



Resultados y Lecciones en
**Monitoreo de
Vacas Lecheras para Control
de Enfermedades**

Proyecto de Innovación en
Región de La Araucanía



Fundación para la Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



Resultados y Lecciones en Monitoreo de Vacas Lecheras para Control y/o Erradicación de Enfermedades



**Proyecto de Innovación en
Región de La Araucanía**

Valorización a septiembre de 2009



SERIE **EXPERIENCIAS DE INNOVACIÓN PARA EL EMPRENDIMIENTO AGRARIO**

Agradecimientos

En la realización de este trabajo agradecemos sinceramente la colaboración de los productores, técnicos y profesionales vinculados al proyecto, en especial a Ricardo Felmer, investigador de INIA Carillanca, y a los señores Luis Paredes, Patricia Lopetegui y Alejandro Rivera, por su valioso aporte en las entrevistas realizadas.

**Resultados y Lecciones en
Monitoreo de vacas lecheras para el control y/o erradicación de enfermedades**
Proyecto de Innovación en la Región de La Araucanía

**Serie Experiencias de Innovación para el Emprendimiento Agrario
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA**

Registro de Propiedad Intelectual N° 223.614
ISBN N° 978-956-328-151-4

ELABORACIÓN TÉCNICA DEL DOCUMENTO
Marcela Aguilera - BTA Consultores S. A.

REVISIÓN DEL DOCUMENTO Y APORTES TÉCNICOS
M. Francisca Fresno R. - Fundación para la Innovación Agraria (FIA)

EDICIÓN DE TEXTOS
Ambios Ltda.

DISEÑO GRÁFICO
Guillermo Feuerhake

Se autoriza la reproducción parcial de la información aquí contenida, siempre y cuando se cite esta publicación como fuente.

Contenidos

Sección 1. Resultados y lecciones aprendidas	5
1. Antecedentes	5
2. Base conceptual de la tecnología	9
2.1. Objetivo general	9
2.2. Fundamento	9
3. El valor de la herramienta tecnológica	10
4. Estrategia de implementación	11
5. Claves de viabilidad.....	14
6. Asuntos por resolver	15

Sección 2. El proyecto precursor	17
1. El entorno económico y social	17
2. El proyecto.....	19

Sección 3. El valor del proyecto	23
---	----

ANEXOS	
1. Literatura consultada.....	26
2. Documentación disponible y contactos	28



SECCIÓN 1

Resultados y lecciones aprendidas

El presente libro tiene el propósito de compartir con los actores del sector, los resultados sobre el desarrollo y evaluación de un sistema para monitoreo a gran escala de las enfermedades de la vaca lechera en Chile, a partir de un proyecto financiado por la Fundación para la Innovación Agraria, FIA.

Se espera que esta información, que se ha sistematizado en la forma de una “innovación aprendida”,¹ aporte a los interesados nuevas herramientas tecnológicas que les permitan mejorar la competitividad de sus sistemas productivos.

► 1. Antecedentes

Los análisis y resultados que se presentan en este documento se originan de la experiencia y aprendizajes derivados de la ejecución del proyecto (“proyecto precursor”²) “Sistema de monitoreo para el control y/o erradicación de enfermedades en vacas lecheras”, ejecutado entre diciembre de 2001 y diciembre de 2004, por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigaciones Carrillanca, en asociación con el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y empresas del sector lácteo.

El objetivo de este proyecto fue desarrollar y evaluar un sistema de monitoreo a gran escala para el control de Brucelosis Bovina, Leucosis Bovina, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) y Diarrea Viral Bovina (DVB), de modo que permitiese a los interesados aumentar la capacidad de vigilancia de estas enfermedades³ en predios de la Región de La Araucanía.

¹ “**Innovación aprendida**”: análisis de los resultados de proyectos orientados a generar un nuevo servicio o herramienta tecnológica. Este análisis incorpora la información validada del proyecto precursor, las lecciones aprendidas durante su desarrollo, los aspectos que quedan por resolver y una evaluación de los beneficios de su utilización en el sector.

² “**Proyecto precursor**”: proyecto de innovación a escala piloto financiado e impulsado por FIA, cuyos resultados fueron evaluados a través de la metodología de valorización de resultados desarrollada por la Fundación, análisis que se da a conocer en el presente documento. Los antecedentes del proyecto precursor se detallan en la Sección 2 de este documento.

³ La Brucelosis, Leucosis, IBR y DBV son las principales enfermedades del ganado bovino lechero en la Región de La Araucanía

La Brucelosis Bovina es una enfermedad contagiosa del ganado bovino, que también se trasmite al hombre. Produce abortos, retención de placenta y producción de crías débiles. El agente causal es la bacteria *Brucella abortus*. Se ubica intracelularmente por lo que no es posible eliminarla del organismo con el uso de antibióticos.

La Leucosis Bovina (LEB) es una enfermedad de distribución mundial, siendo su incidencia mayor en los sistemas de producción de leche. Por esta razón los países desarrollados o con interés en la exportación de lácteos, como Australia y Nueva Zelanda, tienen programas para su control y erradicación. Es provocada por un virus (retrovirus de la leucemia bovina - BLV) que puede llegar a infectar a un elevado porcentaje de los bovinos de un establecimiento. Sin embargo sólo un bajo número de ellos, generalmente mayores de tres años, pueden desarrollar síntomas clínicos de la enfermedad caracterizada por la presencia de tumores (linfosarcoma) y ser mortal. El resto de los bovinos infectados que no desarrollan la enfermedad clínica constituyen la principal fuente de contagio de la infección, puesto que son portadores de por vida del virus.

La Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) es una enfermedad infectocontagiosa de origen viral (Virus Herpes Bovino tipo 1), que puede originar trastornos clínicos de índole respiratorio, oculares de carácter leve o graves, lesiones inflamatorias de tipo pustular en mucosa vulvar, vaginal y uterina, que suelen inducir abortos o nacimiento de terneros con trastornos neurológicos severos con alta mortalidad (SAG, 2009 a).

La Diarrea Viral Bovina (DVB) es una enfermedad infectocontagiosa, de sintomatología variable, causada por un Pestivirus de la familia *Flaviviridae*. Se caracteriza por trastornos respiratorios, diarrea, tormenta de abortos, caída brusca en la producción de leche y muertes súbitas. La enfermedad tiene distribución mundial y la infección es endémica en los rebaños donde ingresa (SAG, 2009 b).

En general, la presencia de estas enfermedades tiene un impacto directo en la producción de los rebaños, por cuanto disminuyen la fertilidad y producción de los animales, produce pérdidas por aborto, alargan el lapso interparto y, fundamentalmente, constituyen barreras sanitarias para la exportación. Aunque Chile posee una condición sanitaria excepcional entre los países latinoamericanos, aún persiste una serie de enfermedades zoonóticas⁴ y no zoonóticas que constituyen barreras para-arancelarias⁵ para la exportación.

Los métodos actualmente empleados en nuestro país para el diagnóstico de las enfermedades de la vaca lechera están basados en la detección, a nivel de muestras de suero o leche, de antígenos específicos de los patógenos o en la detección de anticuerpos dirigidos contra el patógeno. Estos métodos corresponden básicamente a seroaglutinación,⁶ fijación de complemento,⁷ ring test⁸ en

⁴ Una zoonosis es cualquier enfermedad que puede transmitirse de animales a seres humanos.

⁵ Disposición gubernamental que sin fijar un arancel que limite el ingreso de un determinado producto extranjero, tiene efectos semejantes pues restringe su ingreso al exigirle el cumplimiento previo de ciertas especificaciones técnicas o administrativas. Su objetivo es proteger algún sector productivo nacional frente a la competencia comercial extranjera.

⁶ Técnica de aglutinación en suero sanguíneo, donde el suero del animal a testear se pone en contacto con el antígeno de brucela que fue teñido para permitir la visualización macroscópica de la aglutinación, producida al formarse el complejo antígeno-anticuerpo. El resultado es entregado como reacción negativa o positiva.

⁷ Prueba en suero sanguíneo. La reacción del anticuerpo frente al antígeno en la prueba de fijación del complemento se traduce en la formación de un inmunocomplejo, en el cual la unión y fijación del anticuerpo al complemento, traen como consecuencia la activación de la cascada del complemento.

⁸ Prueba del Anillo en leche o Ring Test: Esta técnica permite hacer el diagnóstico de Brucelosis en estanques de leche, al igual que las técnicas en suero, el objetivo es la pesquisa de anticuerpos específicos. Consiste en poner la leche de la cual se busca la presencia de anticuerpos, en contacto con antígeno específico teñido, el cual a través de un proceso de incubación, se unirá al anticuerpo presente en la muestra de leche.

leche e inmunodifusión en gel de agarosa.⁹ Si bien estos métodos poseen sensibilidad y especificidad adecuada para el diagnóstico de ciertas enfermedades, sus características impiden aplicarlos en forma masiva, razón por la cual el proyecto planteó introducir un sistema de vigilancia de amplia cobertura, aplicable a las enfermedades de mayor importancia en la región, mencionadas anteriormente.

El sistema a introducir está basado en el uso de la técnica ELISA,¹⁰ que permite detectar semi-cuantitativamente la presencia de inmunoglobulinas¹¹ específicas a los patógenos causantes de estas enfermedades, directamente en muestras de sangre o leche, sea esta última de animales individuales o de estanque predial. Esto es de gran relevancia, ya que permite monitorear a bajo costo la situación del rebaño en el tiempo, facilitando la adopción de medidas de control cuando se detecta el brote de alguna enfermedad. Las ventajas directas de contar con un sistema basado en esta tecnología son los menores costos de análisis, la posibilidad de contar con un plan de vigilancia de gran cobertura, posibilidad de automatizar los análisis y la generación de información que permita priorizar acciones tendientes al control de estas enfermedades.

Prevalencia enfermedades de rebaños lecheros en el país

Según el informe realizado por el SAG el año 2006 respecto a la situación sanitaria animal en Chile, hubo un alto número de denuncias de enfermedades y/o patologías (27), además de un gran número de población animal expuesta a contagio e infectada con DVB e IBR. En tanto, Leucosis y Brucelosis muestran una menor cantidad de denuncias, con una reducida población expuesta y afectada. La existencia de planes nacionales para controlar y erradicar las dos últimas enfermedades, son la causa de los menores parámetros en comparación con las cantidades asociadas a DVB e IBR.

TABLA 1. Denuncias y población expuesta y/o afectada, según enfermedades y patologías infecciosas. Diagnosticadas en bovinos el año 2006.

	Denuncias	Población expuesta	Población afectada
DVB	12	2.176	25
IBR	10	1.081	28
Leucosis	2	42	2
Brucelosis	3	180	4

Fuente: SAG, 2006.

En esta misma línea, según el informe sobre los avances de la erradicación de Brucelosis bovina en Chile realizado por el SAG, el objetivo del proyecto de control de la Brucelosis bovina fue disminuir la prevalencia de esta enfermedad de 7% a 3%, en un periodo de tres años, lo cual se logró empleando como única estrategia la vacunación de terneras entre 3 y 8 meses de edad. Así mismo,

⁹ Cuando un anticuerpo es puesto en contacto con el antígeno correspondiente, se forman complejos antígeno-anticuerpo que se insolubilizan en su mayor parte, dando lugar a una reacción de precipitación. Empleando soportes adecuados es posible que los antígenos y anticuerpos migren con diferentes velocidades, de modo que al encontrarse interaccionen y precipiten. La inmunodifusión en gel de agarosa permite identificar las bandas de precipitación mediante el empleo simultáneo de antígenos y anticuerpos conocidos.

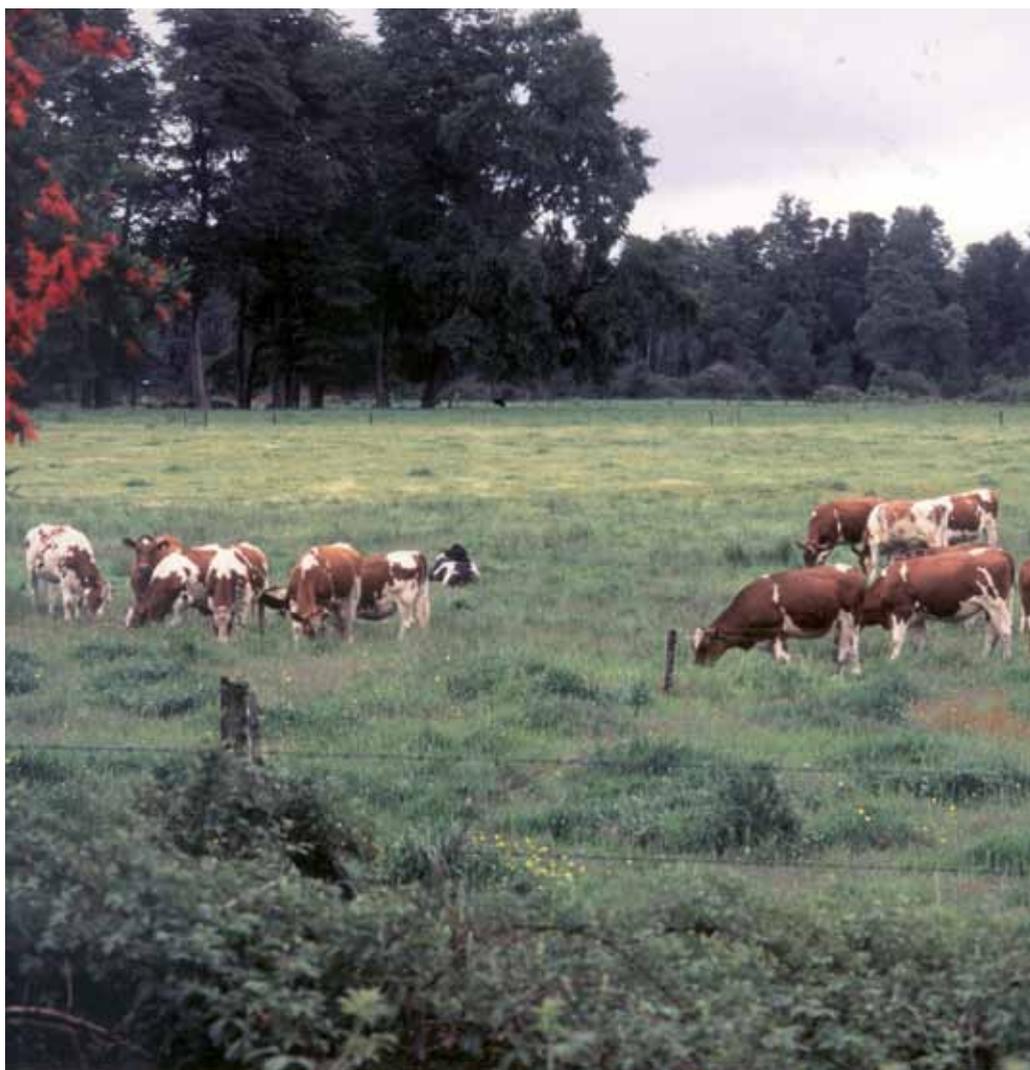
¹⁰ ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color o algún otro tipo. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra.

¹¹ Las inmunoglobulinas son glicoproteínas que actúan como anticuerpos. Pueden encontrarse circulando en sangre, en las secreciones o unidas a la superficie de las membranas de los linfocitos B. Las inmunoglobulinas se producen como respuesta a la detección de moléculas extrañas en nuestro cuerpo. Estas moléculas extrañas que desencadenan la producción de anticuerpos se denominan antígenos.

entre los años 1976 y 1982 la disminución de la prevalencia fue de un 4,1% alcanzando la meta propuesta al inicio del programa. Aunque se pudo observar una escasa disminución en el periodo comprendido entre 1982 y 1991.

Sin embargo, un estudio de prevalencia del año 1991 a nivel predial, arrojó un 20,8% nacional, en el que destaca la Región Metropolitana con un 34%. En tanto, la Región del Maule mostró un 11,5%, la Región de La Araucanía un 14,6% y la Región de Los Ríos y Los Lagos, un 26,8%. Estas cifras fueron el detonante que generó la implementación del programa de erradicación de Brucelosis bovina.

En cuanto a los resultados en la zona sur (Maule a Los Lagos), las acciones comenzaron en 1996. El sistema de vigilancia instaurado se focalizó en la leche que se entrega a plantas lecheras y centros de acopio. Para este efecto, todas las plantas lecheras deben examinar trimestralmente la leche entregada por cada uno de sus proveedores, mediante la actual prueba de ring test, la que determina en definitiva la condición frente a la brucelosis por parte de los rebaños. Este procedimiento ha permitido a los pequeños productores de leche conocer su situación y, en el caso de que se confirme que están infectados, comenzar su saneamiento. (SAG, 2005)



► 2. Base conceptual de la tecnología

2.1. Objetivo general

El propósito fue introducir un sistema de monitoreo a gran escala y de bajo costo de las enfermedades de la vaca lechera, validado internacionalmente y empleado con éxito en países con gran desarrollo en la industria lechera. La metodología de este sistema se basa en la inmuno-detección mediante el test de ELISA, que detecta los anticuerpos específicos para las enfermedades más recurrentes de los planteles lecheros, que se encuentran en las muestras de leche recolectadas en el tanque predial.

Este sistema permite disminuir los costos de vigilancia al aplicarse métodos automatizados de análisis a una muestra que representa a un gran número de animales, evitándose en una primera fase el muestreo y análisis individual.

2.2. Fundamento

Chile es reconocido internacionalmente por poseer una buena situación sanitaria, pues el país ha podido alcanzar y mantener el estado de oficialmente libre de las principales enfermedades de la lista de la OIE (Organización Internacional de Epizootias),¹² incluyendo la fiebre aftosa y la peste porcina clásica. Sin embargo, aún coexisten en nuestros rebaños bovinos una serie de enfermedades, las cuales tienen un directo impacto en la producción, por cuanto disminuyen la fertilidad, producen pérdidas por aborto, alargan el lapso interparto y fundamentalmente constituyen barreras sanitarias para la exportación. Si bien la prevalencia e impacto económico de algunas de estas enfermedades no están claros, existen estudios e informes que evidencian prevalencias altas en diversas regiones y sectores del país, como en el caso de la Diarrea Viral Bovina (DVB), Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) y Leucosis (Arch. Med. Vet., 2009).

Actualmente, en nuestro país, los sistemas de vigilancia para las diferentes patologías son confiables; sin embargo, su naturaleza no permite aplicarlo en forma masiva al ganado lechero sin elevar al mismo tiempo los costos de muestreo y análisis. Esto por cuanto las características de los análisis actuales requieren muestras individuales de suero de cada animal, y por lo tanto impiden una vigilancia adecuada de toda la masa susceptible de contagios.

Diversos estudios en Europa han demostrado la factibilidad de diagnosticar algunas de las principales enfermedades del ganado bovino a partir de las inmunoglobulinas presentes en la leche, permitiendo de esta forma controlar el rebaño lechero mediante el método de ELISA aplicado a la detección de anticuerpos presentes en la leche del estanque predial.

Este sistema ELISA ha mostrado poseer una mayor sensibilidad y especificidad que los métodos tradicionales de diagnóstico, permitiendo además su automatización para realizar la vigilancia de los rebaños a un costo mucho menor. Más aún, algunos de los métodos desarrollados ya han sido reconocidos como métodos oficiales en Estados Unidos, Canadá y otros países de Europa y son recomendados actualmente por la OIE para su incorporación en programas de control y prevención de enfermedades (Arch. Med. Vet., 2009).

¹² La epizootia es una enfermedad contagiosa que ataca a un número inusual de animales al mismo tiempo y lugar y se propaga con rapidez.

► 3. El valor de la herramienta tecnológica

La OIE estableció y aprobó una lista de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres, válidas para el comercio internacional (Tabla 2).

Para el caso de la Brucelosis, es posible observar que las pruebas prescritas son la prueba con antígeno tamponado de *brucella* (BBAT), fijación del complemento (FC), prueba de polarización de la fluorescencia (FPA) y ELISA. En tanto, para Leucosis las pruebas corresponden a inmunodifusión en gel de agar (IGDA), usada en Chile, y también ELISA. Para Rinotraqueítis es necesaria la prueba de neutralización vírica (NV), identificación del agente y ELISA. Finalmente, para la Diarrea Vírica es precisa la identificación del agente.

En forma adicional, algunos países han ido incorporando en sus sistemas de vigilancia de enfermedades nuevas herramientas de diagnóstico, tales como la reacción de la polimerasa en cadena (PCR), que permite un diagnóstico directo y complementario. Esta prueba posee la capacidad de diferenciar entre anticuerpos maternos pasivos de los adquiridos en una infección activa, proporcionando así evidencia de la infección en la etapa pre-seroconversión,¹³ resultados que en cualquier prueba serológica (incluyendo ELISA) no se pueden hallar.

TABLA 2. **Lista de pruebas de diagnóstico para el comercio internacional**

Nombre de la enfermedad	Pruebas prescritas	Pruebas alternativas
Brucelosis Bovina	BBAT, FC, ELISA, FPA	-
Leucosis Bovina Enzoótica	IGDA, ELISA	-
IBR	NV, ELISA, identificación de agente	PCR
DVB	Identificación de agente	-

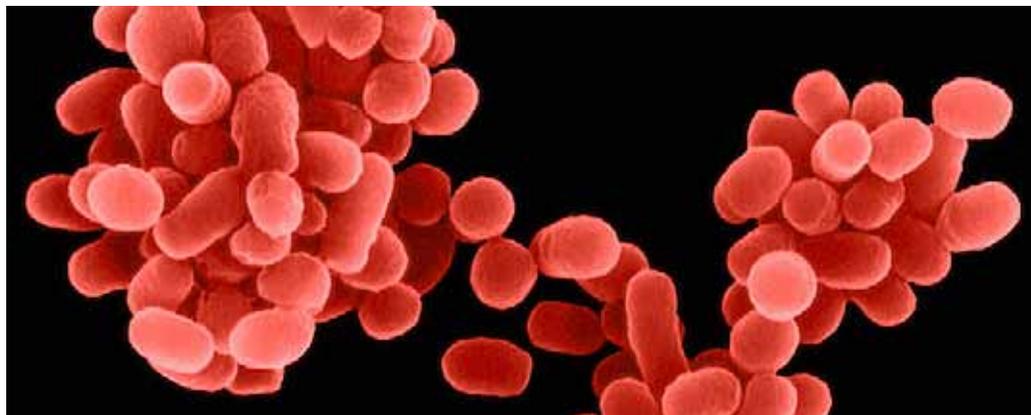
Fuente: Elaboración de BTA, con datos de OIE.

La presencia y validación de la prueba de ELISA, para tres de las cuatro enfermedades analizadas en el proyecto precursor, dan cuenta que el sistema de monitoreo de enfermedades basado en ELISA se encuentra validado a nivel mundial, permitiendo además el buen curso del comercio internacional según la OIE.

El método de ELISA que se aplica detecta a los anticuerpos (inmunoglobulinas) presentes en la leche del estanco predial. Esto es posible gracias a que la ubre bovina contiene en la leche inmunoglobulinas, tales como IgG, IgM e IgA, específicas contra estas enfermedades. De esta forma, en Suecia por ejemplo, se ha conseguido controlar la BVD, Leucosis Bovina e IBR del rebaño lechero, mediante la masiva aplicación de la técnica de ELISA desde la leche de los estanques, encontrándose este país muy próximo a erradicar estas enfermedades. Esta experiencia de control y posterior vigilancia de las enfermedades se puede introducir en Chile, considerando preferentemente el método ELISA automatizado para placas de laboratorio, lo que permite el análisis de una gran cantidad de muestras.

El procedimiento a través del cual el método de ELISA detecta las enfermedades mencionadas anteriormente, es el siguiente: el agente infeccioso es fijado (p.ej. la bacteria *Brucella abortus*) a pocillos de microplacas de poliestireno; luego se agrega el suero sospechoso (de leche o sangre) que puede tener anticuerpos de un bovino positivo a brucelosis; y finalmente, se agrega otro suero que contiene anticuerpos específicos contra los anticuerpos del suero sospechoso que se está probando. Estos anticuerpos vienen, a su vez, adheridos a una enzima coloreada. Si la muestra es

¹³ Etapa previa a la demostración de la presencia de anticuerpos específicos para un antígeno concreto en el suero de un individuo, previamente negativo para dicha especificidad antigénica.



positiva a brucelosis, se forma el complejo *antígeno-anticuerpo*: *Brucella abortus* + anticuerpos del animal positivo + anticuerpo antisuero bovino + enzima. Debido a la enzima, todo el medio líquido dará una coloración intensa que es proporcional a la cantidad de anticuerpos detectados en el suero sospechoso.

El sistema de monitoreo basado en la inmunodetección por ELISA puede proporcionar antecedentes específicos significativos sobre la prevalencia de enfermedades a un costo relativamente bajo, ya que se evita la ida a terreno de un médico veterinario para la toma de muestras, cuyo componente es costoso dentro de cualquier proyecto de naturaleza similar. Por último, la factibilidad de determinar la presencia de anticuerpos directamente de una muestra de tanque predial representa un ahorro sustantivo de análisis, ya que permitiría un monitoreo de todos los predios, antes de seleccionar a aquellos con reacción positiva y así focalizar el seguimiento directamente de cada animal.

► 4. Estrategia de implementación

En primer lugar, el desarrollo del sistema de monitoreo basado en la técnica de ELISA, en muestras de leche recolectadas del tanque predial, involucra un trabajo arduo en terreno para obtener información sobre la existencia de los predios de manera general, y también para reconocer predios que entreguen muestras de leche de tanque predial contagiadas con Brucelosis, Leucosis, IBR o DVB. Es por esto que se deben establecer redes de contacto con instituciones de carácter público como el SAG y también con privados involucrados en la cadena de producción (asociaciones de productores, laboratorios, etc.), con el objeto de contar con una base de datos con estas características. Además, para complementar estas actividades es también recomendable, gracias al aporte de la tecnología, por ejemplo con el sistema GPS, reconocer la distribución geográfica de los predios a través de visitas a terreno.

Si bien la capacidad instalada, ya sea de carácter público o privado ya existe, es fundamental recomendar la presencia de laboratorios equipados para la recepción de las muestras provenientes de los tanques prediales para los posteriores análisis, además de la presencia en la zona de monitoreo de profesionales con capacidades para actuar en esta área de trabajo. Los laboratorios del INIA Carrillanca y los que posee la empresa COOPRINSEM¹⁴ son ejemplos de centros capaces de recibir las muestras y desarrollar óptimamente los análisis de muestras posteriores.

¹⁴ Cooperativa al servicio del sector agropecuario, que provee tecnologías, servicios y productos para maximizar la rentabilidad de sus socios y clientes.

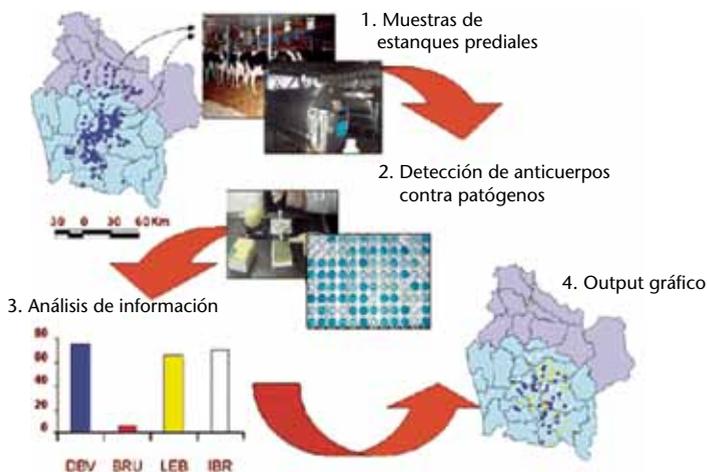
Siguiendo el punto anterior, la conexión y transferencia de conocimientos entre profesionales, en este caso biotecnólogos y veterinarios, es vital para la continuidad de estas líneas de trabajo para la difusión y desarrollo a nivel país del sistema de monitoreo propuesto.

Dada la distribución amplia de los productores lecheros, por ejemplo en la Región de La Araucanía, es necesario contar con una logística que permita la recolección de muestras. El proyecto precursor contó con la ayuda de los camiones recolectores de plantas recibidoras de leche, lo que permitió contar con una buena base de muestras para la realización de los análisis. También es importante contar con un sistema de trazabilidad que entregue información sobre la procedencia de las muestras durante el tiempo de análisis, para observar los cambios, apariciones y movimientos de las enfermedades de importancia, con el objetivo de controlarlas de manera eficaz y eficiente. En el proyecto precursor, en un primer momento, se clasificó a los rebaños de acuerdo a las plantas recibidoras de leche con que trabajaban sus dueños. No obstante, dada la movilidad de los productores entre distintas empresas, se produjo un obstáculo para el seguimiento de las muestras que provocó, como consecuencia, un cambio en la manera de realizar este trabajo. Es así como los ejecutores del proyecto, en conjunto con el Servicio Agrícola Ganadero (SAG), y la implementación del Rol Único Predial (RUP), lograron identificar y llevar a cabo un seguimiento de las muestras provenientes de los estanques prediales.

En cuanto a la técnica de análisis ELISA, será fundamental estandarizarla de acuerdo a los protocolos y recomendaciones descritos en los manuales de los kits¹⁵ de las empresas proveedoras. Los procedimientos deben ser siempre los mismos, variando sólo la placa con antígeno específico empleada y el modo de aplicación de muestra, de acuerdo a diferencias en los formatos de análisis. Es recomendable, por tanto, la capacitación de los encargados de recibir y analizar las muestras con las empresas proveedoras de los kits.

Por último, para que el modelo se pueda implementar dentro del país será importante su difusión, para que los productores lecheros, plantas recibidoras de leche e instituciones estatales encargadas de la vigilancia de enfermedades de la vaca lechera, se vayan familiarizando con la propuesta y los resultados que el sistema de monitoreo en base a la inmunodetección por ELISA es capaz de generar.

FIGURA 1. Esquema de vigilancia basado en ELISA



Fuente: INIA, 2005.

¹⁵ Conjunto de elementos necesarios para realizar el montaje completo de un aparato, en este caso para el montaje de la técnica de diagnóstico de la enfermedad.

Requerimientos técnicos

Un sistema de monitoreo de control y erradicación de enfermedades que afectan a la vaca lechera debe ser aplicado por un servicio público, ya que éstos son los encargados de la vigilancia de una zona geográfica determinada. También puede ser mediante un programa asociativo público-privado de beneficio mutuo, con aportes de recursos de ambas partes, para enfrentar en primera instancia la alta inversión de implementar un sistema basado en la técnica de ELISA a partir de muestras de leche provenientes del tanque predial.

En Chile existen zonas geográficas con gran prevalencia de DVB e IBR y, en menor grado, se encuentran áreas con presencia de Leucosis y Brucelosis, cuya disminución ha sido gracias a los planes de erradicación del SAG. En tanto, el modelo propuesto requiere de una coordinación general entre todos los actores involucrados en esta tarea, tales como el Estado, que a través del SAG debe controlar y erradicar estas enfermedades, favoreciendo y mejorando a su vez la sanidad del rebaño y su productividad.

En el proyecto se plantea la intervención de una amplia superficie, debido a que está dirigido a monitorear enfermedades a gran escala, por lo tanto es necesario el aporte de registros de datos que permitan, entre otras cosas, la creación de una base de datos gestionada que cuente con el número de productores de la región, número de vacas por predio y datos de producción, entre otros. Para esto, es necesaria la adquisición del sistema GPS que permita conocer el geoposicionamiento de las lecherías. Además, se propone una implementación gradual que comience en una zona determinada, para luego ir replicando la experiencia e ir añadiendo los frutos del aprendizaje de las primeras prácticas para, finalmente, establecer el sistema de manera regional antes de su instauración como plan de vigilancia a nivel nacional.

Asimismo, es necesario realizar cambios profundos en la manera de enfrentar el control de enfermedades, estableciendo intercambio de conocimientos entre profesionales, en este caso los ligados a la producción animal, veterinarios y biotecnólogos, principales impulsores de estas técnicas de muestreo. Del mismo modo, universidades, industria, productores, centros de investigación, empresas proveedoras de las bases tecnológicas de este proyecto y el Estado deben coordinar el traspaso permanente de conocimiento y difusión del modelo propuesto, para evaluar y actualizar el sistema, en función de los constantes desafíos que presentan las enfermedades que afectan a la vaca lechera en el país.

Dada la experiencia con que cuenta el SAG en los planes de control y erradicación de enfermedades y la cobertura que como servicio de vigilancia tiene en el territorio nacional, será necesario que la gestión de los avances de las áreas geográficas que puede cubrir este sistema de monitoreo y el seguimiento de los predios y tanques prediales analizados puedan ser parte de algunas de sus tareas. En tanto, los trabajos de análisis y recepción de muestras, al igual que en el proyecto precursor, pueden ser ejercidas tanto por centros de investigación como por empresas privadas; en ambos casos se contaría con laboratorios y recursos humanos capacitados para llevar a cabo el trabajo del análisis de muestras. No obstante, es necesaria para la eficacia de los análisis una capacitación a estos actores por parte de las empresas proveedoras, con la finalidad de optimizar el uso de los kits de diagnóstico.

Además, el que las plantas lecheras presenten la ventaja de estar permanentemente cerca de los rebaños a través de los recorridos que realizan en los distintos predios lecheros del país, refleja que este sistema exige ser coordinado y asociado, ya que la logística de recolección de muestras a gran escala es un punto vital para el seguimiento, detección de rebaños infectados, y el movimiento de animales y enfermedades que pueden afectar la producción lechera.



Finalmente, será necesario contar con insumos de laboratorios, entre los cuales destacan el detector de ELISA y lavador de microplacas, cámara de flujo laminar e insumos de uso general. Dentro de los insumos de laboratorio, los más importante y de mayor valor son los *kits* de diagnóstico que detectan las enfermedades buscadas a través de la técnica de análisis ELISA. Posteriormente, luego de la adquisición de los insumos, será necesaria la puesta a punto de los equipos. En el caso del lector de microplacas, se debe establecer la conexión a un computador, en el que se realizarán lecturas de prueba a soluciones y diluciones de dicromato de potasio. De acuerdo al proyecto precursor, el equipamiento y profesionales necesarios para abarcar en este caso los predios de la novena región, son los descritos para un solo laboratorio similar al usado por INIA Carrillanca en la ejecución del proyecto.

► 5. Claves de viabilidad

- **Proveedores de *kits*.** La presencia de proveedores de *kits* necesarios para realizar los análisis que alerten la presencia de enfermedades dentro del territorio nacional, es clave para la viabilidad del sistema de monitoreo, ya que permite una presencia permanente de estos insumos dentro del mercado, favoreciendo que los laboratorios ofrezcan un servicio a tiempo que será vital para el éxito del negocio.
- **Coordinación pública-privada.** La coordinación exitosa entre SAG, productores lecheros y empresas lácteas será fundamental para la viabilidad del sistema, dado que así es posible solucionar desafíos de logística, en el caso de la recolección de muestras. Además se logrará, a través de la información recopilada de los productores, la consolidación de una base de datos que permita reconocer de forma óptima los predios con enfermedades y la aparición de enfermedades de interés por erradicar. Y que, en definitiva, permita desarrollar un sistema orientado a observar y cuantificar la evolución de estos factores, con el objetivo de poder direccionar los esfuerzos de erradicación de enfermedades que afectan a la vaca lechera.
- **Laboratorios habilitados.** La existencia de laboratorios competentes a nivel de infraestructura, equipos y profesionales, será vital para el desarrollo del proyecto, ya que esto permite que los análisis de las muestras sean efectuados con rigurosidad y soporte, favoreciendo la entrega de resultados certificados con una procedencia validada.

► 6. Asuntos por resolver

Dentro de los primeros aspectos a solucionar, se encuentra la inexistencia de una base de datos en la zona monitoreada por el sistema propuesto. De acuerdo a la experiencia del proyecto precursor, es necesario contar con información sobre el número de productores de la región, número de vacas por predio, y producción, entre otros. Es por esto que resulta necesario en las zonas lecheras del país establecer redes de contacto para el levantamiento de información, que generen una plataforma sólida para crear la base de datos planteada.

El segundo aspecto por abordar tiene relación con la adquisición de los *kits* para lograr los análisis a través de ELISA. Dado que se trata de elementos desarrollados fuera de Chile, se hace necesario el arribo de empresas proveedoras de esta tecnología o contar con los contactos necesarios en las empresas de los países de origen, para obtener así los *kits* de manera directa a través de la importación.

Un tercer punto tiene que ver con la validación del sistema de monitoreo a nivel nacional por parte de la autoridad, que en el caso de Chile es el SAG, y cuyo propósito será poder convertirse en una real alternativa para controlar o erradicar las enfermedades descritas anteriormente, replicando de esta manera el éxito de su implementación, principalmente en países nórdicos. El alto costo de su implementación parece ser la gran barrera a superar para llevarlo adelante. Dado que el sistema ha sido validado internacionalmente y forma parte de los planes de vigilancia de enfermedades, hoy existen empresas nacionales que realizan el servicio de detección de enfermedades basado en ELISA, lo que pone de manifiesto que el uso de este sistema de detección dentro del mercado nacional es permitido. Por tanto, la validación definitiva dependería del cumplimiento de todos los protocolos que tiene el SAG, como autoridad encargada de validar la vigilancia de todos los sistemas de sanidad animal que se utilizan dentro del territorio nacional.

SECCIÓN 2

El proyecto precursor

► 1. El entorno económico y social

Región de La Araucanía

La Región de La Araucanía se extiende entre los 37° 35' y 39° 37' de latitud sur, y limita al norte con la Región del Bío Bío, al este con Argentina, al sur con la Región de Los Lagos y al oeste con el Océano Pacífico. Su superficie es de 31.858,4 km², que representa el 4,2% del territorio nacional continental. Administrativamente, su capital es Temuco, y comprende las provincias de Malleco y Cautín, que incluyen un total de 32 comunas, entre las que se encuentra Lonquimay.

Su población total es 917.927 habitantes;¹⁶ la población urbana es de 627.923 habitantes (68% de la región) y la población rural es de 290.004 habitantes (32%).

La Región de la Araucanía es la zona donde se concentra la mayor cantidad de mapuches, con 203.221 personas, que representan el 33,63% de esa etnia; la que se encuentra concentrada en la Provincia de Cautín (al sur), con el 83,9% de toda la población mapuche de la región, así como el 76,9% de toda la población regional.

Las principales comunas donde se concentra la población mapuche son, además de Temuco, Padre las Casas, Nueva Imperial, Freire, Saavedra, Lautaro, Villarrica, Galvarino, Carahue y Vilcún. En estas 10 comunas está el 66,5% de la población mapuche de la región, y el 22,4% de toda la población mapuche del país.



¹⁶ INE, datos estimados al 30 de junio de 2005.

La región aporta el 2,4% al PIB nacional,¹⁷ siendo los servicios personales, la industria manufacturera y el sector silvoagropecuario sus principales actividades económicas.

La actividad silvoagropecuaria representó el 11,3% del PIB regional en el 2006, siendo muy superior al promedio nacional de 3,9%, contribuyendo finalmente en un 7% al PIB silvoagropecuario nacional. En la región se destacan los cultivos tradicionales de cereales como trigo, avena, cebada y centeno, además de lupino y papa. También es significativa la producción pecuaria, especialmente el rubro de bovinos.

Otra área que ha experimentado un crecimiento en los últimos años es la actividad forestal, principalmente en la provincia de Malleco.

Además, la región posee un enorme potencial turístico debido a la gran belleza de su paisaje, conformado por bosques, volcanes y montañas.

En relación a la ganadería, esta región posee aproximadamente 1.000.000 de hectáreas de praderas de excelente calidad, que constituyen la base de la crianza y alimentación del ganado bovino y ovino, principalmente. De forma incipiente y promisoría, se han generado instancias de crianzas de otras especies animales exóticas, tales como ciervos, jabalíes, faisanes y emús. Estos antecedentes, sumados a la sanidad de la crianza regional, libre de enfermedades imposibles de erradicar en otras partes del mundo, dan cuenta del alto potencial de este rubro regional, que se proyecta como un nuevo polo de desarrollo productivo en la zona.

Respecto al número de cabezas de ganado bovino, la región ocupa el segundo lugar después de la Región de Los Lagos, con 668.140 cabezas que corresponden al 18% de las existentes en el país, de acuerdo a los datos registrados en el Censo Agropecuario 2007. Además, en la región existen 37.634 explotaciones de las cuales un 25,5% corresponden a carácter lechero, lo que indica la presencia de aproximadamente 9.596 explotaciones lecheras.

En relación a la producción de leche, y de acuerdo a FEDELECHE, la recepción de leche fresca por empresa en la Región de La Araucanía alcanzó 239,7 millones de litros el año 2007, concentrándose principalmente en la empresa Surlat con un 51% de participación con relación a la recepción.

Caracterización de los beneficiarios

Los potenciales beneficiarios del proyecto precursor, son todos los productores de leche de la Región de La Araucanía, principalmente del valle central y precordillera; los que ven disminuidas las producciones y fertilidad de sus rebaños, obteniendo un producto de menor calidad y de menor precio.

De acuerdo a los resultados del proyecto precursor, en la región hay una clara predominancia de lecherías con menos de 50 vacas, alcanzando un 55,4% del total de predios. El resto del tamaño de predios se distribuye de manera similar entre aquellos que poseen entre 50-100; 100-150 y más de 150 vacas. No obstante, aquellos predios que tienen más de 150 vacas concentran más del 58% del total de vacas lechera. Este sistema, si es implementado como plan de cobertura nacional, podría beneficiar a la totalidad de los productores, independiente del tamaño de rebaños recién descrito.

Paralelamente, otro beneficiario sería la industria lechera que podría obtener una materia prima de mejor calidad y en consecuencia ofrecer mejores productos.

¹⁷ Banco Central de Chile, Cuentas Nacionales. Estadísticas 2006.



► 2. El proyecto

La validación del modelo de desarrollo de un sistema para el monitoreo a gran escala de las enfermedades de la vaca lechera (Brucelosis, Leucosis, IBR y DBV), basado en la inmunodetección por ELISA de anticuerpos específicos presentes en muestras de leche recolectadas en el tanque predial, surge de la ejecución de un proyecto financiado por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), el cuál fue ejecutado entre el 20 de diciembre del año 2001 y el 20 de diciembre del año 2004.

El modelo desarrollado contiene información fundamental para introducir las bases tecnológicas de un sistema de monitoreo de amplia cobertura, aplicable para detectar las enfermedades señaladas anteriormente basado en el uso de la técnica de ELISA. Dentro de las ventajas directas de contar con este sistema, se encuentran principalmente: el menor costo de los análisis, la posibilidad de contar con un plan de vigilancia de gran cobertura y poder automatizar los análisis, favoreciendo a su vez la generación de información que permita priorizar acciones tendientes al control de estas enfermedades.

Paralelamente, el proyecto precursor contempló realizar una comparación de sensibilidad y especificidad analítica de *kits* comerciales desarrollados para detectar anticuerpos contra *Brucella abortus*, virus de la leucosis bovina enzoótica, virus causante de IBR o contra el virus de la diarrea bovina viral en muestras de leche. De manera específica, el proyecto precursor buscó establecer los límites del sistema de detección de anticuerpos en muestras de tanques prediales, en función de títulos de anticuerpos y número de animales por tanque, a través de la simulación experimental. Además, a través del proyecto se correlacionó el sistema de detección de anticuerpos en leche de tanque predial, mediante el análisis comparativo de los resultados ELISA con el verdadero estado de salud del rebaño, establecido a través de pruebas respectivas acreditadas por el SAG.

Finalmente, el modelo tuvo como objetivo monitorear la presencia de Brucelosis, Leucosis, IBR y DBV, en muestras representativas de los tanques prediales de la Región de La Araucanía y de tanques prediales en control lechero en INIA-Carrillanca, en función de las capacidades analíticas del sistema, además de asociar eventuales cambios de reacción a aparición de nuevos contagios o movimientos de animales. Así como también transferir los resultados de la presente investigación a los productores e industrias del rubro, de manera que pudiesen conocer y evaluar el potencial de esta nueva tecnología.

Desarrollo del proyecto

El desarrollo del proyecto se efectuó a través de numerosas actividades durante los tres años de duración del proyecto.

Año 2002

El primer paso fue la adquisición de equipos de laboratorios, *kits* e insumos. Esta tarea fue realizada directamente por FIA con ayuda del SAG de Santiago, los que se ocuparon de la provisión de antígenos y muestras de suero, montando posteriormente las técnicas de cada tipo de enfermedad, para realizar finalmente los análisis. En cuanto a los *kits* utilizados para las pruebas de sensibilidad y especificidad, se usaron los *kits* comerciales HerdCheck® (IDEXX, USA) y Svanovir® (Svanova, Suecia), fundamentalmente porque estos dos *kits* corresponden a los de mayor difusión y utilización en el mundo. Aunque existían otras alternativas, éstas no tenían el respaldo ni el soporte de estas dos marcas, por lo que no se consideró necesario evaluarlas.

El resultado de esta serie de actividades fue la implementación de un laboratorio con moderna tecnología para el diagnóstico de salud animal en INIA Carrilanca. Al mismo tiempo, se identificaron los predios y se tomaron muestras para el estudio de especificidad, de acuerdo a información entregada por el SAG de la Región de La Araucanía, que colaboró entregando información de predios candidatos para Brucelosis. El resultado de la identificación de los predios se reflejó en la detección de la existencia de animales que presentaban diferentes patologías infecciosas.



Equipos adquiridos (Lavador de microplacas y lector de ELISA)



Técnico cargando muestras de leche en una placa ELISA.

Finalmente, en el segundo semestre del año, luego de identificar animales seropositivos y seronegativos para todas las enfermedades en estudio, se procedió a estudiar la sensibilidad analítica de los *kits* para la detección de anticuerpos propios de las enfermedades infecciosas y cuyo resultado arrojó la inexistencia de diferencias significativas entre las dos marcas probadas. De la misma manera, se favoreció el estudio de especificidad a través de la obtención de muestras individuales, que tenían como objetivo evaluar un panel de muestras de animales positivos a distintas condiciones que en nuestro medio se presentan con frecuencia y que, eventualmente, podrían interferir con los análisis serológicos en leche. Sin embargo, debido al alto porcentaje de muestras positivas de DVB e IBR, fue difícil encontrar animales que mostraran reacción a una sola clase de patología para realizar los experimentos de especificidad. Por tanto, se recurrió a pruebas de referencias que fueron analizadas los años posteriores.

Año 2003

El segundo año también se comenzó con la adquisición de *kits* e insumos de laboratorio. Sumado a la posibilidad de realizar salidas a terreno, gracias a la colaboración de las empresas lecheras



Surlat, Parmalat y Soprole, que a través de sus camiones de recorrido permitieron la llegada a cada uno de los predios. En cada predio se dejó una encuesta que permitió obtener información relevante para el establecimiento de una base de datos. Además, el proyecto continuó muestreando predios de animales clínicamente enfermos, logrando como resultado parcial la identificación de tres predios positivos para cada enfermedad, de los cinco establecidos en la meta final. Sin embargo, en esta etapa del proyecto no fue posible realizar los muestreos para brucelosis, quedando pendientes para el siguiente periodo debido a la falta de detección de animales contagiados con esta enfermedad. Luego se realizó un ensayo de simulación de estanque predial que arrojó como resultado, en las condiciones empleadas, que el número máximo de animales por estanque que permite detectar a un animal infectado es de 20 animales para DVB y de 30 para IBR.

En el segundo semestre del año, fue posible realizar el primer monitoreo de ELISA luego de los muestreos de los tanques prediales. Los resultados más importantes mostraron que para Brucelosis existía una prevalencia predial para la región de un 6,3% y para Leucosis una prevalencia del 58%. En contraste a estos resultados, la prevalencia para DVB fue de un 98%, en tanto que para IBR se presentó en un 80% de las muestras.

Año 2004

Finalmente, en el año 2004 se realizó el segundo monitoreo mediante ELISA, en el que la Brucelosis tuvo una prevalencia en las lecherías de la región de un 3%. Por lo que, de acuerdo a los análisis del proyecto, es posible apreciar que la reacción de anticuerpos de los estanques se mantiene relativamente constante en ambos muestreos, lo que concuerda con la situación esperada para una enfermedad que se encuentra en una baja prevalencia. En Leucosis la prevalencia se situó en un 60%, en tanto BDV e IBR mostraron índices del 97% y 88,7%, respectivamente.

El proyecto terminó con un tercer muestreo, que incorporó un seguimiento de las muestras gracias a la asignación del rol único predial (RUP) desarrollado por SAG, mejorando la gestión y seguimiento de las pruebas. En esta etapa final se pudo establecer, gracias a las encuestas, que sólo el 16,4% de las lecherías declaró haber utilizado vacunas contra DVB e IBR. Por último, los resultados de las encuestas indican una clara predominancia de lecherías con menos de 50 vacas (55,4%). En tanto, las lecherías con más de 150 vacas concentran el 58,5% de la población total de vacas.

Luego del desarrollo del proyecto, se hace necesario destacar la alta presencia de las enfermedades BDV e IBR, dado la dificultad que generó este factor en las pruebas de especificidad del año 2002. Del mismo modo, el proyecto muestra la eficiencia del plan de control/erradicación llevado a cabo por SAG, ya que mantiene bajo control la brucelosis. Lo anterior, queda de manifiesto en los resultados obtenidos del análisis ELISA efectuados en el proyecto precursor, además de la dificultad que tuvo en encontrar predios que contaran con animales enfermos de brucelosis. Por otra parte, DVB e IBR mostraron ser altamente prevalentes, favorecidas por las inexistencias de control oficial, además de las deficiencias de la aplicación de medidas de sanidad animal por parte de los productores.

Por último, cabe destacar que uno de los principales resultados de este proyecto fue la determinación de que es factible implementar un sistema de vigilancia epidemiológica basada en el muestreo de la leche del estanque predial, al menos a escala regional. Para esto fue vital la coordinación entre productores, plantas lecheras e instituciones encargadas de la vigilancia animal, lo que reitera la importancia de la participación de todos los actores involucrados en la producción de leche y responsables de tomar medidas dirigidas al control o erradicación de enfermedades que afectan a la vaca lechera nacional.

SECCIÓN 3

El valor del proyecto

El valor del proyecto está dado por la información que aporta en el ámbito del control de enfermedades, sentando bases tecnológicas que permiten la implementación de un plan a gran escala, presentándose además como una alternativa de control y erradicación a nivel de país a través de una mejora en el abordaje de los casos de enfermedades que pueden afectar al rebaño lechero nacional.

Dado el actual escenario que vive la industria lechera chilena, es necesario avanzar en materias de control y erradicación para aumentar la producción de manera global y generar, en consecuencia, mayor competitividad y posicionamiento dentro de los mercados nacionales e internacionales.

En cuanto al impacto económico, la presencia de enfermedades en vacas lecheras genera a nivel nacional grandes pérdidas en producción, lo que afecta tanto a productores como plantas lecheras. Por lo que la incorporación del método validado en el proyecto permitirá disminuir los costos de análisis de muestras, mejorar la salud de los rebaños, el aumento de la fertilidad y el posterior aumento en producción; beneficiando la posición con respecto a los ingresos de los productores y plantas lecheras, que pueden entregar productos de mejor calidad a los consumidores finales

Desde el punto de vista de la generación de información, la utilización de esta herramienta prioriza las acciones de los involucrados tendientes a control o erradicación de las enfermedades.



Anexos

Anexo 1. Literatura consultada

Anexo 2. Documentación disponible y contactos

ANEXO 1. **Literatura consultada**

- Arch Med Vet. 2009. Prevalencia y distribución espacial de brucelosis, leucosis bovina, diarrea viral bovina y rinotraqueítis infecciosa bovina a partir del análisis ELISA de estanques pre-diales en lecherías de la IX Región, Chile. Archivos de medicina veterinaria, v.41 n.1, 17-26 (2009) [en línea] < http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2009000100003> [Consulta: septiembre de 2009]
- Castelli, M., 1999. LEUCOSIS BOVINA. Diagnóstico, transmisión, control y prevención. Infortambo, Nro. 128. Página 68. [en línea] <<http://rafaela.inta.gov.ar/revistas/inf0999.htm>> [Consulta: septiembre de 2009]
- Concha, C., 2001. Consideraciones sobre la salud del rebaño lechero de Chile. TECNO VET: año 7 N° 1, marzo 2001 [en línea] <http://www.tecnovet.uchile.cl/cda/tecnovet_articulo/0,1409,scid%253d9407%2526isid%253d465,00.html>
- FAO, 2006. FAO [en línea] <<http://www.rlc.fao.org/es/ganaderia/pdf/2914chi.pdf>> [Consulta: septiembre de 2009]
- INIA, 2005. Monitoreo y diagnóstico de enfermedades infecciosas del bovino lechero. INIA [en línea] <<http://www.inia.cl/bioanimal/bovdis.html>> [Consulta: julio de 2009]
- Lopetegui, P., 2005. Avances de la Erradicación de Brucelosis Bovina en Chile. Boletín Veterinario Oficial N°3. Marzo-Abril 2005. Dirección de Protección Agraria, Servicio Agrícola y Ganadero. SAG [en línea] <http://www2.sag.gob.cl/Pecuaria/bvo/marzo_mayo_2005/articulos/avances_proyecto_erradicacion_brucelosis.pdf> [Consulta: julio de 2009]
- López, J. 1998. Diagnóstico de brucelosis bovina en leche por el Ring Test y ELISA en lecherías de la provincia de Ñuble (VIII Región). [en línea] <<http://www.monografias.com/trabajos905/brucelosis-bovina-leche/brucelosis-bovina-leche.shtml>> [Consulta: julio de 2009]
- Marin, CM. 1989. The Veterinary Record, 125: 504-508.
- Moro, MS. 1974. Centro Panamericano de Zoonosis, ops/who. Ramos Mejía, Argentina.
- Myers, D.M. 1973. Applied Microbiology, 26: 855-857.
- Nicoletti, P. 1994. Epidemiología, patogenia y cuadro clínico. Bovis 57: 17-25.
- ODEPA, 2008. Publicación de la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias ODEPA. Ministerio de Agricultura. ODEPA [en línea] < <http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servlet/contenidos.ServletDetallesScr;jsessionid=194767A6177D5EFD8543966E92595C9A?idcla=2&idcat=8&idn=1961>> [Consulta: julio de 2009]
- OIE. Organización Mundial de Sanidad Animal. Datos de tablas para cada enfermedad. [en línea] <www.oie.int> [Consulta: julio de 2009]
- Robles, CA. 1998. Evaluación de una técnica de doble difusión en gel de agar para el diagnóstico de la infección por *brucella ovis* en carneros. Vet. Arg. Vol XV N°142. Abril de 1998. INTA [en línea] <<http://www.inta.gov.ar/bariloche/info/documentos/animal/salud/ct-315.pdf>> [Consulta: julio de 2009]
- SAG, 2005. Situación Sanitaria Animal. [en línea] <www.sag.cl> [Consulta: julio de 2009]

SAG. Ficha Técnica. Definición de caso Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). SAG [en línea]
<<http://www.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRjAS2Wp3v88hMMVT7CcdlYGR6XKpmjAB0k%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivold=37833>> [Consulta: septiembre de 2009]

SAG. Ficha Técnica. Diarrea Viral Bovina. SAG [en línea]
<<http://www.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRjAS2Wp3v88hKcz3P0ZZ%2FwA6eM3nwWe5k0%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivold=37814>> [Consulta: septiembre de 2009]

ANEXO 2. **Documentación disponible y contactos**

El presente libro y su ficha correspondiente se encuentran disponibles como PDF, a texto completo, en el sitio Web de FIA (www.fia.gob.cl), accediendo a “Información para la innovación” y luego a “Experiencias de Innovación” o a “Biblioteca Digital”, donde existe un buscador de publicaciones.

Contacto: fia@fia.cl