se pone a secar en una estufa a 40 grados centígrados durante 24 horas.

Si alguna parte no está completa o durante la disección se desgarran se desechan todas las demás partes de esta abeja, y se repite el procedimiento con una nueva abeja de la muestra.

Se debe tener cuidado al manejar varias muestras, de no mezclar parte de una abeja con otra. Los crisoles, cajas de petri y las placas de tinción con excavaciones se deben marcar con el número de la muestra respectiva con la que se está trabajando, en este momento se debe usar un crisol, una caja de petri y una placa de tinción con excavación por abeja.

Una vez que se ha preparado el portaobjetos con las estructuras, se debe identificar marcando la orilla de la laminilla con el mismo número que posee la muestra original.

Para inicio de las lecturas deberá prepararse la computadora personal, la cual está conectada al ratón digitalizador y recibe las señales de la estructura del abeja que se está midiendo.

La computadora deberá cargarse con el programa en BASIC que permite realizar las lecturas y analizar los datos.

Se monta la preparación en la platina del microscopio y se hace pasar el haz de luz proyectándose la preparación en la tabla o base del microscopio de proyección. La medición se realiza digitalizando sobre la proyección en la tabla con el ratón digitalizador los puntos a continuación, en el siguiente orden:

a) Largo del ala anterior (figura 1) en sus estructuras de la canaladura hacia la parte distal (puntos 1 y 2), ancho del ala comenzando de adelante hacia atrás (puntos 3 y 4).

b) Largo del ala posterior midiendo (figura 2) desde la primera vena hasta la parte distal (puntos 5 y 6), ancho del ala posterior (puntos 7 y 8).

c) Contar los hámulos (cerdas) del ala anterior e introducir el número en la computadora (figura 2).

d) Digitalizar el sitio donde aparecen los ángulos del ala anterior (Fig. 1) en el orden indicado de mayor a menor (10 a 23).

e) Pata posterior derecha (figura 3) medir el largo de la tibia (puntos 24 y 25). Medir el largo del fémur en la misma figura (puntos 26 y 27).

f) Basitarso posterior derecho (figura 4) medir el largo del basitarso (puntos 28 y 29). Medir el ancho del basitarso (puntos 30 y 31).

g) Tercer esternito abdominal (figura 5). Ancho del esternito (puntos 32 y 33). Ancho de los espejos (puntos 34 y 35). Largo del espejo (puntos 36 y 37). Distancia entre los espejos (puntos 38 y 39).

Las mediciones anteriores se realizan en las 10 muestras preparadas.

Al término de la décima lectura aparece en pantalla la pregunta si se desea introducir más información. Al escribir que no, se introduce posteriormente datos de identificación de la muestra.

Como aspecto final en el programa aparece en pantalla la probabilidad de africanización.

Fórmulas para el cálculo de resultados

Todos los cálculos son realizados por computadora, sin embargo ellos son medias del tamaño de las estructuras analizadas y cálculo de desviaciones estándar.

El análisis estadístico de probabilidad de africanización tanto en Fabis I y II, como en Daily se obtiene mediante el programa de computadora en BASIC para el diagnóstico morfométrico proporcionado por el Programa Nacional para el Control de la Abeja Africanizada o por el Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal.

Interpretación de los resultados

Escalas comparativas.

Z = Es mayor o igual a cero

Z = Entre - 0.1 a - 2.9

EUROPEA

SOSPECHOSA

Z= Es menor de -3.0 y hasta -6.0 AFRICANA

Indices de reproductibilidad y repetibilidad

Superior al 95%.

Bibliografía

Milne, P.S. 1948. Acarine Disease of Bees. J. Minist. Agric. Fish. 54:473-377.

Título

Diagnóstico de la acariosis traqueal en abejas melíferas

Objetivo

Detectar la presencia del ácaro traqueal *Acarapis woodi* en abejas melíferas.

Campo de aplicación

Diagnóstico de ácaros traqueales en abejas reinas sujetas a certificación para movilización en México.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-002-ZOO-1994, Actividades técnicas y operativas aplicables al programa nacional para el control de la abeja africana.

Generalidades

La técnica para la detección de la acariosis traqueal de las abejas fue desarrollada por el British Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, en 1956, y es la empleada, con algunas modificaciones por el USDA, debido a que es un método sencillo, requiere un mínimo de destreza y tiempo, unos 30 a 60 s. por abeja, es económica, por requerir de un mínimo de equipo, tiene la ventaja de que se pueden examinar las abejas individualmente, ya que el grado de infestación puede diferir considerablemente entre las abejas de una colmena, y logra detectar infestaciones iniciales, al extraer la tráquea protorácica y su inserción con el primer par de espiráculos torácicos, lo cual asegura la visualización de cualquier ácaro que se pudiera encontrar en la entrada de las tráqueas.

Equipo e instrumentos

1.- Lámpara de restirador.

2.- Microscopio estereoscópico.

Materiales

1.- Aguja de disección.

2.- Lápiz graso.

3.- Pinzas de disección de punta fina o de relojero.

4.- Portaobjetos.

Reactivos

Ácido láctico.

Condiciones ambientales.

De laboratorio no se requieren medidas de bioseguridad.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Se deberá solicitar al remitente que se muestree el 10% de las colmenas. De cada colonia o colmena es recomendable tomar en un frasco correctamente identificado con el nombre del apiario y número de la colmena unas 10 abejas por cajón, colectadas preferentemente de la piquera, lo cual garantizará incluir abejas adultas de edad homogénea. El frasco de colecta deberá contener alcohol al 70% como preservador.

Procedimiento

1.- Se sostiene a la abeja por el abdomen, con los dedos pulgar e índice (figura 1).

2.- Con unas pinzas de punta muy fina (de relojero), se desprenden la cabeza y el primer par de patas, para exponer el mesotórax.

3.- Con los dedos lateralmente, se ejerce una ligera presión hacia adelante del tórax, a manera de incluir el tejido asociado con el sistema traqueal.

4.- Con las pinzas se desprenden el primer anillo torácico de quitina, donde se localizan las tráqueas, cuidando de no romperlo.

5.- Con las pinzas se coloca el anillo torácico en un portaobjetos, repitiendo la misma operación, con objeto de incluir hasta cinco anillos torácicos en un mismo portaobjetos, lo cual agiliza la observación.

6.- Se agrega una gota de ácido láctico a cada anillo torácico, para aclarar el tejido y hacer visibles las tráqueas. Dejar transcurrir uno a dos minutos -tiempo requerido para desprender los cinco anillos restantes-, el ácido láctico ya aclaró el tejido y las tráqueas son fácilmente visibles. Coloque el portaobjetos bajo el microscopio de disección, utilice el lente de menor aumento (10 X).

7.- Con ayuda de dos agujas de disección, se separan hacia un lado, con cuidado, las tráqueas del anillo de quitina. Desde este momento ya es posible determinar si las tráqueas están infestadas. Examine el aspecto de las tráqueas y observe si hay ácaros, en especial cerca del orificio estigmático. Si éstos existen el diagnóstico será positivo.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

El diagnóstico e identificación positivo lo constituye la presencia de ácaros en las tráqueas (figura 2), ya que *Acarapis woodi*, es el único ácaro traqueal de las abejas. Las tráqueas sanas presentan el aspecto de cordones blanco-nacarados flexibles y transparentes. Cuando encontramos la tráquea sin ácaros, pero existen ligeras manchas color ocre o negras en la misma, es indicio de que estuvo parasitada, sin embargo, el diagnóstico positivo es la localización del ácaro en las tráqueas.

El reporte del diagnóstico puede expresarse en términos de:

Negativa o infestación nula = cero ácaros.

Positiva = cuando se encuentre el ácaro en cualquier tráquea o tráquea necrosada.

En caso de que se desee conocer el porcentaje de infestación de las abejas, en base al número de ácaros encontrados en ambas tráqueas, se pueden designar rangos de infestación de acuerdo a la región y el clima. Algunos rangos señalan infestación nula = cero ácaros; baja = menos de 15 ácaros y alta = más de 15 ácaros o tráquea necrosada.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad

Superior al 95% esperando con cuidado la clarificación de las muestras en el ácido láctico.

Bibliografía

Bailey, L. (1981) Honey Bee Pathology. Academic Press, Londres.

Título

Diagnóstico de la Nosemiasis de las abejas melíferas
--

Objetivo

Detección de esporas de *Nosema apis* mediante el examen microscópico en abejas melíferas.

Campo de aplicación

Esta técnica tiene aplicación en abejas melíferas y es en especial utilizada para la detección de esporas de *Nosema* en abejas reinas en movilización sujetas a la certificación sanitaria.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-002-ZOO-1994, Actividades técnicas y operativas aplicables al programa nacional para el control de la abeja africana.

Generalidades

El agente casual de la Nosemiasis, *Nosema apis* es un parásito microscópico del *Phylum Protozoa*, que se caracteriza por la formación de esporas que son estadios de resistencia del parásito. Las esporas de *Nosema apis*, son corpúsculos ovalados de aproximadamente 4 a 6 micras de largo por 2 a 4 de ancho. En el interior de la espora, existen dos núcleos y un filamento. Este filamento lleva el nombre de filamento polar y es 70 veces más largo que la espora. El tiempo de viabilidad de las esporas depende de las condiciones a las cuales son expuestas, pueden permanecer viables por muchos meses en heces secas sobre los panales de cría, pero pierden su viabilidad en pocos días si son expuestas a la luz solar.

Las esporas son fácilmente destruidas por calentamiento o por la acción de fumigantes específicos, pero resisten temperaturas inferiores a 10 grados centígrados por varios años.

Equipo e instrumentos

1.- Cámara de Neubauer.

2.- Microscopio compuesto con objetivos 10, 40 y 100X.

Materiales

1.- Asa bacteriológica.

2.- Cubreobjetos 18 x 18.

3.- Gotero.

4.- Mortero de porcelana.

5.- Pinzas de punta fina o de relojero.

6.- Portaobjetos.

7.- Tamiz de .044 mm.

8.- Tijeras.

9.- Vaso de precipitado de 500 ml.

Reactivos

Agua destilada.

Condiciones ambientales

Las regulares de un laboratorio de pruebas.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

La muestra de abejas una vez recibida en laboratorio e identificada, se retira del frasco contenedor y se procede a su diagnóstico.

Procedimiento

El diagnóstico de esta enfermedad de las abejas, se basa en la detección de la espora que se presenta en insectos infectados, mismo que puede realizarse mediante un método práctico y sencillo, denominado examen rápido o bien mediante el método de Cantwell.

a) Examen rápido:

Un examen rápido puede ser hecho removiendo el intestino de la abeja enferma, observando si está distendido y haciendo en seguida un frotis de su contenido directamente en un portaobjetos con una gota de agua. Otro examen más complejo puede ser hecho de acuerdo con la técnica de Cantwell.

b) Método de Cantwell:

Tomar 25 abejas de cada muestra y colocarlas sobre un papel absorbente para que se sequen. Separar los abdómenes de las abejas con una tijera y colocarlos en un mortero con pistilo que contenga 1 ml de agua destilada por abeja, o sea un total de 25 ml. Iniciar el macerado con cerca de 5 ml y agregar hasta 20 ml más de agua, posteriormente con ello se logrará un buen macerado. Tanto el mortero como el pistilo deben estar bien limpios antes del uso. Al finalizar el macerado se tamiza la suspensión lograda con un tamiz de .044 mm, recibiendo en un vaso de precipitado.

El frotis se prepara colocando sobre el portaobjetos una gota de la suspensión filtrada. Colocar un cubreobjetos sobre la gota de la suspensión.

Examinar el frotis en un microscopio con aumento de por lo menos 400 X. Las esporas de *Nosema apis* son fácilmente vistos por ser corpúsculos brillantes y muy refringentes. Las esporas son ovaladas y miden 4 a 6 micrones de largo por 2 a 4 micras de ancho.

El conteo de las esporas se puede realizar mediante dos métodos. El primero es una modificación del método de conteo de glóbulos rojos en un hemocitómetro, el cual consta de un cubreobjetos y una cámara especial que opera con un volumen específico de fluido antes del uso, la cámara debe estar bien limpia en agua con detergente y se enjuaga con agua corriente, luego se pasa en alcohol etílico. Finalmente se seca con una franela limpia.

Agitar bien la suspensión con el pistilo; se toma un poco con un gotero de la misma y se coloca una gota bajo el cubreobjetos del hemocitómetro hasta llenar por capilaridad. Se debe tener cuidado de llenar únicamente la cámara de hemocitómetro.

Para asegurar la cantidad exacta de líquido que se requiere, también se debe asegurar la ausencia de burbujas bajo el cubreobjetos. Esperar tres minutos para permitir la sedimentación de las esporas antes de iniciar el conteo.

Durante 3 minutos, buscar un área de conteo y enfocar con objetivo de 40 X. La cuadrícula de la cámara está dividida en grupos de 16 cuadros y cada grupo está enmarcado por líneas dobles. Se cuentan todas las esporas enmarcadas en las líneas dobles, incluyendo en el conteo a todas las esporas que toquen a las líneas dobles del lado izquierdo y superiores de cada bloque, pero no a las que toquen las líneas dobles inferiores y a las del lado derecho del bloque.

Precauciones que deben tomarse para evitar errores:

1.- Agitar la suspensión antes de ser colectada la muestra con el asa de platino, para asegurar una distribución uniforme de las esporas.

2.- Flamear el asa antes de ser usada en cada muestra.

3.- Usar una cámara para cada muestra.

4.- No debe realizarse el conteo si hay burbujas presentes o si existe una distribución poco uniforme de las esporas en la cámara.

5.- Permitir la sedimentación de las esporas durante 3 minutos antes de iniciar el conteo.

6.- Efectuar el conteo antes de que la muestra empiece a evaporarse de la cámara.

Fórmulas para el cálculo de resultados

Para obtener un buen promedio, se cuentan las esporas de 5 bloques, los 4 de las esquinas y el central de la cámara, totalizando 80 cuadros.

La siguiente ecuación puede ser usada para determinar el número de esporas por abeja.

No. total de esporas contadas en 80 cuadros $\times 4 \times 10^6 =$ No. de esporas / abeja

Interpretación de los resultados

De acuerdo con Jaycox, la severidad de la enfermedad se estima como sigue:

Intensidad de la infección. No. de esporas (millones) por abeja.

NULA

MUY LIGERA 0.01 - 1.00

LIGERA 1.00 - 5.00

REGULAR 5.00 -10.00

SEMISEVERA 10.00 -20.00

SEVERA MAS DE 20.00

Indices de reproductibilidad y repetibilidad

Superior al 95%.

Bibliografía

De Jong D. 1980. *Varroa jacobsoni*, Survey Techniques, Leaflet No. 109, University of Maryland, U.S.A.

Guzmán M.E. 1981. Contribución al estudio de la noseemiasis de las abejas. Tesis Profesional. México, D.F.

Jaycox E. R. 1977. Laboratory Diagnosis of Bee Diseases. Publication H-688. University of Illinois.

Jaycox E. R. 1980. Estimation of Severity of Nosema Infection. Unedited Bulletin. University Illinois.

Shimanuki H. and Cantwell G. E. 1978. Diagnosis of Honey Bee Diseases, Parasites and Pests. USDA. Manual AR8-ME-87. Beltsville Maryland, U.S.A.

6. Varroasis de las abejas

Título

Diagnóstico de *Varroa Jacobsoni* en abejas melíferas

Objetivo

Diagnóstico del ácaro *Varroa jacobsoni* en *Apis melis* adultas o en crías.

Campo de aplicación

La metodología descrita es para ser aplicada en los laboratorios de pruebas que realizan el diagnóstico de enfermedades parasitarias de las abejas y en particular el de *Varroa jacobsoni*.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-001-ZOO-1994, Campaña nacional contra la varroasis de las abejas.

Generalidades

El ácaro *Varroa jacobsoni*, un ectoparásito obligado de las abejas, originalmente confinado a la abeja melífera asiática *Apis cerana*, ha sido diagnosticado recientemente en México. El ácaro en desarrollo se alimenta de hemolinfa de la larva, pupa y abejas adultas, causando el debilitamiento y la mortalidad de las colonias de abejas.

Con objeto de llevar a cabo una detección oportuna de la varroasis, una de las más graves plagas de la apicultura, los apicultores deberán incluir en el examen rutinario de la colmena, una inspección visual detallada de la cría y abejas adultas en busca del ácaro y de los signos de la infestación: abejas con abdomen corto y alas con malformaciones. Uno de los factores que contribuyen a la dispersión de la plaga, es la falta de conocimiento de las mismas, por lo que a continuación se presentan los métodos de diagnóstico comúnmente empleados en otros países.

Equipo e instrumentos:

1.- Lámpara de restirador.

2.- Lupa.

3.- Microscopio estereoscópico.

Materiales:

1.- Agujas de disección.

2.- Ahumador para colmena.

3.- Bastidores con malla mosquitero en base al tamaño del piso de la colmena.

4.- Bolsas de plástico de 30 por 20 cm.

5.- Cartulina blanca del tamaño de la colmena.

6.- Coladera.

7.- Frasco de vidrio o plástico.

8.- Navaja o cuchillo.

9.- Pinza de relojero o pincel No. 2.

10.- Marcador indeleble.

11.- Maskin tape de 1 pulgada.

Reactivos:

1.- Alcohol del 70% o solución con agua jabonosa.

2.- Vaselina o aceite vegetal.

3.- Tiras de plásticas con fluvalinato o flumetrina.

Condiciones ambientales

Las regulares de un laboratorio de prueba.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

No se requiere un acondicionamiento especial, la muestra al recibirse se registra y se expone para su análisis dependiendo de si viene en cartulina, alcohol o panal.

Procedimiento

El diagnóstico de *Varroa* se basa en la identificación de la hembra adulta del ácaro, la cual es visible a simple vista sobre las abejas adultas, en las uniones cabeza-tórax-abdomen, entre los segmentos abdominales y en las celdas de las crías. Los machos y ninfas son más pequeños, de color blanco perlado y no son fáciles de detectar mediante una inspección visual, ya que permanecen dentro de las celdas de la cría operculada.

Existen varios métodos físicos y químicos para detectar la presencia de *Varroa* en la cría y en las abejas adultas. Para ello se recomienda examinar el 5% de las colmenas del apiario.

a) Examen de la cría operculada:

Se recorta un cuadro de 10 x 10 cm. con unas celdas de cría operculada para extraer la cría y examinarla en busca del ácaro. Si se examina la cría de zánganos, se tienen mayores probabilidades de detectar una infestación baja, debido a la predilección de *Varroa* por ésta. El porcentaje de celdas infestadas se obtiene de dividir el número de celdas examinadas entre el número de celdas con ácaros y se multiplica por 100.

b) Examen de las abejas adultas por agitación.

Se colectan unas 300 a 500 abejas adultas de la cámara de cría para someterlas a una agitación durante unos 2 minutos en una solución jabonosa o alcohólica al 70%, y provocar el desprendimiento de los ácaros que se encuentren adheridos a las abejas. Las abejas se separan con una coladera y la solución se filtra con una tela de color blanco, donde se contrastarán fácilmente los ácaros. El porcentaje de infestación de la colmena, se obtiene de dividir el número de ácaros entre el número de abejas examinadas y multiplicado por 100. Se recomienda practicar este examen cada dos meses. Esta técnica permite muestrear grandes cantidades de abejas en corto tiempo y detecta niveles de infestación bajos, debido a que incluye abejas jóvenes y nodrizas, preferidas por *Varroa*.

c) Examen de los detritus de la colmena.

Se recomienda aplicar un tratamiento con un acaricida para desprender los ácaros que se encuentren adheridos a las abejas adultas. Previo al tratamiento, se coloca en el piso de la colmena, una cartulina blanca con grasa o vaselina para que se adhieran los ácaros, y un bastidor de malla de alambre para evitar que los ácaros sean removidos por las abejas aseadoras. A las 24 horas se retira la hoja y se observan los detritus con una lupa, en busca del ácaro. Este método se recomienda aplicarlo a principios de primavera y fines de verano, cuando no hay o hay poca cría, y no está siendo colectado el néctar. Si existe cría es necesario desopercularla para que no constituya un refugio de ácaros. Este método puede detectar niveles de infestación bajos.

Los ácaros pueden encontrarse en las trampas para polen, por lo que es conveniente inspeccionarlas.

Fórmulas para el cálculo de los resultados:

$$\frac{\text{No. de celdas infestadas}}{\text{No. de celdas examinadas}} \times 100 = \% \text{ de infestación en panal de cría}$$

$$\frac{\text{No. de acaros encontrados}}{\text{No. de abejas adultas examinadas}} \times 100 = \% \text{ de infestación en abejas adultas}$$

Indices de reproductibilidad y repetibilidad

Mayor al 95% si se sigue el método descrito con reactivos semejantes.

Bibliografía

Milne, P.S. 1948. Acarine Disease of Bees. J. Minist. Agric. Fish. 54:473-377.

7. Enfermedad de Newcastle**Título**

Aislamiento del virus de la Enfermedad de Newcastle (ENC), por inoculación en embrión de pollo

Objetivo

Aislar el virus de la ENC en embriones de pollo, inoculados con muestras de material biológico de aves sospechosas de estar infectadas con virus de la ENC.

Campo de aplicación

- Diagnóstico de casos clínicos.
- Obtención de la constancia de parvadas y granjas libres de la Enfermedad de Newcastle velogénico.

- Muestreo virológico en regiones, estados o zonas en proceso de erradicación, para su liberación. Documentos conexos a consultarse.

Norma Oficial Mexicana NOM-013-ZOO-1993, Campaña Nacional contra la Enfermedad de Newcastle, presentación velogénica.

Manual of Standards for Diagnostic tests and Vaccines, OIE, Paris, Francia 1992.

Generalidades

La prueba se utiliza para el aislamiento del virus de la ENC.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Balanza granataria.
- 2.- Campana de flujo laminar o mecheros.
- 3.- Centrífuga clínica o refrigerada.
- 4.- Cronómetro.
- 5.- Cronómetro.
- 6.- Homogenizador, mortero y pistilo de porcelana o mortero de Tenbroeck.
- 7.- Incubadora para embrión de pollo.
- 8.- Micropipeta de 25 a 200 microlitros.
- 9.- Ovoscopio.

Materiales:

- 1.- Algodón.
- 2.- Cajas de Petri.
- 3.- Cubrebocas.
- 4.- Gorros.
- 5.- Pinzas.
- 6.- Tijeras.
- 7.- Placa de vidrio para la prueba de aglutinación y/o microplaca de fondo en "U".
- 8.- Punzón para perforar embrión de pollo.
- 9.- Tubos para centrífuga estériles.
- 10.- Viales estériles.
- 11.- Puntas para micropipeta.
- 12.- Tubos de ensayo.
- 13.- Filtros con membrana de nitrocelulosa con poro de 0.22 micrómetros.
- 14.- Jeringas insulínicas de 5 y 10 ml.

Reactivos**Reactivos y soluciones:**

- 1.- Alcohol al 70%.
- 2.- Pegamento blanco, parafina o barniz para uñas (selladores).
- 3.- Solución desinfectante: Hidróxido de Sodio en solución acuosa al 2%, cloro solución acuosa al 2%, cloruro de benzalconio.
- 4.- Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) estéril pH 7.2-7.4 o caldo de fosfato de triptosa estéril
- 5.- Suspensión de penicilina G sódica 100 000 U.I./ml y sulfato de estreptomicina 200 mg/ml.

Biológico:

- 1.- Embriones de pollo, libres de patógenos específicos, de 9 a 11 días de incubación.
- 2.- Suero testigo positivo contra el virus de la ENC.
- 3.- Suspensión de glóbulos rojos de pollo al 0.5% en PBS.

Condiciones ambientales

Temperatura ambiente ideal de 18 a 20° C, en condiciones de esterilidad y delimitando el campo de trabajo con mecheros.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Muestras problema: encéfalo, tráquea, pulmón, bazo y tonsilas cecales. Los órganos deben estar empacados en forma individual, en refrigeración con PBS o en congelación. Los hisopos cloacales y/o traqueales deben transportarse inmersos en PBS con penicilina estreptomicina al 1%.

Procedimiento

1.- Inoculación de embriones.

a) Pesar dos gramos de cada una de las muestras problema y colocarlas en un mortero de porcelana o en un triturador de tejidos tipo Tenbroeck para ser macerada.

Se recomienda usar morteros congelados para que la muestra se adhiera al mortero y se facilite la maceración. Para facilitar el macerar tráquea y pulmón los órganos se pueden cortar en pequeños trozos con tijeras. Se puede utilizar arena estéril como material abrasivo. Todo el proceso debe realizarse en un área estéril y las muestras deben lavarse con PBS más antibiótico antes de ser procesadas si éstas no fueron obtenidas en condiciones estériles.

b) Añadir PBS estéril más 1% de antibiótico (en una proporción 1:10, ejemplo: 1 g de órgano más 9 ml de solución).

Centrifugar a 2500 rpm durante 20 minutos como mínimo, con la finalidad de obtener el sobrenadante libre de contaminantes y estructuras celulares. Para obtener mejores resultados se recomienda filtrar.

Para la prueba se recomienda utilizar un mínimo de 5 embriones por inóculo, con 5 controles positivos y 5 negativos.

c) Revisar los huevos embrionados para certificar edad, viabilidad y localizar al embrión; en el extremo opuesto al lugar donde se encuentra el embrión, se debe delimitar la cámara aérea, delineándola con lápiz para después marcar el punto de inoculación, que debe estar localizado a una distancia aproximada de 3 mm por encima del límite de la cámara aérea.

d) Desinfectar el cascarón con alcohol al 70% e inocular con 0.2 ml de la suspensión con una jeringa insulínica (inoculación en la cámara alantoidea). Sellar con resistol blanco o parafina, incubar a 37° C, revisar con el ovoscopio a los embriones cada 24 Hrs. durante 5-7 días, si durante este periodo algún embrión ha muerto se debe obtener el líquido alantoideo y realizar la prueba de hemoaglutinación en placa y/o microplaca. Embriones que mueran antes de 24 horas se considera muerte por traumatismo, contaminación bacteriana o toxicidad.

2.- Prueba de hemoaglutinación en placa.

a) Colocar en una placa de vidrio previamente desinfectada, de 0.05 a 0.1 ml de líquido alantoideo, el cual se obtiene como se indica en el punto 1.d.

b) Agregar solución de glóbulos rojos al 5% y mezclar realizando movimientos de rotación durante 1-2 min. La aglutinación de glóbulos rojos indica un resultado positivo a la prueba, para constatar que la hemoaglutinación fue debida al virus de la ENC es necesario realizar la prueba de inhibición de la hemoaglutinación con suero testigo positivo contra la Enfermedad de Newcastle.

c) Colocar la misma cantidad (de 0.05 a 0.1 ml) de líquido alantoideo y suero testigo positivo contra la Enfermedad de Newcastle, mezclar realizando movimientos de rotación durante 1-2 minutos, posteriormente añadir glóbulos rojos al 5% y mezclar nuevamente. Si el líquido alantoideo es positivo al virus de la ENC, se inhibirá la hemoaglutinación con el suero testigo positivo contra la Enfermedad de Newcastle. En el caso de que sea negativo, la hemoaglutinación se presentará. En este último caso, es necesario realizar dicha técnica con suero testigo positivo contra la Influenza Aviar H5N2.

Es importante señalar que la actividad hemoaglutinante y la inhibición de la hemoaglutinación se pueden realizar en microplaca, ya que el método es más sensible. La hemoaglutinación que se observa en la prueba de placa después de 8 minutos puede deberse a contaminación bacteriana.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

Si la prueba de hemoaglutinación es positiva, debe repetirse el procedimiento con suero hiperinmune y si se sigue observando hemoaglutinación, la muestra problema se considera negativa a la ENC. Si no existe hemoaglutinación la muestra es positiva. Cuando desde la primera vez no hay hemoaglutinación la prueba y, por lo tanto, la muestra son consideradas negativas a la ENC.

Si el fluido es positivo a ENC el tipo de cepa aislada se podrá identificar con base al tiempo que tardó en matar al embrión, utilizando la clasificación americana.

cepa	clasificación americana (Hrs.)	clasificación europea (Hrs.)
velogénica	24-48	40-60
mesogénica	48-72	60-90
lentogénica	> 72	> 90

Indices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor a un 90% si se sigue el método descrito con reactivos y biológicos semejantes.

Bibliografía

Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

A laboratory Manual for the Isolation and Identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists. Third Edition. USA. 1989.

8. Influenza Aviar

Título

Aislamiento del virus de Influenza Aviar (IA) por inoculación en embrión de pollo

Objetivo

Aislamiento del virus de Influenza Aviar y su identificación para efectuar un diagnóstico concluyente.

Campo de aplicación

El procedimiento se empleará en el aislamiento del virus de Influenza Aviar en aves enfermas o muertas, de parvadas con signos clínicos y lesiones a la necropsia que sugieran la presencia de Influenza Aviar.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Influenza Aviar.

Generalidades

La inoculación en embriones de pollo de 9 a 11 días de incubación, se utiliza en el aislamiento e identificación del virus de Influenza Aviar, debido a la susceptibilidad que estos embriones presentan para la replicación del virus.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Balanza granataria.
- 2.- Campana de flujo laminar o mecheros.
- 3.- Centrífuga clínica o refrigerada.
- 4.- Cronómetro.
- 5.- Homogeneizador, morteros y pistilo de porcelana o mortero de Tembroeck.
- 6.- Incubadora para embrión de pollo.
- 7.- Microscopio óptico, microscopio invertido o estereoscópico.
- 8.- Micropipeta de 25 a 200 µl.
- 9.- Microplacas de 96 pozos fondo en "U".
- 10.- Ovoscopio.

Materiales:

- 1.- Cajas de Petri.
- 2.- Cubrebocas.
- 3.- Filtros con membrana de nitrocelulosa poro de 0.22 µm. (opcional).
- 4.- Gorros.
- 5.- Jeringas insulínicas, de 5 y 10 ml.
- 6.- Micropipeta de 25 a 200 µl.
- 7.- Pinzas.
- 8.- Puntas para micropipeta.
- 9.- Punzón para perforar embrión de pollo.
- 10.- Tijeras.
- 11.- Tubos de centrífuga.
- 12.- Tubos de ensayo.
- 13.- Viales estériles.

Reactivos

Reactivos y soluciones:

- 1.- Alcohol 70%.
- 2.- Anticoagulante de Alseaver.
- 3.- Caldo infusión de cerebro y corazón.

4.- Pegamento blanco, parafina o barniz para uñas (selladores).

5.- Solución desinfectante: Hidróxido de Sodio en solución acuosa al 2%, cloro solución acuosa al 2%, cloruro de benzalconio.

6.- Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) estéril pH 7.2-7.4 o caldo de fosfato de triptosa estéril.

7.- Suspensión de penicilina G sódica 100 000 U.I./ml y sulfato de estreptomina 200 mg/ml.

Biológicos:

1.- Suspensión de glóbulos rojos de pollo al 0.5%.

2.- Embriones de pollo libres de patógenos específicos de 9 a 11 días de incubación.

3.- Suero positivo contra el virus de Influenza Aviar H5N2.

4.- Suero positivo contra el virus de la Enfermedad de Newcastle.

Condiciones ambientales

Temperatura ambiente ideal de 18 a 20° C, en condiciones de esterilidad y delimitando el campo de trabajo con mecheros. Con medidas de bioseguridad eficientes.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Muestras problema: Tráquea, pulmón, bazo y riñón. Los órganos deben estar empacados en forma individual, en refrigeración con PBS o en congelación. Los hisopos cloacales y/o traqueales deben transportarse inmersos en PBS con penicilina estreptomina al 1%.

1.- Preparación del inóculo:

a) Pesar los órganos y hacer una suspensión al 20% en el caldo infusión de corazón y cerebro o PBS.

b) Triturar en el homogeneizador o con un mortero. El homogeneizado se transfiere a un tubo de centrífuga. Centrifugar durante 15 minutos a 5,000 r.p.m.

c) Colectar el sobrenadante y agregar antibióticos: 5,000 a 10,000 U.I. de penicilina y 10 a 100 mg de estreptomina por mililitro de inóculo o filtrar con membranas de nitrocelulosa.

d) Dejar actuar a los antibióticos durante 30 minutos, conservando la muestra en refrigeración.

2.- Inoculación de embriones de pollo:

a) Revisar los embriones de pollo para certificar la edad, viabilidad y localizar el embrión; en el extremo opuesto al lugar donde se encuentra el embrión se debe delimitar la cámara de aire y marcar el punto de inoculación, éste debe estar localizado del lado opuesto al embrión y a una distancia aproximada de 3 mm por encima del límite de la cámara de aire.

b) Desinfectar el cascarón con alcohol al 70% y perforarlo en el punto marcado.

c) Inocular cuando menos 5 embriones por cada inóculo, aplicando 0.2 ml vía cavidad alantoidea.

d) Sellar los embriones e incubar a 37° C durante 5 a 7 días. Revisar con el ovoscopio cada 24 horas.

Los embriones que mueran durante a las 24 horas postinoculación deben descartarse. Esta mortalidad puede deberse a contaminación bacteriana, toxicidad o traumatismo.

La embriones muertos a las 48 horas se refrigeran y posteriormente se colecta el líquido amnioalantoideo.

3. Identificación del virus de la I.A.:

a) En una caja de Petri se colocan 3 gotas de líquido alantoideo colectado en diferentes áreas y separadas suficientemente una de otra. A una de las gotas se le agrega un volumen igual de suero testigo positivo contra el virus de Influenza Aviar; en la siguiente, suero testigo positivo contra el virus de la Enfermedad de Newcastle y en la tercera solamente solución salina. Se permite efectuar la reacción antígeno-anticuerpo durante 5 minutos.

b) Se agrega una gota de la suspensión de eritrocitos de pollo a cada una de las mezclas y se agita manualmente en forma circular durante 1 minuto.

Fórmulas de cálculo

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

Observar al microscopio. Después de 5 minutos los eritrocitos en la mezcla de solución salina y líquido amnioalantoideo debe presentar aglutinación de eritrocitos. Esto indica la presencia de un virus hemoaglutinante.

En la mezcla del suero testigo positivo contra Influenza Aviar y el líquido alantoideo conteniendo el virus hemoaglutinante, no debe existir aglutinación de eritrocitos, esto significa que los anticuerpos bloquean la actividad hemoaglutinante del virus de Influenza Aviar, confirmando la presencia de éste.

Con el suero testigo positivo contra la Enfermedad de Newcastle la actividad hemoaglutinante del virus no debe inhibirse.

Si el resultado es negativo deben de efectuarse pruebas de precipitación en agar para determinar la presencia de las proteínas de la envoltura viral comunes para todos los virus de Influenza Aviar.

Si la prueba de inmunodifusión en gel es positiva deberá determinarse el subtipo de hemoaglutinina y neuraminidasa presentes en el virus aislado utilizando los sueros específicos de referencia.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor a un 90% si se sigue el método descrito con reactivos y biológicos semejantes.

Bibliografía

Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

A laboratory Manual for the Isolation and Identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists. Third Edition. USA. 1989. 2.- Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

Manual de Técnicas de Diagnóstico para Influenza Aviar. Laboratorio de diagnóstico de la Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales. México, 1995.

Hemagglutination and Hemagglutination-Inhibition for Influenza Aviar. Aviar Section NVSL.

Título

Prueba de inmunodifusión en gel de agar (IGA) para diagnóstico de Influenza Aviar (IA)
--

Objetivo

Determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la Influenza Aviar.

Identificar el antígeno lipoproteico de la envoltura del virus de la Influenza Aviar.

Campo de aplicación

Determinar la presencia de anticuerpos contra antígenos de grupo del virus de la Influenza Aviar, en aves vacunadas o que han sufrido esta enfermedad.

Documentos conexos a consultarse.

Norma Oficial Mexicana NOM-044-Z00-1995, Campaña Nacional contra la Influenza Aviar.

Generalidades

La IGA es la migración concurrente de un antígeno y un anticuerpo a través de una matriz de gel de agar. Cuando el antígeno y los anticuerpos se ponen en contacto se combinan, formando líneas de precipitación visibles.

Equipo e instrumentos:

1.- Lámpara de observación en fondo oscuro.

2.- Micropipeta de 100 microlitros.

3.- Sacabocados de 5 mm.

Material:

1.- Cajas de Petri, 100 x 15 mm.

2.- Puntas para micropipeta.

Reactivos

Reactivos y soluciones:

1.- Agarosa grado reactivo para electroforesis o agar noble.

2.- Cloruro de sodio. NaCl.

3.- Fosfato de sodio dibásico anhidro. NaH_2PO_4 .

4.- Fosfato de sodio monobásico anhidro. Na_2HPO_4 .

Biológicos:

1.- Antígeno soluble del virus de Influenza Aviar para IGA.

2.- Suero testigo positivo contra el virus de Influenza Aviar (factor para reforzar las líneas de precipitación).

Condiciones ambientales

De laboratorio, con medidas de bioseguridad.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Muestras de sueros sospechosos.

Procedimiento

a) Preparar agarosa al 1% en solución salina fosfatada 0.15 M con un pH 7.2, adicionando 8.5% de cloruro de sodio.

b) Fundir la agarosa mediante ebullición o en autoclave durante 10 minutos a 120° C.

c) Distribuir 20 ml de agarosa fundida en cajas de petri de 100 x 15 mm. Dejar que el agar solidifique destapando parcialmente las cajas de petri durante 1 hora. Tapar y conservar en refrigeración.

d) Utilizando la plantilla sacabocados, cortar el número de grupos de pozos necesarios para los sueros que se han de procesar.

e) Con una cánula y un aspirador quitar el agar que se ha separado al cortar los pozos.

f) Con la cánula hacer una marca próxima al pozo que se denominará pozo número 1, los demás pozos se enumeran en el sentido de las manecillas del reloj.

g) Identificar y hacer una relación exacta de los sueros que se someten a la prueba.

h) Llenar el pozo central con el antígeno y los pozos periféricos con los sueros, colocándolos en el siguiente orden:

i) Con la micropipeta de 100µl, se colocan en los pozos 1, 3 y 5 el suero positivo (de refuerzo) y en los pozos 2, 4 y 6 los sueros problema. Se emplea una punta para micropipeta por cada suero.

j) Una vez colocados los sueros, la caja de petri se tapa y se deja a temperatura ambiente durante 24 horas, después de las cuales se efectuará la lectura.

Fórmulas de cálculo

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de los resultados

El suero positivo (de refuerzo) siempre formará una línea de precipitación equidistante respecto al pozo central (antígeno). Si la reacción de los sueros problema es positiva, se forman líneas de precipitación que se unirán con las del suero control positivo dando lugar a líneas de identidad total.

Los resultados obtenidos son cualitativos.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor a un 90% si se sigue el método descrito con reactivos y biológicos semejantes.

Bibliografía

Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

A laboratory Manual for the Isolation and Identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists. Third Edition. USA. 1989. 2.- Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

Manual de Técnicas de Diagnóstico para Influenza Aviar. Laboratorio de diagnóstico de la Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales. México, 1995.

Título

Inhibición de la Hemoaglutinación (IH) para el diagnóstico de la Influenza Aviar (IA)

Objetivo

Determinar la presencia y cuantificar anticuerpos específicos contra el virus de la Influenza Aviar presentes en el suero, sangre absorbida en papel filtro o yema de huevo de aves vacunadas o que han sufrido una infección con este virus.

Campo de aplicación

Operativo de control y erradicación de la Influenza Aviar en México.

Documentos conexos a consultarse.

Norma Oficial Mexicana NOM-044-Z00-1995, Campaña Nacional Contra la Influenza Aviar.

Generalidades

La IH es la interacción de anticuerpos específicos con la hemoaglutinina homóloga del virus de la IA, evitando la aglutinación de los eritrocitos de pollo.

Equipo e instrumentos:

1.- Agitador para microplacas.

2.- Centrífuga clínica.

3.- Espectrofotómetro.

4.- Incubadora para embrión de pollo.

5.- Lector para microplacas.

6.- Microaglutinoscopio.

7.- Micropipeta multicanal con volumen ajustable de 100 a 200 µl.

8.- Micropipeta multicanal con volumen ajustable de 25 a 50 µl.

9.- Ovoscopio.

10.- Potenciómetro o tiras de papel indicador de pH.

11.- Punzón para perforar el embrión de pollo.

12.- Refrigerador doméstico.**Materiales:**

- 1.-** Contenedores de plástico para reactivos.
- 2.-** Frascos de plástico o vidrio con tapón de baquelita.
- 3.-** Jeringas de 5 y 10 ml.
- 4.-** Microplacas con fondo en "U".
- 5.-** Microplacas con fondo plano.
- 6.-** Puntas para micropipetas.
- 7.-** Tubos de ensayo.

Reactivos**Reactivos y soluciones:**

- 1.-** Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS), pH de 7.2 a 7.4. preparada de la siguiente forma:

Solución A: Na_2HPO_4 anhidro 0.15 M (21.3 g) + NaCl 8.5 g + 1 l de agua destilada.

Solución B: NaH_2PO_4 anhidro 0.15 M (19.0 g) + NaCl 8.5 g + 1 l de agua destilada.

Solución de trabajo: Solución A (80 ml) + solución B (20 ml) con lo cual queda ajustada a un pH de 7.2 a 7.4.

- 2.-** Diluyente para el antígeno: Se emplea la solución de trabajo adicionada con 0.02% de albúmina sérica bovina.

- 3.-** Anticoagulante de Alseaver para la muestra de sangre de pollo de donde se obtendrán los eritrocitos utilizados en la prueba.

Dextrosa 20.5 g + citrato de sodio 0.8 g + ácido cítrico 0.55 g + cloruro de sodio 4.2 g + 1 l de agua destilada.

Esterilizar en autoclave a 100° C durante 15 minutos.

Biológicos:

- 1.-** Huevos embrionados de pollo de 9 a 11 días de incubación.
- 2.-** Eritrocitos de pollo lavados a una concentración final de 0.5% en PBS, los cuales se procesan de la siguiente manera:
 - a)** Se colecta una muestra de sangre de un pollo sano con el anticoagulante de Alseaver (v/v).
 - b)** Se lavan los eritrocitos en un tubo para centrifuga colocando un volumen de sangre con Alseaver y llenando el tubo con PBS.

- c)** Invertir el tubo varias veces para suspender perfectamente los eritrocitos.

- d)** Centrifugar la sangre de 500 a 800 rpm, durante 10 minutos.

- e)** Eliminar el sobrenadante y la capa de leucocitos (capa blanca).

- f)** Llenar nuevamente el tubo con la PBS.

- g)** Repetir el ciclo de lavado y centrifugación 2 veces más. Posteriormente, diluir los eritrocitos a una concentración final de 0.5% en PBS sin albúmina.

- 3.-** Suero testigo positivo contra el serotipo de virus que se utiliza en la prueba.

- 4.-** Antígeno viral (H5N2) inactivado.

Titulación del antígeno:

- a)** Inocular huevos embrionados de pollo de 9 a 11 días de incubación con 0.1 ml. de una dilución 10-3 de la cepa viral, vía cavidad alantoidea.

- b)** Incubar los huevos inoculados a 35-36° C por 3 días. Revisarlos diariamente; descartar los muertos dentro de las primeras 24 horas. Refrigerar los huevos con embriones aún vivos a 4° C durante toda la noche y cosechar el fluido alantoideo (FA) de todos los huevos (con embriones vivos o muertos).

- c)** Inactivar el virus con beta-propiolactona (BPL) a una concentración final de 0.01% por 2 horas a temperatura ambiente, después dejar toda la noche a 4° C. La suspensión de virus debe ser agitada o mezclada constantemente durante todo el proceso de inactivación. La BPL es un carcinógeno y debe ser manejada cuidadosamente.

- d)** Después de la inactivación, ajustar el pH del FA de 7.0 a 7.2 usando bicarbonato de sodio al 10% (usualmente se requieren de 1-2 ml./100 ml. de FA).

- e)** Comprobar la ausencia de virus viable en el FA inoculando huevos embrionados de pollo, con una dilución (generalmente 1:10) de la preparación viral inactivada.

- f)** Centrifugar el antígeno a 1500 rpm, por 30 minutos para eliminar los precipitados que puedan haberse formado durante el proceso de inactivación.

Condiciones ambientales

De laboratorio a temperatura óptima entre 18-20° C con medidas de bioseguridad.

Preparación y acondicionamiento de la muestra**1.- Titulación del antígeno por la prueba de hemoaglutinación (HA).**

El principio de la HA se basa en la capacidad de la hemoaglutinina, una de las dos glicoproteínas presentes en la superficie de los ortomixovirus, de unirse a receptores que se encuentran en la membrana de los eritrocitos.

La HA se produce cuando la proporción de la hemoaglutinina viral y la de eritrocitos es óptima, permitiendo la unión de varios eritrocitos adyacentes a una unidad de hemoaglutinina. Esto tiene por objeto detectar y cuantificar la presencia de virus hemoaglutinantes aislados y propagados en huevos embrionados o en cultivos celulares.

Titulación del antígeno por HA:

a) Colocar 50 microlitros de diluyente para el virus en cada uno de los 12 pozos de dos filas de una microplaca con fondo en "U".

b) Agregar 50 microlitros en el primer pozo de cada fila.

c) Utilizando micropipeta de 50 microlitros, se efectúan diluciones Log2 seriadas (de 1:2 a 1:1024) del antígeno dejando los 2 últimos pozos de cada fila sin antígeno para que sirvan como control de eritrocitos.

d) Agregar 50 µl de la suspensión de eritrocitos al 0.5% a cada pozo y agitar la microplaca para mezclar los reactivos.

e) Cubrir la microplaca e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Realizar la lectura hasta que se forme un botón bien delimitado en el fondo de los pozos control de eritrocitos.

Interpretación de la titulación del antígeno:

El punto final de la titulación será en la dilución más alta del antígeno en la que se observe el 100% de hemoaglutinación. Se considera que en esta dilución existe una unidad hemoaglutinante (UHA).

La dilución conteniendo las UHA deseadas del antígeno se determina dividiendo el punto final de la HA entre el número de unidades

2.- Muestras de suero.

a) Identificar con exactitud las muestras problema que se someterán a la prueba.

b) Diluir los sueros en una microplaca con fondo plano identificada como "placa de la dilución inicial" (dilución 1:5), depositando en todos los pozos 100 microlitros de PBS y, posteriormente, depositar 25 microlitros de cada suero en el pozo respectivo, siguiendo el orden secuencial de las muestras. Ejemplo: En el pozo A1 colocar el suero No. 1; en el pozo A12 el suero No. 12; en el pozo B1 el suero No. 13 y así sucesivamente hasta el pozo H12 en el cual se colocará el suero No. 96.

3.- Muestras de sangre en papel filtro.

a) Hacer una relación exacta de las muestras que se someterán a prueba.

b) Reconstituir las muestras en una microplaca con fondo plano identificada como "placa de la dilución inicial" (dilución 1:5). En el extremo de la tira de papel filtro en el que se encuentra la muestra, cortar un trozo de 2 mm de largo, y colocarlo en uno de los pozos de la microplaca (puesto que el papel mide 50 x 5 mm, 2 mm de largo, tendrán una superficie de 10 mm² que absorberán los 25 microlitros de la muestra que se requieren para la dilución indicada previamente).

c) Depositar 100 microlitros de PBS en cada pozo que contenga una muestra.

e) Agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente.

4.- Muestras de yema de huevo.

a) Identificar perfectamente y ordenar los grupos de huevo que se someterán a la prueba colocándolos con la cámara de aire hacia arriba.

b) Con un punzón, perforar el polo superior del cascarón.

c) Obtener 0.5 ml de la yema, utilizando una jeringa de 5 ml con aguja calibre 14 x 37 mm introduciendo la aguja aproximadamente 3 cm a través de la perforación hasta llegar a ésta.

d) Vertir una gota de la yema en un pozo de una microplaca con fondo plano identificada como "placa de la dilución inicial" para realizar la dilución de inicio (1:5), utilizando un pozo por cada muestra (una gota de la yema equivale a un volumen de 50 microlitros).

e) Agregar 200 microlitros de PBS en cada uno de los pozos que contienen una muestra y agitar durante 30 minutos.

Estas microplacas con la dilución inicial podrán sellarse y conservarse en congelación para efectuar pruebas posteriores.

Procedimiento

Prueba de la IH (prueba tamiz).

a) Con una micropipeta de 12 canales, transferir 25 microlitros de las muestras de cualquiera de los casos antes mencionados, a la línea de pozos A1 al A12 de la microplaca de la dilución inicial (dilución 1:5) a la primera línea de pozos de una microplaca con fondo en "U" en la que se efectuará la prueba y en la que previamente se hayan colocado 25 microlitros de PBS para la realización de dos diluciones dobles seriadas.

b) Mezclar las muestras y transferir 25 microlitros de los pozos de la línea A a la B, se mezclan nuevamente y se descartan 25 microlitros. En la línea A la dilución quedará 1:10 y en la línea B será 1:20.

c) Esta operación se repite con los demás sueros empleando 2 pozos por cada suero. En cada microplaca de prueba se debe tener un suero positivo y eritrocitos sólo con PBS como testigos.

d) Una vez efectuadas las diluciones agregar 25 microlitros del antígeno de Influenza Aviar, diluido en el "Diluyente para el antígeno", conteniendo 4 UHA/25 microlitros. Cubrir, agitar e incubar la microplaca a temperatura ambiente durante 30 minutos.

La dilución conteniendo las 4 UHA del antígeno que se requieren para la prueba se determina dividiendo el punto final de la HA entre el número de unidades deseadas. Ejemplo: Título del antígeno = 256 UHA, unidades deseadas = 4 ($256/4 = 64$), haciendo una dilución 1:64 se obtendrán 4 UHA en 25 microlitros. Después de agregar la dilución del antígeno se deberá comprobar el número de UHA utilizadas en la prueba.

e) Agregar 50 microlitros de la suspensión de eritrocitos de pollo al 0.5% a cada pozo, cubrir y agitar la microplaca e incubar a temperatura ambiente hasta que los eritrocitos testigo sedimenten hasta formar un botón bien delimitado (30-45 minutos).

f) Algunos sueros contienen aglutininas naturales que aglutinan en forma inespecífica a los eritrocitos y si no se eliminan pueden obtenerse resultados erróneos (falsos negativos). Estas reacciones inespecíficas en las diluciones iniciales pueden evitarse diluyendo los sueros 1:10 y empleando ésta como dilución inicial.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

Prueba de la IH.

Esta prueba se lee cuando los eritrocitos testigo sedimenten, formando un botón circular, con bordes bien delimitados, en el fondo del pozo.

La inhibición de la hemoaglutinación producida por los sueros positivos tiene un patrón semejante al de los eritrocitos testigo, un botón circular con bordes definidos que se desliza tomando la forma de una gota en el fondo del pozo, al inclinar la microplaca en un ángulo de 45°.

Cuando los sueros son negativos y no alcanzan a inhibir la acción hemoaglutinante del antígeno, los eritrocitos se sedimentan formando una capa uniforme en el fondo de los pozos.

Deberá efectuarse la titulación para determinar el punto final de las muestras que resulten positivas en esta prueba tamiz, realizando un número mayor de diluciones Log2 seriadas. Todos los sueros que produzcan inhibición de la hemoaglutinación en la dilución 1:10 deben considerarse positivos.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor al 95% si se sigue estrictamente el método descrito, con reactivos y biológicos semejantes.

Bibliografía

Haemagglutination and Haemagglutination Inhibition for Avian Influenza. Avian Section, National Veterinary Service Laboratory, USDA.

Haemagglutination and Haemagglutination Inhibition Test Official. Journal of the European Communities, No. 1 167/11.

Manual de Técnicas de Diagnóstico para Influenza Aviar. Laboratorio de diagnóstico de la Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales. México, 1995.

Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

Métodos para Expresar las Tasas de Anticuerpos. Thrusfield, M. Epidemiología Veterinaria. Ed. Acibia. España, 1990.

9. Salmonelosis Aviar

Título

Aislamiento e identificación de *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum*

Objetivo

Aislamiento e identificación de *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum* a partir de especímenes Aviares.

Campo de aplicación

Para la obtención de la constancia de parvadas, granjas, empresas, aves libres y en control; así como para el muestreo en regiones o zonas de erradicación tendientes a su liberación.

Documentos conexos a consultarse

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

Generalidades

La salmonelosis de las aves causada por *Salmonella pullorum* o *Salmonella gallinarum* es una enfermedad que afecta a las gallinas, pavos, pollos, patos, faisanes, guajolotes, aves de combate, aves de ornato, aves canoras y aves silvestres comerciales en producción o crianza. La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural mantiene un programa de campaña para su control, erradicación y liberación.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Balanza granataria.
- 2.- Congelador.
- 3.- Digestor.
- 4.- Estufa bacteriológica.
- 5.- Mecheros.
- 6.- Microscopio óptico.
- 7.- Refrigerador.

Materiales:

- 1.- Asas bacteriológicas.
- 2.- Cajas de Petri de 15 x 100.
- 3.- Charolas.
- 4.- Espátulas.
- 5.- Frascos de cristal medianos esterilizables (tipo Gerber).
- 6.- Morteros de porcelana.
- 7.- Pinzas.
- 8.- Portaobjetos.
- 9.- Tijeras.
- 10.- Tubos de vidrio c/tapón de rosca.

Reactivos.

Medios de cultivo requeridos para el aislamiento de *S. pullorum* y *S. gallinarum*.

a) Caldos selectivos de enriquecimiento:

- Caldo tetracionato con verde brillante.
- Caldo tetracionato.
- Caldo selenito.

b) Medios de cultivo:

- Agar MacConkey.
- Agar verde brillante.

c) Medios para bioquímica:

- Citrato de Simmons
- LIA
- MIO
- SIM
- TSI
- Urea

d) Medios para bioquímica complementarios:

- Caldo malonato.
- Dulcitol.
- Glucosa con tubo Durham.
- Lactosa.
- Maltosa.
- Sacarosa.

Biológicos**e) Antisueros requeridos para serotipificación:**

- Antisuero polivalente A-I 8c Vi.
- Antisuero somático ("O") grupo D1 Fact 1, 9, 12.

Condiciones ambientales.

De laboratorio.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Las muestras de hígado, bazo, vesícula biliar, ovarios, testículos, tonsilas cecales, páncreas, médula ósea, saco vitelino y embriones no requieren de un tratamiento específico antes de su análisis, sólo su conservación en refrigeración en frascos o bolsas estériles de plástico o polietileno.

Los hisopos cloacales y/o hisopos con heces frescas se deben enviar en recipientes estériles, herméticamente cerrados, deben contener agua peptonada o cualquier otro medio de transporte adecuado para el género *Salmonella* y deben conservarse en refrigeración.

Las harinas de origen Aviar deben ser remitidas en bolsas de polietileno.

El huevo debe remitirse en bolsas de papel refrigerado.

Procedimiento

Método para el aislamiento de *S. pullorum* y *S. gallinarum*:

Colocar la muestra en caldo selectivo de enriquecimiento en una proporción de 1:10 muestra-caldo y/o inocular en medios sólidos selectivos.

Incubar durante 24 Hrs. a 37° C. En caso de ser negativo el crecimiento a *Salmonella sp*; reseminar a las 48 y 72 Hrs. antes de desechar el medio líquido.

Inocular colonias sospechosas a medios para identificación bioquímica. Incubar durante 24 Hrs. a 37 °C.

Proceder a la serotipificación.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

Se considera negativo el resultado cuando después de sembrar a las 24, 48 y 72 horas no hay crecimiento o colonias sospechosas de a *Salmonella*.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor al 95% se sigue estrictamente el método descrito.

Bibliografía o referencia

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

A Laboratory Manual for the Isolation and identification of avian pathogens. Third ed. 1989. The American Association of avian pathologists.

Título.

Aglutinación rápida en placa con suero o sangre completa (APSP) para diagnóstico de salmonelosis Aviar.

Objetivo.

Detección de anticuerpos en aves portadoras de *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum*.

Campo de aplicación.

Para la obtención de la constancia de parvadas progenitoras y reproductoras libres de salmonelosis Aviar.

Documentos conexos a consultarse.

Norma Oficial Mexicana NOM-005-ZOO-1993 Campaña nacional contra la salmonelosis Aviar.

Generalidades.

Esta prueba puede ser aplicada como prueba de campo o en el laboratorio aprobado por la Secretaría como complementaria a la bacteriológica.

Equipo e instrumentos.

1.- Aglutinoscopio metálico o de madera con fuente de luz para facilitar la lectura.

2.- Cronómetro.

Materiales.

1.- Aguja para sangrado.

2.- Algodón o toallas desechables.

3.- Asa bacteriológica de 0.03 ml, tubo capilar de vidrio, gotero, pipeta graduada o pipeta Pasteur.

4.- Palillos de madera.

5.- Placa de vidrio para la prueba de aglutinación o portaobjetos.

Reactivos.

Biológicos.

Antígeno K polivalente de *Salmonella pullorum* coloreado con cristal violeta compuesto por las siguientes cepas:

- Cepa intermedia 4
- Cepa estándar 11
- Cepa variante 77
- Cepa variante 79
- Cepa variante 269
- Sueros testigos, positivos y negativos.

Condiciones ambientales.

La temperatura óptima para llevar a cabo la prueba es de 20 a 22 grados centígrados, si ésta es mayor, ocurrirá una más rápida evaporación o dará aglutinación de tipo inespecífica; por el contrario, si es menor, la reacción será más lenta.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Deben tomarse las precauciones necesarias para mantener cautivas las aves que se van a muestrear.

Para el caso de muestras de suero, éste debe ser conservado en condiciones de refrigeración, con la previa separación del coágulo, las muestras no deben estar hemolizadas.

Procedimiento

Se coloca una gota de 0.03 ml del antígeno K polivalente en la placa, se punciona la vena del ala (vena braquial) cerca de la articulación húmero radio cubital y se toma una gota de sangre con una asa bacteriológica o tubo capilar, se procede a mezclar la sangre con el antígeno teñido y se agita la placa 3 o 4 veces. Si el suero aún no se ha separado del coágulo, se debe centrifugar la muestra a 2500 rpm durante 10 minutos, posteriormente, colocar 0.03 ml del antígeno K polivalente sobre la placa de vidrio, agregar 0.03 ml del suero problema, mezclar perfectamente el suero y el antígeno con un palillo de madera, utilizando un palillo para cada muestra, mover la placa con 3 o 4 movimientos rotatorios en forma manual.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

El resultado de la prueba se considera positivo si la aglutinación ocurre entre cero y noventa segundos después de mezclar la muestra de sangre o del suero con el antígeno.

El resultado de la prueba se considera sospechoso si la aglutinación ocurre entre noventa y ciento veinte segundos después de mezclar la muestra de sangre o suero con el antígeno.

El resultado de la prueba se considera negativo si la aglutinación ocurre después de 120 segundos posteriores a la mezcla de la muestra de sangre o suero con el antígeno.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor al 95% se sigue estrictamente el método descrito.

Bibliografía o referencia

Norma Oficial Mexicana NOM-005-ZOO-1993 Campaña Nacional contra la Salmonelosis Aviar.

García R.T. y Córdoba P.R.: Manual ilustrado de técnicas de laboratorio utilizados en bacteriología y micología veterinarias. 1988. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, IICA.

10. Diagnóstico taxonómico de garrapatas

Título

Diagnóstico taxonómico de garrapatas.

Objetivo

Identificación taxonómica de las garrapatas de mayor importancia en México.

Campo de aplicación

La metodología aquí descrita es para aplicarse en los laboratorios de pruebas que realizan el diagnóstico de las infestaciones por garrapata de uno y tres huéspedes comunes en el ganado bovino.

En el presente apartado se describen brevemente las características morfológicas de algunos géneros de garrapatas para su identificación. Aunque las claves aquí señaladas no permiten determinar todas las especies que se conocen en nuestro país, brindan orientación en cuanto a los tipos de garrapatas predominantes en la infestación de los animales.

Documentos conexos a consultarse

NOM-019-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la Garrapata *Boophilus* spp.

Equipo e instrumentos:

1.- Microscopio estereoscópico.

2.- Lámpara de restirador.

Materiales:

1.- Cajas de Petri desechables o de cristal.

2.- Plastilina.

3.- Aguja de disección.

4.- Pinzas de relojero o de disección.

Reactivos:

1.- Alcohol 70%.

Condiciones ambientales

No se requieren en especial.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

No hay requerimientos.

Procedimiento

Para efectos de una adecuada clasificación se explican inicialmente los términos utilizados para la taxonomía.

Ambulacro.- También conocido como pulvilo, es un órgano adhesivo que se encuentra en el extremo distal del tarso y sirve de base a las garras. Se encuentra más desarrollado en la familia Ixodidae que en la Argasidae.

Camerostoma.- Es un repliegue del idiosoma que sirve para alojar el gnatosoma.

Capuchón.- Es un borde del camerostoma que puede cubrir total o parcialmente el gnatosoma, encontrándose muy desarrollado en el género *Ornithodoros* spp, perteneciente a la familia Argasidae.

Coxa.- Pequeñas placas muy esclerotizadas de posición ventral, que representan el primer artejo de las patas. A cada coxa se le une un trocánter móvil. Se designan con números romanos de la parte anterior a la posterior del idiosoma.

Cuernos.- Proyecciones quitinosas del borde posterior de la base del gnatosoma en sus porciones laterales.

Dientes.- Proyecciones pequeñas y curvas, sobre la zona ventral del hipostoma.

Escudo.- Placa dorsal muy esclerotizada, de posición posterior al gnatosoma en las garrapatas duras. Cubre casi por completo la superficie dorsal del idiosoma del macho, y aproximadamente la mitad de esta superficie en la hembra poco repleta.

Escotadura.- Hendiduras o concavidades presentes en las coxas, porciones de los miembros y placas adanales.

Espolones.- Proyecciones redondeadas y puntiagudas, pequeñas o grandes de la superficie o del margen posterior de las coxas. Las proyecciones situadas sobre la cara media se llaman espolones internos y las de la cara lateral se denominan espolones externos. Estas estructuras también se presentan en el extremo distal de los tarsos.

Espina.- Sinónimo de espolón.

Espina caudal.- Proyección quitinosa del borde posterior del idiosoma.

Festones.- Áreas rectangulares uniformes, separadas por surcos bien patentes, que se localizan en el borde posterior del idiosoma de muchos géneros de garrapatas duras, tanto en machos como en hembras, pudiendo presentarse leves o muy marcados, según estado de repleción y, según el género, varían en número de 7 a 11.

Genital, orificio.- Abertura externa de los órganos sexuales, presentes sólo en el estadio adulto hembras o machos, ausente, en el estadio ninfal y larval. En los machos de la familia Ixodidae tiene forma de ranura, y en las hembras de la misma familia su forma generalmente es de "U". En especímenes poco repletos se encuentra situado a la altura del 2o. par de coxas sobre la línea media. En los machos de la familia Argasidae es en forma de una semi-luna, y en las hembras es en forma de ranura, se encuentra situado a la altura del primer par de coxas.

Globuloso.- También conocidos como Anillos o Esferas, son estructuras circulares localizadas en las placas estigmatales y varían en tamaño y número, según género y especie.

Gnatosoma.- Porción anterior y móvil del idiosoma de las garrapatas duras (Ixodidae), que incluye la base del gnatosoma, pedipalpos, hipostoma y quelíceros. Localizado ventralmente en las garrapatas blandas (Argasidae).

Hipostoma.- Estructura que forma parte del gnatosoma, localizado ventralmente y en el que se asientan los dientes, su forma puede ser en forma de mazo o de punta de flecha.

Línea de sutura.- Línea bien perceptible del cuerpo de las garrapatas del género *Argas*, que marca la separación entre la superficie dorsal y ventral.

Mamelón.- Protuberancia quitinosa de forma esferoide, presente en el borde interno de los festones.

Orificio anal.- Abertura por la cual se desechan los productos finales de la digestión. Está situado ventralmente sobre la línea media y posterior al último par de patas.

Ornamentos.- Dibujos o estructuras que se localizan sobre la superficie del escudo o del tegumento.

Patas.- Organos de locomoción, formados por seis artejos: coxa, trocánter, fémur, tibia, pretarso y tarso, este último lleva las uñas y otras estructuras como el ambulacro.

Placa estigmatal.- Organos respiratorios en número par, localizados a los lados en la superficie del cuerpo de las garrapatas y atrás del último par de coxas en los ixodidos y entre el 3er. y 4o. par de coxas en los argásidos. Están presentes en los estados ninfal y adulto, su forma puede ser oval, redonda o en forma de coma.

Placas accesorias.- Estructuras quitinosas, alargadas, situadas en la porción posterior y ventral del idiosoma al lado externo de las placas adanales.

Placas adanales.- De la misma naturaleza y forma de las anteriores, se encuentran situadas en porción posterior y ventral del idiosoma a los lados del orificio anal.

Pedipalpos.- Son estructuras que forman parte del gnatosoma, están en números par y articulados, se localizan a los lados del hipostoma y los quelíceros.

Porosas, áreas.- Depresiones pares que se localizan en la base del gnatosoma de las hembras de la familia ixodidae únicamente.

Protuberancia.- Cualquier elevación o prominencia en una superficie.

Quelíceros.- Estructuras pares de situación dorsal al hipostoma, sirven para cortar la piel del huésped y como órganos de fijación.

Repleta.- Agrandamiento o distensión de una garrapata después de una ingestión de sangre. Como el escudo de las garrapatas hembras de la familia Ixodidae es parcial, permite esta distensión. Cuando la garrapata está llena de sangre, el escudo se aprecia como una pequeña placa en la parte anterior del idiosoma. En los Argasidae, el escudo no existe en ambos sexos, por lo que, tanto el macho como la hembra, llegan a agrandarse pero no en la misma proporción que las hembras de las garrapatas duras.

Surco anal.- Se presenta en toda la familia ixodidae situado posterior al ano, a excepción del género *Ixodes* en el que es preanal.

Tegumento.- La cubierta más exterior, llamada también cutícula, del cuerpo de las garrapatas.

Vestigial.- Rudimentario, de escaso desarrollo.

Una vez que se tiene conocimiento de los nombres de las diferentes estructuras externas de una garrapata, se procede a su identificación. En los cuadros que se anexan pueden identificarse algunas de las partes referidas en este glosario de términos.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Lámpara para restirador.
- 2.- Microscopio estereoscópico o lupa.

Materiales:

- 1.- Aguja de disección.
- 2.- Papel blanco .
- 3.- Papel secante.
- 4.- Plastilina blanca.

Reactivos:

- 1.- Alcohol etílico al 70%.

Procedimiento

Una vez eliminado el exceso de líquido conservador, fijar el espécimen en plastilina. Si la garrapata está repleta, es aconsejable extraer su contenido mediante punción de la parte ventral del Idiosoma. El primer reconocimiento deberá iniciarse por la región dorsal, con el auxilio de una lupa o microscopio estereoscopio.

Claves para la identificación de garrapatas:

- 1.- Longitud de pedipalpos.

a) Cortos y gruesos. Géneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y *Anocentor*.

b) Cortos en forma de aisladores de luz. Género *Boophilus*.

c) Cortos y el segundo par de artejos ensanchados lateralmente en forma de campana. Género *Haemaphysalis*.

d) Largos y delgados, más largos que la base del gnatosoma y el 2o. par de artejos el doble de largos que de ancho. Género *Amblyomma*.

e) Largos, el 2o. y el 3er. par de artejos más o menos de igual medida. Género *Ixodes*.

f) No visible dorsalmente en ninfas ni adultas y visibles en larvas. Familia Argasidae.

2.- Base del Gnatosoma.

a) De forma cuadrangular. Género *Dermacentor* y *Anocentor*.

b) De forma hexagonal ensanchada lateralmente. Género *Boophilus* y *Rhipicephalus*.

c) De forma pentagonal ensanchada en la base y acortado en el vértice. Género *Amblyomma*.

d) De forma cuadrangular y pequeño. Género *Haemaphysalis*.

e) De forma pentagonal ensanchada en sus lados. Género *Ixodes*.

f) No visible dorsalmente. Familia Argasidae.

3.- Escudo en hembras.

a) Pequeño de color café rojizo sin dibujos ornamentales. Género *Boophilus*.

b) Regular tamaño, con bordes angulados, puede presentar muchos o pocos dibujos ornamentales en color blanco verdoso. Género *Dermacentor*.

c) Ocupa una cuarta parte del total del idiosoma con muchos dibujos ornamentales. Género *Amblyomma* a excepción de las especies *Amblyomma inornatum*, y *Amblyomma parvum*.

d) Pequeño en forma semicircular sin dibujos ornamentales. Género *Ixodes*.

e) Pequeño, de color café rojizo sin dibujos ornamentales. Género *Anocentor*, *Haemaphysalis* y *Rhipicephalus* (pueden confundirse con *Boophilus*).

f) Carecen de escudo. Familia Argasidae.

4.- Escudo en Machos.

a) De color café rojizo. Géneros *Boophilus*, *Anocentor*, *Haemaphysalis* y **b)** Nada, muchos o pocos dibujos ornamentales en color blanco-verdoso. Género *Dermacentor*.

c) Abundantes dibujos ornamentales, exceptuando las especies *Amblyomma inornatum* y *Amblyomma parvum*; en colores metálicos, plateado, dorado y blanco verdoso. Género *Amblyomma*.

d) Carece de dibujos ornamentales, siendo de color café oscuro. Género *Ixodes* y *Haemaphysalis*.

e) Carecen totalmente de escudo. Familia Argasidae.

5.- Festones.

a) Ligeramente marcados ocasionalmente en hembras, y no distinguibles fácilmente en machos. Género *Boophilus*.

b) Perceptibles a simple vista en machos y hembras poco repletos. Género *Amblyomma*.

c) Pueden ser muy marcados en algunas especies o poco perceptibles en otras. Géneros *Dermacentor* y *Haemaphysalis* (en hembras repletas no se aprecia).

d) En número de 7 poco perceptibles. Género *Anocentor*.

e) Poco perceptibles en hembras, perceptibles en machos, presentando un alargamiento y ensanchamiento ligero en el festón central. Género *Rhipicephalus*.

f) Carecen totalmente. Género *Ixodes*.

g) No presentan. Familia Argasidae.

Estructuras a considerar en la región ventral:

1.- Base del Gnatosoma:

No existe mucha diferencia de la vista dorsal. Familia *Ixodidae*. Implantación ventral. Familia Argasidae.

2.- Pedipalpos:

Al igual que en examen dorsal se ve su forma y longitud. Familia *Ixodidae*. Semejante a patas. Familia Argasidae.

3.- Hipostoma:

Tanto en la familia *Ixodidae* como Argasidae presenta forma de mazo o de punta de lanza.

4.- Orificio genital:

Con macho y hembra de *Ixodidae* y Argasidae.

Sin ninfas y larvas de *Ixodidae* y Argasidae.

5.- Miembros locomotores:

Con tres pares de patas, estadios larvarios de ambas familias.

Con 4 pares de patas, estadios ninfal y adultos en ambas familias.

6.- Distribución de miembros:

a) Implantación a todo lo largo del idiosoma, ocupando 3/4 partes de superficie ventral en casi todos los géneros de la familia *Ixodidae* a excepción del género *Ixodes*, en el que están agrupados en la porción anterior ocupando una cuarta parte.

b) En la familia *Argasidae* están implantados radialmente.

7.- Coxas

a) El primer par de coxas de forma triangular apenas perceptibles la escotadura en las hembras. Género *Boophilus*.

b) Primer par de coxas bífidas con escotadura profunda presente. Géneros *Amblyomma*, *Dermacentor* y *Rhipicephalus*.

c) Primer par de coxas con espolón agudo y dirigida su punta a la parte postero-interna del idiosoma. Género *Ixodes* y *Haemaphysalis*.

d) Cuarto par, de coxas sin espolón en machos ni hembras. Género *Boophilus*.

e) Cuarta coxal con espolón perceptible al microscopio, en los machos ésta se encuentra muy desarrollada. Géneros *Dermacentor* y *Anocentor*.

f) Espolón en la cuarta coxal más o menos prominente, más constante en machos que en hembras. Género *Amblyomma*.

g) En la cuarta coxa casi siempre presentan espolón. Géneros *Ixodes*, *Haemaphysalis* y *Rhipicephalus*.

h) Sin espolones en las coxas. Familia *Argasidae*.

8.- Placas adanales y accesorias:

a) Sumamente desarrolladas, siendo las accesorias ligeramente más cortas, presentándose exclusivamente en machos. Género *Boophilus*

b) Placas adanales bien desarrolladas, accesorias rudimentarias, presentes exclusivamente en machos. Género *Rhipicephalus*.

9.- Prolongación caudal:

a) Se presenta en el borde posterior del idiosoma de los machos.

Boophilus microplus.

b) Se le considera como prolongación caudal al abultamiento que presenta el 6o. festón. Género *Rhipicephalus*.

10.- Mamelones:

a) Protuberancias quitinizadas, localizadas en el ángulo interno de los festones, con excepción del festón central, sumamente desarrollados en hembras. *Amblyomma cajenense*.

b) Moderadamente desarrollados tanto en machos como hembras. *Amblyomma triste*.

Fórmulas para el cálculo de resultados.

En esta técnica no se utilizan.

Índices de reproductibilidad y repetibilidad.

Se considera de un 95% en técnicos familiarizados con la observación de garrapatas al microscopio.

Bibliografía

Balashov Y.S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) Vector of disease of man and animal. Misc. Public. Entomol. Soc. Am. 8, 1972.

Manual on livestock ticks for animals disease eradication (1965) Division Personnel. USDA.

Núñez, J.L. *Boophilus microplus*. La garrapata común del ganado vacuno. Ed. Hemisferio Sur. Argentina 1987.

Krantz, G.W. A manual of acarology. 2a. ed. Oregon State University. USA, 1978.

ANAPLASMOSIS BOVINA

Título

Prueba de tarjeta para el diagnóstico de *Anaplasma marginale*.

Objetivo.

Detectar anticuerpos mediante reacción inmunológica secundaria de animales previamente expuestos a *A. marginale*.

Campo de aplicación

Este procedimiento tiene aplicación para laboratorios de pruebas que realicen el diagnóstico serológico de la Anaplasmosis bovina causada por *Anaplasma marginale*.

Documentos conexos a consultarse.

Norma Oficial Mexicana NOM-019-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Garrapata *Boophilus* spp.

Generalidades.

Es una prueba sencilla, fácil de realizar en campo y en laboratorio, con una interpretación objetiva, permitiendo obtener resultados en un mínimo de tiempo y además no requiere de material altamente especializado.

Equipo e instrumentos

Un rotor convencional y tarjetas o placas de vidrio.

Materiales:

1.- Micropipetas para 15 y 30 microlitros o tubos capilares para 15 y 20 microlitros.

2.- Puntas.

3.- Aplicadores de madera y un marcador.

Reactivos

1.- Antígeno de *Anaplasma marginale*.

2.- Factor Sérico Bovino (FSB).

3.- Suero control positivo y suero control negativo.

Condiciones ambientales.

Esta prueba debe realizarse en condiciones medioambientales con temperatura de 22°C a 26°C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Separar el suero del coágulo mediante centrifugación.

Colocar en viales, identificar y trabajar la muestra.

Si no se procesa la muestra inmediatamente, ésta deberá congelarse a -70°C.

Acondicionarla a temperatura ambiente para su procesamiento, al igual que los reactivos biológicos.

Procedimiento

1.- En el círculo número uno de la placa, se deposita 0.03 ml. de suero control positivo, en el dos, suero control negativo y en los siguientes los sueros problema.

2.- Con la jeringa en posición vertical se deposita 0.030 ml. de factor sérico bovino (FSB) en cada círculo, sin mezclarlos.

3.- Agitar suavemente la suspensión de antígeno antes de usarla. Con la jeringa en posición vertical, depositar 0.015 ml. en cada uno de los círculos de prueba, sin mezclarlos.

4.- Con un palillo limpio y seco mezclar y dispersar cuidadosamente los tres reactivos biológicos, llenando completamente el círculo de prueba.

5.- Se agita la placa en un rotor por 4 minutos de 100 a 110 rotaciones por minuto, evitando que las muestras se mezclen entre sí.

6.- Hacer la lectura inclinando suavemente la placa sobre una fuente de luz blanca con fondo negro.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

Resultado positivo: Aglutinación característica desde ligera, pero definida, hasta marcada o intensa.

Resultado negativo: no hay aglutinación.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad:

95% si se sigue literalmente el método descrito, con reactivos y biológicos semejantes.

Bibliografía

Amerault, R.E. and Roby, T.O. A rapid card agglutination test for Bovine anaplasmosis. Journal of American Veterinary Medical Association. 153 (12): 1828-1834. 1965.

Christenberry, C.C. and Alley, J.L. And evaluation of the rapid card agglutination test for the anaplasmosis in field diagnosis eradication studies. Proceedings of the United State Animal Health Association. 76:88-93. 1972.

Rose, J.E. Amerault, T.E. and Roby, T.O. Roles of conglutinin complement and antibody size in card agglutination test for bovine anaplasmosis. American Journal of Veterinary Research. 35: 1147-1150.

Título

Fijación de complemento para el diagnóstico de Anaplasmosis.

Objetivo.

Detección de anticuerpos en un animal previamente infectado con *Anaplasma marginale* mediante la activación de la vía clásica del complemento.

Campo de aplicación

Este procedimiento tiene aplicación para laboratorios de pruebas que realicen el diagnóstico serológico de la Anaplasmosis bovina causada por *Anaplasma marginale*.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-019-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Garrapata *Boophilus* spp.

Generalidades

Esta prueba, de mayor sensibilidad que la de tarjeta, busca la identificación de anticuerpos del tipo IgG producto de la exposición del animal al agente. La prueba se realiza bajo condiciones de laboratorio, y a diferencia de la de tarjeta, no puede ser efectuada en campo.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Baño María.
- 2.- Espectrofotómetro luz visible.
- 3.- Micropipetas de 10 a 100 y de 100 a 1000 ul.
- 4.- Reflector de punto de sedimentación.

Material:

- 1.- Frascos viales de 3 y 4 ml.
- 2.- Gradillas para tubos de 13 x 100 mm.
- 3.- Microplacas para hemaglutinación.
- 4.- Puntas desechables para micropipeta.
- 5.- Tubos de Ensayo de 13 x 100 mm.

Reactivos:

- 1.- Antígeno de *Anaplasma marginale* para fijación de complemento según USDA.
- 2.- Complemento (suero de cobayo).
- 3.- Glóbulos rojos de carnero.
- 4.- Hemolisina.
- 5.- Solución amortiguadora de Veronal:

Acido 5-5 Dietil Barbitúrico.

Cloruro de Calcio Anhidro

Cloruro de Magnesio Anhidro

Cloruro de Sodio, 5,5 Dietil Barbiturato de Sodio

- 6.- Solución de Alsever

- 7.- Sueros controles positivo y negativo a anticuerpos contra *A. marginale*

- 8.- Sueros problema.

Condiciones ambientales

Las de cualquier laboratorio de inmunología a temperatura ambiente.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Descongelar los sueros o retirar del refrigerador, llevarlos a temperatura ambiente

Procedimiento

Tomar de la muestra problema 100 ul., se le adiciona 400 ul. de Solución Amortiguadora de Veronal (SAV) logrando una dilución de 1:5.

El ovino seleccionado se sangra 24 horas antes de correr la prueba, la sangre se obtiene con solución de Alsever.

Preparación de los Glóbulos rojos (Gr) de carnero al 2% con SAV.:

a) En tubos graduados de 15 ml se agrega una cantidad de sangre con Alsever's, si es necesario se adiciona más Solución Amortiguadora de Veronal (SAV), se centrifuga a 2000 rpm por 10 minutos, transcurrido este tiempo al sedimento de Gr se le retira el sobrenadante, así como la fina capa de leucocitos (se sugiere realizar este paso con pipeta para retirar los glóbulos blancos), los Gr se resuspenden con SAV y se centrifugan 2 veces más, pero en la tercera lavada se debe tomar el tamaño del paquete de Gr.

Generalmente se consideran 39 ml de SAV y uno del Paquete de Gr, para obtener una solución al 2%.

b) Para confirmar el paso anterior se lee en un espectrofotómetro. Se toma de la solución al 2 % de Gr 0.6 ml y se agregan 3.4 ml de agua destilada para producir lisis de los Gr; se llenan las cubetas del espectrofotómetro y se tiene que leer a 546 nanómetros, deberá utilizarse SAV para ajustar a cero el espectrofotómetro.

Lectura de 0.600 ± 0.005 en la escala de Densidad Optica (DO) son aceptables.

Interpretación de resultados.

POSITIVO: Existe sedimentación de los Glóbulos rojos Gr, por lo que se observa un punto rojo.

NEGATIVO: Lisis total de los Gr, apariencia transparente.

Bibliografía

Manual de inmunología. Bautista, G.R. y Morilla. Ed. Diana. México 1984.

Kuttler, K.L., DVM, Adams, L. G. and Todorovic R.A. Comparisons of the complement-fixation and indirect fluorescent antibody reaction in the detection of bovine babesiasis. American Journal of Veterinary Research:153-156, 1977.

Título

Frotis delgado y grueso de sangre e improntas de órganos para el diagnóstico de *Anaplasmosis* y *Babesiosis* bovinas

Objetivo

Identificar mediante frotis delgado de sangre teñido y observado al microscopio compuesto glóbulos rojos parasitados ya sea por *Anaplasma marginale* o *Babesia* spp.

Campo de aplicación

Este procedimiento tiene aplicación en laboratorios de prueba en materia zoosanitaria que realizan el diagnóstico directo de hemoparásitos como un apoyo a la Campaña Nacional contra la garrapata.

Generalidades

Detección de las diferentes formas parásitas en que se presentan *Babesia* spp. y *Anaplasma marginale* dentro de los eritrocitos de la muestra de sangre de bovino, previamente infectado, en fase aguda.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-019-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Garrapata *Boophilus* spp.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Contador manual.
- 2.- Microscopio compuesto.

Materiales:

- 1.- Cajas de Koplen.
- 2.- Pipetas de 1 y 5 ml.
- 3.- Portaobjetos.
- 4.- Propipetas.
- 5.- Tubos capilares.
- 6.- Viales de 10 o 15 ml.

Reactivos:

- 1.- Aceite de Inmersión.
- 2.- Colorante de Wright o de Giemsa.
- 3.- Metanol.

Condiciones ambientales

No son necesarias condiciones especiales.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Mantener la sangre a temperatura ambiente y homogenizarla antes de tomar la muestra.

Procedimiento

A partir de la muestra de sangre con anticoagulante se elabora un frotis:

Frotis delgado

Utilizar portaobjetos limpios y secos (mantener v/v en alcohol y éter). Se coloca una gota de sangre en el extremo de una laminilla. Con otra laminilla en posición inclinada, colocada en ángulo de 35 grados se hace correr hacia el otro extremo. Al obtener un frotis fino y homogéneo, secar inmediatamente al aire y se fija en alcohol metílico absoluto. Para ello la laminilla se coloca de cara hacia arriba y se cubre con el alcohol esperando a que se evapore, posteriormente se aplica la técnica de tinción deseada Giemsa o Wright

Frotis de gota gruesa

Utilizar portaobjetos limpios y secos, identificar claramente en uno de los extremos con el número de animal y fecha. Colocar en el centro una gota de sangre, mediante un movimiento de rotación, formar una película de 1 cm. de diámetro con ayuda de un palillo. Secar al aire o al calor a 50-60 grados centígrados. Teñir con Giemsa o Wright.

Confección de improntas de órganos.

Utilizar portaobjetos limpios y secos. Cuidar de no ensuciar el material. Seleccionar un trozo pequeño de órgano. Contactar el portaobjeto con la superficie del órgano recién cortada, donde hay pequeños capilares de sangre. Secar al aire e identificar claramente. Teñir con Giemsa o Wright.

Tinción de Wright

1.- Para conseguir los mejores resultados hay que teñir los frotis en cuanto se hayan secado al aire, sin dejar transcurrir más de una hora y, para evitar la precipitación, se filtra el colorante antes de usarse.

2.- Colocar el portaobjetos con la muestra hacia arriba.

3.- Cubrir el frotis con 1 ml de colorante por 4 minutos.

4.- Virar añadiendo sobre el colorante 2 ml. de agua destilada, mezclando homogéneamente para conseguir una mejor tinción y dejar reposar 5 minutos, hasta observarse una película metálica verdosa.

5.- Quitar el colorante al chorro de agua (de grifo o destilada) primero suave, luego más fuerte, hasta que haya desaparecido todo exceso de colorante. El lavado durará de 5 a 30 segundos.

6.- El frotis se seca por evaporación. El colorante que haya quedado en el dorso del portaobjetos se limpia con una gasa humedecida con alcohol.

7.- Se observa al microscopio con objetivo de inmersión.

Tinción de Giemsa

1.- Diluir 1:1 el colorante con solución amortiguadora 15 minutos antes de utilizarlo.

2.- Fijar los frotis en metanol absoluto durante 5 minutos. Secar al aire.

3.- Cubrir completamente el frotis con el colorante diluido durante 8 minutos, formándose una película metálica.

4.- Lavar vigorosamente con agua corriente.

5.- Dejar secar.

6.- Observar al microscopio con objetivo de inmersión.

Interpretación de resultados

Resultado Positivo: Observación del o los parásitos en sus diferentes fases de desarrollo dentro del eritrocito.

Resultado Negativo: Observación de eritrocitos libres de parásitos.

Bibliografía

Hematología Veterinaria. Schalm.

BABESIOSIS BOVINA

Título

Inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de <i>Babesia bigemina</i> y <i>Babesia bovis</i> .

Objetivo.

Detectar anticuerpos mediante reacción inmunológica primaria de animales previamente expuestos a *B. bigemina* y *B. bovis*.

Campo de aplicación

Este procedimiento tiene aplicación para laboratorios de pruebas que realicen el diagnóstico serológico de la piroplasmosis bovina causada por *B. bigemina* y *B. bovis*.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-019-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Garrapata *Boophilus* spp.

Generalidades

Es una prueba sencilla de alta sensibilidad y especificidad, de fácil preparación y conservación del antígeno.

Equipo e instrumentos:

1.- Agitador magnético.

2.- Balanza granataria.

3.- Centrífuga.

4.- Incubadora.

5.- Microscopio de inmunofluorescencia.

6.- Potenciómetro.

7.- Ultracongeladores.

Materiales:

1.- Balas magnéticas.

2.- Barniz de uñas.

- 3.- Cajas kopleen.
- 4.- Cámara húmeda.
- 5.- Gradillas metálicas.
- 6.- Jeringa automática.
- 7.- Jeringa para insulina con aguja del No. 21.
- 8.- Marcador.
- 9.- Micropipetas.
- 10.- Pinzas.
- 11.- Portagradillas.
- 12.- Puntas.
- 13.- Tubos de ensaye.

Reactivos:

- 1.- Acetona.
- 2.- Antígeno de *B. bigemina* y *B. bovis*.
- 3.- Azul de Evans.
- 4.- Conjugado con fluoresceína.
- 5.- Glicerina.
- 6.- Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2.
- 7.- Sueros controles positivo y negativo.

Condiciones ambientales

Esta prueba debe realizarse en condiciones medioambientales con temperatura de 22°C a 26°C sin humedad.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Separar el suero del coágulo mediante centrifugación, colocarla en viales, identificar y trabajar la muestra.

Si no se procesa la muestra inmediatamente, ésta deberá congelarse a -70°C. Acondicionarla a temperatura ambiente para su procesamiento.

Procedimiento

1.- Diluciones:

Preparar diluciones 1:50 de los sueros problemas en solución buffer de fosfatos (PBS pH 7.2) y al mismo tiempo los controles + y -.

2.- Preparación de las laminillas:

Las laminillas con antígeno se sacan del ultracongelador (-70°C) y se colocan con la envoltura de aluminio en una estufa de incubación, sin humedad, a 37°C, durante 30 minutos aproximadamente, de manera que queden secas.

Se elimina la cubierta de aluminio y la envoltura de papel.

Las laminillas con antígeno se fijan en acetona absoluta durante 10 minutos en una caja de tinción.

Marcar con cuadros o círculos sobre la cara de la laminilla que contiene el antígeno, con un lápiz de pintura de aceite o con esmalte de uñas (con jeringa y aguja).

Utilizando un cuadro por dilución, se colocan 10 microlitros de cada una de las diluciones preparadas con los sueros control positivo, negativo y problema.

Las laminillas se colocan dentro de una cámara húmeda y se incuban a 37°C, durante 30 minutos.

Con ayuda de una pizeta, los sueros son eliminados mediante un lavado cuidadoso con PBS; las laminillas se colocan en una caja de tinción con PBS y se continúa el lavado durante 5 minutos, enjuagándolos con agua destilada en otra de tinción.

Las laminillas se secan a la estufa de incubación.

Se colocan 10 microlitros de la dilución óptima del conjugado, que contiene azul de Evans 1:10 en cada uno de los cuadros y se repiten los incisos 7, 8 y 9.

Colocar una gota de glicerina diluida 1:10 en PBS pH 7.2 en cada círculo.

Las laminillas se examinan con un microscopio de luz ultravioleta con objetivo 96 X, y con filtro excitador y filtro barrera, apropiados para la fluorescencia con Isotiocianato de fluoresceína (FITC).

Fórmulas cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados.

Resultado positivo: presencia de parásitos fluorescentes específicamente con una coloración verde-amarillenta.

Resultado negativo: ningún parásito fluorescente.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad.

95% si se sigue literalmente el método descrito, con reactivos y biológicos semejantes.

Bibliografía

Johnston, L.A.; Pearson, R.D. And Leatch, G. Evaluation of an indirect fluorescent antibody test for detecting *Babesia argentina* infection in cattle. Australian Veterinary Journal. 49(8): 373-377. 1973.

Callow, L.L.; McGregor, W., Parker, R.J. and Dalglish, R.J. Immunity of cattle to *Babesia bigemina* following its elimination from the host, with observation on antibody levels detected by the indirect fluorescent antibody test. Aust. Vet. J., 50: 12-15, 1974

Kuttler, K.L., DVM, Adams, L.G. and Todorovic R.A. Comparisons of the complement-fixation and indirect fluorescent antibody reaction in the detection of bovine babesiosis. American Journal of Veterinary Research: 153-156, 1977.

11. Brucelosis bovina y caprina

Título

Detección de anticuerpos contra brucelosis por la prueba de tarjeta o con rosa de bengala.

Objetivo

Detección de anticuerpos contra cepas lisas de *Brucella* (*Brucella abortus*, *Brucella melitensis* y *Brucella suis*) en sueros de animales sospechosos.

Campo de aplicación

Esta prueba podrá ser realizada únicamente como prueba tamiz en bovinos, caprinos y porcinos.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la brucelosis en los animales.

Generalidades

Es un procedimiento cualitativo, rápido, de aglutinación macroscópica que se efectúa en una sola dilución y que detecta principalmente anticuerpos IgG1 y en menor grado IgM.

Sirve como prueba tamiz por su alta sensibilidad y permite reducir el número de pruebas diagnósticas necesarias para controlar y/o erradicar la brucelosis en un rebaño o hato. Se fundamenta en que las IgG1 específicas contra *Brucella* actúan mejor a un pH de 3.8, lo que determina la especificidad de la prueba.

Equipo e instrumentos:

1.- Aglutinoscopio con fondo negro mate e iluminación indirecta interna.

2.- Cronómetro.

3.- Micropipeta de volumen constante o variable que mida 30 microlitros, con sus respectivas puntillas.

4.- Refrigerador doméstico.

Materiales:

1.- Gotero calibrado a un volumen de gota de 0.03 ml (30 microlitros).

2.- Palillos de madera.

3.- Pipetas de Bang o pipetas de 0.2 ml (en caso de no contar con micropipeta).

4.- Placa de acrílico blanco de las mismas dimensiones del aglutinoscopio.

5.- Placa de vidrio o acrílico transparente, preferentemente del tamaño del aglutinoscopio, con cuadrícula de 3 x 3 cm.

6.- Puntas para micropipeta.

Reactivos:

Biológicos.

1.- Antígeno oficial, el cual deberá reunir las siguientes características:

a) Elaborado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*.

b) Teñido con rosa de bengala amortiguado con ácido láctico.

c) pH de 3.65 (+/- 0.05).

d) Concentración celular del 8% para bovinos y cerdos, y del 3% para caprinos y ovinos.

El antígeno puede deteriorarse cuando se retira del refrigerador o si se mantiene a temperatura ambiente por tiempo prolongado; si la prueba se realiza, eventualmente, en pocas muestras se recomienda hacer pequeñas alícuotas del antígeno para no sacar todo el frasco del refrigerador. Nunca debe congelarse.

2.- Suero testigo positivo.

3.- Suero testigo negativo.

4.- Muestras de suero de animales sospechosos. Los sueros deberán ser frescos o haber sido mantenidos en refrigeración a 4°C, no deben presentar hemólisis ni estar contaminados.

Condiciones ambientales

De laboratorio con temperatura óptima de 22-25°C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Los sueros de animales sospechosos deberán ser de preferencia recién obtenidos, conservados en refrigeración y no deberán presentar hemólisis ni contaminación. Asimismo el antígeno y los sueros testigos deben mantenerse en refrigeración a 4°C, para realizar la prueba deben estar a temperatura ambiente, por lo que deben sacarse del refrigerador entre 30 y 60 minutos incluyendo los sueros sospechosos antes de realizar la prueba. La sensibilidad de la prueba se ve afectada por la temperatura a la que se realiza; si el antígeno y los sueros se usan inmediatamente después de sacarlos del refrigerador, la prueba pierde sensibilidad.

Procedimiento

1.- Colocar una gota de 30 microlitros de cada muestra de suero en un cuadro sucesivo de la placa, siguiendo un orden de izquierda a derecha y de arriba abajo. No se recomienda trabajar más de 10 muestras a la vez porque la gota de suero se deshidrata, sobre todo en climas cálidos.

2.- Agitar el antígeno y con el gotero calibrado, colocar una gota de 30 ul a un lado de cada gota de suero; esto es recomendable para evitar que empiece la reacción antígeno-anticuerpo antes de realizar la mezcla.

3.- Inmediatamente después de que se agregó la última gota de antígeno, mezclar el suero y el antígeno por rotación con un palillo por suero, a fin de obtener una mezcla homogénea.

4.- Mezclar durante 4 minutos por rotación manual suave de la placa, evitando que las muestras de los cuadros adyacentes se pongan en contacto entre sí.

5.- Proceder a realizar la lectura sobre el aglutinoscopio.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

La lectura debe realizarse inmediatamente después de efectuar la mezcla por rotación (inciso 4).

La prueba se considera negativa cuando no se observa aglutinación. Se considera positiva, cuando existe cualquier grado de aglutinación, la cual se observa con formación de grumos color rosa.

En esta prueba no existen los sospechosos. Si la prueba es positiva debe realizarse una prueba complementaria, como la de rivanol o de fijación de complemento.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor al 95%, si se sigue estrictamente el método descrito.

Bibliografía

Alton, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. and Verger, J.M.: Techniques for the brucellosis laboratory. Edited by l'Institut National de la Recherche Agropecuaire INRA, Paris, France, 1988.

Casas Olascoaga, R.: Diagnóstico serológico de la brucelosis. Boletín Técnico, Centro Panamericano de Zoonosis, OPS, OMS, 1975.

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la brucelosis en los animales.

Corner, L.A.: Bovine brucellosis. Serology. Australian Standard Diagnostic Techniques for Animal Diseases, Subcommittee on Animal Health Laboratory Standards, Australia, 1989.

Título

Detección de anticuerpos contra Brucelosis, por la prueba de precipitación con rivanol.

Objetivo

Detectar anticuerpos específicos contra cepas lisas de *Brucella* (*Brucella abortus*, *Brucella melitensis* y *Brucella suis*) en sueros de animales sospechosos, por la acción química del rivanol sobre las IgM y otras macroglobulinas del suero.

Campo de aplicación

Para efectos de campaña, se recomienda su realización en sueros de bovinos, que previamente resultaron positivos a la prueba de tarjeta.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la brucelosis en los animales.

Generalidades

Es una prueba serológica complementaria cuantitativa, altamente específica, ya que se basa en la precipitación selectiva de las IgM en el suero por el reactivo de rivanol. Este precipitado se retira por centrifugación y con el sobrenadante se realiza una aglutinación en placa.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Aglutinoscopio con fondo negro mate e iluminación indirecta interna.
- 2.- Centrífuga clínica, como mínimos de 2,000 rpm.
- 3.- Cronómetro.
- 4.- Micropipeta de volumen variable entre 5 a 80 microlitros.
- 5.- Refrigerador doméstico

Materiales:

- 1.- Gotero calibrado a un volumen de gota de 0.03 ml. (30 microlitros).
- 2.- Gradilla.
- 3.- Palillos de madera.
- 4.- Pipetas de 1 ml con graduación de 1/10 en 1/100.
- 5.- Pipetas de Bang o pipetas de 0.2 ml. de 1/10 en 1/100.
- 6.- Placas de vidrio o acrílico transparente, preferentemente del tamaño del aglutinoscopio, con cuadrícula de 3 x 3 cm.

7.- Puntas para micropipetas.**8.- Tubos de vidrio de 12 por 75 mm. o 13 x 100 mm.****Reactivos:****Biológicos**

Antígeno oficial, el cual deberá reunir las siguientes características:

- a) Elaborado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*.
- b) Teñido con una mezcla de verde brillante y cristal violeta.
- c) pH de 5.8 a 6.2.
- d) Concentración celular de 4%.

Reactivos y soluciones

Solución de rivanol al 1%, peso sobre volumen (P/V)

El reactivo de rivanol (lactato de 2-etoxi-6,9-diamino acridina) es un derivado del naranja de acridina (colorante), que una vez preparado, debe guardarse en un recipiente estéril y conservarse en refrigeración a 4°C protegido contra la luz, ya sea en frasco color ámbar o cubierto con papel aluminio.

Condiciones ambientales

De laboratorio con temperatura óptima de 22-25°C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Los sueros sospechosos al igual que el antígeno deben, sacarse del refrigerador cuando menos 30 a 60 minutos antes de realizar la prueba, con el propósito de que ambos estén a la misma temperatura del laboratorio al momento de realizar la prueba.

Procedimiento:

- 1.- Con las pipetas depositar 0.4 ml de solución de rivanol en un tubo por cada muestra.
- 2.- Utilizando una pipeta o punta por cada suero problema, agregar a cada tubo 0.4 ml de suero.
- 3.- Mezclar de inmediato por agitación del tubo, evitando que el contenido entre en contacto con la piel.
- 4.- Dejar reposar los tubos a temperatura ambiente por espacio de 20 a 30 minutos.
- 5.- Centrifugar aproximadamente a 2000 rpm por 5 minutos, para obtener un paquete a partir del precipitado.
- 6.- Con la micropipeta o con una pipeta de 0.2 ml, medir del sobrenadante 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml (equivalentes a 80, 40, 20, 10 y 5 µl, respectivamente), colocar cada una de dichas cantidades en un cuadro de la placa de vidrio, procurando llevar un orden de izquierda a derecha y de arriba a abajo, dejando un cuadro sin utilizar entre las cinco gotas de una muestra y de las de otra.
- 7.- Con el gotero o micropipeta, agregar 0.03 ml (30 µl) del antígeno a cada una las gotas sobre la placa.
- 8.- Mezclar con palillos, extendiendo cada muestra 2 cm de diámetro, aproximadamente.
- 9.- Mezclar por rotación, inclinando la placa suavemente hacia un lado y a otro 4 veces. Dejar reposar 6 minutos.
- 10.- Mover la placa nuevamente por rotación suave 4 veces y dejar reposar otros 6 minutos.

11.- Al término del tiempo, agitar la placa por rotación 4 veces más y proceder a realizar la lectura sobre el aglutinoscopio.

Las diluciones corresponden con los títulos como sigue:

Volumen de la gota	Dilución
0.080	1:25
0.040	1:50
0.020	1:100
0.010	1:200
0.005	1:400

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados

La prueba se considera positiva cuando hay aglutinación de cualquier grado.

La prueba se considera negativa cuando no existe aglutinación.

En animales no vacunados, se considera positiva una aglutinación igual o mayor a 1:25 y en animales vacunados se considera positiva una aglutinación igual o mayor a 1:50.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad

Mayor al 95% si se sigue estrictamente el método descrito.

Bibliografía o referencias

Alton, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. and Verger, J.M.: Techniques for the brucellosis laboratory. Edited by l'Institute National de la Recherche Agropecuaire INRA, Paris, France, 1988.

Casas Olascoaga, R.: Diagnóstico serológico de la brucelosis. Boletín Técnico, Centro Panamericano de Zoonosis, OPS, OMS, 1975.

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la brucelosis en los animales.

Título

Detección de anticuerpos contra la brucelosis por la prueba de fijación de complemento.

Objetivo

Determinar títulos de anticuerpos fijadores del complemento contra cepas lisas de *Brucella* spp presentes en el suero.

Campo de aplicación

Esta prueba sirve como prueba confirmatoria en sueros de bovinos, caprinos, ovinos u otras especies que determine la Secretaría.

Documentos conexos a consultarse

NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la brucelosis en los animales.

Generalidades

La prueba de fijación de complemento ha sido ampliamente utilizada para el diagnóstico confirmatorio de la brucelosis en las diferentes especies animales, debido a su gran sensibilidad y especificidad. Es capaz de detectar el isotipo IgG1; por esta razón resulta más precisa, comparativamente con otras técnicas serológicas y el diagnóstico bacteriológico. Se considera determinante en el diagnóstico confirmatorio de los sueros positivos a la prueba de tarjeta con antígeno teñido con rosa de bengala.

Es una prueba serológica rápida y muy sensible. Se basa en la activación del complemento por la vía clásica, en donde es necesaria la presencia de una unión antígeno anticuerpo para iniciar la reacción (fase invisible). Cuando existen anticuerpos contra brucela, se da la reacción antígeno anticuerpo y el complemento se une a esta reacción (Ag-Ac-C'), siendo incapaz de unirse al sistema hemolítico, que es un segundo sistema antígeno anticuerpo (fase visible), observándose una sedimentación de los glóbulos rojos con anticuerpos o hemolisina. En ausencia de anticuerpos contra brucela en el primer sistema durante la fase invisible, el complemento queda libre, uniéndose al segundo sistema antígeno anticuerpo o sistema hemolítico, observándose una hemólisis.

Equipo e instrumentos:

1.- Baño María con escala de 15°C a 75°C

2.- Centrífuga clínica

3.- Congelador de 0 a -20°C

4.- Espectrofotómetro con rango mínimo de 340 a 600 nm de longitud de onda

5.- Micropipeta multicanal con volumen ajustable de 25 a 50 ul

Materiales:

- 1.- Gradillas
- 2.- Matraces aforados
- 3.- Matraces Erlenmeyer
- 4.- Microplacas con 96 pozos de fondo en U
- 5.- Pipetas serológicas de volumen variable
- 6.- Pizetas de plástico
- 7.- Puntas para micropipetas
- 8.- Tubos de ensayo

Reactivos:

Todos los reactivos deben ser grado analítico

- 1.- Acido cítrico.
- 2.- Acido clorhídrico.
- 3.- Agua destilada.
- 4.- Citrato de sodio.
- 5.- Cloruro de calcio.
- 6.- Cloruro de magnesio.
- 7.- Cloruro de sodio.
- 8.- Dietilbarbiturato de sodio.
- 9.- Glucosa anhidra.

Soluciones

a) Solución concentrada de calcio y magnesio

Cloruro de magnesio hexahidratado 20.33 g

Cloruro de calcio dihidratado 4.41 g

Disolver con agua destilada en matraz aforado de 100 ml. Mezclar y distribuir en viales y conservar en refrigeración.

b) Solución salina amortiguada con veronal sódico y ácido clorhídrico concentrada 5x

Cloruro de sodio 83.00 g

Dietilbarbiturato de sodio 10.19 g

Acido clorhídrico 1 N 34.58 ml

Sol. concentrada de Ca y Mg 5 ml

Agua destilada c.b.p. 2,000 ml

Llevar 1,500 ml de agua destilada a un matraz aforado de 2,000 ml. Agregar 83 g de NaCl y disolver; agregar 10.19 g de 5,5-dietilbarbiturato de sodio y disolver. Agregar 34.58 ml de HCl 1 N y mezclar por agitación. Agregar 5 ml de solución concentrada de calcio y magnesio. Aforar con agua destilada.

Diluir 1 ml de la solución salina con 4 ml de agua destilada y ajustar el pH a 7.3-7.4. Conservar la solución 5x en refrigeración y para usarla diluir un volumen de la solución con 4 volúmenes de agua destilada y determinar el pH (7.3-7.4).

c) Solución de Alsever (anticoagulante y preservativo para la sangre)

Glucosa anhidra 1.866 g

Cloruro de sodio 0.418 g

Citrato de sodio 0.800 g

Acido cítrico 0.055 g

Agua destilada 100 ml

Disolver en matraz aforado de 100 ml y aforar con agua destilada. Esterilizar por filtración con membrana de 0.45 μ m o en autoclave a 10 lbs durante 10 minutos. Distribuir en tubos.

Biológicos

1) Antígeno autorizado a base de *Brucella abortus* cepa 1119-3 sin teñir, con pH de 6.8 a 7.0 y concentración celular de 4.5%.

2) Suspensión de glóbulos rojos de carnero al 3%.

Para su estandarización, obtener los eritrocitos de ovinos sanos y en buen estado nutricional, por venopunción yugular con agujas calibre 21G, 20G o 18G. Al extraer la sangre, vaciarla evitando la hemólisis en un volumen igual de solución de Alsever. Lavar los eritrocitos antes de utilizarlos por medio de tres centrifugaciones de 1,000 g por 10 minutos, descartando el sobrenadante y usando diluyente entre cada lavado. Utilizar el paquete final para preparar una suspensión de eritrocitos al 3%.

Para determinar el volumen del paquete celular, agregar 32.3 ml de diluyente por cada ml del paquete de eritrocitos, obteniéndose una suspensión de aproximadamente 3% de concentración. Corroborar tomando 1 ml de esta suspensión y agregándole 15 ml de agua destilada. Agitar para

lograr una hemólisis completa y leer el sobrenadante en el espectrofotómetro a 542 nm, debiéndose obtener una densidad óptica de 0.5

3) Elaboración, conservación y titulación de la hemolisina

Elaboración.- La hemolisina puede elaborarse en el laboratorio, bajo diferentes esquemas de inmunización u obtenerse en forma comercial.

Conservación.- Si la hemolisina es elaborada en el laboratorio donde se va a llevar a cabo la prueba, una vez obtenida, nunca debe congelarse sola. Se enlistan tres formas de conservación de la hemolisina.

a) Congelada. Una vez obtenido el suero debe mezclarse con glicerina volumen sobre volumen (v/v) y mantenerse en congelación. La glicerina ayuda a mantener el título, funcionando como conservador.

b) Liofilizada. Debe mantenerse en refrigeración entre 4 y 6°C; una vez resuspendida, se mezcla con glicerina (v/v) y se mantiene en congelación (-20°C).

c) Refrigerada con fenol 1:20, con la mezcla que se propone a continuación:

94 ml de solución amortiguada

2 ml de hemolisina conservada en glicerina

4 ml de fenol 1:20 (diluido con la solución amortiguada)

Cuando la hemolisina no se encuentre en glicerina, se diluirá 1 ml en 95 ml de solución amortiguada. Debe agitarse diariamente durante 10 días antes de utilizarla.

Titulación

a) Preparar una suspensión de eritrocitos de carnero al 3%.

b) Preparar una dilución madre 1:100 de hemolisina y mantenerla en refrigeración.

c) Realizar una dilución doble seriada con un volumen final de 1 ml en 6 tubos, comenzando con una dilución 1:500 de la siguiente manera:

tubo 1 1:500	tubo 2 1:1,000	tubo 3 1:2,000	tubo 4 1:4,000	tubo 5 1:8,000	tubo 6 1:16,000
1.6 ml solución amortiguada	1.0 ml solución amortiguada	1.0 ml solución amortiguada	1.0 ml solución amortiguada	1.0 ml solución amortiguada	1.0 ml solución amortiguada
0.4 ml de hemolisina 1:100	1.0 ml del tubo 1 (hemolis. 1:500)	1.0 ml del tubo 2 (hemolis. 1:1000)	1.0 ml del tubo 3 (hemolis. 1:2000)	1.0 ml del tubo 4 (hemolis. 1:4000)	1.0 ml del tubo 5 (hemolis. 1:8000)

d) Desechar 1.0 ml del tubo No.6 para tener 1.0 ml del volumen final en todos los tubos.

e) Agitar suavemente la suspensión de eritrocitos previamente elaborada, para que esté homogénea y añadir 1.0 ml de ésta a cada uno de los tubos que contienen las diluciones de hemolisina. Dejar la mezcla a temperatura ambiente durante 15 minutos, para que pueda producirse la sensibilización de los eritrocitos, con agitación lenta periódicamente.

f) Preparar una dilución de complemento 1:300 en 10 ml.

g) Preparar dos series de tubos y marcarlas con las diluciones de hemolisina (1:500, 1:1000, 1:2000, etc.).

h) Agregar a todos los tubos 1.0 ml de diluyente frío y 0.5 ml de complemento diluido 1:300.

i) De los tubos que contienen la hemolisina en distintas diluciones (con los eritrocitos, ver incisos d) y e); transferir 1.0 ml de cada dilución al tubo correspondiente, que contiene complemento y diluyente, ver incisos g) y h).

j) Incubar las series de tubos durante 30 minutos a 37°C en Baño María. Agitar suavemente a los 15 minutos.

k) Retirar los tubos del Baño María.

l) Calcular el porcentaje de hemólisis al 50%. Se pueden utilizar dos métodos, uno con ayuda de un espectrofotómetro y otro, con un patrón de hemólisis.

Con el espectrofotómetro:

Añadir a todos los tubos 2 ml de diluyente frío y centrifugar a 1000 G por 5 minutos. Se debe utilizar una longitud de onda de 540 nm y medir la absorbancia de la muestra. Aplicar la siguiente fórmula:

Cálculo del % de hemólisis

$$\% \text{ de hemólisis} = \frac{DO1 \times 100}{DO2}$$

Donde:

DO1 es la densidad óptica obtenida en cada uno de los tubos de la titulación (absorbancia).

DO2 es la densidad óptica obtenida en la estandarización de eritrocitos al 3% (absorbancia).

Ejemplo:

Estandarización de eritrocitos, lectura de DO de 0.600

Titulación de hemolisina, lectura del tubo (x) DO de 0.400

Cálculo del porcentaje de hemólisis:

$$\frac{\% \text{ de hemólisis } 0.40 \times 100}{0.600} = 66.6\% \text{ de hemólisis}$$

Nota: debe calcularse el porcentaje de hemólisis que corresponda a cada uno de los 6 tubos de la titulación de hemolisina.

Con un patrón de hemólisis:

Centrifugar a 1000 G por 5 minutos (no se debe añadir diluyente frío). Para simular diversos grados de hemólisis mezclar:

(A) Una suspensión de eritrocitos de carnero con

(B) Una solución de eritrocitos lisados

Preparar la suspensión de eritrocitos (A) agregando 1 ml de una suspensión de eritrocitos al 3% a 7 ml de diluyente a la concentración de uso.

Para preparar la solución de eritrocitos (B): como la solución amortiguadora de trabajo se encuentra a razón de 5 (5x), mezclar 1 ml de la suspensión de eritrocitos al 3% con 5.6 ml de agua destilada, se agita hasta que la hemólisis sea completa y agregar entonces 1.4 ml de diluyente para restablecer la tonicidad.

Preparar a continuación los patrones para los diferentes grados de hemólisis, entre 0% y 100%, mezclando la suspensión (A) con la solución (B) en las proporciones que se indican a continuación:

	0%	10%	20 %	30 %	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Suspensión A en ml	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
Suspensión B en ml	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0

Una vez preparadas las muestras se deben centrifugar los tubos a 1,000 G por 5 minutos.

Para calcular el porcentaje de hemólisis en los tubos de la titulación, se deben comparar éstos con el tubo patrón.

m) Señalar los porcentajes de hemólisis obtenidos en cada tubo utilizando papel semilogarítmico. En el eje de las abscisas (X) marcar la dilución correspondiente, y en el de las ordenadas (Y) el porcentaje de hemólisis. Unir los puntos entre sí mediante una línea continua para obtener una gráfica.

n) Buscar el punto de las ordenadas que corresponda al 50% de hemólisis, y proyectarlo al cruce con la abscisa. El punto que marque en el eje de las abscisas (x) corresponderá a la dilución en que se encontraría una unidad 50% de hemólisis (1 UHC50%).

o) Para trabajar con 4 unidades 50% de hemólisis debe concentrarse 4 veces la dilución obtenida. Por ejemplo: si una unidad hemolítica 50% se encuentra en la dilución 1:5000, se divide 5000 entre 4 = 1250, quedando la dilución de trabajo como 1:1250.

4) Complemento

Preparación y conservación del complemento

Sangrar por lo menos 4 cobayos, separar lo antes posible el suero del coágulo, y mezclarlo para preparar el complemento. El complemento puede ser liofilizado o deshidratado y debe almacenarse en congelación al menos a -20°C.

Titulación del complemento

a) Sensibilizar eritrocitos mezclando volúmenes iguales de hemolisina previamente titulados con 4UH50% y eritrocitos al 3%. Dejar la mezcla en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente y mezclar periódicamente.

b) Preparar diluciones madre 1:10, dejar en reposo de 15 a 20 minutos en refrigeración (4-8°C) y preparar la dilución de titulación del complemento 1:300.

c) La prueba se realiza al doble del volumen normal para reducir al mínimo los errores de utilización de pipetas y conseguir un volumen total suficientemente grande para permitir la lectura en

el espectrofotómetro. Disponer 6 tubos en una gradilla y agregar los reactivos en las cantidades y el orden indicados en el siguiente cuadro.

TITULACION DEL COMPLEMENTO

Tubos	1	2	3	4	5	6
Complemento 1:300	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
Diluyente	1.2	1.1	1.0	0.9	0.8	0.7
Eritrocitos sensibilizados	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

d) Mezclar el contenido de cada tubo, agitándolo suavemente e incubar en Baño María a 37°C durante 30 minutos, agitándolos cada 15 minutos. Después de sacar los tubos del baño agregar 2 ml de diluyente frío a cada tubo y centrifugar 5 minutos a 1000 G para sedimentar las células intactas. Determinar sus densidades ópticas (D.O.) en el espectrofotómetro o por comparación con patrones de hemólisis (en este último caso no agregar el diluyente frío).

e) Calcular los valores de la expresión $y/(100-y)$ para cada cantidad de complemento, a partir del porcentaje de hemólisis (considerar solamente los tubos que presenten una hemólisis del 10 al 90%); el cálculo se hace como en los ejemplos del cuadro.

CALCULO DE LA EXPRESION $Y / (100 - Y)$

VOLUMEN DE COMPLEMENTO	DENSIDAD OPTICA	PORCENTAJE DE HEMOLISIS (Y)	$Y / (100 - Y)$
0.3 ml	0.041	10	0.11
0.4 ml	0.112	28	0.36
0.5 ml	0.208	52	1.08
0.6 ml	0.288	72	2.57
0.7 ml	0.328	82	4.53
0.8 ml	0.337	84	5.34

Para reducir la cantidad de cálculos necesaria, conviene realizar un cuadro en el que se indique:

A) El porcentaje de hemólisis

B) La expresión $y/(100 - y)$ para cada lectura fotométrica, comprendida entre el 10% y el 90% de hemólisis.

f) En un papel logarítmico con abscisas y ordenadas logarítmicas marcar los siguientes valores:

En las ordenadas se marca el volumen de complemento y en las abscisas al % de hemólisis (expresado como $y/(100 - y)$). Unir los puntos entre sí para obtener una recta. El punto donde la recta cruza la línea del valor en las abscisas corresponde al volumen de complemento que produce el 50% de hemólisis 1 unidad hemolítica 50% (UHC50%).

g) En el ejemplo 1 UHC50% corresponde a 0.48 ml de complemento previamente diluido 1/300, la prueba se realiza con 5 UHC50%; si se multiplica este volumen por cinco (0.48×5), resulta el volumen de complemento que contiene 5UHC50%.

A continuación se debe calcular la dilución necesaria del complemento para realizar la prueba, utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{D.C.}{V.C.} = \frac{X}{V.T.} \quad X = D.C. \times V.T. / V.C.$$

Donde:

D.C. = factor de dilución del complemento con el que se hizo la titulación (300)

V.C. = volumen de complemento en el que se tienen las 5UHC50% (2.4)

V.T. = volumen de complemento que se utilizó para la titulación (0.5)

X = dilución requerida.

Sustituyendo los valores del ejemplo:

$$\frac{300}{24} = \frac{X}{0.5} \quad 125 = \frac{X}{0.5} \quad X = (125)(0.5) = 62.5$$

La dilución necesaria es 1:62.5, para cualquier volumen requerido.

La dilución de trabajo se puede realizar a partir del complemento diluido 1:10, o del complemento sin diluir. Si se va a preparar a partir de la dilución 1:10, la dilución de trabajo será 1:6.2. Se calcula el volumen necesario para la prueba y se hace la dilución.

Ejemplo:

Si se necesitan 15 ml de complemento:

$$\text{Complemento (C')} = \frac{\text{Volumen}}{\text{Factor de dilución}}$$

$$\frac{15 \text{ ml}}{62} = 0.24 \text{ ml}$$

$$C = \frac{15}{62}$$

Se necesitan 0.24 ml. de complemento y 14.76 ml. de diluyente

$$\frac{15}{6.2} = 2.4 \text{ ml. de complemento y 12.6 ml. de diluyente}$$

Condiciones ambientales

De laboratorio a temperatura óptima entre 18-25°C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra

Los sueros deberán conservarse en refrigeración o congelación. No se deberán procesar sueros hemolizados.

Diluir cada suero 1:4 en tubos de ensayo e inactivar a 56°C por 30 minutos.

Procedimiento

Técnica en microplaca

Previamente haber preparado los glóbulos rojos de carnero sensibilizados al 3%. Diluir el complemento a la dilución de trabajo, de acuerdo a la titulación. Diluir el antígeno 1:20 y realizar la dilución de los sueros problema.

Utilizar los sueros diluidos previamente. Incluir un suero positivo y uno negativo en cada serie de trabajo.

Emplear una columna de 8 pozos por cada suero en la microplaca. Colocar en los pozos A, B y H 25 ul del suero diluido e inactivado. En los pozos B a H agregar 25 ul de diluyente.

Con una pipeta multicanal de 12 canales efectuar la dilución de los sueros, mezclando tres veces el contenido de los pozos B, vaciar totalmente y medir 25 ul que se extraen y se transfieren a la hiler a C, mezclar tres veces, tomar 25 ul y transferir a la hiler a D. Repetir hasta la fila G, mezclar y desechar 25 ul finalmente. Cambiar las puntas de las micropipetas para diluir los sueros de cada placa. Las diluciones finales quedan como sigue: 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256.

Agregar a todos los pozos 25 ul del antígeno. Los pozos de la hiler a H no llevan antígeno, sirven como testigos del suero. Agregar a todos los pozos 25 ul de complemento. Preparar en este momento una serie de 5 pozos controles de la reacción, como sigue:

CONTROL DE:	REACTIVOS (25 ul de c/u)
Antígeno (A)	Diluyente, antígeno, complemento
Complemento (C')	2 de diluyente, complemento (C')
Complemento (C'')	2 de diluyente, complemento (C'')
Complemento (C''')	2 de diluyente, complemento (C''')
Hemolisina (H)	3 de diluyente

C' = dosis de complemento empleada en la prueba

C'' = dosis de complemento diluida 1:2

C''' = dosis de complemento diluida 1:4

Incubar los pozos de la reacción a 37°C durante 30 minutos. Al término de la incubación, agregar 25 ul de glóbulos rojos sensibilizados. Incubar nuevamente a 37°C durante 30 minutos agitando a los 10 y a los 20 minutos. Dejar reposar en refrigeración durante 2 horas. Realizar la lectura con ayuda de un espejo lector.

Fórmulas de cálculo para resultados

En esta técnica no se utilizan

Interpretación de resultados

Los resultados se interpretarán como sigue:

0% de hemólisis	Positiva + + + +
25% de de hemólisis	Positiva + + +
50% de hemólisis	Positiva + +
75% de hemólisis	Positiva +
100% de hemólisis	Negativa

Se consideran títulos positivos a la dilución correspondiente desde 0% de hemólisis hasta 75% de hemólisis.

Para bovinos los títulos se consideran positivos desde 1:8 y para ovinos y caprinos desde 1:4.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad

Esta prueba tiene un índice de reproducibilidad mayor al 95% si se sigue el método descrito.

Bibliografía

Alton, G.G.; Jones, L.M. Angus, R.D. and Verger, J.M. Techniques for the brucellosis laboratory. Institute Nationale de la Recherche Agronomique, París, 1988.

García Carrillo, C.: Prueba de fijación de complemento para el diagnóstico de la brucelosis. Centro Panamericano de Zoonosis. Nota Técnica No. 24, Organización Panamericana de la Salud-Organización Mundial de la Salud, Buenos Aires, Argentina, 1981.

Título

Prueba de anillo en leche o anillo de Bang

Objetivo

Detección de anticuerpos contra brucellas lisas (*B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*) en leche de vacas infectadas. Esto se detecta cuando se desarrolla el complejo antígeno anticuerpo y se adhiere al glóbulo de grasa de la leche formando un anillo coloreado en la superficie.

Campo de aplicación

Esta es una prueba de vigilancia epidemiológica en leche de vacas. No es útil en leche de cabras ni borregas porque no se forma un anillo teñido en la superficie, sino que la coloración es desigual. La podrán realizar personal de laboratorios aprobados o bien Médicos Veterinarios Aprobados en Tuberculosis y Brucelosis que hayan pasado previamente un examen de aptitud establecido por la Comisión Nacional para la Erradicación de la Tuberculosis Bovina y Brucelosis.

Es una prueba de diagnóstico primario que detecta la presencia de leche positiva de una vaca infectada cuando se ha diluido con leche de animales no infectados, por lo que sirve para detectar hatos potencialmente infectados. Se requieren muestras de leche cruda fluida y fresca.

Documentos conexos a consultarse

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la brucelosis en los animales.

Generalidades

Es un procedimiento práctico, rápido y económico para detectar hatos lecheros infectados y para la vigilancia de los que están exentos de la enfermedad. Se debe efectuar 3 a 4 veces al año combinando muestras de leche de colectores grandes y luego realizando pruebas individuales. Se ha utilizado como prueba de vigilancia epidemiológica en países o regiones donde se ha establecido un control de la brucelosis bovina. Es una prueba muy sensible que permite reducir el número de pruebas diagnósticas necesarias para controlar y/o erradicar la brucelosis en un rebaño o hato.

El desarrollo de una reacción positiva depende de lo siguiente:

a) Una aglutinina del glóbulo de grasa que se encuentra presente en la leche normalmente, forma agregados con los glóbulos de grasa que suben a la superficie. Esta es la capa de crema normal de la leche de vaca.

b) Las células de *brucella* teñidas que se agregan como antígeno se aglutinan si existen anticuerpos contra *brucella* presentes en la leche. Estas células teñidas en forma de agregados se adhieren a la superficie de los glóbulos de grasa y suben a la superficie junto con ellos para formar una capa de crema de color azul.

Equipo e instrumentos:

1.- Baño María o estufa bacteriológica a 37°C

2.- Cronómetro

3.- Refrigerador doméstico

Materiales:

1.- Gotero calibrado a un volumen de gota de 0.03 ml (30 µl).

2.- Tubos de vidrio de 13 x 100 mm

3.- Pipetas de vidrio de 1 ml.

4.- Gradilla

Para el usuario:

1.- Bata

Reactivos:

1.- Antígeno oficial, el cual deberá reunir las siguientes características:

a) Elaborado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*, inactivada con fenol al 0.5% P/V

b) Teñido con hematoxilina.

c) pH de 4.0 a 4.3

d) Concentración celular de 4%

Material biológico:

Muestras de leche de hatos lecheros sospechosos de estar infectados con *Brucella* spp., obtenidas de tanques mezcladores o enfriadores.

Condiciones ambientales:

La prueba debe realizarse a temperatura ambiente entre 22-25°C

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

Deben tenerse las siguientes precauciones cuando se pruebe una muestra de leche:

a) Un muestreo incorrecto puede conducir a un contenido insuficiente o excesivo de crema, lo que interferirá con la lectura de la prueba.

b) La agitación excesiva de la leche desnaturaliza a la "aglutinina del glóbulo de grasa", y afecta la capa de crema de la superficie.

c) Cuando la leche se calienta a 45°C o más se reduce el contenido de anticuerpos contra *Brucella*.

d) La leche puede almacenarse a temperatura de refrigeración (2-5°C) sin una pérdida de reactividad importante. Periodos más largos y/o temperaturas de almacenamiento más altas pueden ocasionar pérdida de anticuerpos. Las leches congeladas pueden dar resultados falsos.

e) No es útil en leche homogeneizada ni pasteurizada.

Reacciones falsas positivas.- Estas pueden ocurrir cuando la prueba se realiza en:

a) Leche recientemente ordeñada (debe refrigerarse al menos por 12 horas antes de realizar la prueba, y hasta 72 horas, inclusive).

b) Leche de vacas con mastitis.

c) Leche que contenga calostro o sangre.

d) Leche de vacas en periodo de secado.

e) Leche de vacas en lactación, no infectadas, que hayan sido vacunadas dentro de los 3 meses anteriores al muestreo, con vacuna cepa 19.

El antígeno y la leche sospechosa deben mantenerse en refrigeración a 4°C. Para realizar la prueba deben estar a temperatura ambiente, por lo que deben sacarse del refrigerador entre 30 y 60 minutos antes de realizar la prueba. La sensibilidad de la prueba se ve afectada por la temperatura a la que se realiza; si el antígeno y la leche se usan inmediatamente después de sacarlos del refrigerador, la prueba pierde sensibilidad.

Antígeno:

El antígeno puede deteriorarse cuando se retira del refrigerador o si se mantiene a temperatura ambiente por tiempo prolongado; si la prueba se realiza eventualmente en pocas muestras, se recomienda hacer pequeñas alícuotas del antígeno para no sacar todo el frasco del refrigerador. Nunca debe congelarse el antígeno porque se rompe la suspensión celular.

Procedimiento:

1.- La muestra de leche y el antígeno deben estar a temperatura ambiente al momento de realizar la prueba.

2.- Mezclar la leche del tubo o frasco de muestra para dispersar la crema.

3.- Transferir 1 ml de la leche sospechosa a un tubo de 13 x 100 mm.

4.- Agregar una gota de 0.03 µl (30 microlitros) del antígeno al tubo, tape el tubo y agite suavemente invirtiendo el tubo varias veces.

5.- Deje reposar el tubo 1 minuto para verificar si el antígeno quedó adecuadamente mezclado con la leche.

6.- Incubar a 37°C por una hora, ya sea en baño María o en estufa bacteriológica.

7.- La lectura se realiza por observación directa del color, ya sea del anillo de crema o del tubo de leche.

Fórmulas de cálculo para resultados

No existen fórmulas para la obtención de resultados en esta prueba. Sin embargo, para que la sensibilidad de la prueba sea la misma entre hatos de diferente tamaño, se recomienda ajustarse al siguiente cuadro para la realización de la prueba:

Número de vacas en el hato a probar:

Lactando	
1 a 4	Hacer un "pool" o mezcla y probar 1 ml del mismo. Probar la leche de cada vaca cuando la dilución 1:10 del pool resulte negativa.
5-200	Probar 1 ml
201-500	Usar 2 ml para la prueba
501-900	Usar 3 ml para la prueba

901 o más	Tomar una muestra de modo que no se tome leche de más de 120 vacas por muestra a probar.
-----------	--

* Siempre se agrega una gota de 30 microlitros por prueba.

Interpretación de resultados:

Si la intensidad del color azul en la capa de crema es mayor o igual a la capa de leche:

Negativo = El tubo de leche se observa uniformemente coloreado, o de mayor coloración que el anillo.

Positivo = El antígeno aglutinado sube a la superficie y forma un anillo azul en la parte superior de la leche; cualquier grado de coloración del anillo se considera positivo, siempre que la intensidad del mismo sea mayor que la del tubo de leche.

En esta prueba no existen los sospechosos. Si la prueba es positiva, debe realizarse entonces una prueba serológica tamiz individual como la tarjeta.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad:

Esta prueba tiene un índice de reproducibilidad mayor al 95% si se sigue el método descrito.

Bibliografía o referencias:

Alton, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. and Verger, J.M.: Techniques for the brucellosis laboratory. Edited by l'Institute National de la Recherche Agronomique, INRA, París, France, 1988.

Casas Olascoaga, R.: Diagnóstico serológico de la brucelosis. Boletín Técnico, Centro Panamericano de Zoonosis, OPS, OMS, 1975.

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la brucelosis en los animales.

Corner, L.A. Bovine brucellosis. Serology. Australian Standard Diagnostic Techniques for Animal Diseases, Subcommittee on Animal Health Laboratory Standards, Australia, 1989.

12. Rabia

Título

Prueba de Inmunofluorescencia directa para diagnóstico de Rabia.

Objetivo.

Detectar la presencia de virus rábico por medio de la prueba de inmunofluorescencia directa (IF-D).

Campo de aplicación

Esta prueba se realiza para confirmar o descartar la presencia del virus de la rabia, en muestras de animales con diagnóstico clínico y/o sospechosos de la enfermedad.

Documentos conexos a consultarse.

1.- Manual de técnicas de diagnóstico virológico, F.A.O.

2.- NOM-011-SSA2-1993. Norma Oficial Mexicana para la Prevención y Control de la Rabia.

Generalidades

Determinar la presencia del virus de la rabia a través de la IF-D para diagnóstico de rabia, se basa en la utilización de anticuerpos específicos contra el virus rábico, teñidos con un colorante fluorescente (conjugado), el que al unirse con el antígeno respectivo puede ser observado con un microscopio para fluorescencia.

Equipo e instrumentos:

1.- Autoclave.

2.- Congelador con temperatura de al menos -20 °C.

4.- Estufa bacteriológica.

5.- Microscopio de fluorescencia.

6.- Ultracongelador y/o termo para nitrógeno líquido.

7.- Refrigerador con congelador integrado.

Materiales:

1.- Abatelenguas de madera excentos de cera.

2.- Barniz para uñas o pluma marcadora.

3.- Caja para portaobjetos con perforaciones en la tapa (cámara húmeda).

4.- Charolas para enjuague.

5.- Cubreobjetos 20 x 40 mm.

6.- Jarras de Coplin o recipientes para tinción.

7.- Jeringas de 1 ml. y de tuberculina.

8.- Lápiz de grafito.

9.- Papel filtro.

10.- Pinzas.

11.- Portaobjetos.

12.- Tijeras.

13.- Tubos de ensayo.

Reactivos:

1.- Acetona.

2.- Agua destilada estéril.

3.- Glicerina.

4.- Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS), pH 7.6.

Biológicos:

1.- Conjugado antirrábico.

2.- Portaobjetos con impresiones de tejido nervioso positivo y negativo al virus rábico.

3.- Suspensión de cerebro de ratón normal al 20% (SCN).

4.- Suspensión de cerebro de ratón infectado con virus estándar de confrontación al 20% (CVS) o nucleoproteína de células infectadas con rabia al 20%.

Preparación de la solución salina amortiguada con fosfatos (PBS).

a) Soluciones concentradas:

- Solución I:

0.1 M Na_2HPO_4 (14.2 g de Na_2HPO_4 anhidro en 1 litro de agua destilada o 26.8 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 1 litro de agua destilada).

- Solución II:

0.1 M Na_2HPO_4 (13.8 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 1 litro de agua destilada).

- Solución III:

8.5% NaCl. 85 g NaCl en un litro de agua destilada.

Conservar estas soluciones entre 4 y 8 °C.

b) Solución de trabajo:

91.5 ml. solución I

8.5 ml. solución II

100.0 ml. solución III

800.0 ml. agua destilada

Preparación del medio de montaje:

50 ml. de solución buferada de trabajo

50 ml. de glicerol

Condiciones ambientales:

Temperatura óptima de 18 a 22 °C en un lugar exclusivo para el diagnóstico de rabia.

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

Las muestras deben ser frescas, refrigeradas, congeladas o estar conservadas en una solución de glicerina al 50% en agua. Estas últimas deberán lavarse con PBS 3 veces con intervalos de 10 minutos.

Las muestras congeladas deben descongelarse previamente a la elaboración de las improntas.

Absorción del conjugado:

Diluir el conjugado a la concentración óptima para el microscopio que vaya a utilizar.

Adicionar CVS y SCN al conjugado durante 30 minutos, para permitir la absorción. Preparar alícuotas para su posterior utilización, conservadas en congelación.

Procedimiento:

a) Preparación de impresiones o improntas del tejido a partir de las siguientes regiones del encéfalo:

- caninos y felinos: cerebelo, bulbo raquídeo y asta de Amón

- rumiantes: triángulo olfatorio, cerebelo y bulbo raquídeo.

- quirópteros: corte transversal del cerebro completo.

En el extremo de un abatelenguas se coloca un trozo pequeño del tejido nervioso y se presiona ligeramente contra éste un portaobjetos que se ha dividido en tres regiones y del cual sólo se utilizarán las dos primeras para la elaboración de las improntas. Las impresiones deben ser muy delgadas pues de lo contrario incrementa la fluorescencia inespecífica.

b) Fijación y tinción de las improntas:

1.- Sumergir los portaobjetos en una jarra de Coplin con acetona por un periodo mínimo de 1 hora (hasta 24 horas), pues esto permite que la muestra se adhiera fuertemente al portaobjetos, elimina grasas e incrementa la permeabilidad celular, lo que facilita que el conjugado penetre a las células y reaccione con el virus. Se recomienda que la acetona esté conservada a menos 20 °C.

2.- Al término de la fijación se debe rodear las improntas con barniz u otro marcador. Esto evitará que el conjugado se extienda y se seque o se utilice mayor cantidad de éste (25-50µl).

No omitir utilizar testigos tanto positivo como negativo en cada prueba.

3.- Descongelar dos alícuotas de conjugado (una absorbida con CVS y otra con SCN) y cubrir las impresiones con éstos.

4.- Colocar los portaobjetos en la cámara húmeda e incubar a 37 °C por 30 minutos.

5.- Transcurrido el tiempo, lavar los portaobjetos con PBS dos veces, dejándolas sumergidas la segunda ocasión por 10 minutos, al término de los cuales se repite el enjuague, pero con agua destilada.

6.- Permitir que se sequen las improntas, adicionar la glicerina fosfatada, colocar sobre ellas un cubreobjetos y observar al microscopio de fluorescencia.

c) Observe primero el portaobjetos con el testigo positivo para identificar las características de la fluorescencia específica, después observe su control negativo para reconocer la presencia de fluorescencia inespecífica y por último sus muestras problema.

Interpretación de resultados:

La intensidad de la fluorescencia varía de negativo a 4 + , siendo directamente proporcional a la cantidad de antígeno específico presente.

Las muestras que resulten negativas en esta prueba deberán examinarse nuevamente por medio de la inoculación en ratones lactantes o de 21 días de edad o en cultivos celulares de neuroblastoma (esta última prueba es más rápida ya que en 40 horas se obtiene el resultado).

Indices de reproducibilidad y repetibilidad.

Mayor al 95% si se sigue estrictamente el método descrito.

Bibliografía o referencia:

U.S. Department of Health and Human Services. 1981 Laboratory Methods for Detecting Rabies. Center for Disease Control.

World Health Organization 1966. WHO Expert Committee on Rabies. Tech. Rep. Ser. No. 321 fifth report.

Título

Prueba biológica en ratones para la detección del virus de rabia
--

Objetivo:

Esta prueba se utiliza para determinar la presencia o ausencia del virus rábico.

Campo de aplicación:

La prueba se realiza en muestras de tejidos provenientes de animales con neuropatías sugestivas de rabia.

Documentos conexos a consultarse

Manual de técnicas de diagnóstico virológico, F.A.O.

NOM-011-SSA2-1993. Norma Oficial Mexicana para la prevención y control de la rabia.

Generalidades

Determinar la presencia del virus de la rabia a través de la signología que presentan los ratones lactantes o de 21 días inoculados con una suspensión de tejido nervioso o de glándulas salivales de animales sospechosos a rabia, a partir de muestras previamente analizadas por la técnica de inmunofluorescencia directa.

Equipo e Instrumentos:

1.- Centrífuga clínica o refrigerada.

2.- Jaulas para ratones.

3.- Refrigerador con congelador integrado.

4.- Ultracongelador y/o termo para nitrógeno líquido.

Materiales:

1.- Agujas hipodérmicas calibre 27 por media pulgada.

2.- Algodón.

3.- Alimento para ratones.

4.- Jeringas de 0.25 ml, 0.5 ml y 1 ml.

5.- Mortero de porcelana con pistilo o mortero de Tenbroek.

6.- Pinzas.

8.- Tijeras.

9.- Tubos de ensayo.

Reactivos:

1.- Eter.

2.- Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) pH 7.6

3.- Solución de antibióticos penicilina (100 000 U.I./ml) + estreptomicina (100 000 U.I./ml).

Biológicos:

1.- Suero fetal bovino libre de anticuerpos contra rabia o albúmina bovina fracción V.

2.- Animales de prueba.

3.- Ratones lactantes.

Condiciones ambientales

Temperatura óptima de 18 a 22°C en un lugar exclusivo para el alojamiento de los animales de prueba.

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

Las muestras deben ser frescas, refrigeradas, congeladas o estar conservadas en una solución de glicerina al 50% en agua. Estas últimas deberán lavarse con PBS 3 veces con intervalos de 10 minutos.

Las muestras congeladas deben descongelarse previamente.

Procedimiento:

1.- Se obtiene una muestra de 1 a 4 g del tejido a ser probado y se macera en un mortero estéril utilizando una cantidad suficiente de PBS adicionado con 0.75% de suero fetal bovino o albúmina bovina al 0.4% y antibióticos para una concentración final de 100 a 1000 U.I. de penicilina y de 100 a 1000 U.I. de estreptomicina por ml (dependiendo del grado de contaminación de las muestras procesadas) para obtener una suspensión de tejido al 10% que servirá de inóculo para los ratones.

2.- La suspensión al 10% se centrifuga a 1500 rpm durante 5 minutos, preferentemente en una centrífuga refrigerada a 4°C.

3.- Después de anestesiar a los ratones con éter y transcurrido al menos 30 minutos después de haber agregado antibióticos al inóculo, se inoculan 0.02 ml del mismo por vía intracerebral.

Fórmulas de cálculo:

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados:

1.- El periodo de observación de los animales inoculados debe ser al menos de 28 días y la muerte de ratones en las primeras 72 horas deben considerarse inespecíficas.

2.- Se considera un diagnóstico positivo cuando los ratones presentan los signos nerviosos característicos de la rabia (tremores, incoordinación, ataxia, parálisis progresiva, postración y muerte). A partir del quinto día se puede sacrificar paulatinamente a los animales y realizar la prueba de inmunofluorescencia directa, para abreviar el tiempo de duración de la prueba en virtud de que se puede observar fluorescencia específica en animales aparentemente sanos.

3.- El diagnóstico se considera negativo si los ratones sobreviven el periodo de observación de la prueba.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad:

Mayor al 95% si se sigue estrictamente el método descrito.

Bibliografía o referencia:

U.S. Department of Health and Human Services. 1981 Laboratory Methods for Detecting Rabies. Center for Disease Control.

World Health Organization 1966. WHO Expert Committee on Rabies. Tech. Rep. Ser. No. 321 fifth report.

Título

Prueba biológica en células de neuroblastoma para la detección del virus de rabia

Objetivo

Esta prueba se utiliza para determinar la presencia o ausencia del virus rábico.

Campo de aplicación:

La prueba se realiza en muestras de tejidos provenientes de animales con neuropatías sugestivas de rabia.

Documentos conexos a consultarse:

Manual de técnicas de diagnóstico virológico, F.A.O.

NOM-011-SSA2-1993. Norma Oficial Mexicana para la preevención y control de la rabia.

Generalidades:

Determinar la presencia del virus de la rabia a través de cultivos de neuroblastoma infectados con una suspensión de tejido nervioso o de glándulas salivales de animales sospechosos a rabia, previamente analizados por medio de la técnica de inmunofluorescencia directa.

Equipo e Instrumentos:

- 1.- Centrífuga clínica o refrigerada.
- 2.- Estufa bacteriológica.
- 3.- Refrigerador con congelador integrado.
- 4.- Ultracongelador y/o termo para nitrógeno líquido.

Materiales:

- 1.- Cubreobjetos.
- 2.- Jarras de Coplin.
- 3.- Mortero de porcelana con pistilo o mortero de Tembroeck.
- 4.- Pinzas.
- 5.- Pipetas de 1 ml.
- 6.- Portaobjetos delimitados con teflón.
- 7.- Tijeras.
- 8.- Tubos de ensayo.

Reactivos:

- 1.- Acetona a -20°C .
- 2.- Agua destilada estéril.
- 3.- Medio mínimo esencial para cultivo de tejidos.
- 4.- Solución de antibióticos penicilina (100 000 U.I./ml) + estreptomycin (100 000 U.I./ml).
- 5.- Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) pH 7.6.

Biológicos:

- 1.- Cultivos de células de neuroblastoma con confluencia del 80%.
- 2.- Suero fetal bovino libre de anticuerpos contra rabia o albúmina bovina fracción V.

Condiciones ambientales:

Temperatura óptima de 18 a 22°C en un lugar exclusivo para el diagnóstico de rabia.

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

Las muestras deben ser frescas, refrigeradas o congeladas o estar conservadas en una solución de glicerina al 50% con agua. Estas últimas deberán lavarse con PBS 3 veces con intervalos de 10 minutos.

Procedimiento:

1.- Se obtiene una muestra de 1 a 4 g del tejido a ser probado y se macera en un mortero estéril utilizando una cantidad suficiente de PBS adicionado con 0.75% de suero fetal bovino o albúmina bovina al 0.4% y antibióticos para una concentración final de 100 a 1000 U.I. de penicilina y de 100 a 1000 U.I. de estreptomycin por ml (dependiendo del grado de contaminación de las muestras procesadas) para obtener una suspensión de tejido al 10% que servirá de inóculo para las células.

2.- La suspensión al 10% se centrifuga a 1500 rpm durante 5 minutos, preferentemente en una centrífuga refrigerada a 4°C .

3.- Con 0.5 ml de este material se inocula monoestrato celulares de neuroblastoma con una confluencia del 80% y se incuban durante 90 minutos a 37 grados centígrados.

4.- Al término de este tiempo, se adiciona medio mínimo de cultivo con 2% de suero fetal bovino, para incubar a 37°C por 40 horas.

5.- Al finalizar este periodo se practica un raspado del monoestrato, se coloca en un tubo para centrífuga y se resuspenden las células obtenidas en PBS para centrifugar a 1500 rpm y posteriormente se desecha el sobrenadante. Este proceso se repite una vez más.

6.- Habiendo desechado el sobrenadante por segunda ocasión, se resuspenden las células en un volumen de 0.5 ml de PBS colocándolas en un portaobjetos y delimitando el área con teflón para permitir su secado. Se fija con acetona a -20°C y se realiza la prueba de inmunofluorescencia directa.

Fórmulas de cálculo:

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados:

Un diagnóstico positivo se obtiene al observar la fluorescencia específica en las células de neuroblastoma inoculadas.

El diagnóstico se considera negativo si no se observa la fluorescencia.

Bibliografía o referencias:

U.S. Department of Health and Human Services. 1981 Laboratory Methods for Detecting Rabies. Center for Disease Control.

World Health Organization 1966. WHO Expert Committee on Rabies. Tech. Rep. Ser. No. 321 fifth report.

Manual de técnicas de diagnóstico virológico, F.A.O.

13. Tuberculosis bovina

Título

Diagnóstico histopatológico de la Tuberculosis Bovina

Objetivo

Diagnóstico histológico diferencial de la 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 reactores durante el estudio *posmortem*.

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 reactores a la prueba de la tuberculina. Nódulos linfáticos: traquebronquiales, mediastínicos, medial retrofaríngeo, 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 goggles, 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 cms. en una solución de formalina amortiguada 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, dónde 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 resistentes. 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 calcificadas 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 con microtomo 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.

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

- | | |
|---|---------|
| 1.- Xilol | 15 min. |
| 2.- Alcohol etílico 100% | 4 min. |
| 3.- Alcohol etílico 95% | 3 min. |
| 4.- Agua tamponada | 1 min. |
| 5.- Hematoxilina de Harris | 90 seg. |
| 6.- Lavar con agua tamponada | 30 seg. |
| 7.- Clarificar | 1 min. |
| 8.- Lavar con agua tamponada | 30 seg. |
| 9.- Acetato de potasio 1% | 1 min. |
| 10.- Alcohol etílico 95% | 30 seg. |
| 11.- Eosina | 90 seg. |
| 12.- Alcohol etílico 95% | 1 min. |
| 13.- Alcohol etílico 100% | 1 min. |
| 14.- Xilol, 3 cambios de 4 min. cada uno. | |
| 15.- Cubrir y montar la laminilla con resina sintética. | |

Tinción de nueva fucsina:

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

- | | |
|--|----------|
| 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 o/y naranja de acridina para bacilos alcohol-ácido resistentes.

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 emplea como procedimiento de rutina para el diagnóstico conformatorio de bacilos alcohol-ácido resistentes en muestras teñidas con hematoxilina y lesiones compatibles con tuberculosis bovina.

1.- Desparafinar e hidratar el corte del tejido incluido:

Xilol, 5 min.

Alcohol etílico 100%, 15 veces.

Alcohol etílico 95%, 15 veces.

Alcohol etílico 70%, 15 veces.

Agua corriente 15 veces.

2.- Solución carbol fucsina, 30 min.

3.- Lavar con agua corriente.

4.- Decolorar con alcohol ácido a una coloración rosa pálido.

5.- Lavar 8 min.

6.- Contrastar con azul de metileno a una coloración azul tenue; aprox. 25-30 min.

7.- Lavar con agua corriente y agua destilada.

8.- Deshidratar alcohol etílico 70%, 15 veces.

Alcohol etílico 95%, 15 veces.

Alcohol etílico 100%, 15 veces.

9.- Montaje con resina sintética.

Interpretación de resultados.

1.- Hematoxilina-eosina.

Núcleos azules y citoplasma rosa, identificando el granuloma característico en tuberculosis bovina.

2.- Ziehl Neelsen.

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

3.- Nueva fucsina.

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

4.- Auramina-O.

Fluorescencia positiva bacilos alcohol-ácido resistentes:

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 alcohol-ácido resistentes en la tinción de nueva fucsina. Los tiempos requeridos en las etapas de la tinción de auramina-O y rodamina deberán ser exactos por lo que se hace necesario emplear controles positivos.

Bibliografía o referencia:

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).

Título

Aislamiento de *Mycobacterium bovis*

Objetivo:

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.

Documentos conexos a consultarse:

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

Generalidades:

El estudio bacteriológico de la tuberculosis sirve para corroborar el diagnóstico realizado en el campo por medio de las pruebas tuberculínicas y para detectar animales con lesiones sospechosas de tuberculosis en los rastros o mataderos dentro de un programa de vigilancia epizootiológica.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Autoclave.
- 2.- Bisturí y hojas de bisturí.
- 3.- Campaña 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.- Microscopio de campo claro.
- 8.- Pinzas de ratón.
- 9.- Pipeteador manual o automático.
- 10.- Refrigerador.
- 11.- Tijeras.

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.- Matrices aforados.
- 5.- Matrices Erlenmeyer.
- 6.- Morteros de porcelana con mano.
- 7.- Perlas de vidrio.
- 8.- Pizetas.
- 9.- Probetas.
- 10.- Tubos de ensayo de 13 x 100.
- 11.- Tubos de vidrio con tapón.
- 12.- Vasos de precipitado.

Equipo de seguridad:

- 1.- Guantes de hule.
- 2.- Lentes de protección.
- 3.- Mascarillas protectoras con filtros HEPA.

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 tuberculosas o bovinas.

Personal:

- El personal de laboratorio debe ser tuberculino (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.

Área 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 contaminados o material biológico como cultivos deben ser esterilizados antes de ser lavados.

Reactivos:

- 1.- Ácido 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.- Rojo de fenol.

Material biológico:

Material sospechoso con lesiones granulomatosas: nódulos linfáticos o tejidos diversos, o nódulos linfáticos o tejidos de animales reactivos 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 deberán 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 de la muestra a procesar. Si la lesión es muy grande o tiene mucho exudado, elegir una parte externa de la lesión (cápsula) y parte del interior de la lesión. Cuando la muestra es muy pequeña, incluir toda. En caso de no haber lesiones visibles, seleccionar una porción de tejido representativo de la muestra.

Procedimiento:

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 macerar. 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-alkali del método de Petroff.- colocar la muestra en una solución antiséptica de hipoclorito de sodio 1:1000 por 30 minutos. Macerar en un mortero de porcelana agregando un poco de arena y agua destilada estériles. 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 reposar 20 minutos. Añadir gota a gota 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 1 tubo de medio Lowenstein Jensen y al menos 2 tubos de medio de Stonebrink. 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 8 semanas. Desechar los tubos contaminados y procesar el segundo tubo almacenado en congelación.

Fórmulas de cálculo para resultados:

No existen para este procedimiento.

Interpretación de resultados:

Las colonias de *Mycobacterium bovis* se aprecian a simple vista a partir de la 3a. semana generalmente, pero pueden tardar hasta 8 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, 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 µm, que pueden observarse como "cordones".

Todas las cepas aisladas sospechosas de ser *M. bovis* deben ser remitidas al Laboratorio de Referencia para realizar la identificación por pruebas enzimáticas.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad:

Es del 96% aproximadamente.

Bibliografía o referencias:

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

A. 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, Commission 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.

14. Enfermedad de Aujeszky

Título

Sueroneutralización para detección de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (EA)

Objetivo:

Detectar anticuerpos específicos contra el virus de la EA, utilizando un antígeno específico.

Campo de aplicación:

Esta prueba se utiliza para confirmar o descartar la presencia de anticuerpos en animales vacunados, sospechosos o con signos clínicos de EA.

Documentos conexos a consultarse:

Norma Oficial Mexicana NOM-007-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la enfermedad de Aujeszky.

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Generalidades:

Determinar la presencia de anticuerpos específicos contra el virus de la EA, capaces de neutralizar la acción infectante del virus de la EA a una concentración de 200 DICC 50% .

Equipo e instrumentos:

- 1.- Agitador de microplacas.
- 2.- Baño María.
- 3.- Centrífuga clínica.
- 4.- Estufa de CO₂.
- 5.- Microscopio de luz invertida.
- 6.- Multipipetas de 8 a 12 canales (50-200 microlitros).
- 7.- Micropipetas de 50-100 microlitros.
- 8.- Ultracongelador o termo con nitrógeno líquido.
- 9.- Refrigerador con capacidad mínima de 9 pies cúbicos, con congelador integrado.

Materiales:

- 1.- Gradillas.
- 2.- Microplacas de 96 pozos con fondo plano.
- 3.- Puntas para pipetas.
- 4.- Tubos de ensayo.

Reactivos:

- 1.- Antibiótico (penicilina, estreptomicina o kanamicina al 1%)
- 2.- Bicarbonato de sodio en solución al 7%.
- 3.- L.E. (Earles con lactoalbúmina)

Biológicos:

1.- Células PK15 (riñón de cerdo), SKL (línea de riñón de cerdo) o cualquier otra línea o cultivo al cual esté adaptado el virus. Células en suspensión, pero se puede trabajar en monoestrato.

2.- Suero fetal bovino.

3.- Suero de porcino, testigo negativo.

4.- Suero de porcino testigo positivo.

5.- Virus de la enfermedad de Aujeszky con título mínimo de 10⁵/ml, el cual se debe conservar en congelación a -70 °C o en nitrógeno líquido.

Condiciones ambientales:

De laboratorio con temperatura óptima de 18 a 25 °C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

- Centrifugar la muestra de suero a 1,500 rpm x 10 minutos.

- Transferir el suero a un tubo de ensayo e identificar.

- Inactivar a 56 °C durante 30 minutos en baño María.

- En caso de que la prueba se lleve a cabo el día siguiente de preparada la muestra, esta última debe conservarse en congelación.

Procedimiento:

Depositar en una microplaca en dos pozos de cada columna, 50 microlitros del suero problema. Las cantidades (50 microlitros) pueden variar y se pueden utilizar 25 microlitros.

- Agregar a todos los pozos de la microplaca, 50 microlitros de medio diluyente (L.E. + 1% de bicarbonato de sodio).

- Hacer diluciones dobles a partir del 2o. pozo, quedando el primer pozo como control de suero, para detectar si éste presenta toxicidad o alguna otra característica, que pueda interferir con la prueba.

- Agregar 50 microlitros de virus de E.A. ajustado a 200 DICC 50% (dosis infectantes de cultivo celular 50%) a cada pozo, excepto a los controles de suero.

- Incubar durante 1 hora a 37 °C.

- Añadir 100 microlitros de células PK15 o equivalente y dejar en incubación de 48 a 72 horas, revisando diariamente los controles.

Para el control de los biológicos utilizados, preparar en forma paralela otra microplaca con lo siguiente:

- Virus origen "O" o virus de trabajo, a partir del cual se harán 3 diluciones logarítmicas. Las que irán en las hileras correspondientes a:

- Control de células: Depositar en las hileras 11 y 12 de la microplaca, 100 microlitros de células PK15 o equivalente por pozo, para detectar posibles alteraciones en las mismas.

- Control de virus: El virus se ajusta de acuerdo al título a 200 IDTC 50%, a partir de lo cual efectuar tres diluciones logarítmicas para asegurar que hay 200 dosis.

1 y 2: Virus de origen.

3 y 4: 10⁻¹

5 y 6: 10⁻²

7 y 8: 10⁻³

- Control positivo: utilizar un suero testigo positivo, con título conocido de anticuerpos contra EA. Colocar en la hilera número 9 de la microplaca.

- Control negativo: emplear un suero testigo negativo a anticuerpos contra la EA y depositarlo en la hilera número 10 de la microplaca.

Fórmulas de cálculo para resultados:

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados:

1.- Control de células.- observar que el monoestrato esté completo y que las células presenten una morfología característica.

2.- Control positivo.- observar que el monoestrato celular se encuentre completo, en virtud de que el suero testigo positivo neutralizó al virus y evitó el efecto citopático.

3.- Control negativo.- observar el efecto citopático producido por el virus, al no existir anticuerpos en el suero testigo negativo.

La lectura se puede hacer más evidente, eliminando el medio diluyente y añadiendo algún colorante vital, como el azul de metileno, que tiñe únicamente a las células vivas.

Los resultados de esta prueba se expresan en forma cuantitativa, con base al título o cantidad de anticuerpos neutralizantes que estén presentes en el suero problema.

Por lo tanto, los títulos serán cuantificados, a partir del primer pozo en el que se observe claramente efecto citopático.

Es decir si el efecto citopático se observó en el pozo con dilución de 1:32, el título será expresado como 1:16 ya que en la siguiente dilución no neutralizaron el virus, por lo que este último provocó muerte celular.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad:

Mayor a un 95% si se sigue literalmente el método descrito.

Bibliografía o referencia:

Office International des Epizooties (OIE): Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products for Lists A and B. Diseases. Vol. II 1990 (A/013).

Veterinary Virology. Sashi B. Mohanty, Sukanta K. Dutta; Edit. Lea Febiger. Philadelphia 1981.

Virología Práctica. Charles H. Cunningham. Edit. Acribia Zaragoza 1959. pp. 71-80.

Título

Aglutinación látex para la detección de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (EA)

Objetivo:

Detectar anticuerpos específicos contra el virus de la EA, utilizando un método de aglutinación visible a simple vista.

Campo de aplicación:

Esta prueba se utiliza para confirmar o descartar la presencia de anticuerpos en animales vacunados, sospechosos o con signos clínicos de EA. La prueba está estandarizada de forma cualitativa, usando suero o plasma porcino.

Documentos conexos a consultarse:

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Norma Oficial Mexicana NOM-007-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la enfermedad de Aujeszky.

Generalidades:

Después de la infección con el virus de pseudorrabia, el huesped desarrolla una respuesta inmune contra el virión, primero aparecen las inmunoglobulinas IgM e inmediatamente después las IgG. Las IgM declinan rápidamente, mientras las IgG se mantienen de por vida en el huesped.

La prueba de aglutinación en látex provee un método rápido para detectar las IgM o IgG contra el virus de la EA en suero o en el plasma.

El reactivo es una suspensión de partículas de látex que han sido sensibilizadas con antígenos preparados con virus de EA parcialmente purificado.

Cuando el látex es mezclado por rotación sobre una placa de cristal con suero que contiene anticuerpos contra el virus de la EA, el látex aglutina.

La presencia de anticuerpos es indicativa de que el animal en cuestión, en algún periodo de su vida estuvo en contacto con virus de campo de la EA o fue vacunado.

Equipo e instrumentos:

1.- Agitador (Vórtex).

2.- Micropipetas de 50-100 microlitros.

3.- Refrigerador con capacidad mínima de 9 pies cúbicos, con congelador integrado.

Materiales:

Vienen incluidos en el Kit.

Reactivos:

Vienen incluidos en el Kit.

Condiciones ambientales:

De laboratorio con temperatura óptima de 18 a 25°C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

La muestra puede utilizarse en su forma original o puede inactivarse a 56°C durante 30 minutos en baño María.

En caso de que la prueba se lleve a cabo el día siguiente de preparada la muestra, ésta última debe conservarse en congelación.

Los sueros hemolizados parecen no afectar la sensibilidad y especificidad de la prueba .

Los sueros contaminados no deben procesarse.

Procedimiento:

a.- Los reactivos deben estar a temperatura ambiente de 21°C a 25°C.

b.- Marcar e identificar cada muestra que se va a probar.

c.- Agregar con una pipeta (micropipeta), 150 microlitros de la solución de dilución.

d.- Agregar 50 microlitros de suero a cada tubo que contiene buffer de dilución para que quede una dilución 1:4 y mezclar varias veces. Con la misma punta transferir 50 microlitros de la muestra diluida a la placa de vidrio de 1.4 cms.

e.- Dispersar las muestras que van a ser examinadas con un agitador (usar uno por muestra).

f.- Mezclar el reactivo de látex en el vortex (agitador) por unos cuantos segundos o en forma manual invirtiéndolo varias veces .

Colocar la botella del reactivo del látex en una posición vertical y perpendicular a la placa para que la gota del látex sensibilizado caiga libremente sobre cada pozo de la placa que contiene el suero diluido. Evitar que la gota sea muy grande.

Colocar la placa sobre un rotor de cubierta húmeda y girar de 80 a 120 rpm, formando círculos de aproximadamente 2 cms. de diámetro o mezclar la muestra girando la placa de vidrio en forma manual por 5 minutos; girando en forma inclinada lentamente (aproximadamente 20 a 25 veces por minuto) durante 5 minutos.

Inactivación por calor:

Muestra no diluida, en baño María a 56°C (+ -2) por 30-33 minutos.

Interpretación:

La placa deberá leerse en estado húmedo e inmediatamente examinarla bajo luz incandescente o bajo la luz del sol para observar partículas agregadas de látex que son similares a las observadas en el suero control positivo.

Mover suavemente la placa para que se facilite la visualización de las reacciones positivas débiles.

La aglutinación en látex indica la presencia de anticuerpos y debe reportarse como positiva.

Los sueros negativos no producen aglutinación y el látex se mantiene terso.

La presencia de anticuerpos es indicativo de infección o de vacunación con el virus de la EA.

Todas las muestras positivas 1:4 se deben probar de acuerdo al siguiente protocolo:

Las muestras positivas deben ser probadas con dilución 1:40, esto se hace mezclando 50 microlitros de la solución original 1:4 y 400 microlitros (0.45 ml.) de la solución de dilución (1-9 partes).

Las muestras de suero que son positivas a ambas diluciones deben ser consideradas positivas.

Las muestras que son positivas 1:4, pero negativas a 1:40 se deben inactivar y repetirse.

Probar el suero con la dilución 1:4 como se indica.

Si el suero se mantiene positivo en la dilución 1:4 es positivo y se debe confirmar con otra prueba.

Bibliografía o referencia:

Veterinary Virology. Sashi B. Mohanty, Sukanta K. Dutta; Edit. Lea Febiger. Philadelphia 1981.

Virología Práctica. Charles H. Cunningham. Edit. Acribia Zaragoza 1959. pp. 71-80.

Título:

Prueba de Inmunoperoxidasa para detección de anticuerpos séricos contra el virus de la Enfermedad de Aujeszky (E.A.)
--

Objetivo:

Detectar anticuerpos contra la EA por la técnica Inmunoenzimática-peroxidasa indirecta.

Campo de aplicación:

Esta prueba se utiliza como prueba tamiz para la detección de animales o piaras seropositivas, como apoyo a la Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

Documentos conexos a consultarse:

Norma Oficial Mexicana NOM-007-ZOO-1994. Norma Oficial Mexicana, Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Generalidades:

Está basada en los principios de la prueba de ELISA en monoestrato de líneas celulares sensibilizadas con el virus de EA, las muestras de suero que tengan anticuerpos específicos contra éste, efectuarán la unión antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) y un segundo anticuerpo conjugado con peroxidasa (proteína g conjugada), se fija a la porción fc de los anticuerpos permitiendo la reacción enzimática al agregar el sustrato; la peroxidasa activa al indicador, coloreando específicamente el citoplasma de las células.

Equipo e instrumentos:

1.- Estufa bacteriológica con rango de temperatura de 22 °C a 40 °C.

2.- Micropipeta uni o multicanales de 1 a 50 y de 50 a 250 microlitros.

3.- Microscopio de luz invertida.

Materiales:

1.- Frascos de vidrio de 10, 50, 100 y 500 ml.

2.- Marcadores con tinta indeleble.

3.- Microplacas de 96 pozos de fondo en "U".

4.- Pipetas de 1, 5, 10 y 20 ml.

5.- Puntas para micropipeta.

6.- Recipiente con tapa para incubación de microplacas (cámara húmeda).

7.- Toallas absorbentes de papel.

Reactivos: *

1.- Indicador.

2.- Microplacas con monoestrato de células PK15 u otra línea celular con características similares, sensibilizadas con el virus de la E.A.

3.- Proteína G conjugada.

4.- Solución A y B.

5.- Solución de dilución.

6.- Solución de lavado.

7.- Suero testigo negativo.

8.- Suero testigo positivo.

9.- Sustrato.

Condiciones ambientales:

De laboratorio con temperatura óptima de 18 a 25 °C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Sueros para estudio conservados en refrigeración o congelación, sin inactivar.

Procedimiento:

Preparación de los reactivos de acuerdo al instructivo de los equipos (kit's) de peroxidasa elaborados por la PRONABIVE.

- Realizar diluciones de los sueros problema y de los testigos positivos y negativos 1:10 (20 microlitros de suero y 180 microlitros de solución de dilución).

- Descongelar una microplaca sensibilizada durante 5 min. a medio ambiente y lavar en tres tiempos con solución de lavado.

- Secar bien las microplacas con toallas absorbentes y adicionar 50 microlitros por pozo (3 pozos; 1 testigo negativo y 2 infectados) de los sueros problema previamente diluidos 1:10, así como de los sueros testigo positivo y negativo.

- Incubar la microplaca a 37 °C por 45 min. en cámara húmeda.

- Retirar de la incubación las microplacas y decantar los sueros, lavar en tres tiempos con solución de lavado.

- Secar las microplacas con toalla absorbente y adicionar 50 microlitros de proteína G conjugada, diluida 1:500 en solución de dilución.

- Incubar a 37 °C por 30 min. en cámara húmeda.

- Retirar de la incubación las microplacas, decantar la proteína y lavar en tres tiempos con solución de lavado.

- Secar las microplacas con papel absorbente y adicionar 50 microlitros del indicador diluido en la solución A y B más el sustrato, el indicador debe ser preparado en el momento que se va a adicionar.

- Tapar las microplacas e incubar a temperatura ambiente por 20 min.

- Realizar las lecturas en el microscopio de luz invertida.

Fórmulas de cálculo para resultados.

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados:

Se considera reacción positiva cuando 2 de los pozos que contienen células infectadas, muestran por lo menos una colonia de células teñidas de color café-rojizo en su citoplasma y el núcleo permanece sin tinción.

Se considera reacción sospechosa, si uno de los pozos infectados manifiesta células teñidas, debiendo realizar nuevamente la prueba.

Se considera reacción inespecífica cuando en el pozo que contiene células no infectadas se observan células teñidas y tendrá que repetirse, haciendo más diluciones del suero 1:20 y 1:40 o realizar la prueba de ELISA y/o sueroneutralización.

Se considera reacción negativa, en el caso de que los 2 pozos que contienen células infectadas no muestren coloración.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad:

Mayor a 95% si se sigue literalmente el método descrito.

Bibliografía o referencia:

Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

Título:

Prueba de Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), para detección de anticuerpos contra la Enfermedad de Aujeszky EA (tamiz "screening")
--

Objetivo:

Detectar anticuerpos contra la Enfermedad de Aujeszky por la técnica de inmunoensayo, que es una prueba rápida y confiable.

Campo de aplicación:

Esta prueba se utiliza como prueba tamiz para la detección de animales o piaras seropositivas, como apoyo a la Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

Documentos conexos a consultarse:

Norma Oficial Mexicana NOM-007-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Generalidades:

La prueba está basada en una reacción inmunoenzimática que se efectúa en placas sensibilizadas con antígeno purificado.

Equipo e instrumentos:

- 1.- Lector ELISA.
- 2.- Micropipeta.
- 3.- Impresora.
- 4.- Estufa bacteriológica a 32°C, con humedad.
- 5.- Refrigerador con capacidad mínima de 9 pies cúbicos, con congelador integrado.

Materiales:

- 1.- Frascos de 50 y 100 ml.
- 2.- Frascos de vidrio de 500 ml con tapón de rosca.
- 3.- Vaso de precipitado de 500 ml.
- 4.- Recipientes contenedores de soluciones.
- 5.- Puntas de plástico para micro y multipipetas.

Reactivos:

La mayoría de estos reactivos vienen incluidos en el kit.

- 1.- Concentrado de ABTS.
- 2.- Conjugado antiporcino con gentamicina como conservantes.
- 3.- Control negativo porcino.
- 4.- Control positivo débil.
- 5.- Control positivo fuerte.
- 6.- Diluyente para ABTS.
- 7.- Placas absorbidas con virus EA.
- 8.- Solución de lavado 10X
- 9.- Solución preparada de ácido fluorhídrico diluido.

Condiciones ambientales:

De laboratorio con temperatura óptima de 18 a 25°C.

Procedimiento:

Debido a las diferentes metodologías descritas por los diversos fabricantes, se deberán seguir estrictamente las mismas, así como las recomendaciones anexas en el equipo.

A continuación se describe la técnica utilizada por IDEXX (Herd chek):

Vertir 100 ml del control negativo no diluido en los pozos A1, A2 y A3.

Vertir 100 ml del control positivo débil no diluido en los pozos A4, A5, A6.

Vertir 100 ml de control positivo fuerte no diluido en los pozos A7 y A8.

1. La muestra problema diluida 1:20 en los pozos correspondientes (Todas las muestras se deben de trabajar por duplicado).

2. Se incuba 30' a temperatura ambiente.

3. Se vacía el líquido.

4. Se lava de 3 a 5 veces con 300 ml. de solución de lavado, sacudir firmemente sobre un papel absorbente.

5. Poner 50 ml de conjugado a cada pozo.

6. Incubar 30' a temperatura ambiente y preparar la solución ABTS en este momento.

7. Repetir paso número 6.

8. Poner 100 ml de la solución de sustrato ABTS en cada pozo de las placas de la prueba.

9. Incubar 20' a temperatura ambiente.

10. Vertir 50 ml de solución detenedora en cada pozo de la placa de prueba para detener la reacción y en los pozos de la placa en blanco que contiene el sustrato.

11. Calibrar el lector con placa no absorbida y leer a 410 nm.

Fórmula para cálculo de resultados:

1. Cálculo del promedio del control negativo (NC7)

$$NC = \frac{A_1 A(410) + A_2 A(410) + A_3 A(410)}{3}$$

2. Cálculo del promedio del control positivo débil (WPCZ)

$$WPCX = \frac{A_4 A(410) + A_5 A(410) + A_6 A(410)}{3}$$

3. Cálculo del promedio del control positivo fuerte (SPCx)

$$SPCx = \frac{A_7 A(410) + A_8 A(410)}{2}$$

4. Cálculo del cociente s/p

$$s/p = \frac{A(410) \text{ muestra} - (NCx)}{(WPCx) - (NCx)}$$

Interpretación de resultados:

1. Si el cociente s/p es menor que 0.4 la muestra se considera negativa.

2. Si el cociente s/p es mayor o igual que 0.4 la muestra se clasifica como positiva.

Bibliografía:

Office International des Epizooties (DIE): Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products for Lists a and B. Diseases. Vol. II 1990 (A/013).

Veterinary Virology. Sashi B. Mohanty, Sukanta K. Dutta; Edit. Lea Febiger. Philadelphia 1981.

Virología Práctica. Charles H. Cunningham. Edit. Acribia Zaragoza 1959. pp. 71-80.

Título:

Prueba de Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), para detección de anticuerpos contra la glicoproteína I del virus de la Enfermedad de Aujeszky (EA gpl)

Objetivo:

Detectar anticuerpos en muestras de suero de porcinos, contra la glicoproteína I del virus de la Enfermedad de Aujeszky, los cuales en caso de ser detectados sólo son producidos cuando:

a) Los cerdos han estado en contacto con virus de campo de la EA.

b) Los cerdos fueron vacunados con vacunas elaboradas con virus completo de la EA.

Campo de aplicación:

Esta prueba se utiliza para la detección de animales o piaras seropositivas al virus de la EA, como apoyo a la Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

Documentos conexos a consultarse:

Norma Oficial Mexicana NOM-007-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Generalidades:

La prueba está basada en una reacción inmunoenzimática que se efectúa en placas sensibilizadas con antígeno purificado. Durante la primera incubación, los anticuerpos anti EA presentes en el suero, incluyendo aquellos producidos contra gpl reaccionan con el antígeno en el plástico. Después de un lavado, se añade el conjugado de anticuerpos monoclonales anti gpl a la placa, donde puede unirse a cualquier antígeno gpl durante una segunda incubación. Si no hay anticuerpos anti gpl en el suero problema, el antígeno gpl no ocupado está disponible para los anticuerpos conjugados. Por el contrario, si hay anticuerpos anti gpl en el suero, los anticuerpos monoclonales conjugados con la enzima, no pueden reaccionar con el antígeno.

Después de este periodo de incubación el conjugado que no ha reaccionado se elimina por lavado y se añade una solución sustrato-cromógeno. En presencia de la enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno generando un color azul.

Equipo e instrumentos:

Estufa Bacteriológica, de 37°C con humedad.

Impresora.

Lector para placas de ELISA.

Micropipeta de un solo canal 5-100 ul.

Micropipetas de 8 a 12 canales con capacidad de 50 a 300 ul.

Pipetas serológicas de 1,5 y 10 ml.

Potenciómetro.

Probetas graduadas de 500 ml.

Refrigerador con capacidad mínima de 9 pies cúbicos, con congelador integrado.

Materiales:

Frasco de vidrio de 50 y 100 ml.

Frascos de vidrio de 500 ml con tapón de rosca.

Microplacas de 96 pozos con antígeno de EA adherido a la superficie.

Microplacas para cultivo celular de 96 pozos de fondo plano.

Puntas de plástico para micropipeta de 300 ul. de capacidad.

Recipientes contenedores de soluciones.

Vaso de precipitado de 500 ml.

Reactivos:

La mayoría de estos reactivos vienen incluidos en el Kit.

Conjugado anti EA gpl.

Suero control negativo al virus de la EA.

Solución amortiguadora de fosfatos (PBS) pH 7.2.

Suero control positivo al virus de la EA

Tetra-metil-benzidine (TMB) y su diluyente.

Condiciones ambientales:

Temperatura de laboratorio (18-26°C), evitar corrientes de aire acondicionado o de calefacción, no trabajar bajo la luz directa del sol.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Diluir las muestras en base 2 (1:2) en diluyente para las muestras.

Procedimiento:

Debido a las diferentes metodologías descritas por los diversos fabricantes, se deberán seguir estrictamente las mismas, así como las recomendaciones anexas en el equipo.

A continuación se describe la técnica utilizada por IDEXX: **HerdChek Anti ADV gpl.**

Vertir 100 ul del control negativo no diluido en los pozos A1, A2 y A3.

Vertir 100 ul del control positivo no diluido en los pozos A4 y A5.

Vertir 100 ul de muestra diluida en los pozos apropiados.

Incubar 60' a temperatura ambiente 18-23°C).

Lavar de 3 a 5 veces con 300 ul de solución de lavado, sacudir suave, pero firmemente sobre un papel absorbente.

Poner 100 ul de conjugado anti ADV gpl en cada pozo.

Incubar 20' a temperatura ambiente y preparar la solución TMB en este momento.

Repetir el paso de lavado.

Poner 100 ul de la solución de sustrato TMB en cada pozo de las placas de la prueba.

Incubar 15' a temperatura ambiente.

Vertir 50 ul de solución detenedora en cada pozo de la placa de prueba para detener la reacción.

Calibrar el lector de ELISA con aire y leer a 650 nm.

Fórmula para cálculo de resultados.

1. Cálculo del promedio del control negativo (NCx):

$$\frac{A1 A(650) + A2 A(650) + A3 A(650)}{3}$$

2. Cálculo del promedio del control positivo (PCx):

$$\frac{A4 A(650) + A5 A(650)}{2}$$

3. Cálculo de inhibición %:

$$NCx - \text{muestra A} \left(\frac{\text{muestra A}}{NCx} \right) \times 100$$

NCx

Interpretación de resultados:

Presencia de color (azul) en el pozo.

Significa que se encuentran anticuerpos marcados (incapaces de reaccionar contra la glicoproteína 1).

Lo anterior se debe a que los epitopes g1 del virus de la E.A. fueron ocupados por los anticuerpos monoclonales contra la glicoproteína 1, los cuales al reaccionar con el cromógeno revelan el color azul.

Los epitopes g1 se encontraban libres debido a que los anticuerpos presentes en la muestra son contra glicoproteínas diferentes a la g1.

En este caso, el valor S/N es igual o mayor de 0.7.

Es decir, las muestras de suero corresponden a cerdos vacunados con vacuna g1 negativa.

Ausencia de color en el pozo:

Significa que se encuentran anticuerpos contra todo tipo de epitopes del virus de la E.A., incluyendo a la g1. Es decir, el cerdo fue vacunado con vacuna de virus completo o tuvo contacto con virus de campo.

(Capaces de reaccionar contra la glicoproteína 1).

Lo anterior se debe a que los epitopes g1 del virus de la E.A. no fueron ocupados por los anticuerpos monoclonales contra la glicoproteína 1, los cuales son desechados en el proceso de lavado y por lo tanto no hay sustrato para el cromógeno.

En este caso el valor S/N es igual o menor a 0.6.

1. Si el cociente s/p es menor que 0.4 la muestra se considera negativa.

2. Si el cociente s/p es mayor o igual que 0.4 la muestra se clasifica como positiva.

Bibliografía:

Office International des Epizooties (OIE): Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products for Lists A and B. Diseases. Vol. II 1990 (A/013).

Gustafson, D.P. 1984. Pseudorabies, P. 209-223 in Leman, A. D., Glock, R.D., Mengeling, W. L., Penny, R. H. , et al . Diseases of Swine, 5th Edition. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.

15. Fiebre porcina clásica

Título:

Aislamiento del Virus de Fiebre Porcina Clásica (FPC) en microplacas, evidenciado por inmunoperoxidasa

Objetivo:

Aislar el virus de casos clínicos de FPC y evidenciar el antígeno por técnicas inmunoenzimáticas (inmunoperoxidasa).

Campo de aplicación:

En la confirmación del diagnóstico de FPC como apoyo a la Campaña Nacional contra la FPC.

Documentos a consultarse:

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Norma Oficial Mexicana NOM-037-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

Generalidades:

La prueba se utiliza para aislar el agente etiológico de la FPC, a partir de muestras remitidas para su diagnóstico por Inmunofluorescencia: tonsila, bazo, ganglio y riñón, los cuales se maceran, filtran e inoculan en monoestratos de líneas celulares de riñón de cerdo (PK15), de testículo de cerdo, (ST) ya que éstas son susceptibles a la replicación del virus de FPC.

Equipos e instrumentos:

Autoclave escala de 1.5 kg de presión a 121°C.

Balanza con escala de 0.001 g a 10 g, mínimo.

Centrífuga refrigerada escala de 0 a 5000 rpm y de 0°C a -25°C.

Congelador con escala de temperatura de 0°C a -30°C.

Estufa bacteriológica con suministro de CO₂, rango de temperatura de 22°C a 40°C.

Microscopio óptico, con objetivos seco débil, seco fuerte e inmersión.

Microscopio invertido, objetivos: Panorámico, seco débil y seco fuerte.

Refrigerador con capacidad mínima de 9 pies cúbicos con congelador integrado.

Ultracongelador (Revco), con escala de 0°C a -70°C.

Materiales:

Botellas para cultivos celulares de 5 a 15 ml.

Cajas de Petri.

Filtros con membrana de .45 y .22 micrómetros de diámetro.

Marcadores de tinta indeleble.

Microplacas de plástico, con 96 pozos, fondo plano.

Mortero de porcelana con pistilo y mortero de Stenbrook.

Multipipetas con 8 o 12 canales.

Pinzas y tijeras.

Pipetas de 5, 10 y 20 ml.

Probetas de 100 ml.

Puntas para multipipeta.

Tubos de centrifuga.

Reactivos:

Amino -9 etil carbazol (cromógeno).

Acetona al 30%.

Albúmina sérica bovina al .02%.

Antibióticos en polvo (penicilina/estreptomicina).

Bicarbonato de sodio en solución al 7%.

Conjugado para inmunoperoxidasa (proteína G + peroxidasa).

H₂O₂ al 30% (sustrato).

Medio mínimo esencial (MEM) completo.

Solución amortiguadora de fosfatos (SAF) pH 7.2.

Solución de fosfatos .01 M + tween 20 (SAF-L).

Solución de fosfatos .01 M. + NaCl 2.1% + tween 20 al .05%.

Soluciones A y B.

Biológicos:

Líneas celulares de riñón de cerdo (PK15) y de testículo de cerdo (ST).

Suero de cerdo, hiperinmune contra el virus de la FPC.

Suero Fetal Bovino, libre de virus y anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina.

Virus de FPC.

Condiciones ambientales:

De laboratorio, con temperatura óptima de 18-26°C en área estéril.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

La tonsila, ganglios submaxilares y bazo son los órganos de elección.

Deben conservarse en refrigeración y/o congelación en frascos o bolsas estériles con cierre hermético.

Procedimiento:

Cortar 1 a 2 g. de muestra, pasar a cajas de Petri y lavar 2 veces con PBS con antibiótico al 2%. Posteriormente macerar en un mortero, agregando PBS o solución de EARLE estéril, hasta obtener una pasta homogénea (dilución 1:10).

Pasar a un mortero Stenbrook para una segundo macerado.

Depositar la suspensión del macerado en tubos de centrifuga.

Centrifugar a 5000 rpm durante 15 minutos a temperatura de 5°C.

Cosechar el sobrenadante y filtrar con filtros de tamaño: .45 y .22 micras de diámetro de poro.

Inocular 100 microlitros del fluido centrifugado a las microplacas, dejando los pozos de las columnas 11 y 12, sin infectar como controles de células.

Se siembran algunos pozos extras con virus de FPC, como control positivo (línea H).

El fluido del macerado, debe inocularse a una botella de cultivo, dejando una botella como control celular.

Incubar las microplacas a 37°C con 5% de CO₂ por 48 o 72 horas.

El fluido de las microplacas se retira y se lavan con SAF L, se secan y se fijan con acetona al 30% con albúmina sérica al .02% durante 10 a 15 minutos, secándolas posteriormente.

La botella se incuba 1 hora a 37°C y posteriormente se retira el inóculo, se lava con PBS y se adiciona MEM, incubando 48 o 72 horas.

Las botellas inoculadas se congelan a -70°C y después, se descongelan rápidamente.

El fluido se recolecta en tubos de centrifuga y se centrifuga a 3000 - 5000 rpm/15-20 minutos.

Cosechar el sobrenadante, prosiguiendo con los puntos 5 y 9.

Una vez secas las microplacas, preparar el suero hiperinmune de FPC en una dilución 1:10 y depositar 50 microlitros en cada pozo e incubar 15-20 minutos a 37°C.

Retirar el suero hiperinmune y lavar las microplacas con (SAF L) 2-3 veces.

Adicionar el conjugado a una dilución 1:500. Depositando 50 ml a cada pozo de las placas e incubar con las mismas condiciones del punto anterior.

Retirar conjugado y lavar con SAF-L 2-3 veces.

Adicionar el sustrato cromógeno, 50 ml/pozo, e incubar a medio ambiente 15-20 minutos.

Retirar sustrato y lavar las placas con SAF-L 2 a 3 veces.

Secar y observar al microscopio invertido o microscopio óptico.

Interpretación de resultados:

Cuando se observa tinción rojo ladrillo en el citoplasma y membrana de la línea celular, el resultado se considera positivo, tal como se observa en el control positivo.

Indices de reproductibilidad y repetibilidad.

Mayor al 95% si se sigue estrictamente el método descrito.

Biografía:

Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines OIE, Paris, Francia 1992.

Jutting BS, National Veterinary Services Laboratories, USDA, APHIS, Ames, Iowa.

Título:

Inmunofluorescencia directa para diagnóstico de Fiebre Porcina Clásica (FPC) en cortes por congelación

Objetivo:

La prueba se utiliza para la detección del virus de la Fiebre Porcina Clásica.

Campo de aplicación:

Para la confirmación del diagnóstico clínico de FPC como apoyo a la Campaña Nacional contra la FPC.

Documentos a consultarse:

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Norma Oficial Mexicana NOM-037-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

Generalidades:

Detectar el antígeno viral de FPC por medio de un conjugado de inmunoglobulinas IgG (suero hiperinmune) conjugado con isotiocianato de fluoresceína, que al ponerse en contacto con el tejido sospechoso: tonsilas, nódulo linfático y bazo va a unirse a la fracción antigénica del virus de la FPC efectuándose la unión Ag-Ac, dicha reacción se observa por medio del microscopio de fluorescencia.

Equipo e instrumentos:

Congelador con temperatura de 0 a -20°C.

Criostato.

Estufa bacteriológica con rango de 22 a 40°C.

Microscopio de fluorescencia.

Materiales:

Caja para portaobjetos con perforaciones en la tapa y papel filtro (cámara húmeda).

Cubreobjetos

Jarra de Coplin.

Pinzas.

Portaobjetos.

Tijeras.

Reactivos:

Acetona.

Glicerina.

Solución amortiguada de fosfatos (SAF) pH 7.2.

Biológicos:

Conjugado de FPC con título de trabajo, mínimo de 1:4.

Cortes congelados de tonsilas positivos y negativos.

Condiciones ambientales.

De laboratorio con temperatura óptima de 18 a 25°C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Tejido de estudio: Tonsilas, bazo o ganglio linfático.

Los tejidos de elección son las tonsilas, nódulo linfático y bazo. Las muestras deben colocarse en envases con sello hermético y conservarse en refrigeración.

Procedimiento:

- Montar un corte de 1 cm² aproximadamente, con gelatina y congelar en el criostato a -20 °C.
- Realizar cortes de 4 a 5 micras de espesor y colocarlas en portaobjetos.
- Fijar con acetona en congelación por 10 min.
- Secar y teñir los cortes, con el conjugado junto con los testigos positivos y negativos.
- Incubar a 37 °C por 30 min en cámara húmeda.
- Lavar de 4 a 5 veces con PBS.
- Lavar con agua destilada y secar al medio ambiente.
- Montar con glicerina buferada.
- Observar en microscopio de fluorescencia.

Interpretación de resultados:

La fluorescencia específica se observa exclusivamente en el citoplasma de las células epiteliales de las criptas tonsilares y/o en células linfoides de los nódulos linfoides.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad:

Mayor al 95% si se sigue estrictamente el método descrito.

Bibliografía:

Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

Título:

Prueba de Inmunoperoxidasa para detección de anticuerpos contra el virus de la Fiebre Porcina Clásica (FPC)

Objetivo:

La prueba se utiliza para la detección de anticuerpos séricos contra el virus de la Fiebre Porcina Clásica por la técnica inmunoenzimática-peroxidasa .

Campo de aplicación:

Diagnóstico y/o monitoreo de piaras, como parte de la Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

Documentos conexos a consultarse:

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Norma Oficial Mexicana NOM-037-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

Generalidades:

Detectar anticuerpos contra el virus de la FPC basado en los principios de la prueba de ELISA, en monoestratos de líneas celulares sensibilizadas con el virus de FPC.

Los anticuerpos específicos contra éste, que estén presentes en el suero sanguíneo, efectuarán la unión antígeno-anticuerpo (Ag-Ac).

Un segundo anticuerpo conjugado con peroxidasa (proteína G conjugada), se fija a la porción fijadora del complemento de los anticuerpos permitiendo la reacción enzimática al agregar el sustrato.

La peroxidasa activa al indicador por lo que el citoplasma de las células, debe mostrar una coloración específica, en caso de haber anticuerpos contra el virus de la FPC en el suero problema.

Equipo e instrumentos:

Estufa bacteriológica con rango de temperatura de 22 °C a 40 °C.

Micropipeta uni o multicanales de 1 a 50 y de 50 a 250 microlitros.

Microscopio de luz invertida.

Materiales:

Marcadores de tinta indeleble.

Microplacas de plástico, con 96 pozos, fondo plano.

Pipetas de 5, 10 y 20 ml.

Probetas de 100 ml.

Puntas para multipipeta.

Materiales:

Frascos de vidrio de 10, 50, 100 y 500 ml.

Marcadores con tinta indeleble.

Microplacas de 96 pozos de fondo en "U".

Pipetas de 1, 5, 10 y 20 ml.

Puntas para micropipeta.

Recipiente con tapa para incubación de microplacas (cámara húmeda).

Toallas absorbentes de papel.

Reactivos: *

Indicador.

Microplacas con monoestrato de células PK15 u otra línea celular con características similares, sensibilizadas con el virus de la FPC.

Proteína G conjugada.

Solución A y B.

Solución de dilución.

Solución de lavado.

Suero testigo negativo.

Suero testigo positivo.

Sustrato.

Condiciones ambientales:

De laboratorio con temperatura óptima de 18 a 25°C.

Preparación y acondicionamiento de la muestra.

Sueros para estudio conservados en refrigeración o congelación, sin inactivar.

Procedimiento:

Preparación de los reactivos de acuerdo al instructivo de los kits de inmunoperoxidasa comercializados por la PRONABIVE.

- Realizar diluciones de los sueros problema y de los testigos positivos y negativos 1:10 (20 microlitros de suero y 180 microlitros de solución de dilución).

- Descongelar una microplaca sensibilizada durante 5 min. a medio ambiente y lavar en tres tiempos con solución de lavado.

- Secar bien las microplacas con toallas absorbentes y adicionar 50 microlitros por pozo (3 pozos; 1 testigo negativo y 2 infectados) de los sueros problema previamente diluidos 1:10, así como de los sueros testigo positivo y negativo.

- Incubar la microplaca a 37°C por 45 min. en cámara húmeda.

- Retirar de la incubación las microplacas y decantar los sueros, lavar en tres tiempos con solución de lavado.

- Secar las microplacas con toalla absorbente y adicionar 50 microlitros de proteína G conjugada, diluida 1:500 en solución de dilución.

- Incubar a 37°C por 30 min. en cámara húmeda.

- Retirar de la incubación las microplacas, decantar la proteína y lavar en tres tiempos con solución de lavado.

- Secar las microplacas con papel absorbente y adicionar 50 microlitros del indicador diluido en la solución A y B más el sustrato, el indicador debe ser preparado en el momento que se va a adicionar.

- Tapar las microplacas e incubar a temperatura ambiente por 20 min.

- Realizar las lecturas en el microscopio de luz invertida.

Fórmulas de cálculo para resultados.

En esta técnica no se utilizan.

Interpretación de resultados:

Se considera reacción positiva cuando 2 de los pozos que contienen células infectadas, muestran por lo menos una colonia de células teñidas de color café-rojizo en su citoplasma y el núcleo permanece sin tinción.

Se considera reacción sospechosa si uno de los pozos infectados manifiesta células teñidas, debiendo realizar nuevamente la prueba.

Se considera reacción inespecífica cuando en el pozo que contiene células no infectadas se observan células teñidas y tendrá que repetirse, haciendo más diluciones del suero 1:20 y 1:40 o realizar la prueba de ELISA y/o sueroneutralización.

Se considera reacción negativa, en el caso de que los 2 pozos que contienen células infectadas no muestren coloración.

Índices de reproducibilidad y repetibilidad:

Mayor a 95% si se sigue literalmente el método descrito.

Bibliografía:

Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, OIE. París, Francia 1992.

Título:

Inmunoensayo ligado a enzimas, ELISA, para la detección de Anticuerpos contra el virus de Fiebre Porcina Clásica (FPC)

Objetivo:

Determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de FPC, mediante una prueba rápida y confiable.

Campo de aplicación:

Se utiliza para efectuar las pruebas, que establece la Norma Oficial Mexicana de la Campaña Contra la Fiebre Porcina Clásica.

Diagnóstico serológico de F.P.C.

Diagnóstico diferencial de infecciones por pestivirus.

Documentos conexos a consultarse:

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Norma Oficial Mexicana NOM-037-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

Generalidades:

Se utilizan 2 anticuerpos monoclonales, cada uno de los cuales reconoce un epítopo específico diferente de la proteína "E1", de la envoltura del virus. La placa posee un anticuerpo monoclonal específico ligado a su superficie. Una vez lavada la placa de trabajo, se adiciona un segundo anticuerpo monoclonal y además se agrega la mezcla de virus-suero problema que fue incubado previamente en una placa de cultivo celular, con poca capacidad de fijar partículas. Después de una segunda incubación se retira el inóculo, se lava la placa y se adiciona un cromógeno-sustrato.

La reacción se interpreta de la siguiente manera: Si ambos anticuerpos monoclonales se unen al antígeno, la enzima peroxidasa induce una reacción cromogénica, indicando que el suero problema es negativo a anticuerpos contra el virus de F.P.C. Si uno o ambos epítopos son bloqueados por anticuerpos del suero problema, el conjugado es lavado y los pozos permanecen claros, indicando que el suero problema contiene anticuerpos contra el virus de F.P.C., en resumen: reacción con color = NEGATIVO, sin color = POSITIVO.

* Complex-Trapping-Blocking: ELISA for detection of H0G Cholera Antibodies CEDITEST, Lelystad Holland. July 1994.

Equipo e instrumentos:

Estufa bacteriológica de 37 °C con humedad.

Impresora.

Lector para placas de ELISA.

Micropipeta de un solo canal 5-100 ul.

Micropipetas de 8 a 12 canales con capacidad de 50 a 300 ul.

Pipetas serológicas de 1, 5 y 10 ml.

Potenciómetro.

Refrigerador con capacidad mínima de 9 pies cúbicos, con congelador integrado.

Materiales:

Frasco de vidrio de 50 y 100 ml.

Frascos de vidrio de 500 ml con tapón de rosca.

Microplacas de 96 pozos con un anticuerpo monoclonal ligado a la superficie preservadas con glicerol.

Microplacas para cultivo celular de 96 pozos de fondo plano.

Puntas de plástico para micropipeta de 300 ul. de capacidad.

Recipientes contenedores de soluciones.

Vaso de precipitado de 500 ml.

Reactivos:

La mayoría de estos reactivos vienen incluidos en el Kit.

Sueros de referencia (1: suero positivo fuerte. 2: suero positivo débil. 3: suero negativo de referencia para indicar la sensibilidad de la prueba. 4: suero negativo.

Acetato de sodio 0.1M.

Acido acético.

Acido sulfúrico 0.5M.

Antígeno de FPC, proteína E-1 del virus de FPC.

Conjugado de peroxidasa-anticuerpo monoclonal.

Dimetil sulfóxido (DOMOSO).

Peróxido de hidrógeno al 30%.

Solución amortiguadora de fosfatos (PBS) pH 7.2.

Suero control negativo.

Suero equino.

Tetra-metil-benzidine (TM.B).

Tween 80.

Condiciones ambientales:

Temperatura de laboratorio (18-26°C), evitar corrientes de aire acondicionado o de calefacción, no trabajar bajo la luz directa del sol.

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

Obtener la muestra de suero lo más clara posible, es decir libre de hemolisis, no deben estar contaminados, la muestra se diluye 1:2.5 con la solución de dilución de muestras.

Procedimiento:

En una placa de cultivo celular, de 96 pozos u otra que tenga una baja capacidad de ligar partículas a su superficie que se utiliza como placa falsa.

Colocar en la columna 1 el suero negativo (75 ul.).

En la columna 2, se pone 75 ul. de suero de referencia 1 en los pozos A2 y B2, en el pozo C2 y D2, el suero de referencia 2, el suero 3 de referencia en los pozos E2 y F2, y el suero 4 en los pozos G2 y H2.

De la columna 3 en adelante, se ponen 45 ul. de solución de dilución* y 30 ul. del suero problema (1:2.5) 80 sueros por placa.

Adicionar 75 ul. de solución de dilución a la columna 1. Adicionar 75 ul. del virus HCV-El diluido como indica el fabricante (1:30) en las columnas 2-12.

Incubar a 37°C, durante 30 minutos en cámara húmeda, previamente selladas.

Una vez transcurrido el tiempo (30 minutos), lavar la placa de trabajo 5 veces con la solución de lavado** para remover el glicerol.

Depositar 50 ul. de conjugado (para una placa 5 ml. de solución de dilución + 166 ul. de conjugado), en todos los pozos de la placa.

Transferir 50 ul. de la mezcla antígeno-suero de la placa falsa a la placa de trabajo, tal como están en la placa donde se llevó a cabo la incubación Ag-suero, utilizando puntas diferentes para cada suero.

Sellar e incubar a 37°C durante 1 hora en cámara húmeda.

Una vez concluida la segunda incubación, se retira el inóculo.

Lavar 10 veces con PBS + tween 80 y se adicionan 100 ul. del cromógeno-sustrato (100 ul. TMB + 10 ul. de acetato de sodio pH 6 + 100 ul. de una solución de H₂O₂, preparada con 85 ul. de H₂O₂ al 30% en 5 ml. de agua destilada).

Agitar a intervalos de 2 minutos durante 10 o 20 minutos.

Detener la reacción mediante la adición de 100 ul. de ácido sulfúrico 0.5M. en todos los pozos.

Leer inmediatamente la placa en un lector de ELISA a una Densidad Optica de 450 nm.

* Para una placa 20 ml. PBS + 0.05% Tween 80 + 2% suero equino.

** Solución de lavado: 600 ml. PBS + 300 ul de Tween 80, para una placa.

Fórmula de cálculo para resultados:

Los porcentajes de inhibición de los sueros de referencia de la columna 2 y la de los sueros problema se calculan de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%inh = 100 - \frac{DO \text{ suero problema}}{DO \text{ máxima}} \times 100$$

Interpretación de resultados:

- 0-30% de Inhibición = Negativos a anticuerpos contra la F.P.C.

- 31-50% de Inhibición = sospechosos. Repetir la prueba.

- 51-100% de Inhibición = Positivo a anticuerpos contra el virus de la F.P.C.

Indices de reproducibilidad y repetibilidad.

Mayor de 95%, si se sigue literalmente el método descrito.

Bibliografía:

G. Wensvoort, M. Bloemraad and C. Terpstra: Veterinary Microbiology 17: 129-140, 1988.

ELISA: Tips Técnicos: Flock Chek: Memorias del Curso de actualización en técnicas de inmunoensayo (ELISA), aplicadas al diagnóstico de enfermedades de los animales. Centro de Análisis e Investigaciones Pecuarias de la Laguna 27-29, Febrero 1996, Gómez Palacio, Dgo.

Título:

Microseroneutralización ligada a peroxidasa (MSLP), para la detección de anticuerpos séricos contra el virus de la Fiebre Porcina Clásica (FPC)

Objetivo:

Determinar cuantitativamente los anticuerpos presentes en el suero sanguíneo de cerdos que han estado en contacto con el virus de la FPC.

Campo de aplicación:

Se utiliza para efectuar las pruebas que establece la Norma Oficial Mexicana de la Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

Esta prueba se efectúa para establecer el título de anticuerpos contra el virus de la FPC que están presentes en muestras de suero sanguíneo.

Documentos conexos a consultarse:

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

Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995, Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas en materia zoosanitaria.

Norma Oficial Mexicana NOM-037-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Fiebre Porcina Clásica.

Generalidades:

Esta prueba se lleva a cabo en microplacas en las cuales se mezclan diluciones progresivas de suero sanguíneo y de virus de la FPC, posteriormente se adicionan células de línea ST en suspensión y se incuban durante 48 horas a 37 °C, en una atmósfera de 5% de CO₂.

Para hacer evidente la reacción antígeno-anticuerpo, después de incubar, se aplica la técnica de inmunoperoxidasa, utilizando un suero hiperinmune diluido, se adiciona conjugado a base de proteína G + peroxidasa y finalmente se agrega un cromógeno - sustrato.

El título de anticuerpos presentes en el suero se determina al observar el o los pozos en los cuales hay o no coloración rojiza.

Equipo e instrumentos:

Agitador (Vortex).

Baño María con regulador de temperatura.

Centrífuga.

Estufa bacteriológica con suministro de CO₂ y humedad relativa de 70%.

Micropipetas de 1 canal y de 8 y 12 canales de 50-200 ml.

Microscopio de luz invertida.

Refrigerador con congelador integrado de 9 pies cúbicos.

Materiales:

Botellas de cultivo celular de 15, 30 y 100 ml.

Botellas de vidrio de 50, 100, 500 ml.

Gradilla para tubos de 13 x 100.

Microplacas de fondo plano de 96 pozos para cultivo celular.

Tubos de vidrio de 13 x 100 mm.

Biológicos:

Células de línea de testículo de cerdo, ST.

Suero fetal bovino libre de anticuerpos contra los virus de la FPC, y contra la Diarrea Viral Bovina.

Suero hiperinmune específico contra FPC.

Virus de Fiebre Porcina Clásica adaptado a laboratorio ej. cepa E

Reactivos:

Acetona (200 ml de acetona + 800 ml de SAF 0.01 H pH, 7.2 + 0.2 y albúmina sérica de bovino).

Bicarbonato de sodio al 7%.

Conjugado de proteína E + peroxidasa.

Cromógeno 3 amino 9 etil carbazol.

L-glutamina.

Medio mínimo esencial (MEM) DE EAGLE.

Solución A y B.

Solución de antibiótico penicilina-estreptomicina.

Solución de dilución para el conjugado y suero hiperinmune (1 litro de Solución Amortiguadora de Fosfatos (SAF), pH 7.2, 0.01 M + 21 y NaCl + 0.5 ml. de Tween 20.

Solución de lavado: SAF, pH 7.2, 0.01M, 1 litro + 0.5 ml de Tween 20.

Solución de tripsina - verseno.

Sustrato de peróxido de hidrógeno al 30%.

TPB.

Tween 20.

Condiciones ambientales:

Temperatura de laboratorio (18-26°C), evitar corrientes de aire acondicionado o de calefacción, no trabajar bajo la luz directa del sol.

Preparación y acondicionamiento de la muestra:

Obtener la muestra de suero lo más clara posible, es decir libre de hemólisis, no deben estar contaminados y se inactivan a 56°C por 30 minutos.

Procedimiento:

Colocar en una microplaca de fondo plano, estéril, de 96 pozos, 50 microlitros (mlt), de medio de dilución (MEM + 5% SFB + 2% de NaHCO₃) en todos los pozos.

Agregar, en la columna A, 50 mlt de suero problema.

Agregar 50 ml de suero problema en el primer pozo de la columna 2.

Mezclar bien y transferir 50 ml al pozo de la siguiente columna, mezclar y transferir 50 ml al pozo de la columna 4 y así sucesivamente, hasta llegar a la última columna de la microplaca, obteniendo así diluciones de suero de 1:2 hasta 1:2048.

Adicionar 50 ml de una suspensión de virus E, conteniendo 200 DICT 50/0.05 ml diluido con MEM.

Mezclar en un agitador de placas durante 20 segundos.

Incubar a 37°C durante 60 minutos con 5% de CO₂ y 70% de humedad relativa (HR).

Adicionar 50 mlt de una suspensión de células de línea ST a una concentración de 1:2.

Para preparar la suspensión de células, decantar el medio de crecimiento o extraerlo con una bomba de vacío, de una botella de 15, 30 o 100 ml, dependiendo de la cantidad de células que se vayan a necesitar.

Lavar el monoestrato con SAF pH 7.2 a 37°C, 2 veces.

Adicionar de 5 a 10 ml de la solución de tripsina-verseno a 37°C, humedecer bien la superficie del monoestrato y retirar rápidamente.

Añadir nuevamente 1 o 2 ml de la misma solución y dejar a 37°C durante 5-10 minutos, observando el desprendimiento de la capa de células se puede acelerar esto mediante agitación vigorosa o por golpes en la botella con la palma de la mano.

Una vez que ya se hayan desprendido las células en su totalidad, se adiciona medio de crecimiento (5% SFB + 2% N-HCO₃ + MEM, con PB 2% L-glutamina y 2% de antibiótico), suficiente como para tener una concentración final de 1:2.

Incubar a 37°C, con 5% CO₂ y 70% de humedad relativa, por un tiempo de 48 horas.

Descartar el medio de crecimiento.

Lavar 3 veces con solución de lavado.

Secar perfectamente con una toalla absorbente.

Fijar las células con acetona adicionando 100 ml en todos los pozos y dejar a temperatura ambiente 10 minutos.

Retirar la acetona y secar bien a medio ambiente a 37°C 45 minutos.

Lavar con solución de lavado 3 veces.

Secar con una toalla absorbente.

Adicionar 50 ml de suero hiperinmune diluido en la solución de dilución, dependiendo del título, de tal forma que tengamos un título final de 1:300, en todos los pozos.

Incubar 30 minutos a 37°C.

Retirar el inóculo.

Lavar 3 veces con la solución de lavado.

Adicionar 50 ml de solución de cromógeno-sustrato.

Incubar a medio ambiente durante 15-30 minutos.

Hacer la lectura visualmente.

En casos dudosos se puede leer en el microscopio de luz invertida o en el microscopio óptico de bajo poder.

Controles:

a) Control de suero hiperinmune, diluyendo desde 10 a la 1, hasta 10 a la 5 (dependiendo del título original), inoculando 4 pozos por dilución o suero hiperinmune 50 ml + 50 ml de células.

b) Control de virus diluciones 10 a la 0, a 10 a la 3, infectando 4 pozos por dilución.

50 ml virus.

50 ml células.

50 ml de MEM.

c) Control de suero positivo conocido. Se debe diluir igual que el suero problema.

50 ml suero (+) + 50 ml virus + 50 ml de células.

d) Control de suero negativo conocido diluido. Se debe diluir igual que el suero problema,

50 ml suero (-) + 50 ml de virus + 50 ml de células.

e) Control de células.

100 ml de medio de crecimiento.

50 ml de células.

f) Control de suero, para checar toxicidad de las células debido a éste.

50 ml suero problema + 50 ml de MEM + 50 ml de células.

CONTROL

DE SUERO

PROBLEMA

Control positivo

Control negativo

Control de
suero hiperinmune

Control de
células

Control de
virus

Interpretación de resultados:

Un suero positivo se considera como tal hasta la dilución donde no hay células teñidas, ya que hasta aquí se neutralizó el virus.

La coloración se debe a que el Ag que se neutralizó reacciona con el suero hiperinmune y se une al conjugado y se hace invidente con el cromógeno sustrato.

Un suero negativo es considerado cuando los pozos de todas las diluciones son teñidos de rojo marrón.

El suero hiperinmune debe neutralizar hasta la dilución donde se obtenga el título original.

El virus control debe teñir los pozos de las columnas 10 hasta la dilución, donde tengamos las 200 KDT50/0.05 ml. que es el 50% de los pozos de la dilución.

Índice de repetibilidad:

100% se sigue el mismo procedimiento.

Bibliografía:

Office International des Epizooties (DIE): Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products for Lists a and B. Diseases. Vol. II 1990 (A/013).

Jensen, H.M.: Detection of Antibodies Against Hog Cholera virus and Bovine Viral Diarrhea Virus in Porcine Serum. Acta Vet. Scand. 22: 85-98 (1981).

Terpstra, C., Bloemraad, M. and Gielkens, AL.J.: The Neutralizing Peroxidase - Linked Assay for Detection of Antibody Against Swine Fever Virus. Veterinary Microbiology 9: 113-120 (1984).

Adams, R.L.P.: Cell Culture for Biochemists in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology Vol. 8, Edited by: Burdon, R.H. and Knippenberg, P.H. van 2a. Ed. Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical division) 1990.

Jutting, B.S.: Immunoperoxidase Screening Test for Hog Cholera Antibodies National Veterinary Services Laboratories, USDA, APHIS, AMES, IOWA.

Eernisse, K.A. and Erickson, G.A.: Microtitration Serology Methods for Bovine Virology.

16. Sanciones

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

17. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma no es equivalente con ninguna Norma internacional.

18. Disposiciones transitorias

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