

Convenio de colaboración técnica y científica celebrado entre EL Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit A.C. "CESANAY" y la Universidad Autónoma de Nayarit "UAN" el 1 de abril de 2004.

ANEXO 2

ACUERDO ESPECÍFICO 2005.02

Las partes que firman este convenio por duplicado, el 01 de diciembre de 2005, acuerdan la colaboración en las siguientes acciones:

VERIFICACIÓN SANITARIA DE ORGANISMOS REPRODUCTORES, JUVENILES Y POSTLARVAS DE CAMARÓN, EN UNIDADES PRODUCTORAS DEL ESTADO DE NAYARIT.

VERIFICACIÓN SANITARIA DE CAMARONES EN ENGORDA EN GRANJAS DEL ESTADO DE NAYARIT

OBJETIVOS DE LAS ACCIONES:

Verificación de la presencia o ausencia del virus de la mancha blanca (WSSV) del camarón.

Verificación de la presencia o ausencia de los virus del síndrome de Taura (TSV) y Cabeza Amarilla (YHV).

Verificación de la presencia o ausencia del Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHNV)

Verificación de la presencia, conteo e identificación de bacterias totales y del género *Vibrio* en sedimentos, agua y organismos acuáticos particularmente camarón.

METODOLOGIA A EMPLEAR:

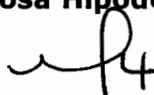
MUESTRA Y MUESTREO

El tamaño de la muestra será determinado de acuerdo a la normatividad vigente al respecto.

El muestreo será realizado por personal del "CESANAY" y supervisado por personal de la "UAN".

TÉCNICA A EMPLEAR

Virus de la mancha blanca (WSSV) y Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHNV)



Convenio de colaboración técnica y científica celebrado entre EL Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit A.C. "CESANAY" y la Universidad Autónoma de Nayarit "UAN" el 1 de abril de 2004.

ANEXO 2

Para verificar la presencia o ausencia de este virus se realizará un análisis de la amplificación de segmentos específicos de ADN de los virus, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Virus del síndrome de Taura (TSV) y virus de la cabeza amarilla (YHV)

La verificación de la presencia o ausencia de estos virus se realizará en dos fases, en la primera se obtendrán, mediante un proceso de transcripción reversa (RT), segmentos específicos de ADN complementario (cADN) utilizando como molde ARN viral, en la segunda fase se realizará un análisis de la amplificación de segmentos específicos de ADN complementario de los virus obtenidos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Conteo de bacterias totales en agua, sedimentos y organismos acuáticos.

Para el caso de agua coleccionar 100 ml de diferentes puntos y profundidades del estanque. Filtrar mediante un sistema de presión negativa Colocar los filtros sobre placas de agar Nutritivo o Agar Marino a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

Para el caso de hemolinfa extraer 500 µL con una jeringa estéril de 1 mL (tipo para aplicación de insulina). Realizar diferentes diluciones de la hemolinfa. Filtrar mediante un sistema de presión negativa. Colocar los filtros sobre una placa de agar Nutritivo o Agar Marino a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

Para tejidos de camarón, lavar con solución salina estéril el ejemplar y en condiciones de esterilidad obtener una muestra del tejido sin que incluya aparato digestivo y determinar su peso, agregar un volumen de solución salina proporcional al peso del tejido y disgregar con un homogenizador. Dejar sedimentar el material no soluble durante 10 minutos y tomar una alícuota del sobrenadante. Realizar diferentes diluciones del extracto del tejido Filtrar mediante un sistema de presión. Colocar los filtros sobre una placa de agar Nutritivo o Agar Marino a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

Para el caso de sedimentos, coleccionar sedimento de los estanques en recipientes previamente esterilizados, tomar un alícuota de peso conocido y mezclar con un volumen proporcional de solución salina, disgregar con un homogenizador. Sedimentar el material no soluble durante 10 minutos y tomar una alícuota del sobrenadante. Realizar diferentes diluciones del extracto del sedimento. Filtrar

Convenio de colaboración técnica y científica celebrado entre EL Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit A.C. "CESANAY" y la Universidad Autónoma de Nayarit "UAN" el 1 de abril de 2004.

ANEXO 2

mediante un sistema de presión negativa. Colocar los filtros sobre una placa de agar Nutritivo o Agar Marino a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

Conteo e identificación de especies del género *Vibrio* en agua, sedimentos y organismos acuáticos.

Para el caso de agua coleccionar 100 ml de diferentes puntos y profundidades del estanque.

Filtrar mediante un sistema de presión negativa Colocar los filtros sobre placas de agar TCBS a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

Para el caso de hemolinfa extraer 500 µL con una jeringa estéril de 1 mL (tipo para aplicación de insulina). Realizar diferentes diluciones de la hemolinfa. Filtrar mediante un sistema de presión. Colocar los filtros sobre una placa de TCBS a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

Para tejidos de camarón, lavar con solución salina estéril el ejemplar y en condiciones de esterilidad obtener una muestra del tejido sin que incluya aparato digestivo y determinar su peso, agregar un volumen de solución salina proporcional al peso del tejido y disgregar con un homogenizador. Dejar sedimentar el material no soluble durante 10 minutos y tomar una alícuota del sobrenadante. Realizar diferentes diluciones del extracto del tejido. Filtrar mediante un sistema de presión negativa Colocar los filtros sobre una placa de agar TCBS a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

Para el caso de sedimentos, coleccionar sedimento de los estanques en recipientes previamente esterilizados, tomar una alícuota de peso conocido y mezclar con un volumen proporcional de solución salina, disgregar con un homogenizador. Sedimentar el material no soluble durante 10 minutos y tomar una alícuota del sobrenadante. Realizar diferentes diluciones del extracto del sedimento. Filtrar mediante un sistema de presión negativa a través de un filtro millipore estéril, con tamaño de poro de 0.22 µm. Colocar los filtros sobre una placa de agar TCBS a 35°C por 24 a 48 horas. Contar las colonias y realizar el cálculo para reportar UFC por mL de agua.

En todos los casos, aislar y resembrar en TSA las colonias con características morfológicas indicativas del género *Vibrio*, verificar su morfología microscópica, realizar la tinción de gram, las pruebas bioquímicas para la identificación de



Convenio de colaboración técnica y científica celebrado entre EL Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit A.C. "CESANAY" y la Universidad Autónoma de Nayarit "UAN" el 1 de abril de 2004.

ANEXO 2

especie, determinar su tolerancia a la salinidad creciéndolas a diferentes concentraciones de NaCl. Paralelamente sembrar cepas de referencia para verificar que todas las pruebas funcionen adecuadamente. Con todos los criterios anteriores establecer la especie correspondiente.

Sensibilidad a antibióticos por especies del género *Vibrio* y otros géneros de interés

A partir de una placa de cultivo de 18 a 24 horas recoger varias colonias con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de MacFarland 0.5 en solución salina, agitar, ajustar el inóculo. Inocular c placas de agar TSA con NaCl al porcentaje en que creció mejor la cepa, sin dejar ninguna zona libre. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos. Colocar los discos e incubar las placas invertidas a 35°C durante 16-18 horas. Con cepas de referencia establecer una curva estándar de inhibición

ESTRATEGIA DE COLABORACIÓN:

La **UAN** realizará el servicio de análisis de muestras de organismos reproductores, juveniles y postlarvas de camarón para verificar la presencia o ausencia del virus WSSV e IHHNV mediante la técnica de PCR.

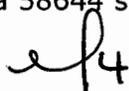
La **UAN** realizará el servicio de análisis de muestras de organismos reproductores, juveniles y postlarvas de camarón para verificar la presencia o ausencia del virus TSV mediante la técnica de RT- PCR

La **UAN** realizará el servicio de análisis de muestras de organismos reproductores, juveniles y postlarvas de camarón para verificar la presencia o ausencia del virus YHV mediante la técnica de RT- PCR.

La **UAN** realizará el servicio de verificación de la presencia, ausencia, conteo e identificación de bacterias totales y del género *Vibrio* en sedimentos, agua y organismos acuáticos particularmente camarón de acuerdo a las técnicas microbiológicas convencionales descritas en el apartado anterior.

El **CESANAY** tendrá a su cargo la colecta de la muestra y su transporte hasta el laboratorio de Biología Molecular e Inmunología del Centro Multidisciplinario de Investigación Científica de la **UAN**.

El **CESANAY** pagará por adelantado el servicio proporcionado por la UAN, con recursos propios o de otro origen, mediante depósito en la Institución Bancaria BANAMEX cuenta 58644 sucursal 653.



Convenio de colaboración técnica y científica celebrado entre EL Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit A.C. "CESANAY" y la Universidad Autónoma de Nayarit "UAN" el 1 de abril de 2004.

ANEXO 2

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES:

1. Muestreo de organismos reproductores, juveniles y postlarvas de camarón diciembre 2005-noviembre 2006 (A cargo del **CESANAY**)
2. Análisis de las muestras (determinación de la presencia o ausencia de los virus WSSV, TSV, YHV y IHHNV), diciembre 2005-noviembre 2006 (A cargo de la UAN).
3. Verificación de la presencia, ausencia, conteo e identificación de bacterias totales y del género *Vibrio* en sedimentos, agua y organismos acuáticos particularmente camarón, diciembre 2005-noviembre 2006 (A cargo de la UAN).

COSTOS Y ENTREGA DE RESULTADOS:

El costo por reacción acordado por el diagnóstico de cada virus por muestra será de \$ 40.00 usa (cuarenta dólares de estados unidos de Norteamérica) al tipo de cambio del día del pago. La entrega de los resultados será a las 48 horas de recibidas las muestras en el laboratorio.

El costo acordado para los análisis bacteriológicos serán los siguientes:

1. Cuenta total de bacterias en agua, sedimentos y organismos acuáticos, entrega de resultados en un máximo de 72 horas posteriores a recibida la muestra, el costo por muestra será de USA \$25.
2. Cuenta de bacterias del género *Vibrio* en agua, sedimentos y organismos acuáticos, entrega de resultados en un máximo de 72 horas posteriores a recibida la muestra, el costo por muestra será de USA \$30.
3. Identificación de especies del género *Vibrio* aisladas de agua, sedimento y organismos, entrega de resultados en un máximo de 96 horas después de obtenida la muestra, el costo por muestra será de USA \$50.
4. Antibiograma para cepas aisladas de agua, sedimentos y organismos acuáticos, entrega de resultados en un máximo de 48 horas posteriores a recibida la muestra, el costo por muestra será de USA \$20.

PRODUCTOS FINALES:

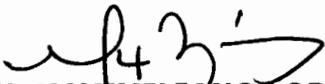
Entrega de los resultados en los plazos correspondientes al análisis realizado a las muestras, los cuales se especifican en el apartado anterior.



Convenio de colaboración técnica y científica celebrado entre EL Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit A.C. "CESANAY" y la Universidad Autónoma de Nayarit "UAN" el 1 de abril de 2004.

ANEXO 2

POR EL "CESANAY"


**OCEAN. MAXIMILIANO LOPEZ
FRISBIE
PRESIDENTE**

**POR "LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE NAYARIT"**

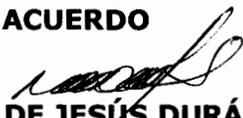

**M.C. OMAR WICAB GUTIÉRREZ
RECTOR**

**M.A. ADRIÁN NAVARRETE MÉNDEZ
SECRETARIO GENERAL**


**DR. CLEMENTE LEMUS FLORES
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y
POSGRADO**

RESPONSABLES TÉCNICOS DEL ACUERDO


**OCEAN. MAXIMILIANO LOPEZ
FRISBIE**


DRA. MA. DE JESÚS DURÁN AVELAR


DR. NORBERTO VIBANCO PÉREZ

Hoja de firmas correspondientes al acuerdo específico 2005.02 de fecha 01 de diciembre de 2005.



UAN

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NAYARIT
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Ciudad de la Cultura "Amado Nervo"
Edificio Administrativo. Planta Alta Tepic, Nayarit,
CP. 63190 Tel. (311) 2 11 88 53

Tepic, Nayarit; 7 de Diciembre de 2005.
SIP/081/05

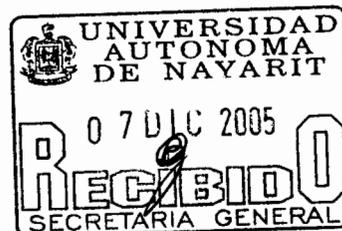
M.S.P. ADRIAN NAVARRETE MENDEZ
SECRETARIO GENERAL
P R E S E N T E.

Por medio del presente le envié para su revisión y análisis, convenio de Servicio con el Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit.

Sin otro particular por el momento, quedo de usted.

A T E N T A M E N T E
"POR LO NUESTRO A LO UNIVERSAL"
CALIDAD PARA EL DESARROLLO REGIONAL

DR. CLEMENTE LEMUS FLORES
SECRETARIO DE INVESTIGACION Y POSGRADO



c.c.p.- Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
CENTRO MULTIDISCIPLINARIO DE INVESTIGACION CIENTIFICA
AREA "Ciencias de la Salud"

Tepic, Nayarit, 29 de noviembre de 2005.

Dr. José Irán Bojorquez Serrano
Director del CEMIC
Presente

Anexo a la presente envío a usted el Anexo 2005-2 que se pretende forme parte del convenio celebrado el 1 de abril de 2004 entre nuestra Institución (UAN) y el Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit (CESANAY), con la finalidad de que sea el conducto para su revisión por parte del Jurídico de nuestra Institución, así como para que sea sometido al protocolo de firmas correspondientes, cabe señalar que es de extrema urgencia la firma ya que de ello depende la asignación de recursos federales en el ejercicio presupuestal de este año.

Sin más, agradezco la atención a la presente.

ATENTAMENTE


Dra. Ma. de Jesús Durán Avelar


Dr. Norberto Vibanco Pérez

Responsables Técnicos
Acreditados Terceros Especialistas por CONAPESCA

c.c.p. MC. Omar Wicab Gutiérrez. Rector
MC. Adrián Navarrete Méndez. Secretario General
Dr. Clemente Lemus Flores. Secretario de Investigación y Posgrado

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE NAYARIT



CENTRO MULTIDISCIPLINARIO DE
INVESTIGACION CIENTIFICA
LABORATORIO DE BIOLOGIA
MOLECULAR E INMUNOLOGIA