



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

**CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE SISTEMAS DE IDENTIFICACION EN BOVINOS
BASADOS EN IDENTIFICACION ELECTRONICA Y ADN PARA SU APLICACIÓN A LA
TRAZABILIDAD Y A LA GESTION DE SISTEMAS GANADEROS**

Autor: Med.Vet. Enrique Jorge Pofcher

Director: Med. Vet. Andrés Baldo

Codirector: Dr. Guillermo Giovambattista

Miembros del Jurado:

Dr. Martín Irurueta

Dr. Alejandro Relling

Dr. Massimo Lazzari

La Plata, 31 de Julio de 2017

AGRADECIMIENTOS

- A mis directores Andrés Baldo y Guillermo Giovambattista quienes me ayudaron en el desarrollo y ejecución de este proyecto.
- A todos los integrantes del Curso de Producción de Bovinos: Nicolás, Julieta, Federico, Martin, Lisandro, Adrián, Alberto, Emilio y Roberto que trabajaron por mí cuando no pude hacerlo.
- Al grupo de trabajo del IGEVET, especialmente a Mónica, María Elena y Hernán quienes me ayudaron muchísimo en el trabajo realizado.
- Al grupo de trabajo VSA della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano con quienes trabajé un año y me hicieron sentir en casa. A Stefano, Gabriele, Ernesto, Francesco y Massimo.
- A Javier, encargado de “El Amanecer” a quien volví loco con la antena, balanza y demás equipos.
- A Martin y Ramiro que me dieron una mano inmensa con el análisis estadístico de los datos.

LISTADO DE PUBLICACIONES RELATIVAS AL PRESENTE PLAN DE TESIS

- **Pofcher, E.J.**, Sorarrain, N., Corva, S., Beretta, E., y Baldo, A. Evaluación de distintos sistemas de identificación de bovinos en condiciones de cría extensiva. Comunicación. Congreso AAPA. Argentina 2010.
- Baldo, A., Rogberg Muños, A., Prando, A., Mello Cesar, A., Liron, P., Sorarrain, N., Ramelli, P., Posik, D., **Pofcher, E.**, Ripoli, M., Beretta, E., Peral-Garcia, P., Vaca, R., Mariani, P., Giovambattista, G. Effect of consanguinity on Argentinean Angus beef DNA traceability. *Meat Science*. 2010. 85:671-675
- **Pofcher, E.**, Silvestrini, P., Sorarrain, N., Bonamy, M. y Baldo, A. Evaluación de 4 tipos de dispositivos de identificación en Bovinos de Carne. XXIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Cartagena de Indias, Colombia 2012.
- **Pofcher, E.**; Silvestrini, M.P.; Bonamy, M.; Beretta, E.; Nava, S. y Baldo, A. Efecto de la posición de la antena del lector sobre la eficiencia de lectura de distintos tipos de dispositivos de identificación electrónica en bovinos en Argentina. XXIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. La Habana, Cuba. 2013.
- **Pofcher, E.**, Rearte, R., Bonamy, M., Baldo, A. Long-term survival analysis for 4 different types of identification devices on beef cattle under grazing situation. *International Journal of Radio Frequency Identification Technology and Applications*. 2016. Enviado para publicar.

INDICE

LISTADO DE ABREVIATURAS	vi
LISTADO DE TABLAS y FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	viii
SUMMARY	xv
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL.....	33
OBJETIVOS PARTICULARES.....	33
Objetivo Particular 1	34
EVALUACIÓN DE LAS PÉRDIDAS Y ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO DE 4 TIPOS DE DISPOSITIVOS DE IDENTIFICACIÓN BOVINA EN UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN PASTORIL DE CARNE.	35
Introducción	35
Materiales y métodos	38
Resultados:	42
Discusión:	48
Conclusiones:	50
EFFECTO DE LA POSICIÓN DE LA ANTENA SOBRE LA EFICIENCIA DE LECTURA DE DISTINTOS TIPOS DE DISPOSITIVOS DE IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA EN BOVINOS EN ARGENTINA.	51
Introducción:	51
Materiales y métodos:	53
Resultados:	55
Discusión:	56
Conclusiones:	58

DESARROLLO Y RESULTADOS DEL USO DE UN LECTOR PORTÁTIL RFID INTELIGENTE EN CONDICIONES DE CAMPO EN ARGENTINA.....	59
Introducción:	59
Materiales y métodos:	60
Resultados:	68
Discusión:	69
Conclusiones:	71
 Objetivo particular 2.	 72
Introducción:	72
Materiales y Métodos:	75
Resultados y Discusión:	84
Conclusiones:	102
 CONCLUSIONES GENERALES:.....	 103
 BIBLIOGRAFIA	 105
 ANEXO.....	 120

LISTADO DE ABREVIATURAS

- **ADN:** Ácido Desoxirribonucleico
- **ASCII:** American Standard Code for Information Interchange
- **BA:** Botón Auricular Electrónico
- **BR:** Bolo Ruminal
- **BV:** Botón Visual
- **CICCRA:** Cámara de la Industria y Comercio de Carnes y derivados de la República Argentina
- **CUIG:** Clave Única de Identificación Ganadera
- **FDX:** Full Duplex
- **HDX:** Half Duplex
- **HF:** High Frequency
- **ICAR:** International Committee of Animal Recording
- **IDE:** Identificación electrónica.
- **IDV:** Identificación visual.
- **IPCVA:** Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina
- **ISAG:** International Society of Animal Genetics
- **ISO:** International Organization for Standardization
- **kg.:** Kilogramo
- **KHz:** Kilo Hertz

- **LF:** Low Frequency
- **MHz:** Mega Hertz
- **ml:** mililitro
- **mm:** Milímetro
- **OIE:** Organización Mundial de Sanidad Animal
- **PCR:** Polymerase Chain Reaction
- **POO:** Programación Orientada a Objetos
- **PV:** Peso Vivo
- **RENSPA:** Registro Nacional Sanitario de Productores Agropecuarios
- **RFID:** Identificación por Radio Frecuencia (Radiofrequency Identification)
- **SENASA:** Servicio Nacional de Sanidad Animal
- **SNP:** Single Nucleotide Polimorfism
- **STR:** Short Tandem Repeats
- **TV:** Tarjeta Visual
- **UHF:** Ultra High Frequency

LISTADO DE TABLAS y FIGURAS

Figura 1: Caravanas auriculares tipo tarjeta y botón.....	9
Tabla 1. Aspectos positivos y negativos de los métodos de identificación utilizados en bovinos. Adaptada de Ghirardi, 2006.....	10
Figura 2: Esquema de un sistema de identificación por radiofrecuencia, con sus distintos componentes.....	13
Tabla 2: Código ISO 11784 para identificación animal. Se detallan los espacios reservados para cada número de Bit y la información contenida en ellos como así las posibles combinaciones de información a almacenar.....	15
Figura 3: Dispositivo inyectable.....	17
Tabla 3: Evaluación del empleo de dispositivos inyectables en bovinos, teniendo en cuenta el tiempo demandado en aplicación, porcentaje de pérdidas de los dispositivos, porcentaje de legibilidad, tiempo y porcentual de recupero en matadero según distintas investigaciones.....	18
Figura 4: Imagen de Bolo ruminal.....	18
Figura 5: Caravana auricular electrónica.....	19
Tabla 4: Ventajas y desventajas del empleo de distintos métodos identificatorios electrónicos utilizados en bovinos. Adaptado proyecto IDEA (2001).....	21
Figura 6: Frente de la caravana tarjeta.....	23
Figura 7. Dorso de la caravana tarjeta.....	23
Figura 8. Vista de frente del Botón auricular.....	23

Figura 9: Caravana diseñada para la recolección de muestra de cartílago (Typifix®).....	29
Figura 10: Colocación de bolo ruminal por parte del personal del campo.....	40
Tabla 5: Cantidad de dispositivos identificadores perdidos y no perdidos a los 365 días de edad.....	42
Tabla 6: Cantidad de dispositivos identificadores perdidos y no perdidos a los 730 días de edad.....	42
Figura 11: Curvas de la función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 100 días post colocación (Método Kaplan-Meier).....	43
Tabla 7: Función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 100 días.....	44
Tabla 8: Riesgo diario de pérdida e Intervalos de confianza hasta los 100 días para los dispositivos evaluados.....	44
Figura 12: Curvas de la función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 350 días post colocación (Método Kaplan-Meier).....	45
Tabla 9: Función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 350d.....	45
Tabla 10: Riesgo diario de pérdida e Intervalos de confianza hasta los 350 días para los dispositivos evaluados.....	46
Figura 13: Curvas de la función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 730 días post implementación (Método Kaplan-Meier).	46
Tabla 11: Función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 730 días.....	47
Tabla 12: Riesgo diario de pérdida e Intervalos de confianza hasta los 350 días para los dispositivos evaluados 730 días.....	47
Figura 14: Imagen de la conexión de la antena fija amurada dentro de la manga a una computadora.....	52
Figura 15: Imagen de la Posición 1 del lector fijo en la manga.	54

Figura 16: Imagen de la Posicion 2 del lector fijo en la manga.....	54
Figura 17: Imagen de la Posicion 3 del lector fijo en la manga.	54
Tabla 13: Eficiencia de lectura de tres posiciones (P1 – P2 – P3) del lector fijo para dos tipos de identificadores electrónicos, bolo ruminal (BR) y botón auricular (BA) aplicados en vacas adultas.	55
Figura 18: Animal leído y pesado automáticamente.....	57
Figura 19: Foto del lector portátil inteligente HHR3000Pro.....	60
Figura 20: Esquema del monitor y botonera del lector portátil HHR3000Pro.....	61
Tabla 14: Descripción del menú principal programado en el lector portátil.....	62
Figura 21: Mapa conceptual del diseño del software para el lector portátil inteligente HHR3000Pro.....	65
Figura 22: Mapa conceptual del diseño del software para el lector portátil inteligente HHR3000Pro. Continuación carga de ALTAS.....	66
Figura 23: Pantallas del lector portátil HHR3000 Pro. Para algunos de los eventos a registrar.	67
Tabla 15: Tipos de lectura de los eventos de registro dinámico (n=995) cargados con el empleo del lector portátil durante 3 años de uso.....	69
Tabla 16: Consultas llevadas a cabo y total de Registros con el lector portátil ID&T modelo HHR3000Pro al cabo de 3 años de uso en el establecimiento.....	69
Figura 24: Secuencia de ADN que incluye un microsatélite (subrayado y en negrita).....	74
Figura 25: Secuencia de ADN que incluye un polimorfismo de nucleótido simple (SNP) G por T (subrayado y en negrita).....	74
Tabla 17: Resumen de los microsatélites utilizados.....	77
Figura 26: Esquema del sistema ASCII.....	80

Figura 27: Esquema del proyecto de grabación de un tag combinando ID oficial SENASA e identificación genética individual utilizando microsatélites.....	81
Figura 28: Diagrama UML para la aplicación desarrollada.....	86
Figura 29: Layout ISO 11784 bits 1-26.....	90
Figura 30: Layout ISO 11784 bits 27-64 continuación.....	90
Figura 31: Layout ISO 11784 bits 65-106 continuación.....	91
Figura 32: Preparación del archivo de entrada de genotipos.....	95
Figura 33: Pantalla para cargar los archivos de genotipos.....	95
Figura 34: Selección de archivos de genotipos.....	96
Figura 35: Visualización de muestras y genotipos cargados. Detalle de las muestras a la izquierda de la pantalla, mientras que a la derecha de la misma se observan sus genotipos.....	96
Figura 36: Pantalla de selección del trasponder a ser grabado.....	97
Figura 37: Pantalla con listado de dispositivos disponibles para ser grabados.	97
Figura 38: "Convertidor SENASA..." se abre al seleccionar una muestra y luego ir al menú Herramientas -> Convertir código individual. Si no se selecciona ninguna muestra, no se permite abrir la pantalla para convertir los códigos. Esta pantalla presenta todos los campos necesarios (y algunos adicionales) que podrán ser copiados para ingresar en el software InitMiroAnimalTAG.	98
Figura 39: "Selección de los marcadores" En esta pantalla se seleccionan los marcadores para ser concatenados en el tráiler del microchip.....	99

Figura 40: Pirámide de Visión del Sistema para el Sistema Convertidor de Senasa 754/2006.	100
Tabla 18: Diseño de estructura del software	124
Figura 41: Pantalla principal de software trazabilidad.....	125
Figura 42: Pantalla para ingresar alta de animales por compra o traslado.....	125
Figura 43: Pantalla para la carga de partos.....	126
Figura 44: Pantalla para la carga de datos desde lector HHR3000 Pro.	126

RESUMEN

La presente tesis tiene por objetivo general contribuir al desarrollo de un sistema de identificación del ganado bovino en un sistema pastoril de producción, para ser aplicado a la gestión del sistema de producción y a la trazabilidad, basado en el uso conjunto de la identificación electrónica por radiofrecuencia y de marcadores moleculares.

Se planteó evaluar el funcionamiento de distintos tipos de identificadores electrónicos y de lectores de radiofrecuencia en condiciones de trabajo extensivo, desarrollar un sistema para transferir marcadores moleculares como código de identificación indeleble de cada animal a identificadores electrónicos y diseñar e implementar un sistema de aplicación práctica para la captura y el tráfico automático de datos, generando información para la gestión del proceso de producción.

Se evaluaron y compararon las pérdidas de dispositivos identificatorios. Se evaluó el funcionamiento de un lector fijo, determinando el posicionamiento óptimo de la antena para maximizar la eficiencia de lectura de las distintas presentaciones de identificadores. Se programó un lector portátil para registrar los eventos relevantes de ocurrencia con los animales libres en el campo. Se desarrolló un programa que permite grabar en un identificador electrónico determinados marcadores moleculares de un individuo, generando así una identificación genómica del mismo. Se desarrolló un software que interactúa con identificadores, lectores, y otros instrumentos de trabajo generando información para la gestión del sistema productivo.

Los dispositivos de identificación y los lectores podrían ser utilizados en los animales en condiciones de producción de la Argentina. Se demostró la posibilidad de uso de un lector portátil, si bien con algunas restricciones, con animales libres en el campo registrando los

eventos relevantes para la gestión y trazabilidad. Se desarrolló un software específico para generar información que permita lograr este objetivo.

Palabras clave: identificación – bovinos- trazabilidad- RFID

SUMMARY

The scope of this Doctoral Thesis is to contribute to the development of a cattle identification system under grazing livestock production management, to be applied for the system management and traceability as well, based on the implementation of radiofrequency identification and molecular markers. The functioning of different kind of identifier electronic devices were tested as well different reader devices who works under radiofrequency systems under extensive management working situations. Also the chance to transfer to the electronic identifier devices the data obtained from molecular markers as an identifier code from each animal. To design and to implement a system to capture and manage the main data about the farm events, creating the necessary information to manage all the production process.

Lost identification devices percentages were measured and compared. A fix reader was tested for being able to establish the best place to set up a fix antenna to get the best electronic devices reading efficiency. A portable RFID reader was programmed to register the main livestock events that could happened on a grazing production system. A software was developed which allows to record an electronic identifier device some specific molecular markers from an individual, creating in this manner a genomic and unique identification for an animal. Another software was developed which interact with identifier devices, readers and other working components generating considerable information to manage the entire production system.

The identifier devices and readers could be used for the animals under the Argentinian production system. They were successfully used, with some restrictions, with the animals reared freely in the farm and could be able to register all the main events respect on animal production management and traceability, integrating them in a specific software to get to this scope.

Key words: identification-bovine-traceability-RFID

INTRODUCCIÓN:

La Trazabilidad

La producción de carne bovina tiene un rol muy importante a nivel mundial por ser un reconocido alimento de alto valor nutritivo. Por lo tanto, es fundamental que se garantice tanto su calidad higiénico-sanitaria como su procedencia. Argentina al ser un país productor y exportador de esta materia prima debe adaptarse a las demandas del mercado internacional con respecto a los requisitos de trazabilidad del producto referidos a la seguridad alimentaria.

Anualmente se faenan en el país alrededor de 13 millones de cabezas bovinas (según datos del Ministerio de Agroindustria www.agroindustria.gov.ar) con un volumen de exportación que varía entre las 200 y 700 toneladas de carne. Del total de lo faenado, el 83,7% se destina a consumo interno y el resto se exporta, principalmente a China e Israel (ICPVA, 2016). Con estos datos se infiere que el consumo de carne vacuna por habitante en Argentina es en 2016 de 55 kg/habitante/año (CICCRA, 2016). Otro dato a destacar es que además es una actividad que genera 8000 puestos de trabajo directo en el campo y más de 45.000 en frigoríficos, participando en valores cercanos al 7% del Producto Bruto Interno Argentino (Araoz, 2004).

Son numerosos los motivos por los cuales es necesario conocer la procedencia del producto, y por lo tanto garantizar la trazabilidad del mismo, así como también el llevar un control exhaustivo durante toda la cadena de producción de la carne bovina.

Según van Rijswijk and Frewer en 2008, la población en general no tiene mucha noción de los riesgos sanitarios que conlleva el consumo de alimentos y en especial de la carne. Además detalla que existe un desconocimiento y falta de interés sobre lo que es la trazabilidad. van Rijswijk and Frewer (2008) realizaron encuestas de las cuales se obtuvo

información en relación a lo que las personas valoraban sobre la trazabilidad y el resultado fue que era conocer el lugar de origen de un determinado producto, a su vez que relacionaban el aumento del precio que conlleva el seguimiento del bien adquirido.

Desde el punto de vista sanitario han aparecido en los últimos años, una serie de enfermedades de origen animal como por ejemplo la encefalopatía espongiforme bovina (BSE, vaca loca) o la aftosa, así como también la presencia de contaminantes como antibióticos y hormonas, entre otros, que pueden afectar a la salud humana (Caja et al., 2002; Ghirardi, 2006). Además de la cuestión sanitaria, es extremadamente importante en el comercio de la carne, considerar factores económicos. Por nombrar un ejemplo, con el brote de BSE el consumo de carne bovina en la Comunidad Europea descendió un 50% y sólo logró recuperarse cuando al consumidor se le garantizó la procedencia de la carne que estaba adquiriendo (IOE, 2009).

La trazabilidad es definida por el Codex Alimentario como “la habilidad de seguir el movimiento de un producto a lo largo de todas las fases de su producción, procesos y distribución” (Codex Alimentarius Standards). Es una herramienta que puede contribuir a la protección de los consumidores en contra de cualquier fraude, garantizando la veracidad de lo que está escrito por ejemplo en la etiqueta identificatoria de un determinado producto (Miyagishima and Bruno, 2009). La OIE define un sistema de trazabilidad animal como “la inclusión y conexión entre los componentes, como lo son los propietarios, la/s personas que tienen responsabilidad sobre los animales, movimientos y otras cuestiones sobre la identificación animal” (OIE 2006, <http://oie.int/es/>). Y se destaca además que es necesario tener un lineamiento claro sobre las responsabilidades de cada eslabón de la cadena, por ejemplo que el propietario de los animales sea quien debe identificarlos y comunicar al ente regulador estatal de su nacimiento e identificación, entre otros (OIE, 2009).

Por lo tanto, para garantizar la trazabilidad de un producto todos los elementos que componen la cadena de producción y distribución deben estar perfectamente coordinados y “hablar el mismo idioma”, lo cual no es tan fácil de llevar a cabo ya que existen escollos cada vez más importantes cuanto más elementos son los que intervienen en dicha cadena (Feng et al., 2013).

Además del punto de vista mencionado anteriormente, hay otros aspectos comerciales en los cuales la trazabilidad es fundamental. En la actualidad y sobre todo en los países en que su población tiene alto poder adquisitivo, los consumidores requieren productos con determinadas características de calidad, ya sea nutricional como sensorial o que cumpla con ciertos requisitos particulares, estando dispuestos a invertir más dinero en el producto que cumpla con sus demandas (Dalvit et al., 2007). Es ahí que algunos productores busquen diferenciar su producto para venderlo y asegurar su proveniencia, alimentación recibida, sanidad, por nombrar algunos de tantos ejemplos (Meuwissen et al., 2003). Para acceder a estos nuevos mercados, es fundamental que la trazabilidad sea confiable, y garantizar que el consumidor elija este producto diferenciado.

Un sistema de trazabilidad se puede caracterizar según tres aspectos (Golan et al., 2004; Dalvit et al., 2007): Amplitud, que es la cantidad de información que se almacena. Es muy importante la elección de cuál y cuánta información hay que generar para que no sea excesiva e innecesaria, lo cual puede provocar que el sistema sea menos eficiente al tener que rastrear mayor cantidad de datos. Otro aspecto que debe tener un sistema de trazabilidad es la Profundidad, que se refiere a la posibilidad de rastrear la información. Finalmente, el último aspecto es la Precisión, la cual refleja el grado de seguridad o certeza de los procesos sucedidos en la cadena.

La trazabilidad es todo lo que contribuye a la seguridad alimentaria. Incluye el envasado, coberturas y todos los procesos que sufre el producto antes, durante y después de la manufactura, producción y distribución. Toda esta información compuesta por una considerable cantidad de datos debe ser almacenada e implica hacerlo de manera precisa, ordenada, de fácil acceso y teniendo en cuenta que debe guardarse durante todo el tiempo que transcurre hasta que el producto es consumido (Dalvit et al., 2007)

Schwangele y colaboradores (2009) y Cesar (2010) definen 2 conceptos diferentes que conforman la trazabilidad:

Tracking (Trazar): es la habilidad de seguir el camino de un producto a lo largo de la cadena de producción, desde su origen hasta que llega al punto de venta.

Tracing (Rastrear): es la habilidad de identificar el origen de un producto, desde el consumidor hasta el productor.

Para que la trazabilidad funcione correctamente lo primero que debemos realizar es una correcta identificación del producto a trazar, la cual debe ser precisa y confiable de manera tal que se eviten posibles errores.

En el caso del ganado bovino, el primer eslabón en la trazabilidad es la identificación que debe comenzar en el ternero, la cual debe realizarse lo más cercano que sea posible a su nacimiento. En el año 2005 el ICAR (International Committee for Animal Recording), que es el comité que regula todos los aspectos relacionados a la identificación animal a nivel global, estableció un máximo de 15 días post nacimiento para identificar los bovinos de manera de tenerlos identificados desde un momento cercano al nacimiento de manera de dar garantías al comienzo de la cadena de trazabilidad.

Los registros y eslabones de una cadena de trazabilidad pueden ser muchos. En la República Popular China, Feng y colaboradores (2013) y Qi y colaboradores (2015), describen cuáles son las partes más importantes en la trazabilidad de la carne, asegurando certeza en sus datos, ayudando a garantizar de esta forma la seguridad alimenticia. Sostienen que se debe registrar la identificación del animal, todos los medicamentos que éste recibe, la alimentación que recibió durante su vida, tanto en cantidad como así también la marca del fabricante, y quiénes son los responsables de realizar cada tarea. A su vez deben registrarse: las vacunas aplicadas, los animales enfermos incluyendo qué destino tuvieron, el transporte de los animales hasta que llegan al frigorífico, donde reciben el examen ante mortem, para luego pasar al sacrificio del animal. Cuantos más eventos sean registrados de los eslabones que posea la cadena más fácil será su rastreo ante un eventual problema sanitario.

La identificación de los animales no es algo moderno, todo lo contrario, existe desde hace mucho tiempo, pero cual ha evolucionado dependiendo de las necesidades de cada momento. Existen registros bibliográficos con más de 3800 años en los que se comenta la identificación de animales (Blancou, 2001). En los comienzos se utilizó para determinar propiedad solamente de aquellos más valiosos, pero con el paso del tiempo las necesidades de identificación fueron cambiando, tomando importancia además la posibilidad de detectar animales robados o perdidos y también con fines sanitarios como así también comerciales. Al ir cambiando las necesidades de identificación de los animales, también fueron evolucionando las formas de hacerlo. Algunas de las que se utilizan en la actualidad tienen ya mucho tiempo en uso, como por ejemplo las marcas a fuego que se utilizaban en el antiguo Egipto o el empleo de collares y anillos que eran usados en China (Blancou, 2001). Otras metodologías de identificación, en cambio, son más modernas y emplean nuevas tecnologías, tales como

radiofrecuencia (RFID), ADN y elementos traza e isótopos estables (Schwagele and Sabine, 2009).

Para que el método de identificación sea confiable y eficiente debe cumplir con algunas características esenciales (ICAR, 2005), algunas de ellas son:

- Permanecer identificando al animal durante toda su vida productiva.
- Ser de simple lectura.
- Ser económico.
- No alterar el bienestar, la salud ni la producción del animal.
- No alterarse con el paso del tiempo.
- Ser difíciles (imposibles) de falsificar.

No existe el método de identificación ideal que cumpla con todas estas características. Para la elección del mismo se debe considerar que posea la mayor cantidad de estas condiciones posibles, por lo tanto cada tipo de identificador tendrá ventajas y desventajas. A continuación se describirán los métodos más comúnmente utilizados en la actualidad a nivel mundial para identificar bovinos de carne (Ghirardi, 2006).

Marcas a fuego: su fundamento es aplicar un hierro muy caliente, que posee alguna letra o forma particular, sobre la piel del animal para generar una cicatriz, alterando los folículos pilosos de la zona afectada. Este es un método muy antiguo y en algunos países se encuentra prohibido al no cumplir con normas de bienestar animal ya que son procesos dolorosos para el animal. En el caso de la Argentina, es obligatorio realizarla para demostrar propiedad (no identidad) sobre el animal. Entre las ventajas que tiene es que es fácilmente visible y permanece durante toda la vida del animal, es económico y además es muy difícil de falsificar. Entre las desventajas podemos enumerar que es doloroso y que cuando el animal

tiene el pelo largo esta marca puede cubrirse y dejar de ser visible, necesitando cortar los pelos de la zona para descubrir la marca. Otro aspecto negativo de esta técnica es que afectan el cuero de la región marcada no pudiendo ser utilizada esa parte para la industria.

Marcas frías: se utiliza nitrógeno para quemar los folículos pilosos alterando la futura formación del pelo de la zona afectada, los cuales crecerán en un futuro de color blanco. La ventaja de este método es que no produce tanto dolor y no daña el cuero como la marca a fuego, pero como desventaja tiene que no puede ser utilizado en animales de pelaje blanco y además es fácilmente falsificable con el uso de tinturas.

Señales auriculares: se realizan cortes en los pabellones auriculares con una pinza especial, tipo sacabocado, que posee una determinada forma (por ejemplo un trébol o el agujero de una cerradura) e indica propiedad del animal, no permite la individualización del mismo.

Tatuajes: consiste en la aplicación de números, utilizando tinta que se coloca en una pinza especial. Se debe realizar en lugares del cuerpo en donde la piel del animal es fina, como por ejemplo en la superficie interna del pabellón auricular o en el borde interior del labio. Como ventajas de este método es que es imposible de falsificar, su bajo costo y que permanece toda la vida identificando al animal. Pero tiene algunas desventajas como son su dificultad de lectura, la necesidad de inmovilizar al animal tanto para realizarla como para leerla, la pérdida de nitidez que ocurre con el paso del tiempo y el dolor que le genera al animal cuando se lo tatúa. Otro aspecto interesante a destacar como negativo es que no es compatible con la colocación de dispositivos auriculares ya que éstos perforan el cartílago de la oreja y pueden llegar a tapar el tatuaje total o parcialmente.

Caravanas auriculares: es el método de identificación para bovinos más utilizado en la actualidad (Figura 1). Consiste en dispositivos que pueden ser de distintos materiales, por ejemplo plástico o metal que se colocan en el pabellón auricular mediante la utilización de una pinza aplicadora especial para tal fin. Están conformadas por dos elementos, uno punzante que penetra en el cartílago auricular permitiendo la fijación en la oreja y una segunda parte que posee el número identificador del animal la cual tiene un orificio en donde queda insertada la parte penetrante. Este tipo de identificador puede contener diversa información, por ejemplo, el establecimiento al que pertenece el animal, el número identificador propio del animal, país de procedencia, código de barras, etc. Además de la variedad de información que pueden contener, existen distintas presentaciones, pudiendo ser de forma similar a una moneda tomando el nombre de botón, o ser de mayor tamaño y cuadrangulares llamada tarjeta, además existe un tercer tipo de caravana que es la tarjeta doble, en la cual los datos pueden verse tanto al anverso como al reverso de la oreja. Entre los aspectos positivos de este tipo de identificador se encuentran que pueden ser identificados animales a temprana edad, no altera su bienestar ya que su colocación es prácticamente indolora, permite una fácil identificación del animal, presenta un alto porcentaje de permanencia en el animal que abarca toda su vida productiva y además su costo no es elevado.

Como desventaja del método es que pueden ser retiradas del animal, con lo cual el fraude es una posibilidad. Además de las precauciones que hay que tener en su colocación respecto a la localización en el lugar preciso del pabellón auricular y de condiciones mínimas de higiene para realizar el proceso, la elección de la empresa fabricante del dispositivo es fundamental ya que en la actualidad se conocen las empresas que garantizan un porcentaje elevado de retención de las mismas.



Figura 1: Caravanas auriculares tipo tarjeta y botón.

Las ventajas y desventajas de los métodos identificatorios previamente descritos se resumen en la tabla 1.

Además de estos métodos descritos existen otros, los cuales no son muy utilizados como ser la retinografía (Gonzalez Barron et al., 2008), o huellas nasales que, por ser costosos y difíciles de llevar a cabo, no son prácticos para identificar a los bovinos (Ghirardi, 2006).

Tabla 1. Aspectos positivos y negativos de los métodos de identificación utilizados en bovinos. Adaptada de Ghirardi, 2006.

Método identificatorio	Aspecto positivo	Aspecto negativo
MARCAS A FUEGO	Fácil realización	Poco visible con pelo largo Arruina cuero de la zona No cumple con normas de bienestar animal
	Fácilmente visible	
	Permanente	
	Económico	
	Difícil fraude	
MARCAS FRIAS	Fácil realización	No factible en animales claros Fraude posible Caro
	Fácilmente visible	
	Permanente	
	No arruina el cuero	
	Cumple con bienestar	
SEÑALES AURICULARES	Fácil realización	No cumple normas de bienestar animal Es posible el fraude
	Económicas	
TATUAJES	Económico	A veces difícil lectura Sin bienestar animal Incompatible con aplicación de caravanas
	Permanente	
	Económicas	
CARAVANAS AURICULARES	Cumplen con bienestar animal	Fraude
	Fácil lectura y aplicación	

Identificación electrónica

Desde hace algunos años en diversos países como por ejemplo Uruguay se ha comenzado a incorporar la tecnología de identificación por radio frecuencia (RFID) para identificar animales de manera obligatoria (IICA, 2009). Una de las principales ventajas que

posee ésta tecnología es la disminución del error humano en el traspaso de datos, sobre todo en las identificaciones que poseen combinación de números y letras, ya sea en la lectura de estas identificaciones como en las transcripciones a la base de datos (Dziuk, 2003). A su vez aporta una mayor velocidad en la transferencia de datos.

La identificación por radiofrecuencia es una tecnología que tuvo su origen alrededor del año 1940 y fue desarrollada con fines bélicos (Landt, 2005; Roberti, 2005) pero con el paso del tiempo se ha sido adaptado a distintas necesidades de la sociedad. Es así que hace 25 años aproximadamente comenzó su implementación en la identificación animal (Caja et al., 1998). Día a día va tomando más adeptos, especialmente en los últimos 10 años, a medida que los costos descienden y sus beneficios, como lo son por ejemplo garantizar mayor seguridad a la trazabilidad, se incrementan.

Un sistema de RFID se compone de 3 elementos (Talone and Ruso, 2006) (Figura 2):

- a) TAG (transponder): también llamado microchip, el cual se compone de un sistema integrado que posee una memoria y una antena encargada de recoger la energía emitida en el campo electromagnético generado por un lector y reflejar una parte de ella para transmitir la información al lector que la está interrogando. Estos dos componentes se encuentran insertos en un contenedor (por ejemplo un bolo ruminal o caravana auricular). Uno de los principales aspectos a favor es que son de tipo pasivo, es decir, no necesitan poseer una batería para su funcionamiento sino que utilizan la energía que genera el lector al momento de realizar la interrogación del TAG permitiendo, de esta manera, tener una larga vida útil.

En un sistema de RFID, los TAG son asociados o incorporados a un objeto, en este caso el bovino, y cuando este TAG pasa a través de un campo electromagnético

generado por el lector, el TAG le transmite a este último la información que posee en su memoria. Otra de las ventajas es que el lector que realiza la identificación y el elemento identificado al comunicarse a través de un campo de ondas electromagnéticas no necesita estar en contacto directo para transmitir la información.

b) Lector (reader o transceptor): es un retransmisor, que tiene la función de interrogar al microchip para recabar la información que éste posee en su memoria. Está compuesto por:

- Un módulo de radio frecuencia encargado de emitir las ondas electromagnéticas.
- Una antena.
- Una fuente de energía que puede ser electricidad o batería recargable.
- Un procesador que puede tener o no, capacidad de almacenar datos.
- Una pantalla en la cual se visualiza el número identificador del microchip.

Los lectores varían dependiendo de su capacidad de almacenar información, el tamaño de sus pantallas y la flexibilidad de su software respecto a la capacidad de transmitir datos (Artman, 1999).

Existen 2 tipos de lectores: los fijos y los portátiles. Los primeros son los que se encuentran instalados en un determinado lugar del establecimiento y a través de los cuales los animales son obligados a pasar para ser interrogados mediante un tipo de lectura, que se la conoce como dinámica, ya que el animal está en movimiento cuando se lo identifica, permitiendo realizar lecturas de hasta 100 animales identificados en 3 minutos (Ribó et al., 2001). En cambio los portátiles son de pequeño tamaño y pueden ser trasladados fácilmente en el establecimiento. Estos están provistos de una antena externa para poder aumentar su distancia de lectura. De esta manera las lecturas pueden

realizarse en cualquier lugar mientras que el animal pueda ser sujetado para ser interrogado. Este tipo de lectura se llama estática (Caja et al., 1998; Ghirardi, 2006).

- c) Sistema de gestión (software operacional): su fin es el de recolectar la información transmitida desde el TAG al lector. Recibe la información desde el lector de manera automática (mediante conexión inalámbrica, puerto USB, etc.) para poder almacenarla fuera del mismo y permitir realizar su análisis.

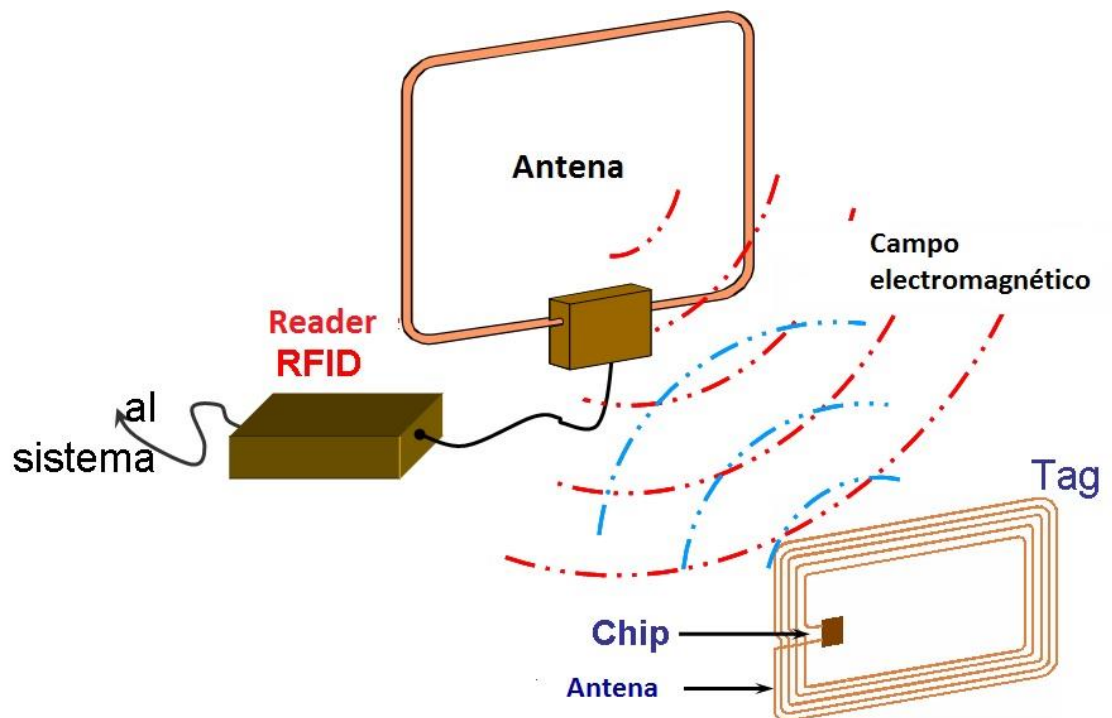


Figura 2: Esquema de un sistema de identificación por radiofrecuencia, con sus distintos componentes.

Un sistema de RFID puede operar a distintas frecuencias de ondas, cada una tiene sus ventajas y desventajas por lo cual se debe elegir la frecuencia que más se adecúa según el uso que le demos al sistema (Proyecto Idea, 2001; Ryan, 2008; Caja et al., 1999).

Frecuencia baja (low frequency- LF): opera en un rango electromagnético entre 120 y 145 kHz. Se encuentran en el rango más bajo del espectro de radio frecuencia. Dependiendo del

tamaño de la antena su distancia de lectura varía entre 30 y 100 cm. Ésta frecuencia es la que se utiliza en la identificación animal debido a la bajísima influencia que tienen los líquidos y tejidos sobre la transmisión.

Frecuencia alta (High frequency - HF): la frecuencia más utilizada de 13,56 MHz a nivel mundial en diversas circunstancias como la industria textil, tarjetas de crédito, y controles de la industria entre otros (Talone and Russo, 2006).

Frecuencia ultra alta (Ultra High frequency - UHF): es la última banda desarrollada para RFID, utilizada para logística y la gestión de elementos individuales, con distancias de operatividad mayores que las anteriores mencionadas.

Al usar ésta tecnología de radiofrecuencia es necesario tener en cuenta que pueden existir interferencias con otros elementos eléctricos que operen con la misma tecnología. Además hay que tener presente que los elementos metálicos también pueden alterar la comunicación entre el lector y el TAG (Ryan, 2008). Por lo tanto, al instalar el sistema en un establecimiento habrá que hacer un análisis previo para determinar el lugar más conveniente en donde realizar el trabajo.

Como se hizo mención, en el caso de la identificación animal, se utiliza la banda de baja frecuencia (LF) con una amplitud de onda de 134,2 kHz. la cual fue establecida mediante normas ISO de manera tal que en todo el mundo haya concordancia de criterios (ISO 11785).

Con respecto a la comunicación hay 2 tipos de lenguajes aceptados por norma ISO 11785, mediante los cuales se comunica el lector con el identificador. Las diferencias principales entre ambos es la generación del voltaje de operación, el tipo de modulación, el código de información y el tiempo de la transmisión de la información (Artman, 1999). Los 2 tipos de lenguajes son:

Full Duplex (FDX): el transponder recibe el campo electromagnético generado por el lector, y en simultáneo el transponder le envía la información al lector.

Half Duplex (HDX): el transponder recibe energía, la guarda entre 50 y 100 milisegundos y la devuelve al lector junto con la información. Por lo tanto, la transferencia de datos entre el reader y el TAG se alternan.

Para que se puedan realizar las lecturas, la norma ISO 11785 establece que los lectores deben estar adaptados a leer ambos tipos de lenguajes.

La onda electromagnética se transforma en un código binario a modo de representar un mensaje. Un código binario son 0 y 1 que según como se agrupan significan una letra o un número. Este mensaje digital se conforma por bits que se agrupan de a 8 formando un Byte. La norma ISO 11784 organizó este mensaje para que en todo el mundo la codificación siga una estructura determinada, determinando que el mensaje debería tener 64 bits (agrupados en 8 bytes de 8 bits cada uno) (Tabla 2).

Tabla 2: código ISO 11784 para identificación animal. Se detallan los espacios reservados para cada número de Bit y la información contenida en ellos como así las posibles combinaciones de información a almacenar.

Nº de Bit	Total de Bits	Contenido del bloque	Posibles combinaciones
1	1	Uso animal: 1	2
2-15	14	Espacio reservado para el futuro	16.328
16	1	Uso de bloque adicional (1:si 0:no)	2
17-26	10	Código de país	1.024
27-64	38	Código de identificación animal	274.877.906.944

Existen 3 presentaciones de dispositivos identificadores para bovinos con tecnología RFID; los bolos ruminales, las caravanas electrónicas y los dispositivos inyectables. Para la elección del método de identificación y que resulte exitosa, se deben tener algunas consideraciones que deben cumplir (ICAR, 2009).

- Dimensión y forma del dispositivo.
- Distancia operativa de lectura.
- Resistencia a ambientes críticos.
- Ser legible aún en situaciones climáticas adversas.
- Influencia ante eventuales materiales que puedan alterar la comunicación (principalmente metales y agua).
- Frecuencia operativa (LH, HF, UHF).
- Estándar y protocolización (ISO)

Además de tener en cuenta todos estos ítems, es una realidad que cada uno de estos tres tipos de identificadores tienen ventajas y desventajas las cuales también se deben tener presentes para su elección y de esta manera lograr una mejor identificación de los bovinos. Los 3 tipos de identificadores que utilizan tecnología por radiofrecuencia para bovinos son:

1- Inyectables:

Se colocan subcutáneamente, mediante una jeringa aplicadora especialmente diseñada para tal fin. Existen diversas ubicaciones para colocarlo en el animal, como son la región auricular, labio superior y la axilar (Caja et al., 1998; Fallon et al., 2001). Poseen un tamaño pequeño que varía entre los 13 y los 28 mm de longitud y entre los 2 y 4 mm de diámetro

(Fallon et al., 2001), y son construidos de materiales que no causan reacciones alérgicas, como por ejemplo de vidrio (Figura 3).



Figura 3: Dispositivo inyectable

Es un método de identificación que posee algunos inconvenientes; en su colocación se deben adoptar medidas de higiene para disminuir las posibles infecciones, el personal debe estar capacitado para efectuar la tarea. Además estos dispositivos suelen tener problemas en la lectura ya que se rompen ante golpes del animal. Una de sus principales desventajas es que suelen migrar a través del tejido subcutáneo siendo difíciles de leer y sobretodo, de recuperar en el frigorífico, demandando mucho tiempo en su búsqueda y retrasando las labores del personal y muchas veces genera un riesgo de que contaminen el producto que va a ser consumido por la población cuando, por ejemplo, migran hasta un determinado músculo que puede ser consumido en un corte carnicero. Todas estas desventajas han hecho que este método identificatorio no sea apto para los bovinos (Caja et al., 1998; Conill et al., 2000; Fallon et al., 2001; Carne et al., 2009).

La tabla 3 muestra un resumen de los datos obtenidos a través de investigaciones realizadas con dispositivos inyectables en bovinos.

Tabla 3: Evaluación del empleo de dispositivos inyectables en bovinos, teniendo en cuenta el tiempo demandado en aplicación, porcentaje de pérdidas de los dispositivos, porcentaje de legibilidad, tiempo y porcentual de recuperado en matadero según distintas investigaciones.

	Axila	Oreja	Labio Superior
Tiempo de aplicación	37 seg (Conill)	44 seg (Conill)	51 seg (Conill)
Pérdidas	1,7% (Conill) 3% (Lamboij)	5,2% (Conill)	14% (Conill) 10,1% (Lamboij)
Legibilidad	98%(Conill) 90-99% (Lamboij)	94,8% (Conill) 64-83% (Lamboij)	84,7% (Conill)
Tiempo de recuperado	75 seg (Conill)	52 seg (Conill)	27 seg (Conill)
% recuperado	52-73% (Conill)	36,6-78,6% (Conill)	

2- Bolos ruminales:

Son dispositivos de forma cilíndrica fabricados generalmente de cerámica, que se colocan oralmente, mediante el uso de un aplicador llamado lanzabolos, y que luego quedarán alojados en los prestómagos del bovino (retículo y rumen). Existen distintas medidas, peso y densidades específicas. Según las investigaciones realizadas deben cumplir algunas dimensiones y peso mínimos para garantizar la permanencia dentro del animal durante toda su vida y que no se pierdan mediante la regurgitación ni por materia fecal (Caja et al., 1999) (Figura 4).



Figura 4: Imagen de Bolo ruminal.

Tienen como ventajas la dificultad de realizar fraude, ya que al estar ubicados dentro del rumen la única manera de extraerlo es mediante cirugía o sacrificando al animal. Otro punto a favor es que son fácilmente recuperables en el frigorífico, por lo tanto no demanda mucho tiempo a los operarios (Baldo and Goitia, 2001) y el porcentaje de recuperación supera el 98% (Fallon et al., 2001). Además, pueden colocarse en animales de temprana edad, pero es necesario que el personal responsable de tal tarea se encuentre previamente capacitado a modo de evitar problemas en su colocación (Ghirardi, 2006).

Como punto negativo de este tipo de identificadores se encuentra que no es posible identificar el animal desde el exterior sin la ayuda de algún otro elemento identificatorio (como por ejemplo con una caravana auricular) siendo indispensable el lector de RFID. Además tampoco es posible saber si el bolo ha dejado de funcionar o si se perdió en caso de que las lecturas sean negativas.

3- Caravanas auriculares:

En este tipo de identificador el microchip se encuentra recubierto por una caravana plástica la cual se coloca en el pabellón auricular del bovino, generalmente tienen forma de botón para disminuir la superficie externa y por lo tanto el riesgo a que se pierdan por engancharse en alambres u otro elemento del establecimiento (Figura 5).



Figura 5: Caravana auricular electrónica.

Una ventaja de éstas, tal como ocurre con los bolos ruminales previamente descritos, es que también pueden ser colocadas en animales a temprana edad, y los porcentajes de retención durante toda su vida son elevados (Proyecto Idea, 2001). Además permiten la

identificación desde el exterior ya que pueden tener el número escrito en el plástico y que se corresponda con el número identificador electrónico grabado en el microchip. Como desventaja a mencionar es que se pueden retirar del animal y reemplazar por otra, siendo posible el fraude.

Las principales propiedades que ofrecen los actuales sistemas de RFID son las siguientes (Caja et al., 2002):

- Lectura a distancia y con los animales en movimiento.
- Funcionamiento pasivo (sin baterías), de larga duración y seguro para animales y operarios.
- Uso de una señal codificada y procesable por computadora, lo que permite una gestión automática de datos.
- Ausencia (o muy baja) incidencia de errores de identificación y fallos de lectura.
- Estandarización de la señal codificada mediante acuerdos ISO y garantías de unicidad de los códigos de identificación.

Las ventajas y desventajas de cada tipo de dispositivo electrónico de identificación utilizado en los bovinos se resume en la tabla 4.

Tabla 4: Ventajas y desventajas del empleo de distintos métodos identificatorios electrónicos utilizados en bovinos. Adaptado proyecto IDEA (2001).

Método identificatorio	Ventajas	Desventajas
Inyectables	Pocas pérdidas Difícil realizar fraude	Posible contaminación de la res Dificultad para recuperar en el frigorífico Fácil de romperse Migración subcutánea Necesita buena técnica de colocación
Bolo Ruminal	Fácil de aplicar Difícil fraude Pérdidas mínimas Fácil de recuperar	No identifican exteriormente al animal En caso de lectura negativa no se puede saber si fue perdido o no funciona
Caravana Auricular	Fácil aplicación y recuperación	Fácil realizar fraude

Desde principios de marzo de 2006 y hasta la fecha en la República Argentina rige un sistema obligatorio de identificación bovina. El mismo consiste en la creación de un registro que identifica a los productores individualmente mediante la creación de la Clave Única de Identificación Ganadera (CUIG) que en conjunto con el Registro Nacional Sanitario de Productores Agropecuarios (RENSPA) vigente se conforma la identificación individual de los animales en la caravana correspondiente y por ende se determina la identificación de los animales de cada propietario mediante el uso de un sistema de caravanas visuales. Estas deben ser aplicadas a todos los animales que hayan nacido a partir del año 2006. Con los sucesivos reemplazos de animales con el paso de los años, el rodeo entero quedará identificado mediante un Sistema Nacional de Identificación de Ganado Bovino. A su vez determina que a partir del año 2007 todos los animales nacidos desde 2006 deben trasladarse con este sistema de identificación obligatorio.

El sistema Nacional de identificación se compone de 2 caravanas auriculares que poseen las siguientes características particulares. Una caravana de tipo Tarjeta colocada en la oreja izquierda y otra tipo Botón que se colocará en la oreja derecha.

Se establecen distintos colores para las diferentes circunstancias. Amarillas en establecimientos en los cuales se realice la vacunación de Fiebre Aftosa, y verdes para aquellos en que no se realiza. Ante una eventual pérdida de la caravana original, aquella que la reemplace será de color Celeste, en caso de que se pierda un solo dispositivo identificador, el que permanezca colocado en el animal deberá reemplazarse también por uno nuevo.

Tendrán impresas en el frente de la tarjeta la siguiente información, la CUIG conformada por 2 letras y 3 números, seguidos por el número de identificación propia de cada animal constituido por 1 letra y 3 números (desde la A000 a la Z999) seguido a este número y con otra tipografía a modo que quede diferenciado se escribe el dígito verificador, el cual es calculado a partir de los otros dígitos de la mencionada cadena de elementos, utilizado para verificar que los datos han sido compuestos correctamente. Además deberá tener el acrónimo AR para identificar el país de origen (figura 6).

En el revés de la tarjeta también se registrará la siguiente información, el RENSPA del productor y número de identificación del impresor, la fecha de impresión de las caravanas y rango de las caravanas que fueron impresas (figura 7).

En el caso de los dispositivos tipo botón la información registrada será la siguiente, en el frente irá la CUIG, el número identificador del animal y el número verificador. Con los mismos números que la tarjeta colocada en la otra oreja (figura 8).



Figura 6. Frente de la caravana tarjeta



Figura 7. Dorso de la caravana tarjeta.



Figura 8. Vista de frente del Botón auricular.

Las caravanas de reemplazo en caso de pérdida llevarán la misma información que las originales, solo que con otro número identificador individual.

Este sistema se complementa con una Planilla de Identificación de Bovinos. La misma posee un número único de hoja, los datos del titular del establecimiento, CUIG, las caravanas

contenidas en la serie, columna para escribir fecha de colocación de la caravana, sexo y raza del animal identificado, y una columna en donde se asentarán los extravíos o roturas. Una vez llenada la planilla debe ser firmada por el propietario y entregada al SENASA quedándole al productor una copia. También existe la Planilla de re identificación, la cual deberá llenarse con los mismos datos que la anterior indicando que caravana reemplaza a cual.

Las caravanas deberán reemplazarse cuando alguna de las dos se extravíe o pierdan legibilidad. En caso de que sólo haya perdido una de las dos, la que aún permanece identificando al animal deberá extraerse con una pinza y colocar las celestes de reemplazo.

Identificación Genética

Marcadores Moleculares como sistema de control adicional en la trazabilidad.

La trazabilidad permite la identificación de un producto en todas las etapas de la cadena de su producción, desde la materia prima hasta el producto listo para consumir (Feng et al., 2013). Surge la necesidad de garantizar la seguridad en la trazabilidad de los productos cárnicos. Para tal fin se han desarrollado herramientas complementarias a los métodos de identificación que se describieron previamente las cuales pueden ayudar a aumentar las garantías sobre el producto a consumir. La disponibilidad de varias técnicas de análisis de la variabilidad genética, como los marcadores de ADN, ha permitido su aplicación como herramientas de utilidad en la identificación individual, así como en otras aplicaciones forenses (análisis de paternidad, asignación racial, identificación de especies, etc.) (Giovambattista and Peral García, 2010). Este tipo de técnicas son adecuadas para para tal fin (Caja et al., 2002; Vignal et al., 2002; Mariani et al., 2005). Con esta metodología se puede trazar el animal desde el nacimiento hasta los puntos de venta, identificándolo individualmente a lo largo de la cadena de comercialización.

La trazabilidad genética se basa en la determinación y comparación de los perfiles de ADN entre el animal vivo y el producto final y puede ser llevada a cabo gracias a determinadas características que poseen los marcadores genéticos (Heaton et al., 2005; Egozque et al., 2006; Dalvit et al., 2007; Cesar et al., 2010). El ADN posee las siguientes características en las que se basa la trazabilidad genética:

- Es inalterable durante la vida del animal.
- Es estable durante los procesos y tratamientos que pueda recibir un alimento procesado.
- Está presente en todas las células nucleadas del organismo.

La implementación de un sistema de trazabilidad genética contempla la extracción del ADN a partir de muestras del animal vivo y de los productos originados posteriormente. Para llevar a cabo el análisis los marcadores son amplificados mediante la técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) (Mullis and Faloona, 1987) y los genotipos son determinados mediante algunas de las diferentes técnicas disponibles, para construir el perfil genético de las muestras analizadas. La comparación de los perfiles genéticos obtenidos en el animal vivo y en el producto cárnico al final de la cadena permite comprobar o descartar la identidad de la muestra (Orrù et al., 2006; Heaton et al., 2005).

La identificación individual mediante marcadores moleculares es muy útil debido a que presenta una muy alta precisión (Orrù et al., 2006; Heaton et al., 2005). Numerosos estudios han demostrado que la probabilidad de que dos individuos compartan el mismo perfil genético (Match Probability; MP), es de aproximadamente de uno en un millón, lo que pone en evidencia el elevado poder de identificación de este método (Dalvit et al., 2007; Mariani et al., 2005). Es muy importante la elección de los marcadores, ya que el contenido informativo de cada marcador varía según la raza (Orrù et al., 2006). Por lo tanto cuando se quiera implementar un sistema de rastreo utilizando la trazabilidad genética se deberán seleccionar

paneles específicos de la raza (en caso de tener conocimiento de qué raza se trata) o un panel cuyos marcadores presenten frecuencias génicas apreciables en diferentes razas (Dalvit et al., 2007).

Otra ventaja de la utilización de marcadores genéticos para la identificación individual es que permite detectar individuos productos cárnicos que conformados por mezclas de carne de varios animales como por ejemplo salchichas, hamburguesas, etc. Por ejemplo, Shackell y colaboradores (2005), individualizaron en procesados de origen cárnico hasta 5 individuos.

Los marcadores moleculares son fragmentos de ADN que sirven como referencia para seguir la transmisión del material hereditario de una generación a la siguiente. Es una entidad génica que manifiesta polimorfismo, el que puede hallarse en regiones codificantes como en no codificantes del genoma. Entre los marcadores moleculares más comúnmente utilizados se encuentran los microsatélites (Short Tandem Repeats, STRs), formados por núcleo o core de 2 a 5 pares de bases que se repiten un determinado número de veces a lo largo de la secuencia del ADN, definiendo un alelo específico (Pozzi et al., 2016; Strucken et al., 2015). Los microsatélites presentan características propias que los hacen adecuados para la identificación genética de un individuo, por ejemplo, se distribuyen uniformemente a lo largo de todo el genoma, presentan un alto número de alelos (son altamente variables), están presentes en el individuo desde el nacimiento y son estables a lo largo de la vida del individuo, presentan herencia dominante, su análisis no conlleva riesgo para el animal entre otras características (Giovambattista and Peral García, 2010).

Un alelo es cada una de las formas alternativas que puede tener un locus, que se diferencian en su secuencia de ADN y que se pueden manifestar en modificaciones concretas de la función de ese gen si corresponden a regiones codificantes (Giovambattista and Peral García, 2010). En el caso particular de los STRs los alelos están dados por variaciones en el

número de repeticiones de la secuencia core, lo que permite obtener un elevado número de combinaciones posibles en cada uno de ellos, es decir, los microsatélites son marcadores multialélicos. Entre las aplicaciones de este tipo de marcador se encuentran, estudios de genética poblacional, variabilidad poblacional, genética de la conservación, parentesco, generación de mapas de ligamientos en mamíferos, cuantificar diversidad genética en poblaciones, etcétera (Delgado de la Flor Montauban, 2014).

Diferentes paneles de microsatélites han sido propuestos para diferentes objetivos. Así por ejemplo, la FAO propuso un set de 30 microsatélites autosómicos para estudios de caracterización y conservación de razas bovinas. Por otra parte, la Sociedad Internacional de Genética Animal (International Society for Animal Genetics, ISAG) ha estandarizado un panel de 12 STRs para la identificación de individuos y para la verificación de paternidad para su registro en los libros genealógicos. Sin embargo, un número menor de microsatélites es suficiente para obtener valores suficientemente elevados de probabilidad de match por azar para individualizar un animal y poder garantizar la trazabilidad de los productos a lo largo de la cadena. Esto se debe a que en el caso de trazabilidad genética se comparan los genotipos de las muestras, mientras que en la verificación de paternidad se requiere que los individuos compartan al menos un alelo. En este sentido, trabajos previos han reportado que con 8 microsatélites se puede individualizar un bovino o un producto en el contexto de un sistema de trazabilidad (Arana et al., 2002), pero obviamente a medida que utilizamos más cantidad de microsatélites el error de match por azar disminuye significativamente. Para asegurarse de que el individuo sea identificado de manera inequívoca debe elegirse un número elevado de microsatélites de manera que la probabilidad de encontrar 2 individuos distintos con el mismo patrón de microsatélites sea superior al tamaño de la población (Por ejemplo, 1 en diez mil

millones). Uno de los paneles más utilizados es el de la ISAG antes mencionado, compuesto por 12 microsatélites.

Para garantizar la exactitud de los resultados obtenidos durante la genotipificación es necesario que los laboratorios participen en los test internacionales de comparación y estandarización de metodologías y nomenclaturas organizadas por sociedades como la ISAG (Budowle et al., 2005).

Otros marcadores moleculares cada vez más utilizado, son los polimorfismos de nucleótidos simples (Single nucleotide polymorphisms, SNP). Estos polimorfismos consisten en cambios puntuales en una única base nitrogenada dentro de la secuencia de ADN (Vignal et al., 2000). Es decir que una sustitución en un nucleótido con una frecuencia apreciable dentro de una población será considerada un SNP. Los SNPs son mucho más abundantes que los microsatélites pero al ser marcadores bialélicos resultan menos informativos (Heaton et al., 2002; Negrini et al., 2008). Por esta razón, para obtener los mismos resultados que en la identificación con STRs, en general se necesitan aproximadamente 3 SNPs por cada STR (Fernández et al., 2013). Actualmente, la ISAG ha propuesto un panel de 100 SNPs para identificación genética de bovinos (ISAG, 2016).

Como se mencionó anteriormente, las muestras que sirven para realizar una trazabilidad genética pueden provenir de cualquier tejido que contenga células nucleadas. Los tejidos más comúnmente empleados para extracción de ADN son: sangre, pelo (siempre que se encuentre su bulbo piloso) y cartílago auricular, por ser su muestreo poco invasivo. Un aspecto muy importante es tener en cuenta es el almacenamiento de la muestra. A continuación se detallan los principales tejidos utilizados.

Sangre: es la muestra más comúnmente utilizada ya que es de fácil obtención, aunque requiere ciertas precauciones como evitar su coagulación (mediante uso de anticoagulante) y mantenerse a -20°C para su conservación. Una alternativa práctica para evitar estos inconvenientes es extraer una gota de sangre y conservarla en un papel absorbente, lo que presenta la ventaja de que no requiere grandes demandas para su conservación, y que esta cantidad de material es suficiente para obtener el ADN.

Cartílago: es un buen material para la obtención de ADN, sin embargo presenta el inconveniente de tener un alto costo en la toma de la muestra. Esto se debe a que para su obtención se utilizan caravanas especiales (Biopsytec® o Typifix®) que al momento de aplicarlas en la oreja del bovino como cualquier caravana auricular tiene un depósito en el cual queda almacenado el cartílago extraído al momento de realizar la colocación de la caravana por la parte punzante de la misma (Figura 9).



Figura 9: caravana diseñada para la recolección de muestra de cartílago (Typifix®)

Pelo: es la técnica más económica, fácil de obtener y de almacenar (pudiendo hacerlo en un sobre de papel). Son necesarios al menos 15 pelos con folículo piloso.

Post mortem: se puede utilizar casi todo tipo de tejido como el óseo, muscular o graso. Lo mejor es el musculo tomado en cámara de maduración.

Para garantizar la trazabilidad es necesario que la información sea fidedigna y brinde garantías de que un determinado producto sea efectivamente lo que está indicando. Esto muchas veces presenta el inconveniente de que los métodos de identificación están adjuntados artificialmente al producto (por ejemplo una caravana en la oreja del animal o una etiqueta en el corte de carne en el supermercado) y esto conlleva riesgos de fraude o errores en la identificación por ejemplo en la pérdida de la etiqueta. El uso del ADN como técnica complementaria de identificación puede subsanar estos inconvenientes, ya que es inalterable biológicamente y permite identificar al individuo inequívocamente (Dalvit et al., 2006). El inconveniente de utilizar las técnicas de genotipificado es que no son instantáneas sino que necesitan un determinado tiempo para ser llevadas a cabo. Por otro lado tienen un costo relativamente elevado, por estos motivos podemos considerarlas como un complemento de las técnicas tradicionales (Arana et al., 2002).

Para la aplicación de este sistema de trazabilidad, es necesaria la creación de una base de datos con las muestras obtenidas en el animal vivo (cartílago, sangre, pelo, etc.) para su posterior confrontación con la carne que se encuentra en el punto de venta. Varios autores indicaron que la única manera de evitar el fraude garantizando la total trazabilidad es generar un banco de ADN para todos los animales (Cunningham et al., 1999, SanCristobal-Gaudy et al., 2000). El problema de este planteo es el elevado costo para realizarlo, por lo que se ha planteado una alternativa que consiste en tomar una muestra de la res, la cual es identificada y almacenada y en caso de que haya alguna duda o consulta se hace el análisis de ADN de esta muestra guardada para confrontarla con el trozo de carne que se encuentra en el punto de venta (Arana et al., 2002).

Problemática del seguimiento de la trazabilidad en la República Argentina

La actualidad de Argentina realmente presenta un problema a resolver con respecto a la trazabilidad de la carne. Si bien existen políticas estatales (Resolución SENASA 754-2006) que implementan las directivas de un sistema de trazabilidad nacional, solamente se cumple en el primer paso de la cadena que es identificar el animal y ello no se traslada a la trazabilidad individual de la carne.

El animal identificado en el campo es el punto de inicio de la trazabilidad, desde allí el mismo puede ser engordado en el mismo establecimiento o llevado a otro para ser engordado y luego transportado hasta llegar al frigorífico con el fin de ser faenado. En el frigorífico, después de su noqueo y degüello, el paso siguiente es la extracción de la cabeza del animal con la posterior separación del resto del cuerpo para ser preparada la res. Hoy en día con el animal identificado mediante el empleo de las caravanas obligatorias de SENASA (o si estuviera identificado con caravanas electrónicas) la garantía de la trazabilidad llega hasta este punto de la cadena. Si en cambio estuviera identificado con un bolo ruminal al llegar a la sala de eviscerado este sería el fin de la trazabilidad. Esto plantea un corte en el seguimiento de la trazabilidad por no poder continuar con la identificación de la carcasa. Para solucionar este inconveniente es imprescindible que el frigorífico tenga un sistema que permita garantizar la trazabilidad a medida que el procesamiento de la res avanza (Nava et al., 2009). En distintos países han logrado superar este inconveniente, cuando llegado el momento en que el dispositivo identificador original del animal llega al punto en que debe ser separado de la res, ésta es re identificada con otro microchip o etiquetar cada corte con un código de barras que conserve la información necesaria (Feng et al., 2013). También se han diseñado sistemas que identifican los ganchos con el sistema RFID que trasladan las 2 medias reses para

posteriormente continuar identificando los cortes también con un sistema de etiquetado con código de barras (Nava et al., 2009)

En este contexto mundial de altas exigencias en lo que respecta a la calidad higiénica y sanitaria como así también de calidad de carne como commodity debemos asegurar al ser un país exportador de ésta materia prima, poder garantizar la trazabilidad de la misma. Para tal fin es indispensable el poder transferir la información de cada animal de manera automática, que evite los errores en la transferencia de la información entre los distintos eslabones que componen la cadena de comercialización de la carne bovina, que abarca al productor de terneros, al transporte de ellos hacia el establecimiento de engorde, transporte hacia el frigorífico, despiece de los cortes y distribución en los distintos puntos de venta de la carne (Araoz, 2004). Para tal fin es necesaria la creación de un sistema automático informático que trabaje con el mismo lenguaje para conectar estos puntos y poder conocer certeramente la historia del producto que el consumidor adquiere en los puntos de venta (Liang et al., 2015).

HIPÓTESIS y OBJETIVO GENERAL.

Se planteó la siguiente hipótesis, el uso de un sistema de identificación por radiofrecuencia posibilita vincular la identidad del animal a los registros productivos que se generan de manera automática lo cual permite mejorar la gestión en un sistema extensivo con mínimos errores.

El objetivo general de la tesis es contribuir al desarrollo de un sistema de identificación del ganado bovino en condiciones extensivas de manejo, que pueda ser aplicado a la gestión del sistema de producción y a la trazabilidad de la carne, basado en el uso conjunto de la identificación electrónica por radiofrecuencia y marcadores moleculares.

OBJETIVOS PARTICULARES.

1-Determinar el funcionamiento de distintos tipos de identificadores electrónicos y de lectores de radiofrecuencia en los bovinos en condiciones de trabajo extensivo.

2-Evaluar la posibilidad de transferir a identificadores electrónicos de tipo lectura escritura la información obtenida a partir de marcadores moleculares como código de identificación indeleble de cada animal.

Objetivo Particular 1

La funcionalidad en condiciones extensivas de producción de identificadores electrónicos y lectores por radiofrecuencia, principales componentes físicos del sistema de identificación electrónica en bovinos, se estableció a partir de 3 ensayos experimentales en los cuales se evaluaron:

- 1- El funcionamiento de los distintos dispositivos de identificación. Determinándose los niveles de pérdida y momentos de la ocurrencia de las mismas para distintos formatos de dispositivos de identificación electrónica o identificación visual, estos últimos, actualmente en uso con carácter obligatorio en Argentina.
- 2- El funcionamiento de los distintos lectores de identificadores electrónicos. Se determinó la capacidad de lectura estática y dinámica de lectores fijos y portátiles. Se estableció para el lector fijo la eficiencia de lectura en diferentes posiciones en la manga, para los diversos formatos de identificadores.
- 3- La funcionalidad de un lector portátil RFID programado de modo de permitir cargar los datos más relevantes de ocurrencia a campo, automatizando la transferencia de datos. Se determinaron los resultados y posibilidades de uso en relación a los distintos eventos a registrar.

EVALUACIÓN DE LAS PÉRDIDAS Y ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO DE 4 TIPOS DE DISPOSITIVOS DE IDENTIFICACIÓN BOVINA EN UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN PASTORIL DE CARNE.

Introducción

La trazabilidad es definida por el Codex alimentario como la habilidad de seguir el movimiento de un producto a lo largo de todas las fases de su producción, procesos y distribución. Es una herramienta que puede contribuir a la protección de los consumidores en contra de cualquier fraude, garantizando lo que está escrito, por ejemplo, en la etiqueta que identifica un determinado producto.

La OIE define un sistema de trazabilidad animal como la inclusión y conexión entre los componentes, como lo son los propietarios, la/s personas que tienen responsabilidad sobre los animales, movimientos y otras cuestiones sobre la identificación animal (OIE, 2006).

La identificación de los bovinos es el punto inicial para poder realizar una eficiente trazabilidad en la cadena de la carne y por lo tanto es fundamental mantener la identificación del animal hasta que el mismo llega al punto de venta al consumidor (McKean, 2001).

Los distintos métodos de identificación tienen ventajas y desventajas cuando se los compara entre sí, cualquiera sea el método de identificación animal a utilizar, debe cumplir con algunas características esenciales como son permanecer identificando al animal durante toda su vida productiva, ser de simple lectura, económico, no debe alterar el bienestar animal, la salud ni la producción del animal, no deben alterarse con el paso del tiempo y deben ser difíciles o imposibles de falsificar (Caja et al., 1998; Conill et al., 2000; Ribó et al., 2001; Ghirardi, 2005; Carne et al., 2009).

Los métodos de identificación consistentes en marcas realizadas sobre el animal, como los tatuajes y marcas en la piel por quemaduras efectuadas por fuego o frío, están siendo reemplazados aceleradamente porque resultan engorrosos para un manejo diario eficaz y sencillo de los sistemas de producción y son cuestionados por el dolor causado al momento de su ejecución provocando una disminución del bienestar animal (Ghirardi, 2006).

En los bovinos, los métodos de identificación por medio de dispositivos son los más utilizados en la actualidad, siendo las caravanas auriculares el más difundido. Las dos presentaciones principales de caravanas, tipo tarjeta y tipo botón, son mayoritariamente fabricadas en material plástico. Ello es así, incluso por su carácter obligatorio en Argentina y en la mayoría de los países europeos (SENASA n° 754/2006; Reglamento CE 820/97).

Las caravanas auriculares pueden contener diversa información además del número identificador propio del animal, por ejemplo el establecimiento al que pertenece el animal, país de procedencia, un código de barras, etc.

Entre los aspectos positivos de su uso se encuentran: que pueden ser identificados animales a temprana edad, no se altera el bienestar animal ya que su colocación es prácticamente indolora y fundamentalmente permiten una fácil identificación del animal en forma visual.

Como desventajas principales pueden citarse que pueden ser retiradas del animal, con lo cual el fraude es una posibilidad. Además de las precauciones que hay que tener con respecto a mantener una higiene mínima pero indispensable en su colocación y posicionarla en el lugar indicado del pabellón auricular. Respecto a la duración de la identificación, la elección del fabricante puede garantizar, desde la calidad de los materiales y el diseño, un

nivel de retención elevado con lo que se puede conseguir un alto porcentaje de permanencia en el animal durante su vida productiva (ICAR, 2009).

Sin embargo, en un sistema productivo en el cual los animales se crían en grandes extensiones de terreno la vegetación y los alambrados pueden modificar la tasa de retención de los dispositivos externos a lo largo de la vida productiva de un bovino (Kellom et al., 2006). Son muy escasos los reportes de pérdidas de caravanas auriculares, especialmente en sistemas ganaderos extensivos basados en el pastoreo directo que son los más difundidos en Argentina.

Las caravanas auriculares tienen una variante en su diseño, que consiste en la colocación de un microchip de radiofrecuencia en su interior, de manera que constituyen un identificador electrónico. Con este tipo de identificador electrónico, además de las ventajas de una caravana regular visual se puede conseguir la captura y transmisión de datos de manera automática y unívoca evitando los errores humanos que pueden suceder en el manejo de la información durante cualquier trabajo (Caja et al., 2002).

El otro tipo de identificador con tecnología RFID utilizado en bovinos es el bolo ruminal (Artmann, 1999; Ghirardi, 2005). El tamaño de los bolos a utilizar es un punto crítico en relación a dos aspectos, la dimensión de la antena del microchip ubicado en el interior del bolo que condiciona la distancia de lectura del dispositivo (Nehring et al., 1994; Klintwordth et al., 1999) y el tamaño del animal en el cual el bolo va a ser implantado por cuanto pueden ocurrir problemas de salud durante su colocación y pérdidas tempranas (Caja et al., 1999).

El bolo ruminal de 61 g y 20 mm de diámetro mínimo ha sido propuesto como el más conveniente para su uso en bovinos por Caja y colaboradores (2006) trabajando con razas continentales de tamaño adulto grande e identificando animales de más de dos semanas edad.

Para las condiciones de producción ganadera de Argentina, donde predominan animales de razas británicas de tamaño moderado y alimentación a pasto no existen datos de pérdidas de bolos ruminales de ninguna medida.

La hipótesis formulada para el presente estudio es que los dispositivos identificatorios ubicados externamente en el animal tienen mayor cantidad de pérdidas totales y diferencias en la distribución de las pérdidas en el tiempo respecto a los de ubicación interna.

El objetivo del trabajo fue evaluar las pérdidas y el momento de la ocurrencia de las pérdidas de distintos tipos de dispositivos de identificación, electrónicos y visuales, colocados en terneras de raza Angus al momento de su nacimiento criadas en condiciones de producción pastoril extensiva.

Materiales y métodos

El estudio fue realizado en un establecimiento dedicado a la cría bovina con un sistema de producción exclusivamente pastoril, donde se realiza un servicio estacionado con una duración de 3 meses entre noviembre y enero de cada año, por lo que la época de parición ocurre entre agosto y octubre. Luego de nacidas las terneras son criadas al pie de la madre hasta el siguiente otoño, momento en el que son destetadas y se reúnen alimentadas exclusivamente a pasto. En la primavera siguiente inician su primera temporada reproductiva simultáneamente con los vientres adultos.

Entre los años 2007 y 2011 fueron identificadas al momento de su nacimiento 496 terneras hembras de la raza Angus nacidas en un rodeo de animales de tamaño moderado a chico (peso vivo $28,4 \text{ kg} \pm 3,5 \text{ kg}$). Las terneras que se retienen como futuros vientres son las hembras que tienen la vida productiva más larga en relación al resto de las categorías presentes en un rodeo, por ello representan el máximo desafío para los distintos tipos de dispositivos de identificación.

Cada ternera fue identificada con 2 dispositivos auriculares visuales, una caravana tipo tarjeta de 7,4cm x 9,8cm (Allflex®, Argentina) colocada en su oreja izquierda y otra caravana tipo botón de 33 mm diámetro (Allflex®, Argentina) ubicada en la oreja derecha, identificación obligatoria a nivel nacional dispuesto por resolución de SENASA n° 754/2006 vigente durante el periodo de realización del estudio en la República Argentina.

Además de las dos caravanas visuales todos los animales se identificaron al azar con uno de los dos dispositivos electrónicos utilizados en este estudio, bolo ruminal o caravana auricular tipo botón. Se utilizaron 239 bolos ruminales 52 g de peso, de 17 x 67 mm, densidad 3,65, volumen 14,29 ml, sistema FDX (PRIONICS®, Italia) y 257 botones auriculares electrónicos con un diámetro de 33 mm., peso 5,5 g, sistema FDX (DEMAPLAST®, Italia).

Para realizar las lecturas de los mismos se utilizaron una antena fija de 660 mm de ancho x 860 mm alto (EDIT ID®, Nueva Zelanda) colocada en la parte interna de la manga del establecimiento.

La totalidad de los dispositivos, tanto visuales como electrónicos, fueron colocados por un único operador capacitado en la técnica colocación correspondiente. Los identificadores visuales auriculares obligatorios fueron colocados en el centro de la oreja bajo condiciones recomendadas de higiene para disminuir posibles infecciones con la posterior pérdida de la caravana. El botón auricular visual fue colocado en la oreja derecha mientras que la tarjeta visual en la oreja izquierda (SENASA n° 754/2006).

En el caso de los botones electrónicos se tomaron las mismas precauciones de higiene y ubicación en la oreja derecha del animal hacia medial respecto a la caravana botón visual.

Los bolos ruminales se colocaron siguiendo las instrucciones descritas por Caja (1999), colocando la ternera entre las piernas del operador como modo de sujeción, y con un lanza bolos que se introdujo lateralmente a través del diastema hasta la faringe provocando el

reflejo deglutorio. Durante la colocación de los bolos se registró la ocurrencia de cualquier dificultad, reacción física o comportamental que pudiera relacionarse con la maniobra, especialmente atascamiento esofágico, regurgitación del bolo, salivación abundante, etc. (Ghirardi, 2006).

Previo a la colocación los dispositivos electrónicos fueron interrogados con un lector portátil para evitar colocar dispositivos con fallas y luego de colocados se volvió a comprobar su funcionalidad realizando una nueva lectura (Carné et al., 2008)

Durante la época de parición el encargado del establecimiento recorrió los potreros donde estaban los vientres a parir 2 veces al día con el fin de atender los partos e identificar las terneras nacidas durante el primer día de vida (Figura 10).



Figura 10: colocación de bolo ruminal por parte del personal del campo.

Se realizaron controles trimestrales donde se registró la permanencia de todos los dispositivos colocados, como así también el correcto funcionamiento de los identificadores electrónicos mediante un lector portátil de radiofrecuencia hasta los 730 días de identificados los animales

Para evaluar las pérdidas relativas de los dispositivos se realizó un análisis de chi cuadrado utilizando el procedimiento FREQ del software SAS (v. 9.4 SAS Ins. Inc. Cary, NC) comparando las pérdidas totales a los 365 y 730 días de cada uno de los dispositivos contra los demás. De la misma manera se evaluó si la colocación de una doble identificación en el mismo pabellón auricular afectó las pérdidas totales de uno de los dos dispositivos.

En el análisis de supervivencia se modeló el tiempo medio transcurrido a la pérdida de los dispositivos hasta los 100, 350 y 730 días, utilizando el procedimiento LIFETEST de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC®) para calcular los estimadores de Kaplan Meier. Los test de hipótesis LONG RANK Y WILCOXON fueron aplicados para evaluar la diferencia en el tiempo medio hasta la pérdida entre los diferentes dispositivos.

Los períodos de análisis aplicados fueron así definidos debido a que:

- hasta los aproximadamente 100 días de edad la leche materna cubre las necesidades de alimentación de los terneros (Carrilo, 1997), por lo que a partir de ese momento comienza un consumo proporcionalmente mayor de forraje que de leche y los cambios en la alimentación son citados como un factor que determinaría pérdidas de los bolos ruminales (Ghirardi, 2005). Además, la mayor parte de los estudios reportan las pérdidas de los identificadores de este tipo en un periodo de tiempo corto luego de su colocación tanto en bovinos como en ovinos (Baldo et al., 2000; Ghirardi, 2005).
- Ha sido establecido que un dispositivo cumple su función correctamente cuando permanece identificando en el 98% de los casos al año de colocado (ICAR, 2009)
- Hasta los 730 días fue el tiempo real del estudio.

Se ajustó un modelo de riesgos proporcionales de COX utilizando el procedimiento PHREG de SAS para estimar el riesgo diario de pérdida de cada dispositivos hasta los días 100, 365 y 730 días, empleando el “dispositivo” como única variable explicativa. La variable

“año” fue excluida del modelo ya que su efecto no fue estadísticamente significativo (Wald Chi-Square Test; $P = 0,3245$). Para comprobar el supuesto de riesgos proporcionales se realizó la correlación entre los residuales de Schoenfeld y el tiempo (DIAS, DIAS2 Y LOG días).

Resultados:

Durante la colocación de los dispositivos identificatorios no se observaron dificultades o reacciones indeseadas en ningún caso.

Se registraron 1,41% y 5,04% de pérdidas de caravanas visuales tipo botón, 1,95% y 4,28% de caravanas electrónicas tipo botón, 3,35% y 3,77% de bolos ruminales electrónicos y 2,22% y 3,23% de caravanas tipo tarjeta hasta los 365 y 730 días de edad respectivamente. Las pérdidas de los distintos tipos de identificadores resultaron estadísticamente no significativos ($P= 0,38$ para los 365 días y $P = 0,53$ para los 730 días) (Tablas 5 y 6).

Tabla 5: Cantidad de dispositivos identificadores perdidos y no perdidos a los 730 días de edad.

	Botón Electrónico	Bolo Ruminal	Botón Visual	Tarjeta Visual
No perdidos	252	231	489	485
Perdidos	5	8	7	11
Total	257	239	496	496

Tabla 6: Cantidad de dispositivos identificadores perdidos y no perdidos a los 730 días de edad.

	Botón Electrónico	Bolo Ruminal	Botón Visual	Tarjeta Visual
No perdidos	246	230	471	480
Perdidos	11	9	25	16
Total	257	239	496	496

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a las pérdidas de al menos 1 identificador auricular cuando se comparó el grupo de terneras que tenía 2 caravanas tipo botón (visual y electrónica) en el mismo pabellón auricular con respecto al grupo que tenía una sola caravana tipo botón (visual) en la oreja derecha. Las pérdidas registradas fueron 18/257 y 16/239 las caravanas perdidas respectivamente ($P = 0,89$). Si bien el estudio no se proponía evaluar esta situación la obligatoriedad del uso de un botón visual determinó la doble colocación de botones en la oreja derecha.

La figura 11 y la tabla 7 muestran la función de supervivencia hasta los 100 días. El bolo ruminal resultó el dispositivo que mayores pérdidas y menor tasa de supervivencia presentó respecto del resto ($P < 0,01$).

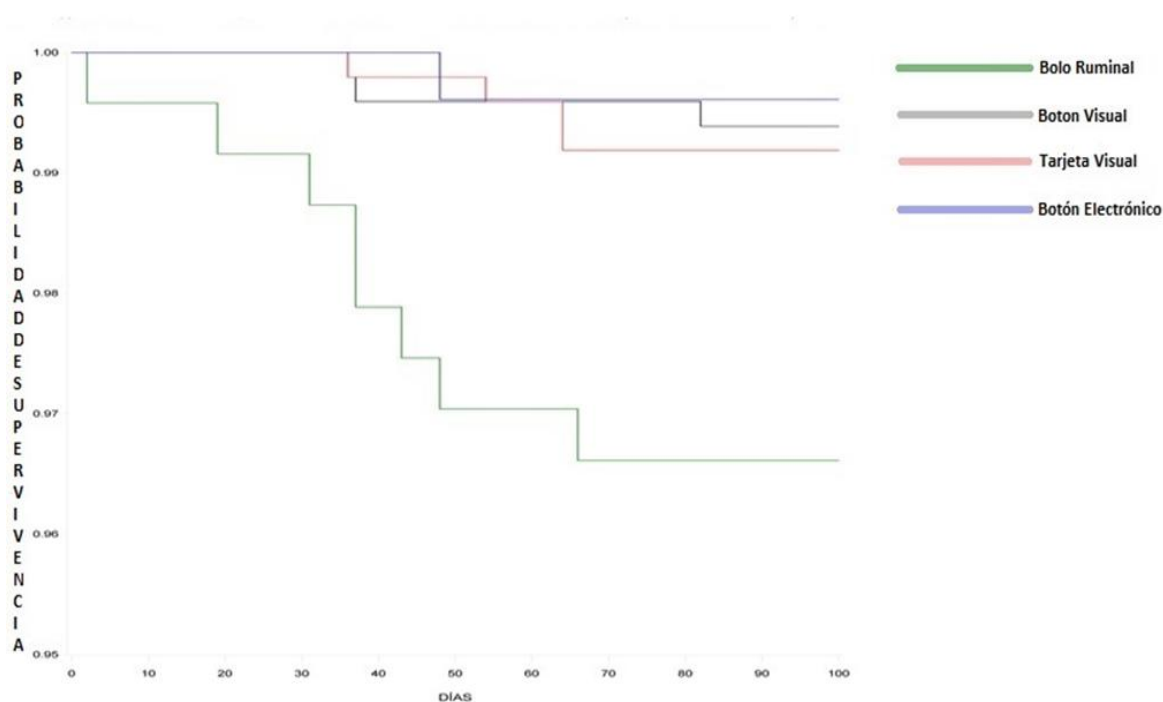


Figura 11: Curvas de la función de supervivencia para la pérdida de dispositivos botón visual, botón electrónico, bolo ruminal y tarjeta visual hasta los 100 días post colocación (Método Kaplan-Meier).

Tabla 7: Función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 100 días.

Dispositivos		Días hasta la pérdida del dispositivo			
		25días	50 días	75 días	100 días
Bolo Ruminal (n=239)	Pérdidas *	2	7	8	8
	F.Supervivencia	0.991	0.970	0.966	0.966
Botón Visual (n=496)	Pérdidas *	0	2	2	3
	F.Supervivencia	1	0.995	0.995	0.993
Botón electrónico (n=257)	Pérdidas *	0	1	1	1
	F.Supervivencia	1	0.996	0.996	0.996
Tarjeta Visual (n=496)	Pérdidas *	0	1	4	4
	F.Supervivencia	1	0.998	0.991	0.991

*las pérdidas son acumulativas a los días de corte desde el día 0 en estudio.

El modelo de riesgos proporcionales de Cox muestra que respecto del bolo ruminal, el riesgo diario de la pérdida hasta los 100 días para la caravana tipo botón visual, la caravana tipo tarjeta y la caravana tipo botón electrónico fue un 82,3%, 75,6%, 88,7% menor respectivamente (Tabla 8). La correlación de los residuales de Schoenfeld con el tiempo resultó estadísticamente no significativa ($P > 0,1$).

Tabla 8: Riesgo diario de pérdida e Intervalos de confianza hasta los 100 días para los dispositivos evaluados.

Dispositivos	Riesgo Diario perdida	Intervalo de Confianza 95%		Valor de P
Bolo Ruminal	Ref			
Botón Visual	0,177	0,047	0,666	0,0104
Tarjeta Visual	0,235	0,071	0,782	0,0182
Botón electrónico	0,113	0,014	0,903	0,0397

En el análisis de supervivencia a los 350 días los test Log-Rank y Wilcoxon presentan un valor de $P > 0,05$, de modo que no existen diferencias significativas en la función de supervivencia de los cuatro dispositivos (figura 12 y tabla 9).

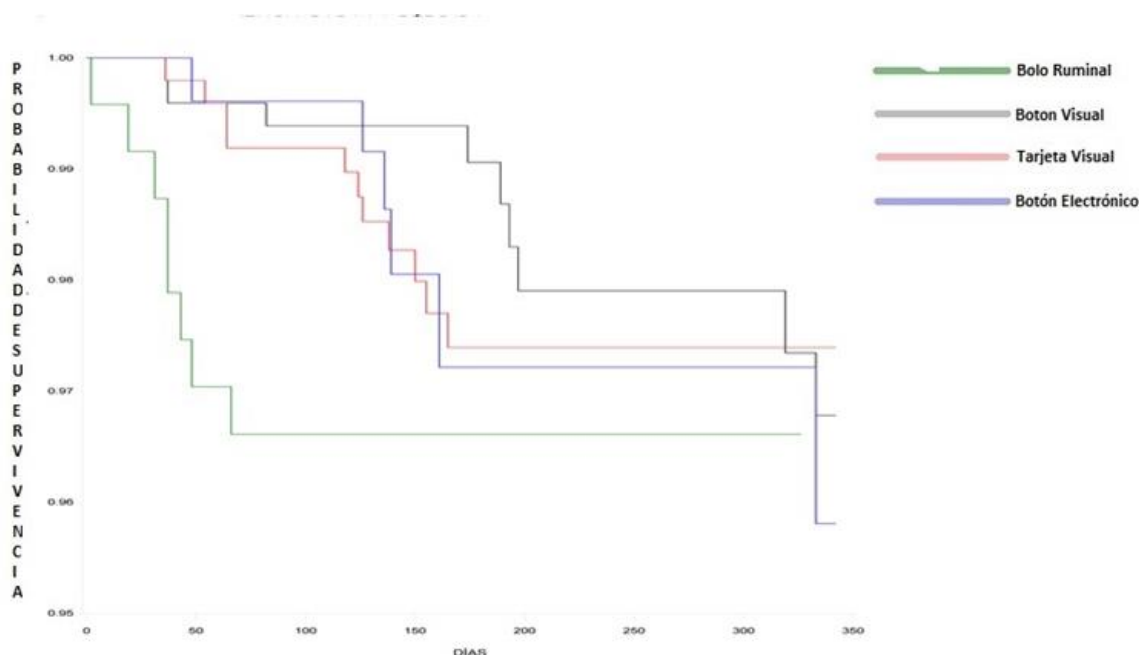


Figura 12: Curvas de la función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 350 días post colocación (Método Kaplan-Meier).

Tabla 9: Función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 350d

Dispositivos		Días hasta la pérdida del dispositivo		
		100 días	200 días	350 días
Bolo Ruminal (n=239)	Pérdidas *	8	8	8
	F.Supervivencia	0,966	0,966	0,966
Botón Visual (n=496)	Pérdidas *	3	7	7
	F.Supervivencia	0,993	0,979	0,979
Botón electrónico (n=257)	Pérdidas *	1	5	5
	F.Supervivencia	0,996	0,972	0,972
Tarjeta Visual (n=496)	Pérdidas *	4	11	11
	F.Supervivencia	0,991	0,973	0,973

*las pérdidas son acumulativas a los días de corte desde el día 0 en estudio.

El modelo de riesgos proporcionales de Cox muestra que, respecto del bolo ruminal, el riesgo diario de la pérdida hasta los 350 días para el resto de los identificadores no mostró diferencias ($P > 0.05$) (tabla 10). La correlación de los residuales de Schoenfeld con el tiempo resultó estadísticamente significativa ($P = 0,02$), esto indica que la proporcionalidad del riesgo de pérdida entre dispositivos varía a lo largo de tiempo.

Tabla 10: Riesgo diario de pérdida e Intervalos de confianza hasta los 350 días para los dispositivos evaluados.

Dispositivos	Riesgo Diario Pérdida	Intervalo de Confianza 95%	Valor de P
Bolo Ruminal	Ref		
Botón Visual	0,595	0,229 1,545	0,2865
Tarjeta Visual	0,73	0,293 1,817	0,4986
Botón electrónico	0,869	0,3 2,52	0,7966

En el análisis de supervivencia a los 730 días tampoco se observaron diferencias significativas en las pérdidas y la función de supervivencia de los cuatro dispositivos ($P > 0,05$) (figura 13 y tabla 11).

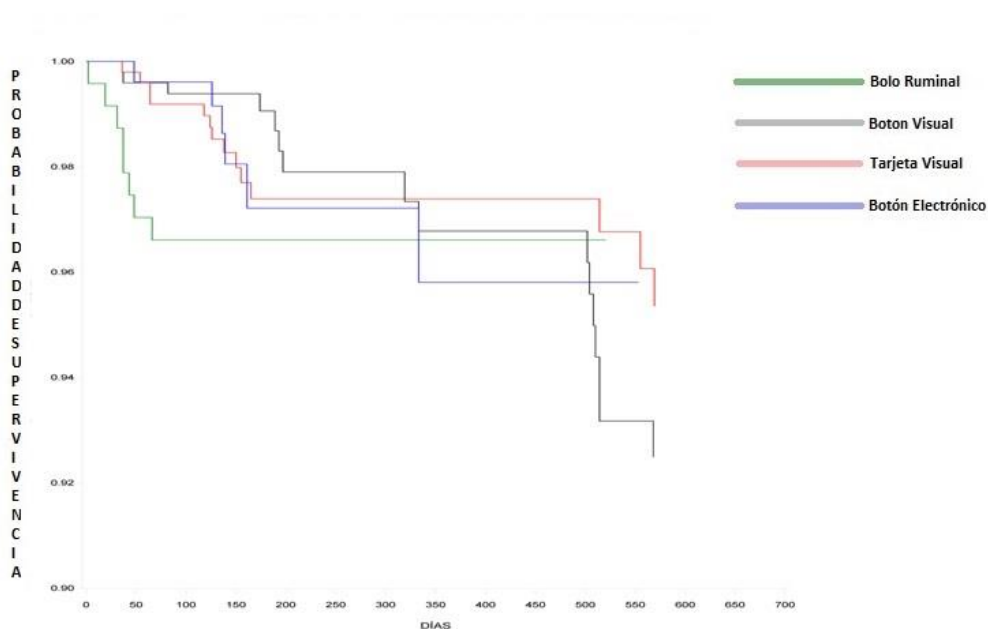


Figura 13: Curvas de la función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 730 días post implementación (Método Kaplan-Meier).

Tabla 11: Función de supervivencia para la pérdida de dispositivos hasta los 730 días

Dispositivos		Días hasta la pérdida del dispositivo				
		300d	400 d	500 d	600 d	730 d
Bolo Ruminal (n=239)	Pérdidas *	8	8	8	8	9
	F.Supervivencia	0,966	0,966	0,966	0,966	0,953
Botón Visual (n=496)	Pérdidas *	7	9	9	15	25
	F.Supervivencia	0,979	0,967	0,967	0,931	0,862
Botón electrónico (n=257)	Pérdidas *	5	6	6	6	9
	F.Supervivencia	0,972	0,958	0,958	0,958	0,911
Tarjeta Visual (n=496)	Pérdidas *	11	11	12	14	18
	F.Supervivencia	0,973	0,973	0,967	0,953	0,925

*las pérdidas son acumulativas a los días de corte desde el día 0 en estudio.

El modelo de los riesgos proporcionales de Cox ajustado hasta los 730 días estimó que el riesgo diario de pérdida de dispositivo, respecto del bolo ruminal, fue 48%, 91% y 79,3% menor para los dispositivos botón visual, tarjetas visuales y el botón electrónico, respectivamente, sin ser este nivel de asociación estadísticamente significativo (tabla 12). La correlación de los residuales de Schoenfeld con el tiempo resultó estadísticamente significativa ($P = 0,006$).

Tabla 12: Riesgo diario de pérdida e Intervalos de confianza hasta los 730 días para los dispositivos evaluados.

Dispositivos	Riesgo Diario perdida	Intervalo de Confianza 95%		Valor de P
Bolo Ruminal	ref			
Botón Visual	1,52	0,709	3,258	0,281
Tarjeta Visual	1,09	0,409	2,427	0,833
Botón electrónico	1,207	0,478	3,047	0,69

Discusión:

Las pérdidas de caravanas visuales relevadas en este trabajo son sensiblemente más bajas que las reportadas por Garin y colaboradores (2003) quien registró 17,7% de pérdidas de identificadores auriculares visuales en sistemas pastoriles en Uruguay, y que Conill y colaboradores (2000) que registró un 11,4% de pérdidas en sistemas estabulados. Al comparar las pérdidas observadas de los dispositivos electrónicos, éstas son mayores que las registradas en el Proyecto IDEA desarrollado en la Comunidad Europea bajo estabulación el cual registró un porcentaje 2,32 % de Botones electrónicos perdidos y de 0,28% de bolos ruminales perdidos.

El uso de 2 dispositivos identificadores en el mismo pabellón auricular de animales recién nacidos no afectó las pérdidas de alguno de estos, resultados que difieren con los reportados por Roberts y colaboradores (2012) quien en condiciones de confinamiento en Estados Unidos encontró que la colocación de doble dispositivo auricular aumenta las pérdidas de al menos uno de ellos. En este trabajo, donde se identificaron novillos grandes, una de las caravanas tipo botón tenía una posición en la parte superior de la oreja y se sugiere que las pérdidas podrían deberse, al menos en parte, a el agotamiento del material.

Los resultados obtenidos en el análisis de supervivencia hasta los 100 días de identificados los animales muestran un mayor riesgo de pérdidas de los bolos ruminales coincidiendo con lo reportado por Ghirardi (2007), el autor sostiene que las diferencias pueden ser debidas a cambios bruscos en la dieta. En este estudio la mayoría de las pérdidas de bolos ruminales se ubicaron entre los 25 y 50 días de edad de los animales, hecho que podría estar más relacionado al desarrollo relativo de los preestomagos cuando comienzan a producirse ingestas de pequeñas cantidades de alimento solido (Relling and Mattioli, 2002)

que al cambio de dieta producido por un mayor consumo de pasto que de leche por parte del ternero, lo que ocurre alrededor de los 80 días de vida (Carillo, 1997).

Otro estudio conducido por Carné (2005) reporta ausencia de pérdidas de bolos luego del destete lo cual es coincidente con los resultados obtenidos en el análisis de la función de supervivencia a 350 días y en el cual no se observan diferencias entre los distintos tipos de identificadores.

Sin embargo, a 350 días el resultado de la correlación de los residuos de Schoenfeld demuestra un cambio en la proporcionalidad del riesgo de pérdida a lo largo del tiempo entre los distintos dispositivos. Idéntica situación se presenta cuando se realizó el análisis a 730 días. Lo observado en este análisis y la baja proporción de pérdidas encontradas en este trabajo para todos los dispositivos permite suponer una dificultad en la estimación de las diferencias en el riesgo de pérdida entre dispositivos.

Puede especularse que los dispositivos externos que registran un bajo número de pérdidas en la vida temprana del animal, podrían tener mayores pérdidas a medida que el tiempo transcurre, lo cual estaría relacionado al envejecimiento y deterioro de los materiales plásticos con los que son fabricados como ha sido probado en otros trabajos (Carné et al., 2009; Roberts et al., 2012).

La concentración de las pérdidas de los bolos ruminales en la etapa temprana de vida permitiría en un control al momento del destete y re identificar aquellos animales que perdieron su identificación. Por otra parte, la aplicación de los bolos ruminales en animales recién nacidos puede resultar engorrosa en algunos establecimientos de cría en las condiciones de los sistemas extensivos de Argentina y necesita de una mínima capacitación del personal. Los dispositivos auriculares en cambio resultan similares en su función de

identificación en el periodo evaluado y podrían resultar más prácticos desde el punto de vista operativo.

Conclusiones:

En bovinos identificados al nacimiento, los resultados obtenidos en este trabajo evidencian similares niveles de pérdidas para los distintos tipos de dispositivos evaluados durante un período de dos años. El bolo ruminal mostró una frecuencia de pérdida mayor al resto de los dispositivos durante los primeros 100 días.

EFFECTO DE LA POSICIÓN DE LA ANTENA SOBRE LA EFICIENCIA DE LECTURA DE DISTINTOS TIPOS DE DISPOSITIVOS DE IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA EN BOVINOS EN ARGENTINA.

Introducción:

Los sistemas de RFID se ven condicionados su funcionamiento por el ambiente donde se emplean, principalmente los elementos metálicos alteran las ondas electromagnéticas que emiten los lectores para interrogar a los identificadores colocados en el ganado generando interferencias que dificultan la correcta comunicación (Ryan, 2008).

En Argentina se emplean mangas de madera para realizar todas las maniobras con bovinos, desde vacunaciones hasta recuento de hacienda, este tipo de instalaciones permite tanto sujetar el bovino con un cepo, detener su marcha en un punto determinado de su trayectoria en la manga con un sistema de puertas internas, como así también conducirlo libremente en el caso que la tarea no necesite la sujeción.

Hay una cantidad limitada de publicaciones de investigación que evalúan la performance de identificadores y de lectores en ambientes controlados (Ryan, 2008).

La distancia entre la antena del lector y el identificador a la cual se produce una lectura positiva se denomina distancia de lectura, es afectada por distintos factores como el tamaño de la antena, su orientación, el tamaño del identificador (Nehring et al., 1994; Klinwordth et al., 1999), las bajas temperaturas disminuyen la distancia de lectura de los transponders (Ribó et al., 2001). Los lectores fijos deben garantizar una distancia mínima de lectura de 80 cm y para el caso de los lectores portátiles 25 cm (Proyecto Idea, 2001).

La eficiencia de lectura es el indicador empleado para evaluar el funcionamiento de los lectores fijos. Se define como el número de transpondedores leídos sobre el número de transpondedores legibles *100 utilizando un lector fijo (Caja et al., 1999) (Figura 14).



Figura 14: Imagen de la conexión de la antena fija amurada dentro de la manga a una computadora.

Varios factores pueden afectar la eficiencia de lectura de lectores fijos, por ejemplo: la tecnología y frecuencia de emisión utilizadas, adecuación de la tecnología del transceptor al transpondedor, tipo y características de la antena del transpondedor (siendo mayor la distancia de lectura cuanto mayor es la antena del transpondedor, las características de la antena del transceptor e intensidad del campo electromagnético emitido, localización corporal del dispositivo y la velocidad con la cual el animal pasan los animales por el lector (Nehring et al., 1994; Ghirardi, 2006).

Existe una colocación corporal muy diferente, en distancia y orientación respecto a un elemento fijo de lectura, entre un dispositivo identificador implantado en el pabellón auricular y otro colocado en el rumen. En un mismo establecimiento pueden coexistir animales identificados con alguno de ambas formatos de identificadores. La correcta ubicación de la antena del lector fijo es importante para maximizar la eficiencia de lectura con animales en

movimiento a través de la manga, constituyendo un punto crítico para optimizar los resultados. No existen en las condiciones de trabajo de Argentina prácticamente información al respecto.

La hipótesis del trabajo fue que puede determinarse la ubicación óptima de la antena de un lector fijo de RFID para maximizar la eficiencia de lectura de distintos identificadores electrónicos, ya sean bolos ruminales o caravanas auriculares tipo botón colocados en las vacas de un rodeo de cría.

El objetivo del trabajo fue determinar el mejor posicionamiento de la antena de un lector fijo RFID para obtener la mayor eficiencia de lectura para dos identificadores electrónicos el bolo ruminal y la caravana auricular tipo botón en vacas Angus adultas.

Materiales y métodos:

El trabajo se utilizaron 116 vacas de la raza Angus, de frame 3 correspondiente a una altura promedio 123 cm medida al anca, con un peso adulto de 420 ± 20 kg de peso vivo. Los animales estaban identificados con dispositivos electrónicos diferentes, grupo A (n: 20): vacas identificadas con bolo ruminal electrónico (BR) de 52 g, 17 x 67 mm, sistema FDX (PRIONICS®, Italia) y grupo B (n: 96) vacas identificadas con caravanas auriculares electrónicas tipo botón (BA) 33 mm, 5,5 g, sistema FDX (DEMAPLAST®, Italia) colocada en pabellón auricular derecho. Para la lectura de las identificaciones se empleó lector fijo una antena de 87 cm x 65 cm x 2,5 cm (EditID Reader®, EditIDCrush Antena®, Nueva Zelanda) amurada del lado derecho en el interior de una manga de madera diseñada para el trabajo con bovinos. El lector se usó conectado mediante un cable SR-232 a una computadora portátil para registrar las lecturas mediante el software Hyperterminal Private Edition 6.3®.

Se emplearon 3 posiciones de la antena del lector fijo definidas por la orientación y la altura del borde superior: P1= vertical a 132 cm del suelo, P2= vertical a 148cm del suelo,

P3= horizontal, a 130cm del suelo, en todas ellas el borde anterior de la antena se ubicó a 1.26 cm detrás del cepo (Figuras 15, 16 y 17).



Figura 15: Imagen de la Posición 1 del lector fijo en la manga.



Figura 16: Imagen de la Posición 2 del lector fijo en la manga.



Figura 17: Imagen de la Posición 3 del lector fijo en la manga.

Se realizaron 196 lecturas dinámicas para cada posición (bolo, $n= 100$ y botón, $n= 96$) haciendo pasar a los animales continuamente, con el cepo y todas las puertas abiertas, posibilitando el movimiento al paso con una velocidad de desplazamiento de los animales de

1,27 metros/segundo en promedio, siendo que la velocidad de circulación de los animales debe ser menor a 3 metros/segundo (Proyecto IDEA, 2001; Wallace et al., 2008).

Para el análisis estadístico de los datos se realizó una regresión logística utilizando el procedimiento LOGISTIC del software SAS (v. 9,4 SAS Int. Inc., Cary, NC®) considerando los efectos posición, dispositivo, repetición y la lectura como respuesta. Se evaluaron las lecturas contra las no lecturas, anidando el número identificador del dispositivo dentro de tipo de dispositivo. Se descartaron las interacciones entre los efectos dado que resultaron estadísticamente no significativas ($P > 0,05$). Las diferencias entre dispositivos y entre posiciones de la antena fueron estimadas mediante contrastes ortogonales comparando para cada posición ambos tipos de dispositivos y para cada dispositivo las tres posiciones.

Resultados:

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 13. Con la antena en P1 se observó una eficiencia de lectura de 100% para BR, 98,98% para BA y 99,48% para la totalidad de los identificadores sometidos a lectura. En P2 se observó una eficiencia de lectura de 70% para BR, 100% para BA y 84,69% para ambos dispositivos. En P3 la eficiencia de lectura resultó 19% para BR, 94,79% para BA y 56,12% para ambos dispositivos. La lectura de los bolos ruminales resultó significativamente diferente según la posición de la antena ($P < 0,05$), mientras que las lecturas de las caravanas botón auricular no resultaron diferentes ($P > 0,05$).

Tabla 13: Eficiencia de lectura de tres posiciones (P1 – P2 – P3) del lector fijo para dos tipos de identificadores electrónicos, bolo ruminal (BR) y botón auricular (BA) aplicados en vacas adultas.

	BR (n: 100)	BA (n: 96)	BR + BA (n: 196)
P1	100,00 % ^{a1}	98,96 % ^{a1}	99,48 % ^a
P2	70,00 % ^{b1}	100,00 % ^{a2}	84,69 % ^b
P3	19,00 % ^{c1}	94,79 % ^{a2}	56,12 % ^b

Letras ^{a-b-c} diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$)
 Números ¹⁻² diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,01$)

Discusión:

Para las condiciones de este trabajo la posición 1 en la que se ubicó la antena del lector fijo fue la única que resultó con una eficiencia de lectura aceptable para un sistema de identificación electrónica el cual debería ser superior al 95% según lo establecido por el National Animal Identification System (Wallace et al., 2008). En general la mayoría de los trabajos, sin especificar precisamente la ubicación, reportan altas eficiencias de lecturas con lectores fijos cuando trabajan con animales con un solo tipo de identificador, 100% de eficiencia con bolos ruminales en terneras en engorde a corral en Argentina (Baldo et al., 2001), 100% y 99,1% en vacas lecheras y vacas de carne respectivamente identificadas con bolos (Caja et al., 1999). Para el caso de caravanas auriculares electrónicas la bibliografía cita eficiencias de lectura que varían entre 98,8% y el 100% en vacas (Roberts et al., 2012) y 98,9% en vaquillonas (Wallace et al., 2008). No existen referencias bibliográficas respecto a eficiencia de lectura utilizando un lector fijo para interrogar bolos ruminales y caravanas auriculares electrónicas utilizadas en forma simultánea.

Si bien puede especularse que la mayor amplitud de movimientos que pueden hacer los animales con la cabeza es una dificultad para obtener altos niveles de lecturas los identificadores tipo BA resultaron igualmente leídos en todas las posiciones aquí estudiadas, lo que no resultó de la misma manera para los BR, aun cuando se afirma que una de las ventajas del bolo es que permite, al tener una antena de tamaño mayor respecto a las caravanas auriculares, tener mejor eficiencia de lectura. La orientación y la ubicación en el interior del animal podrían ser dos factores de mayor potencia para interferir en la capacidad de lectura.

La posibilidad definir una posición que sirva para tener elevadas eficiencias de lectura para ambos dispositivos de identificación electrónica toma relevancia debido a que la

posibilidad de tener en un mismo establecimiento animales identificados con bolos ruminales y caravanas auriculares electrónicas es una realidad.

Con el lector posicionado en el lugar en cual se registró mayor eficiencia de lectura se puede interconectar con una balanza electrónica y un colector de datos digital (Figura 18) para lograr obtener pesadas y registrar las mismas, en los animales identificados electrónicamente de manera automática. Para este fin, el colector fue programado en modo automático de pesaje, así los resultados que se obtuvieron fueron almacenados sin necesidad de operar el equipo automatizando la operación (Baldo et al., 2009).



Figura 18: Animal leído y pesado automáticamente.

Conclusiones:

Al posicionar la antena fija es posible obtener altas eficiencias de lectura a una velocidad de pasaje lo suficientemente veloz como para realizar trabajos de manga de manera satisfactoria, sin que esto signifique un trabajo extra por parte del personal que ejecuta las tareas.

Para las condiciones del presente trabajo la mayor eficiencia de lectura para ambos tipos de identificadores se obtuvo con la antena colocada en posición vertical con su borde superior a no más de 1,32 metros del suelo y el desempeño fue compatible con estándares de trabajo aceptables.

DESARROLLO Y RESULTADOS DEL USO DE UN LECTOR PORTÁTIL RFID INTELIGENTE EN CONDICIONES DE CAMPO EN ARGENTINA.

Introducción:

Los errores en el tráfico de los datos como así también en el registro de los mismos han sido cuantificados, rondando el 6% en bovinos y del 5% en ovinos (Austin, 1995; Ghirardi et al., 2006; ADAS, 2005). En gran parte de los establecimientos dedicados a la ganadería en Argentina existe un gran déficit en el registro de datos o se registra de una manera poco eficiente, generándose errores en la toma o transcripción de los mismos desde el papel a la computadora. Esto, además de comprometer la garantía de la trazabilidad muchas veces genera el inconveniente de tener que volver a pasar los animales por la manga, por ejemplo, para corroborar una determinada información requerida, creando trabajo extra y pérdida de tiempo, resultando obviamente en pérdida de dinero (Saa et al., 2005).

Generalmente en los sistemas de producción comerciales de la Argentina, los terneros y terneras recién nacidos son solamente señalados con un corte en su oreja al nacimiento sin llevar ningún otro registro como la identificación individual con un número propio para cada animal (SENASA, 2006). Esta situación es distinta en cabañas, que son los establecimientos dedicados a la producción y comercialización de bovinos reproductores, en donde es necesario llevar mayor cantidad registros, como son la fecha de nacimiento, madre del recién nacido, peso al nacimiento, número identificador del ternero nacido, que deben ser recolectados en el momento en que se produce el nacimiento del ternero. En estos casos el responsable de generar esta información es el personal de campo que debe anotar los eventos que acontecen en el establecimiento en un papel y luego traspararlo a una base de datos (muchas veces un parte diario).

La hipótesis del trabajo fue que es posible registrar y almacenar en un lector portátil de RFID los eventos relevantes que les ocurren a los animales en un sistema de producción ganadera en cualquier parte del campo reemplazando la registración manual.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y evaluar el funcionamiento de un lector portátil para la colecta y almacenamiento de datos a campo reemplazando la registración manual de los eventos relevantes del sistema ganadero.

Materiales y métodos:

Se trabajó con el lector portátil ID&T modelo HHR3000Pro de origen Noruego que opera bajo la tecnología de radiofrecuencia y funciona bajo norma ISO 11785 (Figura 19).



Figura 19: foto del lector portátil inteligente HHR3000Pro

Un lector liviano, resistente, totalmente transportable y cómodo para llevar incluso a caballo, con capacidad de leer el microchip del animal y asignar a esa identificación una serie de datos que definen un evento que posteriormente se convertirá en información necesaria para el correcto manejo del sistema de producción. Simple de usar en la carga y consulta de

datos, con un comando similar a un teléfono móvil, para que al personal de campo le resulte un instrumento de utilización relativamente fácil.

Se realizó el análisis físico del sistema de producción y determinar las necesidades de información para la gestión técnica, individualizando los principales eventos a registrar que suceden en el mismo y son importantes registrar por parte del personal del establecimiento. Con los datos definidos se desarrolló la programación del lector portátil que debido a la característica de aceptar programación, se trata de un dispositivo para trabajar con baja complejidad en la carga de datos. Se desarrolló un sistema simple con opciones cargadas por defecto sin necesidad de escribir por parte del responsable de coleccionar el dato. La secuencia consiste en leer el microchip del identificador electrónico del animal y seguidamente comenzar una de las opciones del menú.

La programación consta de una serie de pantallas o ventanas que aparecen en el monitor del lector (Figura 20).

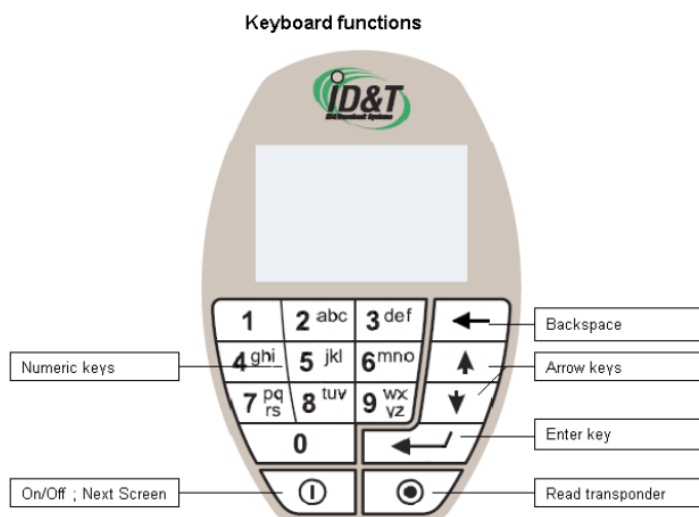


Figura 20: Esquema del monitor y botonera del lector portátil HHR3000Pro.

Se desarrolló la programación que permite utilizar el lector portátil ID&T modelo HHR3000Pro en condiciones extensivas de cría bovina en Argentina en la registración y

almacenamiento de datos relativos a partos, abortos, tratamientos, altas, bajas y tactos, los eventos relevantes de un sistema de producción ganadera. Contrayéndose un menú principal (Tabla 14) y un submenú de operación para cada ítem del menú principal (figuras 21, 22 y 23).

Tabla 14. Descripción del menú principal programado en el lector portátil

Menú Principal	Descripción
1-CONTROL CHIP	Consulta de identidad (IDE e IDV) de un animal.
2-TRATAMIENTOS:	Registro de fecha, signos clínicos que presenta el animal y tratamiento efectuado.
3-PARTOS	Registro de fecha, tipo de parto, condición corporal vaca e IDV del ternero.
4-ALTAS	Registro el ingreso de un animal al establecimiento y su causa.
5-ABORTOS	Registro de fecha y condición corporal.
6-BAJAS	Registro de Fecha y causa de la baja.
7-TACTOS	Registro de fecha y diagnostico reproductivo.
8-BASE DATOS	Posibilidad de consultar toda la información ingresando la IDV

Descripción y utilidad de los datos de cada pantalla:

- 1- Control CHIP: en esta pantalla se pueden ver la Identificación Electrónica del animal como así también la Identificación Visual del mismo. Al usar el lector con esta opción se determinará la identidad del animal.
- 2- Tratamientos: permite cargar un animal con algún problema sanitario en el lector, existiendo una lista predeterminada de enfermedades o signos clínicos más frecuentes en los bovinos de cría como así también una serie de tratamientos para tales problemas sanitarios. Tanto las enfermedades como los tratamientos pre establecidos pueden ser cambiados re programando el bastón, pero no existe la posibilidad por parte del operador de escribir una nueva enfermedad o tratamiento, pudiendo solo clickear en las opciones predeterminadas. De esta manera no hay errores en la carga de datos. La fecha del realizado el tratamiento aparece por default en el bastón.

- 3- Partos: cuando una vaca ha parido, se puede escribir en la memoria del lector este evento. Además, se debe registrar el número del ternero que ha nacido tanto su identificación visual obligatoria por SENASA y la carga de su identificación electrónica. En este punto también se debe registrar como ha resultado el parto en relación a si fue o no necesaria ayuda externa y además la condición corporal de la vaca en ese momento.
- 4- Altas: permite incluir todas las incorporaciones de animales al establecimiento, habiendo un listado predeterminado de causales de altas: compra, traslado y nacimiento. Se puede incluir el número de caravana visual y de la identificación electrónica del animal, y todos los datos relevantes al mismo como sexo, categoría en el momento de incorporación al establecimiento, tipo racial (británico, continental, lechero, cruza, etcétera), raza, y pelaje. En todas las opciones hay un listado preestablecido de opciones que engloban la mayoría de las posibilidades existentes, de esta forma no es necesario escribir sino que basta solamente con elegir una opción, de esta manera se disminuyen los errores en la carga de datos además de resultar más rápido y sencillo para el operador.
- 5- Abortos: toma el número del animal que sufrió el evento, la fecha del mismo y la condición corporal de la vaca.
- 6- Bajas: con función opuesta al evento "ALTAS" carga por default la fecha de la baja y despliega una serie de opciones por la cual se da de baja al animal: muerte, venta, traslado y robo.
- 7- Tacto: es esta opción se carga el estado reproductivo de la vaca, pudiendo estar preñada o vacía, como así la condición corporal en el momento de realizado el evento.

Además de la carga de datos, permite obtener los resultados de la operación de manera automática para generar un informe inmediato con los porcentajes de preñez del rodeo.

- 8- Base de Datos: aquí se pueden consultar los datos de los animales ingresados en la memoria del lector que fueron cargados previamente.

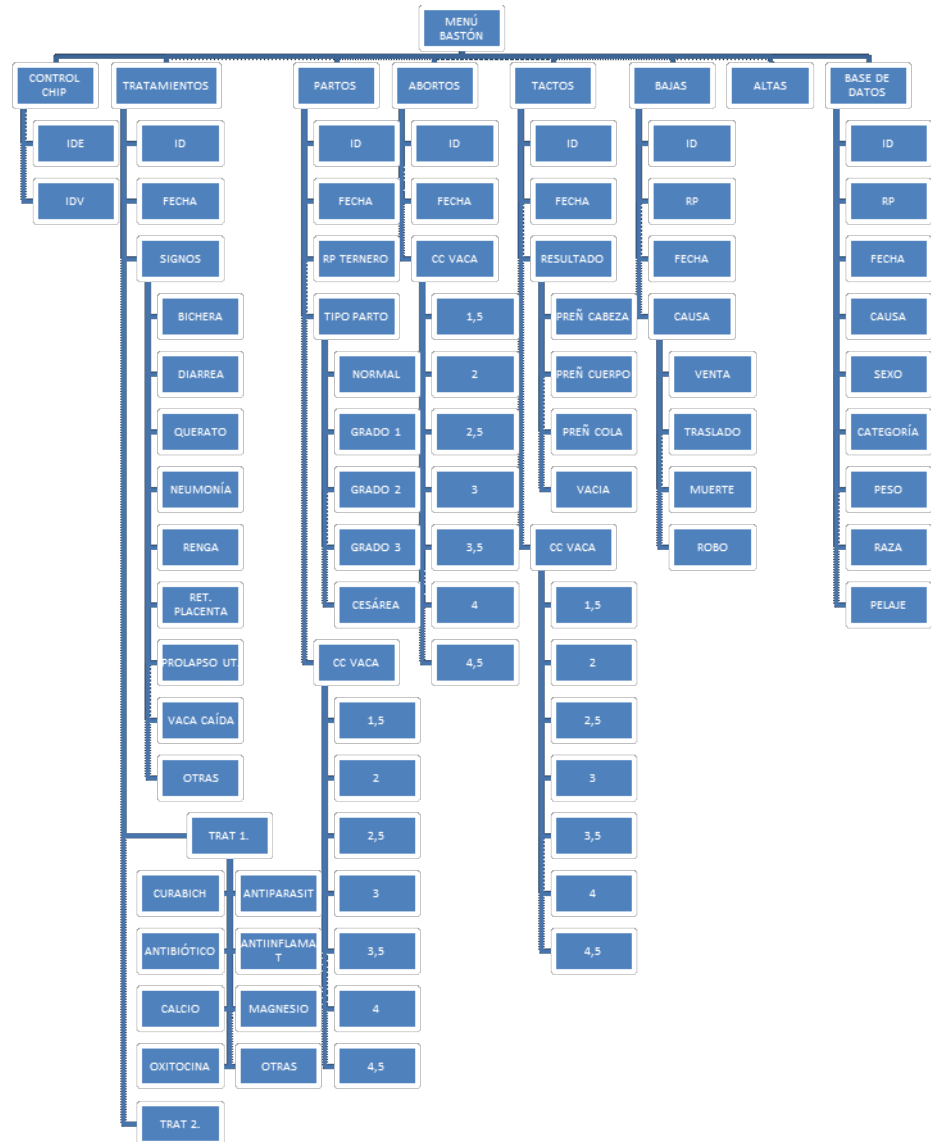


Figura 21: Mapa conceptual del diseño del software para el lector portátil inteligente HHR3000Pro.



Figura 22: Mapa conceptual del diseño del software para el lector portátil inteligente HHR3000Pro. Continuación carga de ALTAS.

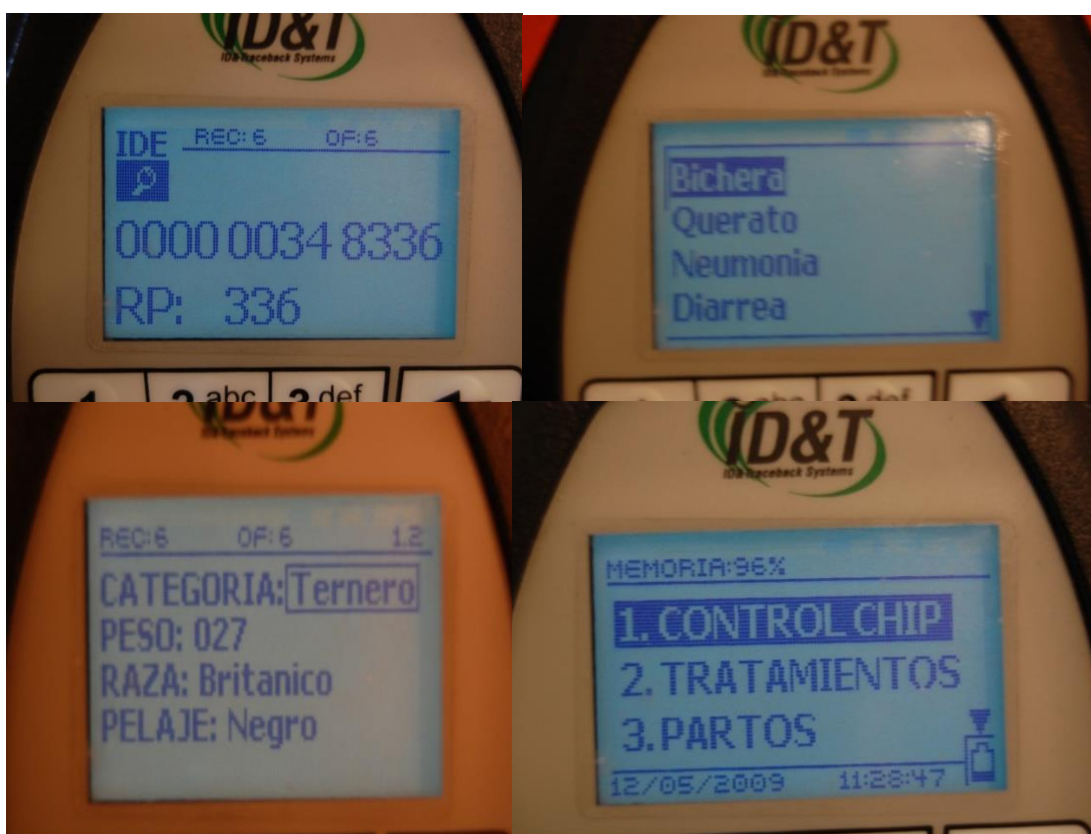


Figura 23: Pantallas del lector portátil HHR3000 Pro. Para algunos de los eventos a registrar.

Los datos generados de los eventos que se registran y se almacenan en la memoria del lector pueden ser descargados a una computadora mediante el empleo de un cable SR-232 o por Bluetooth y volcada en una planilla para gestionar los datos o una aplicación específica como la descrita en el Anexo presentado en esta tesis.

Durante un período de tres años el instrumento fue utilizado en las tareas diarias de registración de eventos por el personal de campo del Establecimiento El Amanecer de la Universidad Nacional de La Plata que previamente recibió la capacitación correspondiente en el uso del lector con el software desarrollado.

Todos los eventos fueron registrados mediante el uso del lector identificando al animal como primer dato, por la lectura de su identificador electrónico o en forma manual por la lectura visual de la caravana cuando ello no fue posible.

Se comparó el tipo de lectura para registrar aquellos eventos en los cuales el animal siempre se encontró inmovilizado o contenido en la manga (registros estáticos: altas, bajas y tactos) con los eventos en los cuales el animal pudo estar libre en el campo (registros dinámicos: partos, abortos, tratamientos y consultas).

Los cuatro registros dinámicos fueron comparados a partir del tipo de lectura, electrónica o visual, que dio origen al dato de identificación animal, mediante un análisis de regresión logística comparando las lecturas electrónicas y las lecturas visuales mediante contrastes ortogonales utilizando el procedimiento LOGISTIC del software SAS (v. 9.4 SAS Ins. Inc. Cary, NC).

Con la misma metodología se comparó el número de consultas realizadas por el usuario del lector manual inteligente en cada año para evaluar la adopción o no del sistema de registro y almacenamiento de datos, asumiendo que las consultas son acciones de uso voluntario del operador y por lo tanto reflejan la confianza en el funcionamiento del instrumento.

Resultados:

Evaluación del funcionamiento del lector.

El dato de identificación de los animales que dieron origen a eventos de registro estático fue originado a partir de lectura del identificador electrónico en el 100% (n=1643) de los casos, mientras que los eventos de registro dinámico fueron originados a partir de 80,8% de lecturas electrónicas (n= 804) y 19,2% de lecturas visuales (n=191).

Los eventos de registro dinámico fueron obtenidos identificando a los animales de forma electrónica en el 69,4% para los partos, 97,37% en los abortos, 98,9% en los tratamientos y 96,44% en las consultas. Siendo estas diferencias estadísticamente

significativas ($P < 0,0001$) entre el evento parto y el resto de los eventos de registro dinámico (Tabla 15).

Tabla 15: Tipos de lectura de los eventos de registro dinámico ($n=995$) cargados con el empleo del lector portátil durante 3 años de uso.

	Partos	Tratamientos	Abortos	Consultas
Lectura electrónica	406	90	37	271
Lectura visual	191	1	1	10
Total lecturas	585	91	38	281
% Lecturas electrónicas	69,4% ^a	98,9% ^b	97,37% ^b	96,44% ^b

Letras diferentes ^{a-b} en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,0001$)

La cantidad de consultas de registros realizadas utilizando el lector portátil por parte del personal de campo tuvo un aumento significativo ($P = 0,01$) entre el año 1 y el año 3 en estudio (Tabla 16).

Tabla 16: Consultas llevadas a cabo y total de Registros con el lector portátil ID&T modelo HHR3000Pro al cabo de 3 años de uso en el establecimiento.

	Año 1	Año 2	Año 3
Consultas	66	95	120
Registros	735	809	915
%	8,98% ^a	11,74% ^{ab}	13,11% ^{bc}

Letras diferentes ^{a-b} en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Discusión:

Las prestaciones del lector inteligente programado difieren cualitativamente de aquellas de otros lectores disponibles en el mercado los cuales solamente permiten la lectura y el almacenamiento del número del identificador electrónico. El desarrollo de la programación

en base al software presente en el lector portátil permitió el registro de datos en forma unívoca y preestablecida en cada caso, lo que contribuyó a mejorar la calidad de los registros. Ello podría constituir un aporte cierto a los sistemas de trazabilidad más completos y perfectos que los desarrollados hasta la actualidad.

El empleo del lector portátil inteligente tuvo mayor dificultad para capturar la identificación electrónica en los eventos registro de dinámico respecto de los estáticos. Este último tipo de registro, con el animal inmovilizado permite acercarse al lector al dispositivo y efectuar repeticiones de la maniobra de lectura.

En este estudio los eventos de registro dinámico podían partir de lecturas con el animal contenido en condiciones similares a los eventos de registros estáticos o no, dependiendo de las condiciones de manejo del sistema ganadero como el lugar y momento en que ocurría el evento y ello determinó menores niveles de lectura del identificador electrónico del animal.

Las recomendaciones del Proyecto Idea (2001) y Caja (2002) proponen a los lectores portátiles para realizar lecturas solo con animales bajo sujeción, en las condiciones de esta tesis también se observaron menores niveles de lectura electrónica y puede especularse que su causa es la falta de éxito cuando los animales están libres en el campo. Los resultados de las lecturas para identificar las vacas al momento del parto apoyan esto.

El evento parto presentó importantes dificultades en la lectura de la identificación electrónica de las vacas durante el periparto cuando se identificaron los nacidos durante el primer día de vida y se intentó la lectura de la caravana auricular de la madre suelta en el campo con el ternero sujeto (inmovilizado) en el piso. En coincidencia con lo reportado en un trabajo previo, (Vaca et al., 2009) que reporta 60,9 % de lecturas positivas, se logró leer solo al 69,4% en promedio de los tres años de observaciones. Estos resultados tienen relación

directa con el temperamento del animal, los más dóciles tienen un porcentaje significativamente mayor de lecturas que los más reactivos según lo indicado por los autores del trabajo de referencia.

Según lo observado en este trabajo, las prestaciones del lector portátil inteligente permitieron ingresar datos de ID a partir del número de la caravana visual en forma manual en la base de datos presente en el lector y registrar el evento con la totalidad de sus características.

Respecto a la adopción por parte del usuario del lector portátil, se observó que su uso fue aumentando paulatinamente durante el periodo evaluado. Las causas de este cambio se deben principalmente a la disminución de los errores de registro y a la velocidad de consulta de los eventos registrados haciendo evidente también que es una herramienta amigable para su uso.

Conclusiones:

El lector portátil inteligente con la programación desarrollada permitió el registro de los principales eventos de un sistema ganadero a partir del dato de ID animal capturado en forma automática en la mayoría de las veces.

El funcionamiento respecto a la capacidad de lectura de la RFID resultó dependiente de si el animal estaba contenido o libre en el campo.

El aumento del uso voluntario del lector portátil inteligente reflejado por un mayor número de las consultas a la base de datos y el control de ID evidencian la utilidad en condiciones de producción extensiva.

Objetivo particular 2.

El segundo objetivo particular de la presente tesis fue desarrollar un sistema de identificación de ganado bovino que permita, utilizando una grabadora de microchip, grabar un código único que identifique a un bovino empleando su información genética. Se diseñó y programó un software que permite la incorporación de un perfil genético determinado en la memoria de identificadores electrónicos que utilizan tecnología de radiofrecuencia.

Introducción:

La identificación animal ha evolucionado dependiendo de las necesidades de cada momento y de las tecnologías disponibles. Actualmente, diferentes métodos se utilizan para identificar a los bovinos, los que se emplean en mayor o menor medida, y cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas. Esto debe tenerse en cuenta antes de su utilización. A los sistemas de identificación animal podemos diferenciarlos en 2 grandes grupos (Felmer et al., 2008):

- Biométricos: que utilizan características propias del animal para diferenciarlos, entre estos contamos con la retinografía, la huella nasal y el empleo del ADN.
- No biométricos: son elementos identificatorios que se aplican al animal, por ejemplo, las caravanas, tatuajes, marcas a fuego, etc.

A medida que las tecnologías avanzan se comienzan aplicar en los sistemas de identificación para mejorar o complementar los sistemas actuales de trazabilidad, tales como radiofrecuencia (RFID), ADN y elementos trazas e isotopos estables (Schwagele and Sabine, 2009; Orrú et al., 2005; Cunningham et al., 2001; Sociedad Internacional de Genética Animal –ISAG, <http://isag.us/>). La aplicación de técnicas de identificación basadas en el análisis de ADN para trazar animales o productos de origen animal representa un sistema de control que podría ser útilmente integrado a métodos tradicionales de identificación animal (Mariani et

al., 2005). Se sabe que mediante el empleo de diferencias genéticas es posible individualizar animales de manera inequívoca, teniendo como salvedad a los gemelos y a los clones, los cuales son idénticos genéticamente (Cunningham and Meghem, 2001).

Una de las ventajas para del empleo de técnicas genéticas en la trazabilidad es que se puede obtener ADN a partir de cualquier tejido o producto de origen animal, es inalterable durante toda la vida del animal, es estable aún en alimentos procesados (por ejemplo, curados, cocinados, congelado, etc.) (Wang et al., 2000). Es por estas razones que se puede afirmar que los métodos basados en el análisis de ADN son sistemas confiables de individualización animal y de muy fácil obtención del material biológico necesario para su aplicación. Es importante tener en cuenta también que, un sistema basado en identificación genética debe considerarse como un complemento de otros sistemas de identificación (Caja et al., 2002).

Por lo tanto, para garantizar la trazabilidad de un producto todos los elementos que componen la cadena de producción y distribución deben estar perfectamente coordinados. Esto no es tan fácil de llevar a cabo, existiendo escollos cada vez más importantes cuanto más elementos intervienen en dicha cadena (Feng et al., 2013).

Para desarrollar sistemas de trazabilidad genética se pueden emplear distintos tipos de marcadores moleculares, ya sean microsatélites o polimorfismos de nucleótido simple (SNPs, Single Nucleotide Polimorphisms). Ambos se basan en el análisis de fragmentos de ADN que contienen un sitio variable y pueden ser analizados utilizando técnicas tales como reacción en cadena de polimerasa (PCR), análisis de fragmentos, microarrays, PCR en tiempo real (RT-PCR) en micro fluidos y secuenciación de nueva generación (NGS), entre otras (Mariani et al., 2005). Los microsatélites son unidades cortas repetidas en tándem de entre 2 a 6 pares de bases, donde el polimorfismo se basa en la diferencia en el número de repeticiones (Giovambattista and Peral Garcia, 2010). Esto permite la presencia de múltiples variantes o

alelos en las poblaciones. Los microsatélites solo se encuentran en regiones no codificantes del ADN (Figura 24). Los SNPs son polimorfismos que consisten en el cambio de un nucleótido por otro en una posición puntual del ADN. Es por esta razón que cada SNP posee usualmente 2 nucleótidos alternativos en una posición determinada (Figura 25). Entre las ventajas de este tipo de marcadores se puede mencionar que: son abundantes en el genoma, tienen baja tasa de mutación y se encuentran tanto en regiones codificantes como no codificantes del genoma. Pero también tienen limitaciones, ya que necesitamos un elevado número de SNP para identificar un animal (Vignal et al., 2002). Al estar distribuidos a lo largo del todo el genoma, que sean marcadores bialélicos y tiendan a ser estables los hace marcadores moleculares de excelentes características para la trazabilidad. Además, puede automatizarse tanto su análisis como su lectura. El actual desarrollo tecnológico permite su análisis a bajo costos con alta sensibilidad y repetitividad.

TGCATGGTGCTGCCTTCTACCAAATACCCCCTGCTCCGGCCCCCACCTCAACCAC
ACACACACACACACACACACACACACACACACACAGGAGTGTGAGCTCATAGTC
 TTGAGTTAAAAAAGTGACAGGTGTTGCTTCTCTCAGGAAGACCTCTTGGATT

Figura 24: Secuencia de ADN que incluye un microsatélite (subrayado y en negrita).

GGGTAAGTTGAAAGTTCTCTCACTGTCATTTTTAAAAAACTACCAGAAACAGTT
 TTTCTAGATGTTTCCCCCAGTTTTTATTTTAAATGGTAGGAAACCATTAAACCATT
 TTAATGGTAGGAAACAACCTTCTTTCTGTCTCAGTCACTTTAGCACATTTTTAACA
 TGATGCCTATATTAGCCATTGACAATTTTTGATAGATTTTTATTTCTTTTTAATTAA
 GCATCATGAATGACTTGAGTTAGTTAATGGAAGACATTTTGCAATGTAAGATGTA
 GGTAATAATTAGATCCAGAGCCTGCTTATGTCCCTCAGTCCCTTGTTACACCTTCAC
 ACCTTGTCACAGTGATTAAATCTAATGATTCATGGGACTGCTGTGAAAGTTTGAC
 CCTCATATGGCTTGAAGCAGTCTTGAGGAAAAG/TGGATGGAACATCATAAAGAA
 TTTTGTAAACAACCTTTGAACGTTT

Figura 25: Secuencia de ADN que incluye un polimorfismo de nucleótido simple (SNP) G por T (subrayado y en negrita).

Para poder identificar un individuo de manera segura necesitamos un número reducido de microsatélites. Según Arana y colaboradores (2002) con 8 microsatélites se puede individualizar un bovino, ya que con el uso de más de 7 marcadores moleculares de tipo

microsatélite la probabilidad teórica de que dos animales tengan el mismo perfil genético es menor a 10^{-7} . Diferentes autores han confirmado estos resultados (Arana et al., 2001; Canon et al., 2001; Dalvit et al., 2002; Baldo et al., 2010). Actualmente, los paneles básicos para identificación genética de bovinos recomendados por la ISAG están compuestos de 12 marcadores de tipo microsatélites o 100 SNPs.

La hipótesis de este trabajo es que es viable almacenar en la memoria de un dispositivo identificador electrónico un código obtenido a partir de los propios marcadores moleculares de un individuo.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un software que permita transcribir determinados marcadores moleculares en un código de identificación único para ser grabado en la memoria de un dispositivo identificador electrónico.

Materiales y Métodos:

A. Animales

- Muestras de sangre. Se tomaron muestras sangre con anticoagulante de los animales seleccionados para el presente estudio en establecimientos de engorde.
- Muestras de carne. Posteriormente, a la faena de los animales se procedió al muestreo de tacos de carne de los animales muestreados en el punto anterior.

B. Extracción de ADN genómico.

- El ADN genómico se purificó a partir de las muestras de sangre mediante el método de DNAzol (Invitrogen, USA) siguiendo las indicaciones del proveedor.
- El ADN de las muestras de carne se extrajo mediante el método modificado descrito por Giovambattista y colaboradores (2001). La lisis del tejido se realizó en un buffer de extracción (50 mM HCL-Tris, 25 mM de EDTA, 2% N-laurylsarcosine, 20 ug de

proteínasa K, 60 mM de DTT) a 55°C durante toda la noche. Luego de la digestión, las muestras se purificó con cloroformo y a través de la técnica de salting-out (precipitación diferencial con acetato de sodio amonio). Posteriormente, se realizó la precipitación del ADN con isopropanol. Finalmente, el ADN obtenido se re suspendió en agua bidestilada.

C. Método de genotipificación.

Se tipificaron once marcadores genéticos del tipo microsatélites mediante la amplificación de secuencias específicas de ADN por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando los primers que se detallan en la tabla 17. La identificación de las variantes presentes en cada una de las muestras estudiadas se realizó mediante un secuenciador capilar MegaBace 1000 (GE Healthcare), empleando como marcador de peso molecular ET-ROX 550. La denominación de los alelos se ajustó a la nomenclatura utilizada por la ISAG (International Society of Animal Genetics, <http://isag.org.uk/>), mediante la comparación con muestras control de genotipo conocido.

Tabla 17. Resumen de los microsatélites utilizados

Marcador	Posición Cromosómica	Secuencia del primer (5'-3')	Rango del alelo	Fluorescencia
BM1824	1	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC CATTCTCCAAGTCTTCCTTG	170-218	FAM
BM2113	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC CTTCTGAGAGAAGCAACACC	116-146	FAM
INRA023	3	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC TAACTACAGGGTGTTAGATGAACTC	193-235	JOE
ETH10	5	G TTCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCCCTTTCTCTTCTC	198-234	FAM
ETH225	9	GATCACCTTGCCACTATTTCT ACATGACAGCCAGCTGCTACT	136-165	FAM
SPS115	15	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG AACGAGTGTCTAGTTTGGCTGTG	235-265	FAM
TGLA53	16	GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTC ATCTTCACATGATATTACAGCAGA	147-197	FAM
TGLA227	18	CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT ACAGACAGAACTCAATGAAAGCA	64-115	FAM
ETH3	19	GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG	90-135	NED
TGLA126	20	CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT TTGGTCTCTATTCTCTGAATATCC	104-131	JOE
TGLA122	21	CCCTCTCCAGGTAAATCAGC AATCACATGGCAAATAAGTACATAC	134-193	JOE

D. Transferencia de la identificación genética a electrónica.

- Se desarrolló el procedimiento para transformar los perfiles de ADN de cada uno de los animales analizados a un formato en caracteres ASCII y de esta manera poder transferirlos a un microchip de lectura escritura mediante el empleo de un equipo lectograbador HITAG™ Proximity Evaluation Kit modelo HT EV401.

- Con genotipificación realizada a partir de la muestra de sangre extraída del animal vivo y mediante el procedimiento descrito en el párrafo anterior se escribió el transpondedor correspondiente, el cual identificara al animal durante toda su vida productiva. Al momento de la faena se realizó nuevamente la genotipificación a partir de la muestra de carne y se realizaron los test de comparación con la información del perfil de ADN contenido en el identificador.
- Análisis Estadísticos.
- Los cálculos estadísticos incluyeron los análisis de frecuencias génicas y genotípicas en las poblaciones analizadas. El equilibrio de Hardy-Weinberg se determinó, en base al método Exacto y el test exacto de Fisher. La diversidad genética de los marcadores estudiados se estimó mediante los índices de heterocigosidad esperada y número de alelos. Los parámetros poblacionales mencionados se estimaron mediante los programas estadísticos Arlequin (versión 1.1) y Genepop (Raymond and Rousset, 1995; Schneider et al., 2000).
- Mismatch, Poder de Exclusión (Q) y Match de Probabilidad (MP) se estimaron para cada marcador y para el set completo acorde a lo citado por Weir (1996).

Material animal

Se obtuvieron muestras de cartílago auricular de bovinos de la raza Angus mediante el uso de la caravana auricular TypiFix™ (Thermo Fisher Scientific, USA). Esta caravana, simultáneamente a la identificación del animal, permite el muestreo de un trozo de cartílago, el que queda inmerso en un recipiente con un medio especialmente creado para su correcta conservación hasta su llegada al laboratorio para su análisis.

El ADN genómico se extrajo a partir de las muestras de cartílago mediante el método de extracción orgánica, las que posteriormente se genotipificaron para un panel de 11 microsatélites en el laboratorio del Parco Tecnologico Padano (Lodi, Italia) y en el laboratorio IGEVET de la Facultad Nacional de La Plata (La Plata, Argentina).

Una vez determinado los “perfiles genéticos de los animales” de manera de tenerlos individualizados se propuso poder transcribir esta información a un método identificatorio electrónico animal. De manera, ese único número que lo acompañará toda su vida productiva se corresponda con su genotipo. Para poder transcribir el genotipo de los marcadores seleccionados a un transponder electrónico de manera de poder identificar al animal se empleó el código ASCII (American Standard Code for Information Interchange). Este es un código de caracteres creado en 1963 por el Comité Estadounidense de Estándares como una evolución de los conjuntos de códigos utilizados entonces en telegrafía. Este código utiliza unidades de información digitales llamadas bits, constituyendo un sistema digital binario que utiliza combinaciones de 0 y 1 para codificar la información. El sistema ASCII trabaja con 7 bits para representar los caracteres. En la actualidad define códigos para 32 caracteres no imprimibles que cumplen funciones de programación y control de dispositivos, de los cuales la mayoría son caracteres que tienen efecto sobre cómo se procesa el texto, más otros 95 caracteres imprimibles que les siguen en la numeración (empezando por el carácter espacio). La mayoría de los sistemas informáticos actuales utilizan el código ASCII o una extensión compatible para representar textos y para el control de dispositivos que manejan texto como el teclado (Figura 26).

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	A	B	C	D	E	F
	00 0000 0000	01 0000 0001	02 0000 0010	03 0000 0011	04 0000 0100	05 0000 0101	06 0000 0110	07 0000 0111	08 0000 1000	09 0000 1001	10 0000 1010	11 0000 1011	12 0000 1100	13 0000 1101	14 0000 1110	15 0000 1111
0	NUL □	SOH ▯	STX ⊥	ETX ⊏	EOT ↘	ENQ ⊠	ACK ✓	BEL 🔔	BS ↵	HT ⤵	LF ≡	VT ↓	FF ⚡	CR ⏪	SO ⊗	SI ⊙
	16 0001 0000	17 0001 0001	18 0001 0010	19 0001 0011	20 0001 0100	21 0001 0101	22 0001 0110	23 0001 0111	24 0001 1000	25 0001 1001	26 0001 1010	27 0001 1011	28 0001 1100	29 0001 1101	30 0001 1110	31 0001 1111
1	DLE □	DC1 ⌚	DC2 ⌚	DC3 ⌚	DC4 ⌚	NAK ✗	SYN ∟	ETB ↵	CAN ⌘	EM ⚡	SUB ⏪	ESC ⏪	FS □	GS □	RS □	US □
	32 0010 0000	33 0010 0001	34 0010 0010	35 0010 0011	36 0010 0100	37 0010 0101	38 0010 0110	39 0010 0111	40 0010 1000	41 0010 1001	42 0010 1010	43 0010 1011	44 0010 1100	45 0010 1101	46 0010 1110	47 0010 1111
2	SP 0	! 1	" 2	# 3	\$ 4	% 5	& 6	' 7	(8) 9	* 10	+ 11	, 12	- 13	. 14	/ 15
	48 0011 0000	49 0011 0001	50 0011 0010	51 0011 0011	52 0011 0100	53 0011 0101	54 0011 0110	55 0011 0111	56 0011 1000	57 0011 1001	58 0011 1010	59 0011 1011	60 0011 1100	61 0011 1101	62 0011 1110	63 0011 1111
3	0 0	1 1	2 2	3 3	4 4	5 5	6 6	7 7	8 8	9 9	: 10	; 11	< 12	= 13	> 14	? 15
	64 0100 0000	65 0100 0001	66 0100 0010	67 0100 0011	68 0100 0100	69 0100 0101	70 0100 0110	71 0100 0111	72 0100 1000	73 0100 1001	74 0100 1010	75 0100 1011	76 0100 1100	77 0100 1101	78 0100 1110	79 0100 1111
4	@ 0	A 1	B 2	C 3	D 4	E 5	F 6	G 7	H 8	I 9	J 10	K 11	L 12	M 13	N 14	Ō 15
	80 0101 0000	81 0101 0001	82 0101 0010	83 0101 0011	84 0101 0100	85 0101 0101	86 0101 0110	87 0101 0111	88 0101 1000	89 0101 1001	90 0101 1010	91 0101 1011	92 0101 1100	93 0101 1101	94 0101 1110	95 0101 1111
5	P 0	Q 1	R 2	S 3	T 4	U 5	V 6	W 7	X 8	Y 9	Z 10	[11	\ 12] 13	^ 14	_ 15
	96 0110 0000	97 0110 0001	98 0110 0010	99 0110 0011	100 0110 0100	101 0110 0101	102 0110 0110	103 0110 0111	104 0110 1000	105 0110 1001	106 0110 1010	107 0110 1011	108 0110 1100	109 0110 1101	110 0110 1110	111 0110 1111
6	` 0	a 1	b 2	c 3	d 4	e 5	f 6	g 7	h 8	i 9	j 10	k 11	l 12	m 13	n 14	o 15
	112 0111 0000	113 0111 0001	114 0111 0010	115 0111 0011	116 0111 0100	117 0111 0101	118 0111 0110	119 0111 0111	120 0111 1000	121 0111 1001	122 0111 1010	123 0111 1011	124 0111 1100	125 0111 1101	126 0111 1110	127 0111 1111
7	p 0	q 1	r 2	s 3	t 4	u 5	v 6	w 7	x 8	y 9	z 10	{ 11	12	} 13	~ 14	DEL 15

Figura 26: Esquema del sistema ASCII.

Para el grabado del número identificatorio en la memoria del dispositivo se empleó una lectograbadora de microchip marca HITAG Poximity Evaluation Kit, modelo HT EV401 (Graz, Austria). Este hardware utiliza el software de escritura de Tags llamado “Init Animal TAGs” de Frosh Electronics (Graz, Austria).

Utilizando ambos se desarrolló un software que posibilita, empleando los microsátélites seleccionados, transcribir la información de los genotipos en un código binario mediante el lenguaje de escritura ASCII, de acuerdo al estándar ISO 11784. Esto permite generar un nuevo código para ser grabado en el identificador electrónico y que coincida con la caravana auricular obligatoria estipulada por SENASA (Figura 27).

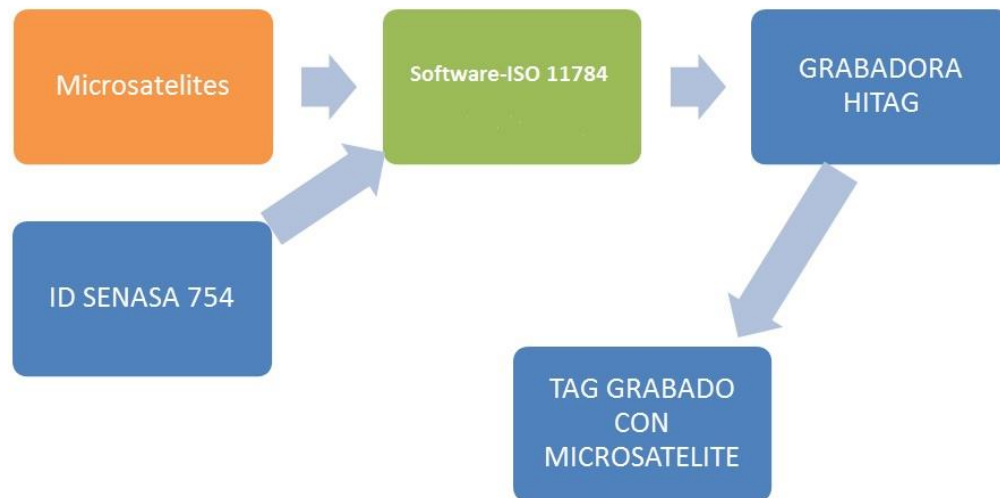


Figura 27: esquema del proyecto de grabación de un tag combinando ID oficial SENASA e identificación genética individual utilizando microsatelites.

Programación Orientada a Objetos

Construir software implica crear abstracciones para modelar un problema y su solución. Los sistemas y lenguajes de programación se desarrollaron como una herramienta de soporte básico para modelar estas abstracciones, aunque la comunidad informática acepta que los sistemas y lenguajes de programación tienen limitantes. En la mayoría de los casos los lenguajes no permiten expresar claramente las abstracciones que realiza un programador para construir software. Para superar estas limitaciones se han construido metodologías y técnicas, siendo algunas de ellas la programación estructurada y la programación orientada a objetos (POO). En décadas pasadas limitada a cursos avanzados de programación, hoy la POO forma parte del aprendizaje básico de cualquier programador, luego de haberse estudiado las dificultades del cambio paradigmático de aprender programación estructurada y posteriormente programación orientada a objetos.

La programación orientada a objetos ha permitido representar y transmitir más fácilmente conceptos y áreas más complejas de desarrollo de software ya existentes (como

mantenimiento de sistemas, programación en equipos y re-uso de software). La expresión "orientación a objetos pura" se utiliza como opuesta a "lenguajes híbridos" que son lenguajes que soportan orientación a objetos y otros paradigmas no orientados a objetos (Python, C++ y Perl son lenguajes híbridos). Se ha observado que la orientación a objetos pura es mejor aplicable cuando un estudiante o programador novato no ha sido expuesto previamente a técnicas estructuradas de programación. Por otro lado, los defensores de lenguajes híbridos utilizan como argumentación principal que la mayoría de los programadores tendrán una curva de aprendizaje menor a la orientación a objetos, gradualmente aplicando sus técnicas.

Sistema Smalltalk

El sistema Smalltalk es una familia de entornos de programación que fue producido tras un largo proceso de desarrollo en Xerox PARC (Palo Alto Research Center, USA), abarcando desde los primeros prototipos en 1972 hasta implementaciones más complejas con entornos avanzados y más eficientes. Vale aclarar que en PARC se ha creado además de la orientación a objetos, la impresora láser, las interfaces gráficas, las redes locales (o Ethernet), etc. Smalltalk fue desarrollado con la idea de construir un entorno más cercano al pensamiento humano, y que sea entendible por un solo individuo. Sus inventores descubrieron que se necesitan solamente dos nociones para describir un sistema de programación: objetos y mensajes. Durante la época de su concepción existía una discusión acerca de cuantas más características (reglas, conceptos, construcciones) se deberían agregar a un lenguaje de programación para hacerlo más expresivo. Alan Kay entendió que esa tendencia estaba equivocada y tomó el camino inverso, en vez de agregar nuevos conceptos, eliminó todo lo que parecía innecesario (Kay, 1993).

El estilo de la POO hoy se encuentra utilizado en la mayoría de las aplicaciones de complejidad mediana a grande, y Smalltalk es el entorno de referencia para investigación,

educación, ingeniería de software, y otros campos (Brauer, 2015). En Smalltalk hay uniformidad (cada objeto es una instancia de una clase), simplicidad (todo es un objeto), ortogonalidad (las clases son objetos), legibilidad (selectores de mensajes unarios sin sintaxis innecesaria), economía (polimorfismo y herencia) y orden (provisto por jerarquías de clase).

Un modelo es una representación de la realidad. Puede ser un objeto o contener múltiples objetos interrelacionados. Un beneficio de modelar software es que se puede diseñar un modelo, llamado Modelo de Dominio, de acuerdo al lenguaje y terminologías propias del área. Una de las tareas claves de desarrollo es encontrar nombres representativos para las entidades, operaciones y relaciones que tengan sentido para el área de identificación animal y trazabilidad.

El primer paso para implementar un programa es crear un modelo de dominio. La metodología utilizada en este caso se denomina Diseño orientado al Dominio. Para ello se necesita identificar las entidades más importantes en el sistema. Esta tarea se puede realizar seleccionando los nombres o sustantivos de los requerimientos de nuestra aplicación. Las reglas de la orientación a objetos son:

1. Todo es un objeto.
2. La comunicación se hace exclusivamente entre objetos, requiriéndose acciones, mediante el envío y recepción de mensajes. Un mensaje es entonces un pedido de acción, junto con cualquier objeto necesario para completar la tarea.
3. Los objetos tienen su propia memoria, que consiste de otros objetos.
4. Todo objeto es instancia de una clase. Una clase simplemente representa una agrupación de objetos similares, tales como listas o números enteros.

5. Una clase es también un repositorio para el comportamiento asociado con un objeto. Esto significa que todos los objetos que son instancias de una misma clase pueden realizar las mismas acciones.

6. Las clases son organizadas en una estructura de árbol de una sola raíz, llamada jerarquía de herencia. Memoria y comportamiento asociados con instancias de una clase son heredadas de acuerdo a su jerarquía.

Resultados y Discusión:

Desarrollo de la Aplicación

La contribución de esta Tesis consistió en el desarrollo de una aplicación y librería de software (ambas bajo licencia de código Open Source) que, dado un código en formato SENASA 754/2006, permite generar los códigos necesarios para configurar todo el mapa de bits reservados para uso, mediante el empleo de una lecto-grabadora de microchip, siguiendo el estándar ISO 11784 de estructura para la identificación de animales por radio-frecuencia. A continuación se detallan las herramientas utilizadas en el desarrollo de la aplicación. Las herramientas aquí enunciadas tienen estrecha relación con la tecnología elegida y utilizada en este proyecto. El desarrollo fue realizado con el software Pharo Smalltalk (Black et al., 2009) como plataforma de desarrollo y lenguaje de programación. Sobre esta plataforma se desarrolló una interface gráfica utilizando el framework de construcción de ventanas "Spec" (Van Ryseghem, 2012). El desarrollo incluye Tests unitarios implementados con la librería Sunit. La aplicación se encuentra disponible para descarga en el sitio web <http://st-iso11784.github.io>.

La aplicación toma como entrada un código en formato SENASA 754/2006 y generará diferentes códigos numéricos que pueden ingresarse en un software de escritura de Tags que

en el caso de este trabajo se empleó el llamado “Init Animal TAGs” de Frosch Electronics.

Dicho software requiere los siguientes datos:

- Un código numérico correspondiente al “NationalID” (identificación del animal).
- Un código numérico de país.
- Un código numérico de “Trailer” (código alfanumérico creado a partir de los microsátélites).

En el siguiente diagrama se detalla la aplicación desarrollada en el presente estudio (Figura 28).

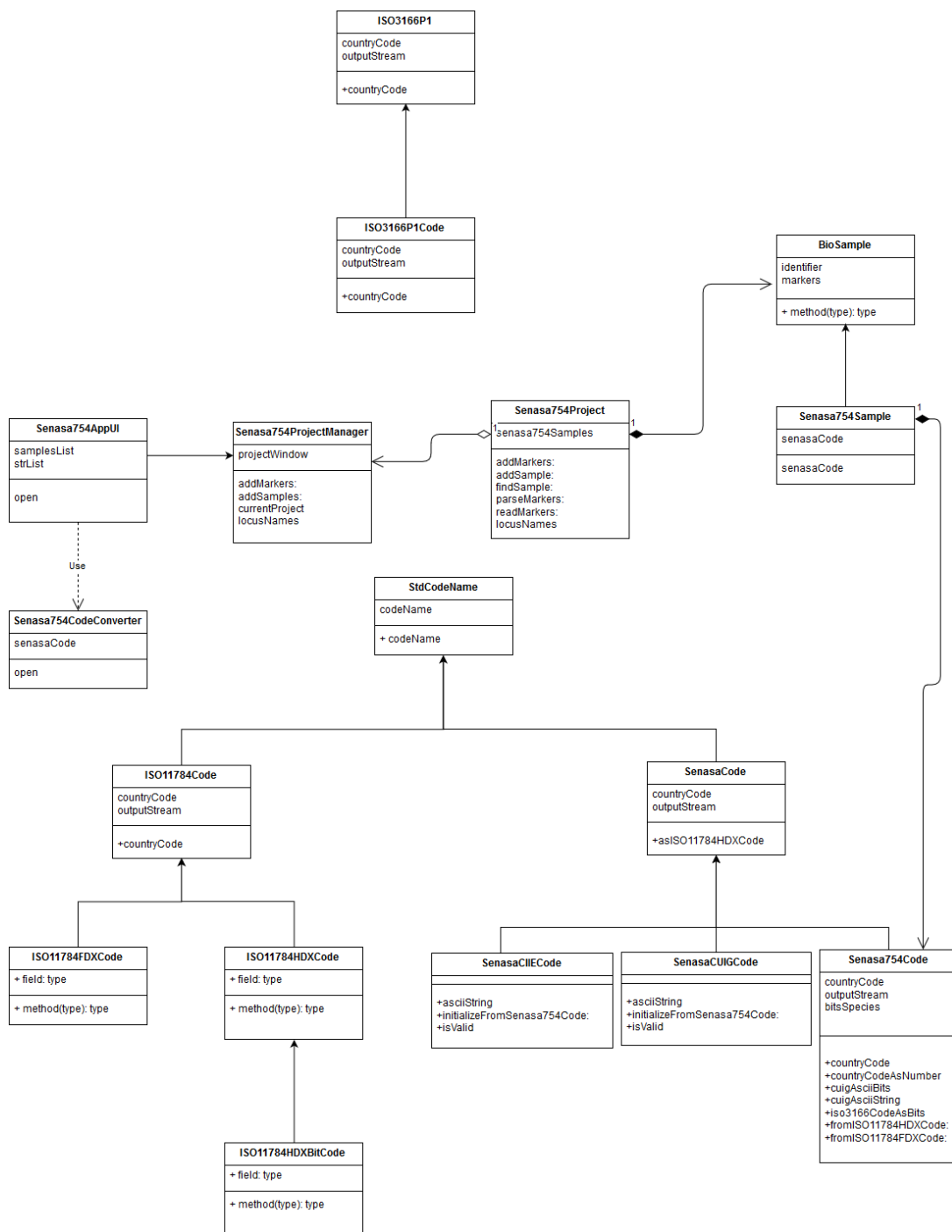


Figura 28: Diagrama UML para la aplicación desarrollada

Librería ISO 11784. ISO 11784 Half-Duplex

La norma ISO 11784, que describe la interacción entre el microchip y el lector, incluye dos tipos de sistemas: Half-Duplex (HDX) y Full-Duplex (FDX). El estándar ISO incluye la asignación de 15 dígitos numéricos de identificación a modo de generar un código para cada microchip: 3 dígitos son destinados para designar el número del país en donde se identificó el animal. La norma ISO 11784 solo dice que deben ser guardados los códigos de 64 bits para el microchip y que este debe cumplir con la ISO 11785.

Un bit es una unidad binaria de información (a modo de ejemplo, 0 y 1 como mensaje on y off). Estos bits se agrupan de a 8 en bloques conformando un Byte (1 byte=8 bits). A cada bit o bloque de bits se le asigna un significado codificado. La norma ISO 11784 fija y posiciona el número de bits que ocupa el telegrama con una totalidad de 64 bits (8 Bytes).

Librería ISO 3166

También, bajo la misma plataforma de desarrollo, se implementó una librería Open-Source complementaria para la resolución de códigos ISO 3166 para el espacio de 10 bits disponibles, que permite representar hasta 4 dígitos, para el código de país en el cual el animal fue identificado, aunque el estándar ISO 11784 solamente utiliza 3 dígitos. Por ejemplo, para codificar el código de país para Argentina: 'AR', la librería permite obtener su código ISO 3166 (que es 032). La librería fue documentada y verificada independientemente para garantizar su reutilización en otros dominios o para futuros cambios.

Algoritmo de conversión SENASA 754 a ISO 11784

Para la conversión de un código SENASA 754 a un código ISO 11784 se mapearon las todas combinaciones de cada marcador molecular del panel propuesto por la ISAG 2008 para identificar bovinos. Este mapa asigna un código de dos caracteres alfanuméricos a cada una

de estas posibles combinaciones, de forma tal que se pueda aprovechar el espacio disponible en el tráiler de cada microchip.

El software funciona de la siguiente manera, cada microsatélite elegido con sus genotipos determinados es transformado al código alfanumérico. A medida que los marcadores son elegidos y convertidos al código alfanumérico se van concatenando en el espacio del tráiler reservado del microchip. El software además, valida la cantidad posible de marcadores a seleccionar según el espacio de bytes disponibles en el microchip.

Es importante destacar que el conversor permite incorporar nuevos tipos de códigos ante una eventual modificación futura de la especificación o reglamentación oficial de SENASA. El flujo de conversión incluye varias decodificaciones para transformar la entrada provista en formato SENASA 754 al formato ASCII de ISO11784, según se describe a continuación:

1) Internamente utiliza un conversor de código de país al estándar ISO 3166-1, que permite representar los países mediante códigos de 2 o 3 letras.

2) Se identifica el CUIG de SENASA y se transcribe como cadena ASCII

3) Se identifica el Código de identificación intra-establecimiento y se transcribe como cadena ASCII.

4) Finalmente, se unen los códigos ASCII previamente convertidos al código de cada animal (national ID)

Espacio Físico de Memoria en el Chip

En el estándar ISO 11784 los caracteres de código de país se representan con números y toman 4 bits cada carácter (esto puede ser verificado en el sistema Pharo evaluando la expresión en código: `9 asBinaryString size. " 4 bits "`). Por lo que en total se requieren 8 bits para representar el código de país del CUIG en el espacio ISO 11784 (que permite 10 bits

para el código de país, quedando 2 bits adicionales para otros usos como verificación del transponder o código de fabricación).

CUIG y CIAE

La CUIG (Clave Única de Identificación Ganadera) se compone de 5 caracteres ASCII, siendo los 2 primeros alfabéticos y los 3 últimos numéricos (por ejemplo KP745). Cada carácter alfabético ASCII representado numéricamente toma 8 bits (ya que está compuesto de 2 dígitos), por lo que necesitamos 16 bits para los 2 primeros caracteres alfabéticos. Los restantes 3 caracteres numéricos conforman 12 bits, haciendo un total de 28 bits para el representar la CUIG. En el caso del software de Frosch Electronics, permite ingresar un total de 12 caracteres numéricos, tomando 4 bits por cada número, formando un total de 48 bits. De esta forma evaluamos los restantes 20 bits ($48 - 28$) para verificar si es factible incluir el Código de Identificación de Animal en el Establecimiento (CIAE).

Para el Código de Identificación de Animal en el Establecimiento (es el número identificador individual para cada animal), se requiere 1 carácter ASCII (8 bits) para representar código alfabético y 12 bits para los 3 caracteres numéricos, haciendo un total de 20 bits. Dados los dos códigos se requieren $28 \text{ bits} + 20 \text{ bits} = 48 \text{ bits}$ de espacio de memoria en el formato ISO 11784, lo que concuerda con la definición del estándar para el "Unique number within a country" y el software disponible para escribir la Identificación del Animal (Figuras 29, 30 y 31).

Orden	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
Decimal																032											
Binario	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Función ISO	Indicador de Animal	Control de Retag			Información de Usuario (ej: Especie Bovina)					Reservado para Uso Futuro						Desbloqueo de datos	ISO 3166										
Función Tesis	Indicador de Animal	Genotipos adicionales														Desbloqueo de datos	Número adicional de CIIE				ISO 3166 (Argentina)						

Figura 29: Layout ISO 11784 bits 1-26

Orden	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	
Decimal	7			5			8				0	7			8				6			6			5			4			7			4			0	0	
ASCII/Decimal	K						P					7			8				6			A						4			7			4			0		
Binario	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
Función Tesis	Código Único de Identificación Ganadera (CUIG) 5 caracteres ASCII														Código de Identificación Individual en el Establecimiento (CIIE) 4 caracteres ASCII																								
Función ISO	Código de Identificación de Animal																																						

Figura 30: Layout ISO 11784 bits 27-64 continuación

Representación de los Microsatélites en el chip

Se evaluó utilizar dos espacios disponibles para la inclusión de información de marcadores genéticos en el chip:

- Los bits 2-15 del paquete definido por la ISO 11784 permite un total de 16.384 combinaciones, aunque el software de escritura del chip no permite configurar este espacio de bits.
- El otro espacio conforma 40 bits y se puede subdividir en 2 subespacios:
 - Un subespacio de CRC de 16 bits, que es utilizado para verificación y corrección de errores de transmisión. Este actualmente tampoco es configurable desde el software de escritura del chip disponible.
 - Un subespacio de 8 caracteres numéricos adicionales, es decir, 24 bits, que se encuentra en la aplicación de Frosh Electronics bajo el campo llamado “Trailer”.
- La información comúnmente provista por una corrida contiene los 12 microsatélites recomendados por la ISAG para poder identificar un bovino de manera única e inequívoca. Cada microsatélite (STR) se compone de un nombre representado por el Locus (BM1818, BM1824, etc.) y 2 valores numéricos decimales que representan el rango alélico o amplicones obtenidos. Información adicional sobre cada STR puede ser encontrada en la siguiente Tabla:
<http://cstl.nist.gov/biotech/strbase/cattleSTRs.htm>.

Indexación por combinatoria

Utilizando la referencia anterior, si se hacen todas las combinaciones posibles para cada microsatélite, es decir BM1818_254, BM1818_256, ..., BM1818_276 para el marcador BM1818, BM1824_176 .. BM1824_188 para el BM1824, etc. se obtienen para el panel de la ISAG 2359 genotipos posibles de STRs. Dadas estas condiciones, se analizó representar cada combinación de los STRs asignándole un número a cada combinación posible. Este mapeo puede ahorrar una cantidad significativa de bytes físicos y se utilizaría con un software que permita decodificar el número asignado a un conjunto único de marcadores. Por ejemplo, para una combinación con los genotipos (BM2113 116 BM2113 118 INRA023 193 INRA023 195 ETH10 198 ETH10 200 ETH225 136 ETH225 138 SPS115 235 SPS115 237 TGLA53 147 TGLA53 149 TGLA227 64 TGLA227 66 ETH3 90 ETH3 92) se le asigna un identificador por ejemplo el número 3 o cualquier otro símbolo que admita el software de escritura (por ejemplo % o &). La cantidad de combinaciones para 8 caracteres numéricos con estos genotipos posibles es de $2,35 \times 10^{22}$. Esta cantidad de combinaciones supera la cantidad posible de combinaciones permitidas en el tráiler.

Si bien el software desarrollado en esta Tesis permite la transcripción de los 12 marcadores requeridos por la ISAG, utilizando espacios libres reservados del mapa de bits de la ISO 11784, el software de Frosch Electronic no permite configurarlos para escribir en ellos. Por lo que utilizando el software disponible para la grabadora HITAG, solo se pudieron escribir 4 combinaciones genotipos. Si el software provisto por el fabricante de la grabadora permitiera configurar a todo el mapa de bits incluyendo los bits reservados para el futuro podría ser posible representar los 12 marcadores.

Representación de SNPs en el Chip

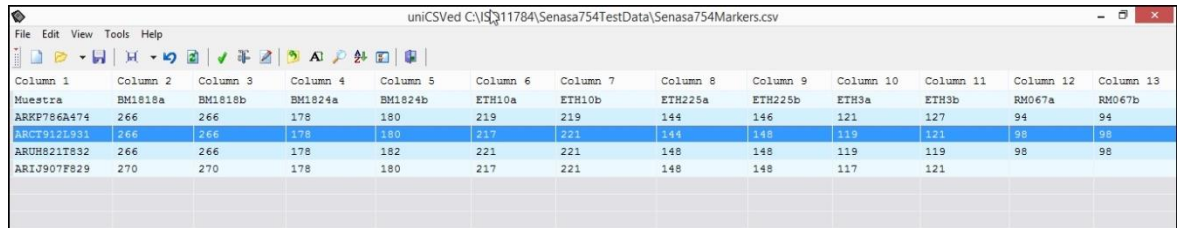
Además, se evaluó la cantidad de caracteres requeridos para la identificación de un SNP normalizado por el NCBI (National Center for Biotechnology Information), así como identificadores de Affymetrix e Illumina. El inconveniente de los SNPs es que una gran cantidad de ellos (100 SNPs propuestos como panel por la ISAG) son necesarios para identificar un animal de forma individual lo que dificulta su incorporación para grabarlo según la especificación de la normativa ISO 11784 ya que no se dispone del suficiente espacio físico del paquete de datos ISO. Con un espacio disponible de 8 bits para ser utilizado y grabado se pueden incorporar 41 SNPs en forma simultánea. De ser posible acceder al espacio reservado de la memoria y de esta manera poseer 11 bits disponibles, solo 54 SNPs podrán grabarse.

Uso del software:

Se debe preparar en principio un archivo en formato CSV con las siguiente especificación, la primer línea debe contener los nombres de los microsátélites, se debe concatenar a cada nombre de microsátélite una letra a para el primer alelo y una letra b para el segundo alelo (por ejemplo BM1818a BM1818b).

La primera columna debe contener el nombre de la muestra en formato SENASA 754/2006, colocando una muestra por línea. Las siguientes columnas deben contener los valores de los genotipos.

Se detalla en la figura 32 la pantalla para la preparación de archivo de entrada con los distintos genotipos



Column 1	Column 2	Column 3	Column 4	Column 5	Column 6	Column 7	Column 8	Column 9	Column 10	Column 11	Column 12	Column 13
Nuestra	BM1818a	BM1818b	BM1824a	BM1824b	ETH10a	ETH10b	ETH225a	ETH225b	ETH3a	ETH3b	RM067a	RM067b
ARKP786A474	266	266	178	180	219	219	144	146	121	127	94	94
ARCT912L951	266	266	178	180	217	221	144	148	119	121	98	98
ARUH821T832	266	266	178	182	221	221	148	148	119	119	98	98
ARIJ907F829	270	270	178	180	217	221	148	148	117	121		

Figura 32: Preparación del archivo de entrada de genotipos.

Una vez completada la carga de los genotipos se procede a iniciar el software ISO11784 creando un nuevo proyecto. Posteriormente se deben cargar los marcadores del archivo SCV preparado como se muestra en las figuras 33 y 34.

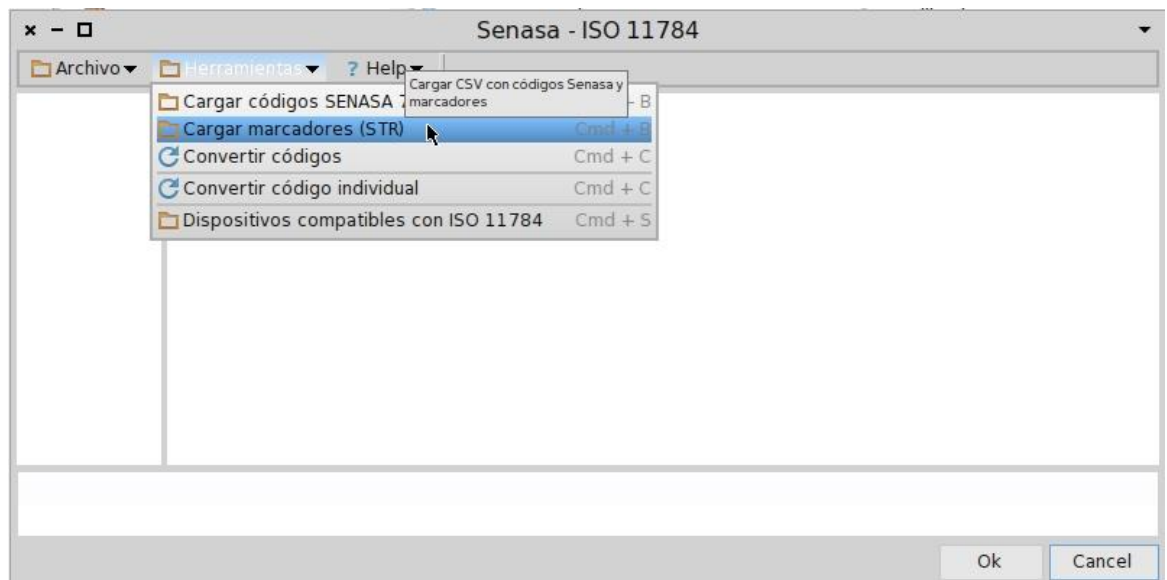


Figura 33: Pantalla para cargar los archivos de genotipos

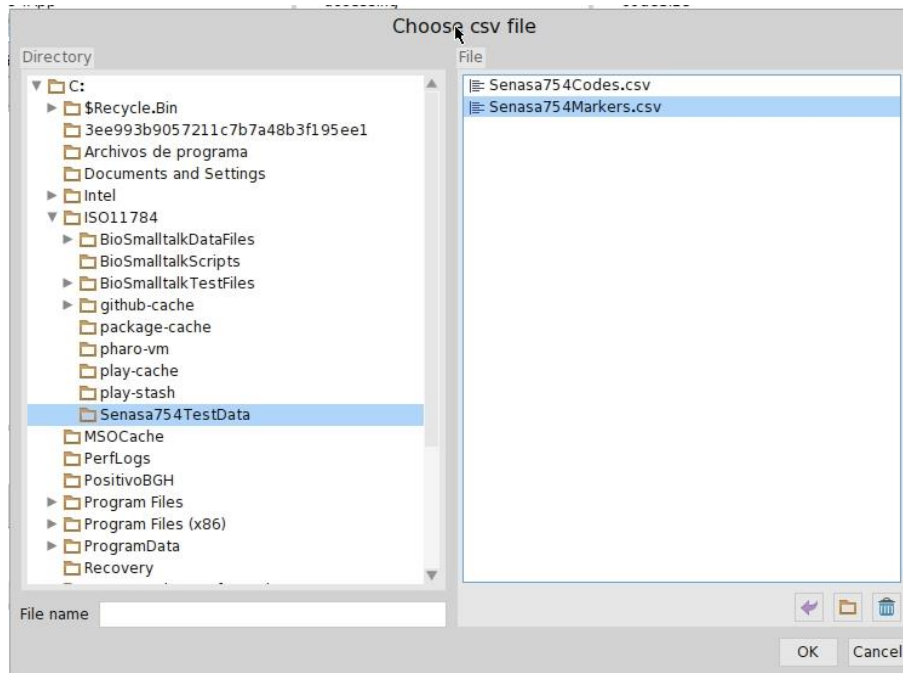


Figura 34: Selección de archivos de genotipos

El software actualizará con la información cargada como se muestra en la figura 35.

Archivo	BM1818a	BM1818a	BM1818b	BM1818b	BM1824a	BM1824a	BM1824b	BM1824b	ETH10a	ETH10a	ETH10a
ARKP786A474											
ARCT912L931	266	180	266	180	266	180	266	180	266	180	266
ARUH821T832	266	180	266	180	266	180	266	180	266	180	266
ARIJ907F829	266	182	266	182	266	182	266	182	266	182	266
	270	180	270	180	270	180	270	180	270	180	270

Figura 35: Visualización de muestras y genotipos cargados. Detalle de las muestras a la izquierda de la pantalla, mientras que a la derecha de la misma se observan sus genotipos.

Una vez cargados, se debe seleccionar el transponder a ser grabado durante el proyecto. Este paso es importante porque determina la cantidad de bits que se pueden utilizar para escribir los genotipos ya que la limitante de espacio depende del software provisto por cada fabricante como detallamos previamente (Figuras 36 y 37).

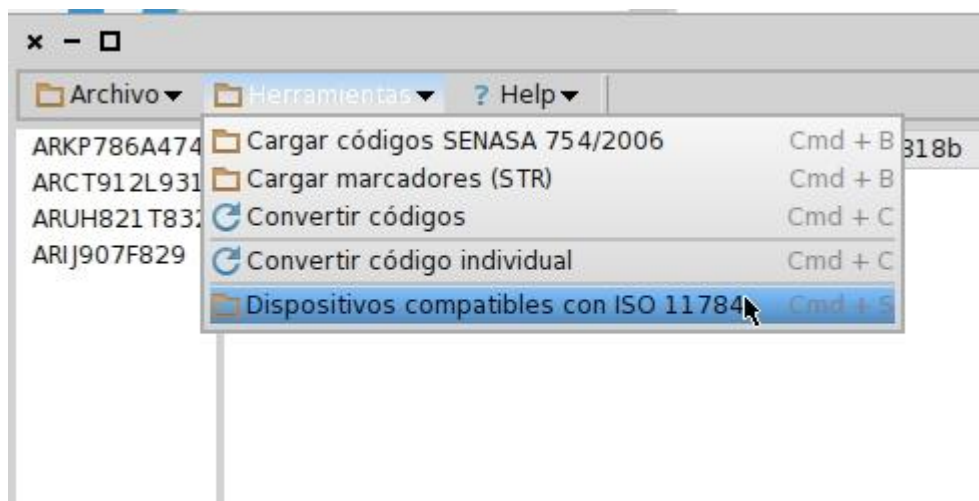


Figura 36: Pantalla de selección del transponder a ser grabado



Figura 37: Pantalla con listado de dispositivos disponibles para ser grabados.

Una vez realizado este procedimiento, se debe seleccionar la muestra y mediante la selección en el menú “herramientas” ítem “conversión de código individual” que abrirá una nueva ventana donde se encontraran los códigos de identificación animal y país convertidos al formato necesario para ser escrito según la norma ISO 11784 (Figura 38). Los campos a copiar y su correspondencia son:

- ISO 11784 = 1st National ID
- ISO 3166 (numérico) = Country
- Trailer = Trailer

Field	Value
Código SENASA 754/2006	ARCT912L931
CUIG (Código)	CT912
CUIG (ASCII)	6784912
Código de Id. Individual en Establecimiento (Código)	76931
Código de Id. Individual en Establecimiento (ASCII)	L931
ISO 11784	678491276931
ISO 3166 (alfa)	AR
ISO 3166 (numérico)	32
Tamaño total (ASCII)	12
Tamaño en bits	40
Microsatelites	<input type="text"/> Browse
Trailer	<input type="text"/> Select

Figura 38: "Convertidor SENASA..." se abre al seleccionar una muestra y luego ir al menú Herramientas -> Convertir código individual. Si no se selecciona ninguna muestra, no se permite abrir la pantalla para convertir los códigos. Esta pantalla presenta todos los campos necesarios (y algunos adicionales) que podrán ser copiados para ingresar en el software InitMiroAnimalTAG.

Una vez que se clickea en la opción Seleccionar esto permite elegir los marcadores que se codificarán en el chip. Con un máximo de 4 marcadores para el dispositivo que estamos usando (HITAG 2) (Figura 39). La comprobación de la máxima cantidad posible de marcadores a escribir se hace dinámicamente según el dispositivo que se haya seleccionado en el menú "Dispositivos compatibles...".

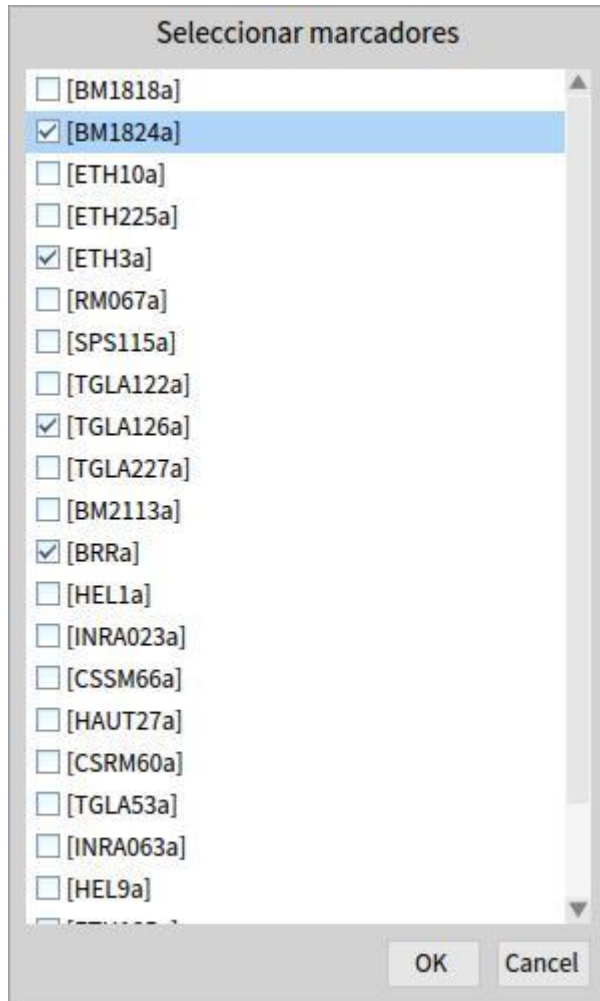


Figura 39: "Selección de los marcadores" En esta pantalla se seleccionan los marcadores para ser concatenados en el tráiler del microchip.

Ingeniería del Software del Sistema

Las métricas de Ingeniería de Software determinan la calidad y complejidad del Software (N. Fenton and S. L. Pfleeger, 1997). En el sistema desarrollado fueron calculadas con Moose (Ducasse et al., 2005), un entorno para análisis de métricas de código. Existen diferentes formas en que un sistema puede estar desarticulado. Desde un punto de vista funcional, un sistema está "descompuesto" si no logra realizar la tarea para la cual fue concebido. Desde un punto de vista del mantenimiento, un sistema de software está dañado si

no puede seguir siendo mantenido. El análisis de la Ingeniería de Software permite establecer la calidad del software desarrollado. La Figura 40 representa una Pirámide De Visión del Sistema (Suri and Garg, 2009).

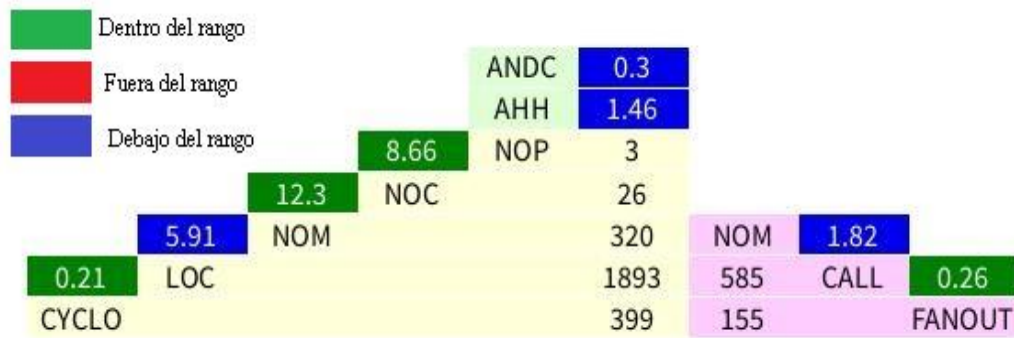


Figura 40: Pirámide de Visión del Sistema para el Sistema Convertidor de Senasa 754/2006.

Los valores de los umbrales para estos se han tomado de un grupo de "proyectos de referencia" para Smalltalk. Los colores indican cómo encajan los radios en rangos estándares de la industria (derivado de numerosos proyectos de código abierto) (Lanza and Marinescu, 2007).

Métricas Directas

Las métricas directas representan valores absolutos de un proyecto de Software. El sistema consiste en 3 paquetes de software (NOP, Number of Packages), implementadas en 26 clases (NOC, Number of Classes), 320 métodos (NOM, Number of Methods) y un Número Ciclométrico de 399 (CYCLO, Cyclomatic Number). La Complejidad Ciclométrica intrínseca (CYCLO/LOC, o Número Ciclométrico/Líneas de Código) es de 0,21. La métrica de Complejidad Ciclométrica es relevante a la implementación del código y busca interacciones y saltos de control en el código. Establece que a mayores interacciones y saltos, más complejo será el código, por lo que habrá más dificultad en mantenerlo. Esta medida promueve escribir métodos cortos para favorecer re uso.

La cantidad de líneas de código es especificada por la métrica (LOC, Lines of Codes) resultó en 1893.

Herencia

El peso promedio jerárquico (AHH, Average Hierarchy Height) suma el camino más largo desde todas las clases raíces hasta su subclase más profunda, y la divide por la cantidad de clases raíces. Un valor bajo sugiere una estructura jerárquica generalmente plana, mientras que un valor alto sugiere excesivo uso de herencia (no se toman en cuenta herencia de librerías de clase). En el Sistema implementado este valor es 1.46. El peso promedio de subclases de una clase (ANDC, Average Number of Derived Classes) (Lanza and Marinescu, 2007) es de 0.3. Esta métrica cuenta el número de subclases directas y lo divide por el número total de clases (no se cuenta herencia de librerías de clase). Por ejemplo en un sistema con 10 clases y ANDC-value de 0.5 significa que cada segunda clase, se hereda de otra.

Métricas Indirectas (Acoplamiento)

Tales métricas, como por ejemplo las de acoplamiento del Sistema, permite la comparación de diferentes proyectos independientemente de su tamaño. El número de envíos de mensaje o invocaciones 585. El número de clases referenciadas o llamadas FANOUT es de 155 (Lorenz and Kidd, 1994).

Las métricas realizadas en el Sistema indican un promedio de dispersión de acoplamiento (FANOUT/CALLS) de 0.26. Este promedio explica la relación entre envíos salientes y envíos entrantes entre las clases involucradas en envíos. La Intensidad de Acoplamiento (CALLS/NOM) indica cuantos mensajes fueron enviados en promedio desde cada método, siendo de 1.82.

Conclusiones:

En resumen el software desarrollado en el presente trabajo de Tesis Doctoral permite, mediante una interfaz amigable, utilizar los genotipos obtenidos a partir de marcadores genéticos tipo microsátélites como material identificador único e inequívoco de un individuo, y transcribirlo, mediante un código ASCII binario, a un número que coincida con el número identificador del animal obligatorio determinado por el SENASA.

Este código genético de cada animal individual puede ser guardado en una base de datos y eventualmente confrontarlo con un corte cárnico o un producto elaborado para comparar y determinar el origen del mismo ante un eventual problema o necesidad de conocer el origen o cualquier eslabón en la cadena de la trazabilidad.

Es importante destacar que para posibilitar la grabación de un panel de 12 microsátélites en el microchip es necesario que el software que utiliza la grabadora permita acceder a regiones de la memoria reservadas, de tal manera aumentar la capacidad de bits necesaria.

CONCLUSIONES GENERALES:

A partir de los trabajos realizados se demostró la posibilidad de uso y el funcionamiento de los distintos componentes del sistema de identificación electrónica por radiofrecuencia para bovinos en sistemas ganaderos basados en el pastoreo directo con animales libres en extensiones grandes. Asimismo fue establecida la metodología que combina identificación genética e identificación electrónica evaluando el empleo de marcadores moleculares para generar un ID grabable en un microchip para dar garantía a la trazabilidad. Se desarrolló de un software de aplicación que permite la gestión del sistema de producción y la trazabilidad.

Específicamente:

- Se obtuvieron altos niveles de retención de los dispositivos identificatorios evaluados a largo plazo identificando a los animales en el momento del nacimiento.
- Se estableció el posicionamiento óptimo del lector fijo en la manga de manera de maximizar la eficiencia de lectura para distintos dispositivos identificadores colocados en animales de un mismo rodeo.
- Un lector portátil inteligente fue programado para realizar la captura del dato de ID del animal, cargar y almacenar los principales eventos que suceden con los animales sueltos en el campo, lo que resulta una innovación en el uso de estos lectores con animales sueltos y no inmovilizados. La capacidad de lectura del instrumento presento algunas restricciones, especialmente en el campo con vacas al parto.
- El lector portátil inteligente resultó fácilmente adoptado por el personal de campo y constituyó un instrumento para consultas de eventos ocurridos en tiempo real.

- El software desarrollado permitió utilizar los genotipos obtenidos a partir de marcadores genéticos tipo microsatélites como material identificador único e inequívoco de un individuo, y transcribirlo, mediante un código ASCII binario, a un número que coincida con el número identificador del animal obligatorio determinado por el SENASA.

BIBLIOGRAFIA

1. Abraham, D.; Dassati, G. and Cal, A. Traceability: an electronic system for the meat industry. *Health Technology*. 2014; 4: 171. doi:10.1007/s12553-014-0081-z
2. ADAS, DEFRA. English pilot trial of EID/EDT in sheep. 2005. Final Report.
3. Allison, P. *Survival Analysis Using SAS®: A Practical Guide, Second Edition*. 2010, SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.
4. Arana, A.; Soret, B.; Lasa, I. and Alfonso, L. Meat traceability using DNA markers: application to the beef industry. *Meat Sci.*, 2002.61:367-373
5. Araoz, L. Trazabilidad de Carne Bovina en Argentina. Proyecto de cooperación técnica 2004.FAO/TCP/2910.
6. Artman, R. Electronic Identification systems: state of the art and their further development. *Computers and electronics in agriculture*. 1999.24:5-26
7. Augsburg, J. Benefits of animal identification for food safety. *J. Anim. Sci.* 1990.68:880-883.
8. Austin, R. Fine for beasts but what about staff? In: *Farmers' weekly*.1995.45.
9. Baldo, A. and Goitia O. Identificación electrónica de bovinos con bolos: primeros resultados de su empleo en Argentina. *Analecta Veterinaria* 2000.20:42-46
10. Baldo, A.; Beretta, E.; Sorarrain, N.; Nava, S. and Lazzari, M. Extensive management of a beef breeding farm based on RFID technology in Argentina. *Book of Abstracts of the 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. 2009. p 486

11. Baldo, A.; Rogberg Muños, A.; Prando, A.; Mello Cesar, A.; Liron, P.; Sorarrain, N.; Ramelli, P.; Posik, D.; Pofcher, E.; Ripoli, M.; Beretta, E.; Peral-Garcia, P.; Vaca, R.; Mariani, P. and Giovambattista, G. Effect of consanguinity on Argentinean Angus beef DNA traceability. *Meat Science*. 2010. 85:671-675
12. Barcos, L. Recent development in animal identification and the traceability of animal products in international trade. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 2001.20:630-639
13. Black, A.; Ducasse, S.; Nierstrasz, O.; Pollet, D.; Cassou, D. and Denker, M. *Pharo by Example*. Ed: Square Bracket Associates, Kehrsatz, Switzerland. 2009 .ISBN 978-3-9523341-4-0.
14. Blair, R.; Nichols, D. and Davis D. Electronic animal identification for controlling feed delivery and detecting estrus in gilts and sows in outside pens. *J. Anim. Sci.* 1994. 72:891-898.
15. Blancou J. A History of the Traceability of Animals and Animal Products. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2001.20:420-425
16. Blasi, D.; Dhuyvetter, K.; Spire, M.; Epp, M. and Barnhardt, B. A guide for electronic identification of cattle. *Ag. Exp. Station Bulletin*. 2003. Kansas State University, Manhattan.
17. Brauer, J. *Programming Smalltalk - Object-Orientation from the Beginning*. Springer.2015. ISBN 978-3-658-06823-3.
18. Bryant, A.; Blasi, D.; Barnhardt, B.; Epp, M. and Glaenger, S. Variation in performance of electronic cattle ear tags and readers. *Kansas State University, Beef Cattle Research, Report of Progress 2006*; 33-37.

19. Budowle, B.; Garofano, P.; Hellman, A.; Ketchum, M.; Kanthaswamy, S.; Parson, W.; van Haeringen, W.; Fain, S. and Broad, T. Recommendations for animal DNA forensic and identity testing. *Int J Legal Med.* 2005; 119(5):295-302.
20. Caja, G.; Nehring, R. and C. Conill. Identificación electrónica de animales de producción. *Albeitar*; 1998.13:1-4.
21. Caja, G.; Ribó, O. and Nehring R. Evaluation of migration distance of passive transponders injected in different body sites of adult sheep for electronic identification. *Livestock Production Science*; 1998. 55:279-289
22. Caja, G.; Connil, C.; Nehring, R. and Ribó, O. Development of a ceramic bolus for the permanent electronic identification of sheep, goat and cattle. *Computers and Electronics in Agriculture*; 1999. 24:45-63
23. Caja, G.; Ribó, O.; Garín, D.; Hernandez-Jover, M.; Ghirardi J. and Sanchez A. Managing traceability in livestock and meat. *Abstract Book EUROKRAFT 2001.* 5-7 December 2001, Berlin, Germany. Oral Program Abstract 23.
24. Caja, G.; Vilaseca, J. and Korn, C. Ruminant bolus for electronic identification of a ruminant. 2001. U.S. Patent No. 6, 202,596B1.
25. Caja, G.; Hernandez-Jover, M.; Ghirardi, J.; Garín, D. and Mocket, J. Aplicación de la identificación electrónica a la trazabilidad del Ganado y de la carne. *II Seminario Internacional Fundisa.* 2002.147-167
26. Caja, G.; Carné, S.; Salama, A.; Ait-Saidi, A.; Rojas-Olivares, M.; Rovai, M.; Capote, J.; Castro, N.; Argüello, A.; Ayadi, M.; Aljumaah, R. and Alshaikh, M.. State-of-the-art of electronic identification techniques and applications in goats. *Small Animals Research.* 2014; 121:42-50

27. Cámara de la Industria y Comercio de Carnes y Derivados de la República Argentina (CICCRA). Informe económico mensual. Documento n° 189. Octubre 2016.
28. Cañon, J.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carlejos, C.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferran, N.; Garcia, D.; Jordana, J.; Laloe, D.; Pereira, A.; Sanchez, A. and Moazami-Gourdazi, K. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genet. Sel. Evol.* 2001. 33:311-332.
29. Cappai, M.; Picciau, M.; Nieddu, G.; Bitti, M. and Pinna, W. Long Term Performance of RFID Technology in the large scale identifications in small ruminants through electronic ceramic boluses: Implications for animal welfare and regulation compliance. *Small Ruminant Research.* 2014.117:169-175.
30. Carné, S.; Caja, G.; Ghirardi, J. and Salama, A. Long-term performance of visual and electronic identification devices in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 2009; 92:1500-1511.
31. Carrillo, J. Manejo de un rodeo de cria. 2da Ed. Editorial Centro Regional Buenos Aires Sur. 1997, p. 112-113.
32. Cesar, A.; Biase, F.; Ripamonte, P.; Luchiari Filho, A.; Merighe, G. and Meirelles, F. Nuclear and Mitochondrial DNA Markers in Traceability of Retail Beef Samples. *Pesq. Vet. Bras.* 2010.30 (9):783-786.
33. Codex Alimentarius Commission.2006. Principles of Traceability/Product Tracing as a tool within a Food Inspection and Certification System. www.fao.org/input/download/standards/10603/CXG_060e.pdf
34. Conill, C.; Caja, G.; Nehring, R. and Ribó, O. Effects of injection position and transponder size on the performances of passive injectable transponders used for the electronic identification of cattle. *J. Anim. Sci.* 2000; 78:3001-3009.

35. Cunningham E. and Meghem C. Biological Identification systems: genetic markers. *Re. Sci. Tech. Off int Epiz.* 2001. 20 (2) 491-499.
36. Dalvit, C.; Targhetta, C.; Gervaso, M.; De Marchi, M.; Mantovani, R. and Cassandro, M. Application of a panel of microsatellite markers for the genetic traceability of bovine origin products. In Proceedings of 57th annual meeting of the European association for animal production 2006. (p. 26).
37. Dalvit C.; De Marchi M. and Cassandro M. Genetic traceability of livestock products: A review. *Meat Science* 2007. 77, 437–449.
38. Dalvit C.; De Marchi M.; Targhetta, C.; Gervaso, M. and Cassandro M. Genetic traceability of meat using microsatellite markers. *Food Research International* 2008.41 (301:307)
39. Davis, J. and Dikeman M. Practical aspects of beef carcass traceability in commercial beef processing plants using an electronic identification system. Kansas State University. *Cattlemen's Day* 2002. 890:124-127.
40. Delgado de la Flor Montauban, I. Caracterización de nuevos marcadores genéticos Microsateilites y SNP en el gen de Tricohialina en Alpacas (vicugna pacos). Universidad Peruana Cayetano Heredia. Tesis Magister. 2014.
41. DOCE (Diario Oficial de las Comunidades Europeas). Reglamento (CE) 820/97. 1997 n°L 117 de 7.5.1997
42. Domdouzis, K.; Kumar, B. and Anumba, C. Radio-frequency identification (RFID) applications: A brief introduction. *Adv. Engineering Informatics* 2007.21:350-355.

43. Ducasse, S.; Girba, T.; Lanza, M. and Demeyer, S. Moose: a collaborative and extensible reengineering environment. *Tools for Software Maintenance and Reengineering, RCOST/Software Technology Series* 2005. 71, 27.
44. Dziuk P. Positive, accurate animal identification. *Animal Reproduction Science*. 2003. 79:319-323.
45. Egozque, J.; Lavin, P.; Soret, B. and Arana, A. Ox Meat traceability: Practical implementation using electronic identification and molecular markers. *Options Méditerranéennes*, 2006. Series A, No. 78:241-245
46. Fallon, R.; Rogers, P. and Earley, B. Electronic Animal Identification. *Beef Production Series*. 2002. N°46:1-54.
47. Fallon, R. The development and use of electronic ruminal boluses as a vehicle for bovine identification. *Rev. Sci. Tech. Off. Int.*, 2001.20:480-490.
48. Felmer, R.; Sagredo, B.; Chavez, R.; Iraira, S.; Folch, C.; Parra, L.; Catrileo, A. and Ortiz, M. Implementation of a Molecular System for Traceability of Beef Based on Microsatellite Markers. *Chilean Journal of Agricultura Research* 2008. 68(4):342-351.
49. Feng, J.; Fu, Z.; Wang, Z.; Xu, M. and Zhang, X. Development and Evaluation on a RFID-based traceability system for cattle/beef quality safety in China. *Food Control*. 2013.31:314-325
50. Fenton, N. and Pfleeger S. *Software Metrics: A Rigorous and Practical Approach*. International Thomson Computer Press, London, UK, second edition, 1997.
51. Fernandez, M.; Goszczynski, D.; Liron, J.; Villegas-Castagnaso, E.; Carino, M.; Ripoli, M.; Rogberg-Muñoz, A.; Posik, D.; Peral-Garcia, P. and Giovambattista, G. Comparison of the effectiveness of microsatellites and SNP panels for genetic

- identification, traceability and assessment of parentage in an inbred Angus herd. *Genetics and Molecular Biology* 2013. 36:185-191.
52. Fordyce, G.; Dodt, R. and Wythes, J. Cattle temperaments in extensive beef herds in northern Queensland 1. Factors affecting temperament. *Aust. J. Exp. Agric.* 1988. 28:683
53. Garin, D.; Lamas, A.; Gimeno, D. and Caja, G. Performance of traditional identification systems used in suckling beef calves under Uruguayan grazing conditions. *Proc. IX World Conference of Animal Production, Porto Alegre, Brasil.* 2003, p.284.
54. Ghirardi, J. Desarrollo de un sistema basado en el uso de bolos ruminales y marcadores moleculares para la identificación y trazabilidad de terneros de carne. M.Sc.Thesis, Universidad Autonoma de Barcelona. 2002.
55. Ghirardi, J.; Caja, G.; Garin, D. and Hernandez-Jover M. Effect of bolus features on retention performance in the electronic identification of cattle. *J. Anim. Sci.* 2003. 81 (1):308
56. Ghirardi, J.; Caja, G.; Conill, C.; Garin, D. and M. Hernandez-Jover. Long term comparative trial of ear tags and ceramic boluses for the electronic identification of beef cattle under extensive conditions. *J. Anim. Sci.* 2004. 82 (1): 351
57. Giovambattista, G. and Peral García; P. *Genética de animales domésticos.* ISBN: 978-950-555-378-5.2010.Páginas: 261 .Ed.: Inter Médica, Buenos Aires, Argentina
58. Gonzales Barron, U.; Corkery, G.; Barry, B.; Butler, F.; McDonnell, K. and Ward, S. Assessment of retinal recognition technology as a biometric method for sheep identification. *Computers and Electronics in Agriculture.* 2008. 60:156-166.

59. Golan, E.; Krissoff, B.; Kuchler, F.; Nelson, K.; Price, G. and Calvin, L. Traceability in the US Food Supply: Dead End or Superhighway? Choices Magazine. 2003. 17:20
60. Heaton, M.; Harhay, G.; Bennett, G.; Stone, R.; Grosse, W.; Casas, E.; Keele, J.; Smith, T.; Chitko-McKown, C. and Laegreid, W. Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in U.S. beef cattle. Mammalian Genome 2002.13, 272–281
61. Heaton, M.; Keen, J.; Clawson, M.; Harhay, G.; Bauer, N.; Shultz, C.; Green, B.; Durso, L.; Chitko-McKown, C. and Laegreid, W. Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. J Am Vet Med Assoc. 2005.226:1311-1314.
62. ICAR, 2009. International Agreement of Recording Practices.
63. Identification of Animals- Technical Concept. ISO 11785:1996 (E). 1st ed. ISO, Geneva, Switzerland.
64. Identification of Animals- Code Structure. ISO 11784:1996 (E). 2nd ed. ISO, Geneva, Switzerland.
65. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Un nodo de cooperación sobre: la experiencia de Uruguay en la trazabilidad bovina. 2009.56p. ISBN 13: 978-92-9248137-7. www.iica.int
66. Instituto para la Promoción de la Carne Vacuna Argentina (IPCVA) Informe anual 2016. <http://www.ipcva.com.ar/>
67. International Organization for Standardization (ISO). Agricultural Equipment. Radiofrequency.1996.

68. ISAG. http://www.isag.us/Docs/Workshop_report_CMMPT_2016.pdf. 2016
69. Kaplan, E. and Meier, P. Nonparametric estimation for incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*. 1958, 53:282, 457:481. <http://dx.doi.org/10.1080/01621459.1958.10501452>
70. Kay, A. "The Early History of Smalltalk". 1993. <http://gagne.homedns.org/~tgagne/contrib/EarlyHistoryST.html>
71. Kay, A. *The Reactive Engine*. Electrical Engineering and Computer Science. PhD Thesis. University of Utah. USA. 1969.
72. Kellom, A.; Paterson, J.; Clark, R. and Duffey, L. Readability and retention rates of radio frequency identification (RFID) ear tags when the movements of calves using three scanning methods. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*. 2006;57:156-159.
73. Kleinbaum, D. and Klein, M. *Survival Analysis. A self-learning text*. Ed: Springer. 3rd Edition. 2012.
74. Klinwordth, M.; Wendl, K.; Klinwordth, K. and Pirkelmann, H. Electronic identification of cattle with injectable transponders. 1999. *Comp. Elec. Agric.*, 24:65-79
75. Landt, J. *The History of RFID*. 2005. The Institute of Electrical and Electronics Engineers Potentials. October-November 2005(8:11).
76. Lanza, M. and Marinescu, R. *Object-Oriented Metrics in Practice: Using Software Metrics to Characterize, Evaluate, and Improve the Design of Object-Oriented Systems*. 2007.
77. Lenstra, J. Primary identification: DNA markers for animal and plant traceability. Chapter 8 in *Improving traceability in food processing and distribution*. Woodhead Publ., Cambridge, 2005. pp. 147-164.

78. Liang, W.; Cao, J.; Fan, J.; Zhu, K. and Dai, Q. Modeling and Implementation of Cattle/Beef Supply Chain Traceability Using a Distributed RFID-Based Framework in China. *Plos One Journal*. October 2015.
79. Lorenz, M. and Kidd, J. *Object-Oriented Software Metrics: A Practical Guide*. Prentice, 1994
80. Mariani, P.; Panzitta, F.; Nardelli Costa, J.; Lazzari, B.; Crepaldi, P.; Marilli, M.; Fornarelli, F.; Fusi, M.; Milanese, E.; Negrini, R.; Silveri, R.; Filippini, F. and Ajmone Marsan, P. *Metodi Molecolari per la tracciabilità dei prodotti di origine animale*. 4th World Italian Beef Cattle Congress. 2005. Italia.
81. McKean, J. The importance of traceability for public health and consumer protection. *Rev. Sci. Tech. Off. Epi*. 2001, 20:363-371.
82. Meghan, C.; Scott, C.; Bradley, D.; Machug, D.; Loftus, R. and Cunningham, E. DNA based traceability techniques for the meat industry. *Anim. Gen.*, 1998. 29 (Suppl. 1):48-59.
83. Meuwissen, M.; Velthuis, A.; Hogeveen, H. and Huirne R. Traceability and Certification in Meat Supply Chains. *Journal of Agrobusiness*. 2003. 21:167-181
84. Miyagishima, K. and Bruno A. Codex Alimentarius standards, ongoing work and cooperation with the World Organization of Animal Health. *Proceedings of the First OIE Global Conference of Animal Identification and Traceability "From Farm to Fork"*. 2009. Buenos Aires, Argentina.
85. Morales, H. and Giovambattista, G. BioSmalltalk: a pure object system and library for bioinformatics. *Bioinformatics*, 2013.29, 2355-2356.

86. Morris, C.; Cullen, N.; Kilgour, R. and Bremner, K. Some genetic factors affecting temperament in *Bos Taurus* cattle. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1994, Vol. 37: 167-175.
87. Morrison, P.; Dearle, A.; Connor, R. and Brown, A. An Ad Hoc Approach to the Implementation of Polymorphism, *ACM Transactions on Programming Languages and Systems*, 1991. Vol.13 No.3: 342-371
88. Mullis, K. and Faloona, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzimol* 1987. 155: 335-350.
89. Nava, S.; Tangorra, F.; Beretta, E. and Lazzari, M. Sistemi gestionali innovativi basati sulla tecnologia a radiofrequenza (RFID) applicabili a differenti tipologie produttive nel settore bovino e ovi-caprino. IX Convegno Nazionale dell'Associazione Italiana di Ingegneria Agraria. 2009.1:11
90. Negrini, R.; Nicolosso, L.; Crepaldi, P.; Milanese, E.; Colli, L.; Chegiani, F.; Pariset, L.; Dunner, S.; Leveziel, H.; Williams, J. and Marsan, P. Assessing SNP markers for assessing individuals to cattle populations. *Animal Genetics* 2008. 40:18-26.
91. Orrú, L.; Napolitano, F.; Catillo, G. and Moioli, B. Meat molecular traceability: How to choose the best set of microsatellites? *Meat Science*. 2006. 72:312-317
92. Pozzi, A.; Previtali, C.; Cenadelli, S.; Gandini, L.; Galli, A. and Bongioni, G. Genetic traceability of cattle using an Open Array genotyping platform. *Anim Genet*. 2016 Feb;47(1):133-4
93. Qi, T.; Jiajia, L.; Mei, S.; Jun, L.; Ruoyan, G.; Lin, M. and Lingzhong, X. Food traceability systems in China: The current status of and future perspectives on food supply chain databases, legal support, and technological research and support for food safety regulation. *BioScience Trends*. 2015. 9(1):7-15.

94. Relling, A. and Mattioli, G. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Editorial de la Universidad de La Plata. 1º Ed. 2002, p. 16.
95. Ribó, O.; Korn, C.; Meloni, U.; Cropper, M.; De Winne, P. and Cuyppers M. IDEA: a large-scale project on electronic identification of livestock. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 2001.20:426-436.
96. Roberti M. The History of RFID Technology. RFID Journal. 2005. <http://www.rfidjournal.com/articles/view?1338>
97. Roberts, A.; Wallace, L.; Harbac, M. and Paterson, J. Case study: retention and readability of radio frequency identification transponders in beef cows over a 5-year period. The Professional Animal Scientists. 2012; 28:221-226.
98. Rodríguez-Ramírez, R.; Arana, A.; Alfonso, L.; González-Córdova, A.; Torrescano, G.; Guerrero Legarreta, I. and Vallejo-Cordoba, B. Molecular traceability of beef from synthetic Mexican bovine breeds. Genetics and Molecular Research. 2011. 10 (4): 2358-2365
99. Rossing, W. Animal identification: introduction and history. Comp. Elec. Agric., 1999. 24:1-4.
100. Ryan, S. Evaluation of ISO 11785 Low-frequency radio identification devices and the characterization of electromagnetic interference in practical cattle management scenarios. Thesis for the Master of Science degree. Department of Animal Science and Industry, College of Agriculture Kansas State University. 2008.
101. Saa, C.; Milán, C.; Caja, G. and Ghirardi, J. Cost evaluation of the use of conventional and electronic identification and registration systems for the national sheep and goat populations in Spain. J Anim Sci 2005. 83:1215-1225.

102. Sancristobal-Gaudy M.; Renand, G.; Amigues, Y.; Boscher, M.; Leveziel, H. and Bibe, B. Tracabilite individuelle des viands bovines à l'aide de marqueurs genetiques. INRA Prod. Anim. 2000. 13 (4), 269-276
103. Sánchez, A. Trazabilidad genética por DNA. Seguridad alimentaria de la carne y los productos cárnicos. Ed. J. Lizaso Azcárate and A. Antón Boix. Fundisa, Madrid.2002. Pages 147-167
104. Santamarina, C.; Hernandez-Jover, M.; Babot, D. and Caja, G. Comparison of visual and electronic identification devices in pigs: Slaughterhouse performance. Journal of Animal Science, 2007; 85:497-502.
105. SENASA. Resolucion N° 754-2006. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Argentina 2006. <http://www.senasa.gov.ar/normativas/resolucion-754-2006-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>.
106. Schwagele, F. and Sabine, A. Tracking and Tracing in the meat area. Technologija mesa 2009.50:11-20
107. Shackell, G.; Mathias, H.; Cave, M. and Dodds, K. Evaluation of microsatellites as a potential tool for product tracing of ground beef mixtures. Meat Science 2005. 70:337-345.
108. Sigrimis, N.; Scott, N. and Czarniecki, C. A passive transponder identification system for livestock. Transactions of the ASAE, 1985. 28 (2):622-629.
109. Stanford, K.; Stitt, J.; Kellar, J. and MacAllister, T. Traceability in cattle and small ruminants in Canada. Rev. sci. tech. Off. Int. epiz. 2001. 20(2):510-522

110. Strucken E.; Lee, S.; Lee, H.; Song, K.; Gibson, J. and Gondro C. How many markers are enough? Factors influencing parentage testing in different livestock populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2016, 133:13-23
111. Suri, P. and Garg, N. Software reuse metrics: measuring component independence and its applicability in software reuse. *International Journal of Computer Science and Network Security*, 2009, 9(5), 237-248.
112. Talone, P. and Russo, G. RFID tecnologie per l'innovazione. *Fondazione Ugo Bordoni*. 2006
113. Tonsor, G. and Schroeder, T. Livestock identification: Lessons for the US beef industry from the Australian system. *J. Int. Food Agribusiness Marketing* 2006.18:103-118
114. Vaca, R.; Sorarrain, N.; Beretta, E.; Nava, S. and Baldo, A. Efecto del temperamento bovino sobre el funcionamiento de sistemas de identificación electrónica en cría extensiva. 1º Encuentro Regional de Investigadores en Bienestar Animal, América. 2009. Valdivia, Chile.
115. Van Rijswijk, W. and Frewer, L. Consumer perceptions of food quality and safety and their relation to traceability. *British Food Journal*. 2008. 110:1034 - 1046
116. Van Ryseghem, B.; Ducasse, S. and Fabry, J. Spec: a Framework for the Specification and Reuse of UIs and their Models In *Proceedings of the 4th International Workshop on Smalltalk Technologies (IWST'12)*, Collocated with ESUG, August 2012.

117. Vazquez, J.; Perez, T.; Urena, F.; Gudin, E.; Albornoz J. and Dominguez A. Practical application of DNA fingerprinting to trace beef. *J. Food Prot.* 2004.67(5):972-979.
118. Vignal, A.; Milan, D.; SanCristobal, M. and Eggen, A. review on SPN and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* 2002, 34:275-305.
119. Wallace, L.; Paterson, J.; Ankney, A.; Clark, R.; Kellom, A. and Harbac, M. Readability of thirteen different RFID ear tags by three different multi-panel reader systems for use in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 2008. 85(Suppl. 2):175.
120. Wang, R.; Myers, M.; Campbell, M.; Cao, W.; Paine, D. and Cerniglia, C. A rapid method for PCR detection of bovine materials in animals' feedstuff. *Molecular and Cellular Probes.* 2000. 14:1-5.

ANEXO

En este anexo se muestra un diseño y su implementación de un sistema de aplicación práctica para la captura y el tráfico de datos de los principales eventos de campo, que permita generar información para la gestión del proceso de producción ganadero.

Se desarrolló un software que permitió manejar el conjunto de los principales datos y acceder a la información relevante de un establecimiento ganadero para contribuir a la mejora de la toma de decisiones.

La programación fue realizada utilizando el lenguaje PHP (Pre Hypertext Processor)

La aplicación se diseñó con la función de conexión para la carga de datos automática desde:

Lector portatil ID&T HHR3000 Pro

Lector fijo con antena EDIT.

Balanza y colector de datos para animales VESTA 3513.

En el caso de la conexión con el lector portátil, este software está diseñado para ser compatible con la programación generada en él (carga de partos, tratamientos, altas, bajas, abortos, tactos y consultas) la cual fue descrita en el OBJETIVO ESPECIFICO 1, considerando que la misma contiene el conjunto de los eventos principales que se deben registrar con los animales libres durante las recorridas que un trabajador realiza cotidianamente por el campo.

Los otros instrumentos, que como el lector portátil, capturan y almacenan los datos en un primer momento, merced a la conectividad diseñada transfieren datos específicamente según la demanda del programa.

El ingreso de la información puede realizarse también en forma manual.

La gestión de la trazabilidad se realiza en atención a la resolución de SENASA 754/2006, permitiendo el registro de un establecimiento y de los animales con todos los datos requeridos por la normativa correspondiente como ser la CUIG, RENSPA, número identificador de cada animal, raza, categoría, entre otros datos. Asimismo, registra las personas que trabajan en el lugar especificando las funciones que desempeñan en el mismo.

A continuación se detallan los datos que se registrarán en cada solapa del software desarrollado (Tabla 18 y figuras 41,42, 43 y 44):

Establecimiento

Es en donde está la posibilidad de elegir con que establecimiento se desea trabajar, la incorporación de uno nuevo a la base de datos y la consulta o modificación de los datos un establecimiento de la base de datos o de sus empleados.

En esta solapa se registrará: el nombre del establecimiento, coordenadas geográficas, domicilio, provincia, partido y localidad. Teléfono, email, pagina web del establecimiento, número de teléfono móvil, fax y una opción para notas.

Además tiene un desplegable para el personal que trabaja en el establecimiento, en donde se registrará el nombre y apellido, documento nacional de identidad, fecha de inicio en el cual comenzó a trabajar y así también fecha ante una eventual finalización del trabajo o jubilación.

Animales

Es en la cual se encuentran “Altas por Nacimiento” en la cual se cargan todos los animales nacidos con la información necesaria para garantizar una correcta trazabilidad, como ser, fecha de nacimiento, el peso, sexo, fecha de identificación, número de identificación electrónica, número de identificación visual (obligatoria para normas SENASA), raza, pelaje.

Además existe la posibilidad de incorporar animales por “compra o traslado” en el cual además de los datos previamente descritos se incluyen datos relativos a su lugar de origen y al medio de transporte utilizado (identificación del transportista, del vehículo, etc.)

Así como ingresan animales al establecimiento, también se los dan de baja, siendo los motivos muerte, robo, venta y traslado; en cada uno de dichos motivos se debe cargar una serie de información relativa al evento como son la causa de muerte aparente y los datos del transporte y transportista que traslada a los animales y con qué destino.

La última opción dentro del ítem “Animales” es la consulta, a través de la cual se pueden ver los datos individuales de los animales existentes en el campo y de su historia a través de los eventos y tratamientos que se le ha realizado.

Gestión de Eventos

Hay diversas posibilidades de carga de información. Mediante la carga manual pueden ingresarse datos sobre los siguientes eventos: Parto, Pesada, Tacto y Tratamiento.

Parto: se registra la fecha, tipo de parto, condición corporal de la vaca, Rp del ternero, sexo del ternero, y toda información necesaria accesoria referida al evento.

Pesada: para registrar los pesajes en forma individual con su fecha respectiva.

Tacto: se registra la fecha, resultado del tacto con opciones pre definidas (preñez cabeza, preñez cuerpo, preñez cola o vacía), condición corporal de la vaca.

Tratamiento: en caso de realizar un tratamiento se deberá cargar en esta solapa, las opciones de tratamiento coinciden con las preestablecidas en el software del lector portátil HHR3000Pro.

Además existe en esta solapa incorporamos la posibilidad de carga automática desde el lector HHR3000Pro y pesadas desde la balanza Vesta 3513. De esta manera con solo pasar el archivo generado desde el lector portátil de radiofrecuencia o desde el colector de datos y

balanza Vesta pasaran de manera automática a la web. Esto resulta muy útil desde el punto de vista de la velocidad de la transferencia de los datos pero sobre todo en la seguridad y garantía que los datos transferidos no sufrirán errores como podrían ocurrir si lo hiciéramos en forma manual (Austin, 1995).

Reportes

A través de la cual se puede emitir el Registro Individual de Tropa, siendo un registro obligatorio para trasladar animales, en el cual se registran individualmente todos los animales que serán trasladados con su caravana oficial de SENASA. Además en esta solapa se puede realizar un listado de animales del establecimiento y un listado de eventos.

Datos del usuario

Como su nombre lo especifica, registra los datos del usuario.

Tabla 18: Diseño de estructura del software

Nombre en Solapa	Desplegable	Desplegable II
Establecimiento	Trabajar con Establecimiento	Personal que trabaja
	Ingresar nuevo Establecimiento	
	Consultar Establecimiento	
Animales	Alta	Nacimiento
		Compra/traslado
	Baja	Muerte
		Venta/traslado
	Consulta	
Gestión de Eventos	Carga Manual	Parto
		Pesada
		Tacto
		Tratamiento
	HHR3000PRO	
	BALANZA VESTA	
Reportes	TRI	
	Listado de Animales	
	Listado de tratamientos	
Datos Usuario	Consulta	
Salir		

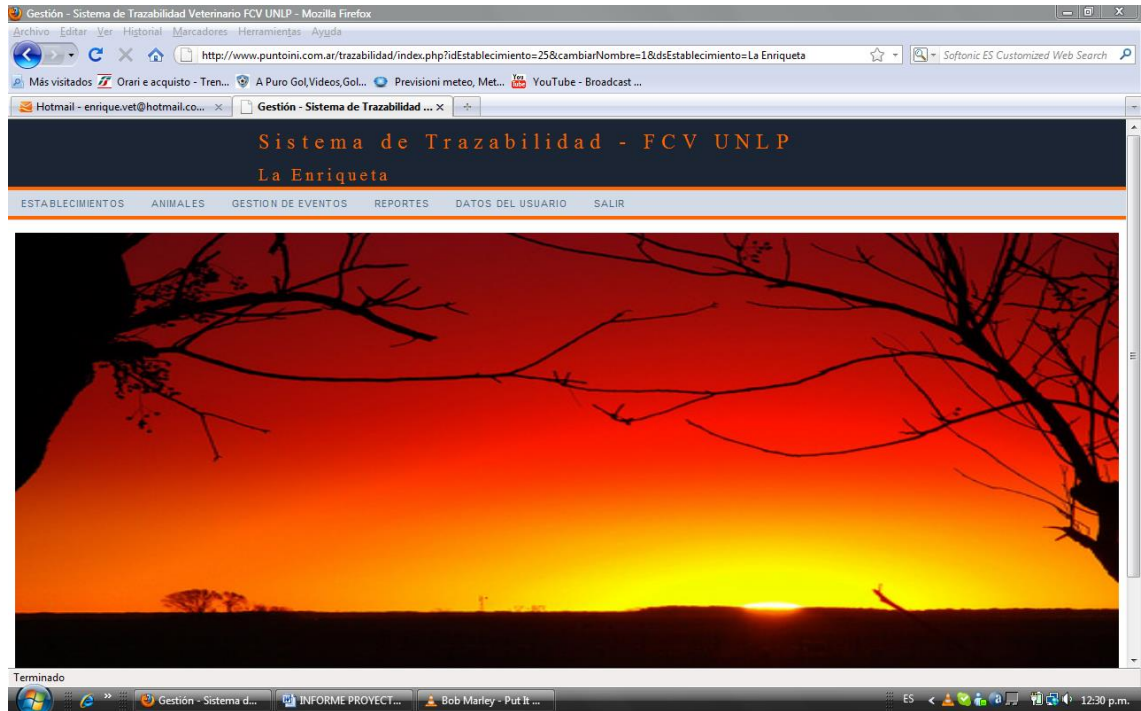


Figura 41: Pantalla principal de software trazabilidad

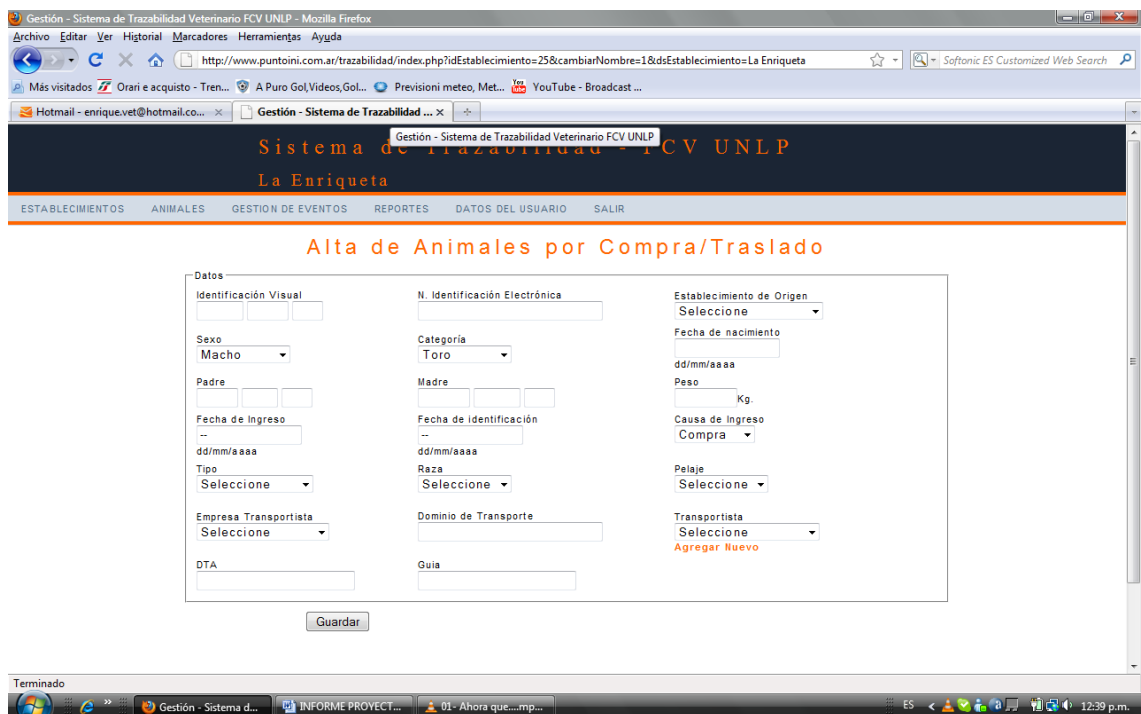


Figura 42: Pantalla para ingresar alta de animales por compra o traslado

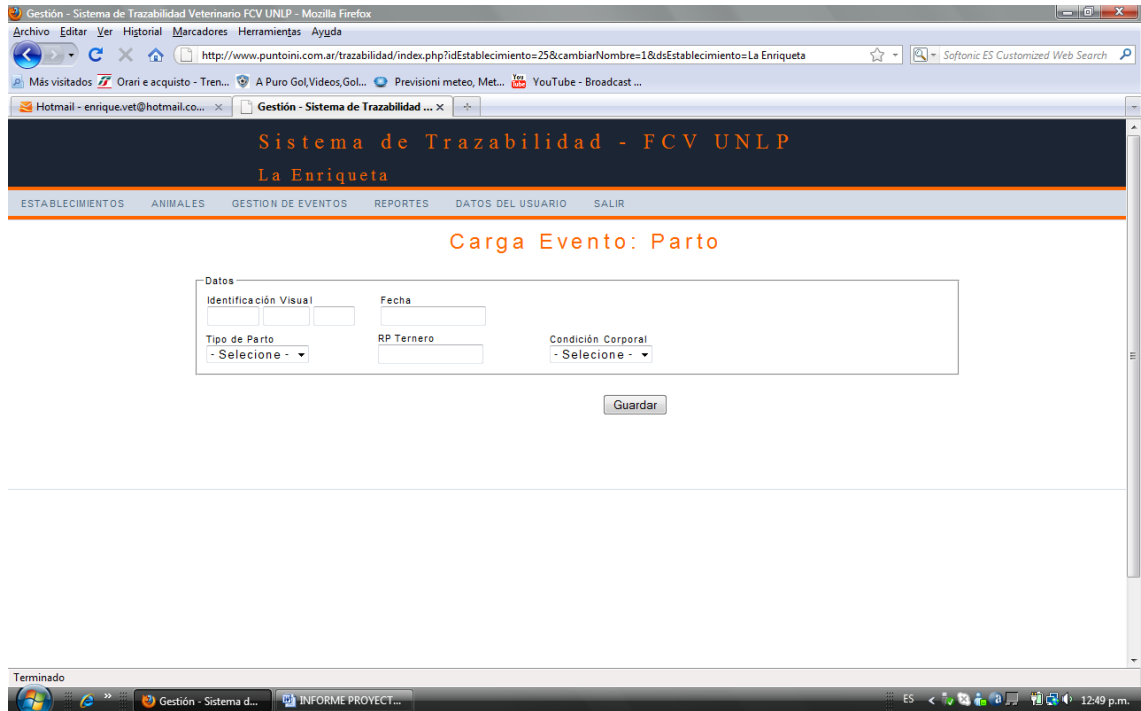


Figura 43: Pantalla para la carga de partos

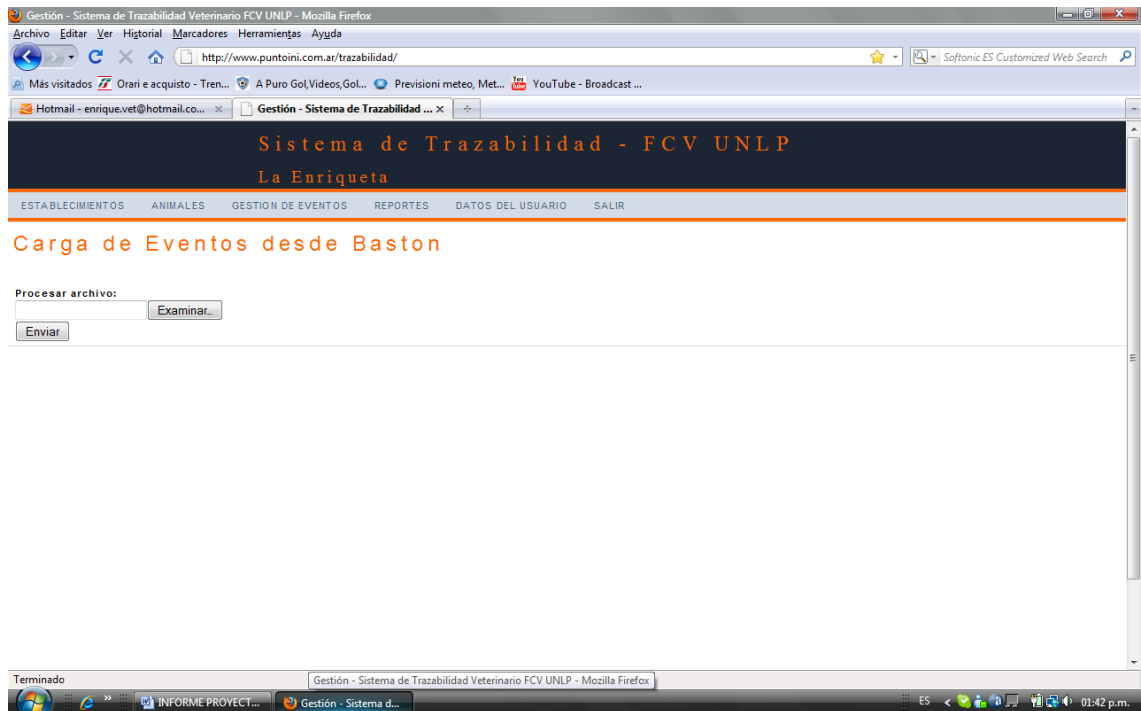


Figura 44: Pantalla para la carga de datos desde lector HHR3000 Pro.

La interconectividad entre el software con el colector de datos-balanza, el lector fijo y el lector portátil facilitarían la captura y el tráfico de datos de forma automática y sin error. Asimismo permitiría la carga manual de todos los datos ante eventuales necesidades.

El software desarrollado facilitaría con una interfaz amigable, obtener la información sin necesidad de estar en el campo, mediante conexión remota vía internet, generando la información de los principales eventos que permiten la gestión del proceso de trazabilidad y la toma de decisiones de gestión del sistema de producción.