



Universidad Nacional de Lomas de Zamora
Facultad de Ciencias Agrarias
Licenciatura en Gestión de la Calidad e Inocuidad de los Alimentos

Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre *Aspergillus fumigatus* aislado de embriones muertos

Autor: Nicolás Marchessi.

Tutor: Ing. Agr. (esp.) Liliana Rosa Galian



Presentaciones a eventos científicos derivados a partir de la tesis

Marchessi, N.; Chamorro, A.; Pezuk, A.; Del Rio, E.; Corbalán G.; Orellana E.; Rodríguez, N., Alonso D.; Trejo, N.G. Benavidez, E.; Galian, L._R. 2020. Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos para destino eficiente de recursos. Revista Argentina de producción animal REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL VOL 40 SUPL. 1: 171-214 (2020)

Marchessi, N.; Pezuk, A.; Corbalán G.; Orellana; Chamorro, A E.; Del Rio, E.; Rodríguez, N., Alonso D.; Trejo, N.G. Benavidez, E.; Galian, L.R. 2020. Incidencia del género *Aspergillus* sp. en huevos no eclosionados por contaminación microbiana. Revista Argentina de producción animal. REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL VOL 40 SUPL. 1: 405-438 (2020)

Marchessi, N.; Alonso D.; Benavidez, E.; Galian, L.R. 2022. Susceptibilidad al ozono de las esporas de *Aspergillus fumigatus* aisladas de embriones muertos de gallinas reproductoras pesadas. REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL. SUPL.1: 222-249 (2022)

Contenido

Agradecimientos:	1
Resumen.....	2
Abstract	3
Introducción	4
Capítulo I. Problemática.....	5
Capítulo II: Marco Teórico.....	7
Industria avícola.....	7
Abuelos y Granjas de reproductoras	8
Plantas de incubación.	9
Engorde	9
Las plantas faenadoras/procesadoras	10
Manejo de reproductoras pesadas en el establecimiento en estudio	10
Etapas en la obtención del pollito bebe	11
1) Recolección de los huevos:	11
2) Selección de huevos incubables.....	12
3) Desinfección:.....	13
4) Almacenamiento en granja	14
5) Transporte.....	15
6) Sala de incubación:	16
7) Incubación:.....	16
Condiciones para la incubación	17
8) Transferencia	18
9) Nacedoras.	18
El huevo.....	19
Estructura del huevo.....	19
Microbiología del huevo.	20
Análisis de riesgos	23
Ozono, una tecnología amigable con el medio ambiente con potencial para establecerse en la industria avícola.	25
Mecanismo de acción sobre las células	25
Normativas Internacionales y Nacionales.....	26

Breve descripción de los antecedentes sobre el uso del ozono en la industria alimenticia.....	27
Hipótesis.....	30
Objetivos	30
Objetivos generales:.....	30
Objetivos específicos.....	30
Capítulo IV: Materiales y Métodos.....	31
1) Análisis sistematizado AR – 2:1	31
2) Aplicación del sistema de análisis para establecer las causas más probables de muerte embrionaria.	32
3) Incidencia de las contaminaciones microbianas en huevos no eclosionados. Aislamiento e identificación de cepas fúngicas a partir de embriones muertos.....	33
4) Actividad Fungicida de la ozonización frente a las cepas de fúngicas.....	36
Observaciones y resultados	40
1.Sistema de análisis de riesgos.....	40
2. Aplicación del sistema de analisis de riesgo.....	60
Villa Lía.....	61
25 de mayo	65
Azul.....	68
3.Incidencia de la contaminación microbiana en la muerte embrionaria.....	74
Determinación de géneros fúngicos procedentes de aislamientos de embriones muertos.....	74
Determinación de especies.....	77
4) Actividad Fungicida de la ozonización frente a las cepas de <i>Aspergillus</i> sp.	79
Discusión:	83
Conclusiones.	86
Anexo N° 1 lámina de referencia para embriodiagnos.....	88
Anexo N° 2 Embriodiagnos	89
Anexo N° 3 Medio de cultivo.....	91
Anexo N° 4 Detalle del método propuesto por Gutiérrez-Salinas <i>et al.</i> 2009	92
Anexo N° 5 Sistema preventivo de fallas: AR – 2.1.....	93
Bibliografía	100
Bibliografía complementaria	104
Índice de figuras	
Figura 1 Embriones contaminados.....	7
Figura 2. Estructura de la cadena avícola.....	8

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 3. Etapas productivas.	11
Figura 4. Galpón de reproductoras pesadas, San Vicente. Bs. As.	12
Figura 5 Huevos no incubables.....	13
Figura 6. Cámara de desinfección en galpón	14
Figura 7 Sala de almacenajes de huevos en granja.....	15
Figura 8 Sala de incubación en planta avícola de reproductoras pesadas.....	16
Figura 9 Incubadora.....	17
Figura 10 Transferencia. Maquina In ovo.....	18
Figura 11 Necedoras y selección de pollitos recién nacidos.	19
Figura 12 Factores intervinientes en la contaminación del huevo.	22
Figura 13 Esquema de siembra para determinación de especie de <i>Aspergillus</i> sp.	35
Figura 14 Equipo de ozonización.....	38
Figura 15. Materiales y métodos.....	38
Figura 16 De izquierda a derecha. Placa con <i>Aspergillus fumigatus</i> frente y dorso. Observación microscópica a 400 x	39
Figura 17 Cámara de ozonización.....	40
Figura 18 Salud del plantel. 100 % de adecuación en el establecimiento.	50
Figura 19 Salud del plantel con incumplimientos.....	50
Figura 20 resultados en planilla 1 para carro 1 Villa Lia.....	50
Figura 21 resultados en planilla 1 para carro 2 Villa Lia.....	52
Figura 22 resultados en planilla 1 para carro 3 Villa Lia.....	53
Figura 23 resultados en planilla 1 para carro 1 Azul.....	50
Figura 24 Resultados en planilla 1 carro 2 Azul.....	55
Figura 25 Resultados en planilla 1 carro 3 Azul.....	56
Figura 26 Resultados en planilla 1 carro 1 25 de Mayo.....	57
Figura 27 Resultados en planilla 1 carro 2. 25 de Mayo.....	58
Figura 28 Resultados en planilla 1 carro 3. 25 de Mayo.....	59
Figura 29 Análisis automatizado en Excel	61
Figura 30 Análisis automatizado en Excel	61
Figura 31 Análisis automatizado en Excel	62
Figura 32 Análisis automatizado en Excel	63
Figura 33 Análisis automatizado en Excel	65

Figura 34 Análisis automatizado en Excel	66
Figura 35 Análisis automatizado en Excel	66
Figura 36 Análisis automatizado en Excel	67
Figura 37 Análisis automatizado en Excel	67
Figura 38 Pantalla inicial del sistema.....	69
Figura 39 Factor EDAD.....	69
Figura 40 Planilla de chequeo en Excel	70
Figura 41 Combinación Fase / Motivo	71
Figura 42 Filtrado de categorías más probables.	72
Figura 43 Visualización de las categorías más probables.....	72
Figura 44 Riesgos hallados.	73
Figura 45 Cultivos obtenidos a campo durante la embriodiagnos	75
Figura 46 Aislamiento de <i>Aspergillus</i> sp.....	75
Figura 47 Estructuras reproductivas de <i>Aspergillus</i> sp.	76
Figura 48 Diferentes desarrollos miceliares sobre agar Sabouraud.	77
Figura 49 Crecimientos para determinación de especie de <i>Aspergillus</i> sp. (día 7).....	77
Figura 50 Duplicado. Crecimientos para determinación de especie de <i>Aspergillus</i> sp. (Día 7)	78
Figura 51 Estructuras reproductivas características de <i>Aspergillus fumigatus</i>	78
Figura 52. Ejemplo de conteos en cámara de Neubauer	79
Figura 53 Recuentos en placa. Izquierda (dilución – 5)>50 ufc para el control 40 promedio para el tratamiento ozonizado. Derecha. Promedio 12 para el control y 4 para el ozonizado	81
Figura 54. De izquierda a derecha. Esporas ozonizadas (3). Control, esporas sin ozonizar (3) blanco de reactivos.	82
Figura 56 Referencia de embriodiagnos	88
Figura 57 Muestreo.	89
Figura 58 Embriodiagnos en planta avícola, ejemplo de documentación fotográfica.	90
Figura 59 Sistema preventivo.....	97
Figura 60 Incumplimientos de factores críticos y muy críticos.	97
Figura 61 Evolución de porcentajes de cumplimientos en función del tiempo.	98
Figura 62 Representación gráfica de porcentajes de adecuación de adecuación de las diferentes categorías.....	98
Figura 63 Evolución a través del tiempo de los incumplimientos “críticos” y “muy críticos” .	99

Figura 64 Representación gráfica del número de implementos críticos y muy críticos 99

Índice de tablas

Tabla 1 Porcentaje de nacimientos.....	5
Tabla 2 Motivos observables de muerte e infertilidad.	6
Tabla 3. Límites de exposición al ozono. (Innst, 2020).....	27
Tabla 4. Combinaciones	31
Tabla 5. Factor de ocurrencia.....	45
Tabla 6 Factor Edad.....	46
Tabla 7 Promedio para cada una de las fases de motivos de muerte.	59
Tabla 8 Frecuencia de las causas más probables.	63
Tabla 9 causas mas probables de muerte embrionaria	67
Tabla 10 Porcentajes de contaminación fúngica y bacteriana.....	74
Tabla 11. Géneros fúngicos detectados en los aislamientos fúngicos a partir de embriones muertos por embriodiagnos.	74
Tabla 12 Título del inculo por conteo en cámara de Neubauer.....	79
Tabla 13. Recuentos en placa a las 96 para determinación de actitud desinfectante del ozono	80
Tabla 13 bis. Recuentos en placa a las 168 horas, para determinación de actitud desinfectante del ozono	80
Tabla 14 Viabilidad de las esporas control Vs. Ozonizadas.....	81
Tabla 15 Concentración de MDA en el control y en el ozonizado.	82

Índice de gráficos

Gráfico 1 Causas más probables de muerte embrionaria.....	64
Grafico 2. Frecuencia de las causas.....	68

Índice de planillas

Planilla 1 Registro de datos a campo.	41
Planilla 2. Análisis de datos	42

Agradecimientos:

- A la Ing. Agr. Galián Liliana Rosa, por su Dirección.
- Al Sr. Domingo Ramos Bravo de ECO 03 por cedernos los equipos generadores de ozono diseñados a medida.
- A Mercou SRL por dejarnos participar de sus operaciones para realizar este trabajo.

Resumen

La producción avícola es parte fundamental de la matriz económica nacional; ofrece trabajo a miles de personas e invierte millones de dólares para lograr la eficiencia productiva.

Las plantas de incubación de huevos fértiles de gallinas reproductoras pesadas son las responsables de abastecer a la cadena de transformación (pollito bebe, engorde y frigoríficos), por esta razón el proceso de obtención de pollitos BB es indispensable, y debe mejorar las operaciones para satisfacer la creciente demanda nacional e internacional.

Las industrias alimenticias vienen incorporando sistemas de análisis de riesgos y de datos, para asegurar la inocuidad y calidad de sus productos, estos sistemas reúnen conceptos necesarios para una producción basada en la información y en la priorización de recursos.

Así mismo en la actualidad los mercados valoran las estrategias empresariales tendientes a producciones responsables, que cuiden al medio ambiente, a los animales y a las personas.

Bajo este contexto competitivo, la industria avícola de incubación se debe fortalecer y actualizar con el fin de mantenerse en el negocio productivo. Para lo cual, los sistemas de análisis de datos y la aplicación de tecnologías amigables con el medio ambiente, como el ozono, posibilita ese crecimiento en esta industria

En este trabajo se buscará plantear un sistema de análisis que permita hallar los factores implicados en las muertes embrionarias. Además, generar conocimiento sobre el efecto antimicrobiano del ozono sobre el *Aspergillus fumigatus*, hongo principal responsable de la muerte embrionaria.

Abstract

Poultry production is a fundamental part of the national economic matrix; offers work to thousands of people and invests millions of dollars to achieve productive efficiency.

Broiler breeder hen hatcheries are responsible for supplying the chicken meat transformation chain (baby chick, fattening and refrigerators), for this reason obtaining baby chicks is essential, and operations must improve to meet the growing demand National and international.

The food industries have been incorporating risk and data analysis systems to ensure the safety and quality of their products. These systems bring together the necessary concepts for production based on information and prioritization of resources.

Likewise, even today, the markets value business strategies aimed at responsible productions, which take care of the environment, animals and people.

Under this competitive context, the poultry hatchery industry must be strengthened and updated in order to stay in productive business.

For which, data analysis systems and the application of environmentally friendly technologies such as ozone enable this growth in this industry. In this work we will seek to propose a system of analysis that allows us to find the factors involved in embryonic deaths. In addition to generating knowledge about the antimicrobial effect of ozone on *Aspergillus fumigatus*, the main fungus responsible for embryonic death.

Introducción

Las perspectivas de crecimiento de la industria avícola son alentadoras. La producción mundial de carne de pollo viene en aumento (Ministerio de Agroindustria, 2018) incentivada principalmente por una gran demanda del mercado chino; frente a esto la industria debe hacer eficientes sus producciones para satisfacer la demanda en cantidad, calidad e inocuidad.

En las industrias avícolas, las muertes de embriones por contaminación son una preocupación, no solo por el impacto directo en los nacimientos sino también por el riesgo sanitario que conlleva la infección de plantas de incubación por microorganismos patógenos, pudiendo afectar a la sanidad, el bienestar y los rendimientos zootécnicos de las aves. (Sandoval, et al., 2005 y Federico, 2016)

Las repetidas e intensas desinfecciones con sustancias peligrosas, establecidas como procedimientos estandarizados de saneamiento (POES) tanto en granja como en planta de incubación, buscan mitigar la presencia de microorganismos patógenos que podrían comprometer la sanidad animal.

Los POES, no son la única solución al problema sanitario, es fundamental mejorar el manejo del huevo fértil, estableciendo pautas claras y eficientes para disminuir riesgos de contaminación; la reducción de los riesgos es importante para frenar la muerte embrionaria por contaminación y a causa de ello mantener un status sanitario adecuado que permita obtener rendimientos productivos capaces de generar una rentabilidad satisfactoria.

El análisis sistematizado y objetivo de los datos es una herramienta fundamental con las que cuentan las empresas para administrar eficientemente los recursos de control. En la práctica tradicional avícola, para el análisis de los datos obtenidos por embriodiagnos, no se utiliza ningún procedimiento sistematizado que ayude a encontrar los riesgo asociados a los fracasos, esto hace que la resolución de problemas se base únicamente en la experiencia del analista o del encargado de la planta de incubación.

Las inquietudes de clientes y consumidores sobre las producciones sustentables vienen aumentando con el tiempo, es importante que las empresas tiendan a adquirir tecnologías y procesos amigables con el medio ambiente en sus producciones, en la industria avícola hay avances sobre el uso de probióticos (María, 2007, Pedroso, 2004 y Milian, 2008) y el uso del ozono para el control del crecimiento de bacterias y hongos de interés avícola aislados de camas y pulmón de aves in vitro (Margus, et Al., 2011) y la desinfección de huevos fértiles por ozonificación (Whistler & Sheldon, 1989, y Clímaco, 2018, y Marchessi et al., 2019)

En el entorno de la producción avícola, las desinfecciones, el manejo y el control ambiental resultan críticos, ya que los microorganismos ubicuos en la granja y en la planta pueden multiplicarse de manera explosiva debido a las condiciones ambientales de la producción y provocar la muerte embrionaria.

En la industria deberá hallarse un balance entre rendimientos y manejo donde se considere que el mismo no comprometa la salud pública, la inocuidad de los alimentos, los recursos humanos, naturales y el bienestar animal.

Capítulo I. Problemática.

En el año 2019 se efectuó un estudio embrionario de nacimientos de pollitos BB provenientes de una granja de reproductoras pesadas situada en la localidad de San Vicente Provincia de Buenos Aires. Este estudio consistió en un censo de todos los pollitos no nacidos de 4 carros de nacedoras que alcanzaban un total de 7560 nacimientos.

Tabla 1
Porcentaje de nacimientos

<i>Carro 1</i>	85,9
<i>Carro 2</i>	84,0
<i>Carro 3</i>	84,3
<i>Carro 4</i>	84,1

En la tabla 1 se observan los porcentajes de nacimientos para los lotes estudiados. Según registros de la planta de incubación estos rendimientos se encuentran dentro de lo esperado para ese plantel y esa granja.

Se determinaron los motivos observables de muerte embrionaria y se clasificaron en tres categorías:

- Categoría 1. Manejo general. Incluye: Cachados, muerte por mala colocación en máquina in – ovo (In – ovo), Picado no nacido (PNN) e Invertidos.
- Categoría 2: Infertilidad

- Categoría 3. Contaminaciones. Incluye: no nacidos en diferentes fases por contaminación (fúngica y bacteriana) y huevos explosivos en pase o en incubadora.

Tabla 2
Motivos observables de muerte e infertilidad.

	Manejo - Categoría 1-				-Categoría 2-	Contaminaciones -Categoría 3-	
	Cachados	In - ovo	PNN	invertido	Infértil	Explosivo	contaminados
Carro 1	13	3	11	7	152	12	26
Carro 2	49	3	8	5	170	15	44
Carro 3	38	3	17	7	123	4	22
Carro 4	52	1	11	8	111	4	40
Totales	152	10	47	27	556	35	132
Huevos totales	7560						
% del total	2,01	0,13	0,62	0,36	7,35	0,46	1,75
% por manejo total	3,12						
%contaminados	2,21						

Elaboración propia.

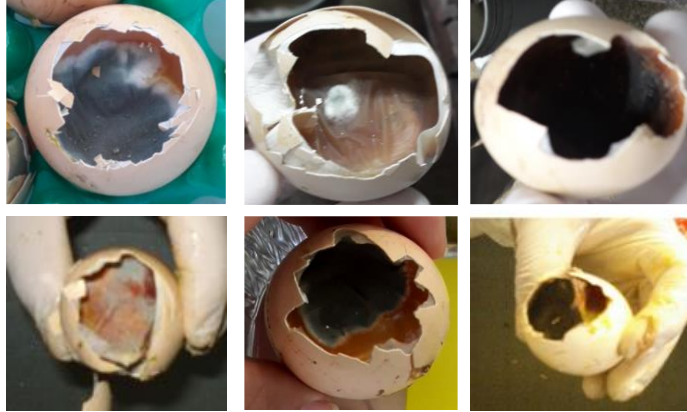
Los porcentajes expuestos en la tabla anterior indican inconvenientes con el manejo general, las contaminaciones y la fertilidad, claramente el manejo general supera al porcentaje de las contaminaciones.

Los huevos contaminados son un problema inmediato en los nacimientos y adicionalmente son un vector de microorganismos ubicuos de la granja a la planta de incubación.

En el momento de los nacimientos las esporas fúngicas pueden ingresar en los pulmones de los animales recién nacidos, además estas mismas esporas pueden causar enfermedades laborales en los trabajadores, por estos motivos el daño ocasionado por las contaminaciones fúngicas toma una mayor dimensión y es necesario controlar los factores asociados al anidamiento, proliferación y dispersión de los hongos.

A continuación, en la figura 1, puede verse documentación fotográfica de los resultados del análisis, específicamente para las observaciones de las muertes por contaminación microbiana.

Figura 1
Embriones contaminados.



Es notorio por los resultados aquí expuestos, que el establecimiento tiene variadas dificultades en el manejo atribuible a los operarios, a la alta infertilidad y además poco un alto porcentaje de contaminados que no solo influye directamente en los rendimientos si no que pone en compromiso sanitario a la planta de incubación, el personal y las instalaciones futuras de engorde.

Para minimizar los daños ocasionados se deberá comprender: el manejo del huevo fértil, el huevo, su estructura y la microbiología involucrada en el proceso, estos tres ejes se interrelacionan y buscan una producción eficiente con rendimientos que satisfagan la demanda en cantidad, calidad e inocuidad.

Capítulo II: Marco Teórico.

Industria avícola

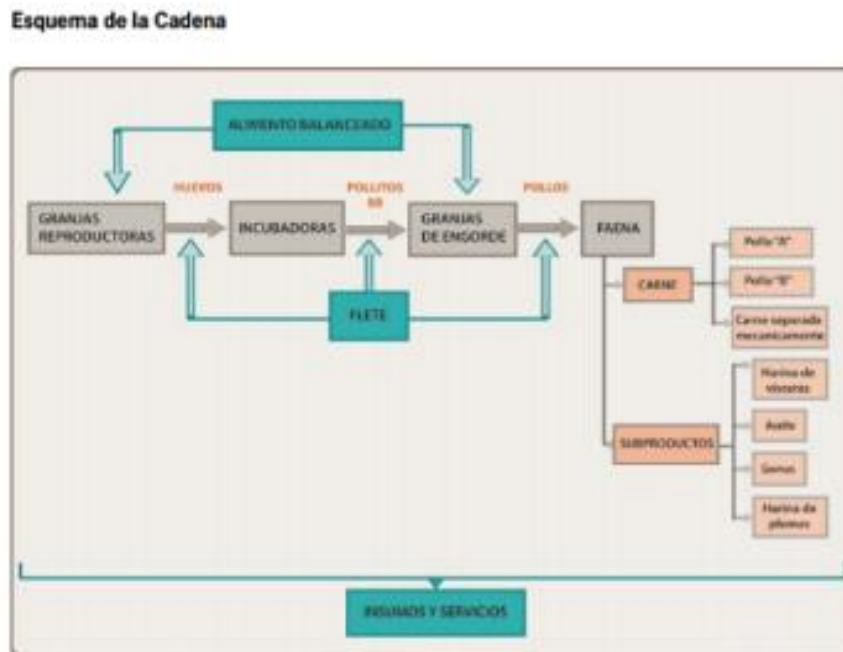
La industria demanda una importante cantidad de mano de obra, ocupa más de 130.000 personas, moviliza más de 500.000 camiones y una cantidad similar de transporte liviano al año; al mismo tiempo favorece a la industria metalúrgica, plástica, veterinaria y a la actividad comercial y financiera. Además, la avicultura resulta fundamental como actividad transformadora de productos primarios consumiendo más de 3, 5 millones de toneladas de granos y subproductos, demandando un 20 % de la producción de maíz del país. (Palacios, 2005)

La avicultura nacional es una actividad agroindustrial que se distribuye principalmente en las provincias de Entre Ríos y Buenos Aires, en conjunto concentran el 74% de los establecimientos de producción primaria y el 76% de los establecimientos industriales.

Sus empresas se caracterizan por ser grandes, con un nivel técnico elevado y dinámico. Se utiliza infraestructura, genética y alimentación que son comunes a nivel mundial, mientras que las prácticas de manejo y los programas sanitarios varían y se adaptan en cada situación.

La avicultura intensiva aplica los conocimientos científicos y técnicos en cada una de sus actividades, abarcando tanto la mejora genética de las estirpes, la tecnificación de las instalaciones, los programas sanitarios, el manejo o la alimentación de los animales. (Barroeta, 2019 e Ybran, 2018).

Figura 2.
Estructura de la cadena avícola.



Abuelos y Granjas de reproductoras

El primer eslabón de la cadena está representado por los planteleros, que son los que crían a los abuelos importados y los hacen reproducir. Se estima que de un reproductor abuelo nacen 50 reproductores padres y de cada reproductor padre nacen unos 140 pollitos BB., es decir que de cada reproductor abuelo nacen 7.000 pollitos BB parrilleros.

En Argentina existen representantes de la mayoría de las líneas genéticas del hemisferio norte que proporcionan los BB abuelos. Es un sector que recibe Know How de sus representantes, que por lo general adopta la última tecnología disponible en el mercado, y que está permanentemente sujeto a estrictas auditorías. En todos los casos registran producción integrada y / o para venta a terceros de padres para producción de pollos eviscerados. Las cabañas de líneas para carne se encuentran ubicadas principalmente en las Provincias de Bs. As y Entre Ríos y en menor medida en San Luis.

Plantas de incubación.

El eslabón de granja de padres multiplica el plantel que le suministra la etapa anterior y vende o suministra los BB a las granjas de engorde) los pollitos BB. Conforman el mismo, las plantas de incubación productoras de pollitos BB que se encuentran integradas a las empresas avícolas y las plantas de incubación independientes. Estas últimas venden principalmente a productores de pollos parrilleros independientes, y en menor medida incuban para las empresas avícolas integradoras cuando la capacidad de estas no es suficiente para satisfacer su propia demanda.

Engorde

La producción de pollos parrilleros se efectúa en granjas que pertenecen a productores integrados y a empresas integradoras. Las principales empresas tienen participación directa o indirecta en las cabañas por lo que se abastecen de ellas. Los pollitos BB “parrilleros” son destinados, el mismo día de sus nacimientos, a las granjas de engorde y tras un periodo de 49 días salen con un peso promedio (entre machos y hembras) de 2.900 kg, a la planta de faena

Los engordadores independientes continúan disminuyendo al integrarse o abandonar la actividad como sucede con los faenadoras no integrados.

El nivel de integración varía con cada granja, pero lo más corriente es que el avicultor integrado ofrezca sus instalaciones, energía (luz y gas) y mano de obra y el integrador le proporcione el BB parrillero, el alimento, la cama, las vacunas, supervisión de manejo y apoyo sanitario. El integrador le retira el pollo vivo terminado, abonando un precio por el servicio de crianza.

Se estima que en la provincia de Buenos Aires hay unas 1.400 granjas, que representan el 48% del total del país, mientras que en Entre Ríos, existirían unas 2.500. Mayormente las granjas se hallan integradas aproximadamente a unas 17 empresas y cuentan con una capacidad de engorde de 123.533.100 pollos. Por lo general son pequeñas unidades de producción y consumo de tipo familiar, dedicadas a la actividad de engorde de pollitos,

que se hallan subordinadas al eslabón industrial, y cuya principal fuente de ingresos proviene de la avicultura.

Las plantas faenadoras/procesadoras

El sector emplea en forma directa 25.000 personas, cifra que se duplica con el aporte de los servicios tercerizados como transporte, carga y distribución.

Las plantas de faenamamiento se clasifican según su tecnología en automáticas y manuales, las primeras disponen de equipamiento para realizar el conjunto de las operaciones correspondientes a evisceración, clasificación y empaque en líneas automáticas; manuales son aquellos en que las operaciones de evisceración, clasificación y envasado no son automáticas. De acuerdo con la índole de sus instalaciones, su velocidad de proceso es de 1000 aves/hora; 2000 aves/hora y/o 3000 aves/hora. (Palacios, 2005)

La producción de carne y sub – productos es el eje principal de la industria avícola; esta producción se encuentra sujeta a la eficiencia productiva de las granjas y plantas de incubación de reproductoras pesadas que proveen los pollitos bebe para el engorde.

Manejo de reproductoras pesadas en el establecimiento en estudio

El nacimiento de aves viables y fuertes es un factor clave para mejorar el desempeño del pollo de engorde y para lograrlo se deben producir pollitos BB de buena calidad y salud, lo cual depende de las buenas prácticas de manejo aplicadas durante el proceso de incubación del huevo.

La eficiencia productiva del pollo de engorde depende en gran parte de la calidad del huevo fértil, el estado sanitario y edad de la reproductora, los cuales son parámetros importantes de cuidar a la hora de buscar el éxito final en una planta de incubadoras.

Toda incubación artificial busca mantener los huevos fértiles a una temperatura constante, recibiendo aire fresco y volteando periódicamente, para lograr de esta manera asemejar las condiciones de incubación natural, garantizando adecuada temperatura y humedad. Es por ello por lo que la incubadora debe ser monitoreada diariamente para evitar problemas en su funcionamiento y evitar que se afecte el desarrollo embrionario del huevo.

Etapas en la obtención del pollito bebe

Figura 3.
Etapas productivas.



Elaboración propia.

1) Recolección de los huevos:

La diferencia entre una recolección correcta de huevos y una incorrecta puede representar una pérdida de la incubabilidad de más de un 10%. La manipulación

inadecuada será también causante de pérdidas en la incubabilidad; Los huevos deben recogerse por lo menos 5 veces al día, tres por la mañana y 2 por la tarde. El 70% de los huevos se ponen por la mañana, por lo que conviene que la recogida se haga con mayor frecuencia en este periodo. Debe alimentarse a las gallinas muy temprano, entre las seis y las ocho según sea verano o invierno. Normalmente las gallinas comienzan a poner 1 o 2 horas después de que se iluminen los gallineros, por lo que la mayoría de las ponedoras están listas para poner después de consumir alimento. Si es necesario, durante el pico de puesta puede destinarse un empleado más a la recogida de huevos. Se tomarán como máximo tres huevos a la vez con una sola mano. Para la recogida no se usarán canastos, tan solo bandejas de plástico, limpias y desinfectadas. Tampoco se utilizarán bandejas de pulpa que hayan sido usadas anteriormente, aunque estén muy limpias. El huevo debe colocarse en las bandejas con la parte más ancha hacia arriba. (Nilipour, 1994).

Figura 4.

Galpón de reproductoras pesadas, San Vicente. Bs. As.



2) Selección de huevos incubables.

La clasificación de huevos debe ser hecha con cuidado para prevenir rupturas en los huevos incubables. (Cobb, 2016).

El recolector deberá seleccionar aquellos huevos que se encuentren limpios, sin rastros de materia orgánica adherida a su superficie y que hayan sido recolectados de los nidales. (Nilipour, 1994).

Se deberán evitar:

- Los huevos excesivamente grandes o pequeños. Los huevos grandes no eclosionan bien y los huevos pequeños producen pollitos pequeños.
- Los huevos con cáscaras agrietadas o delgadas. Estos huevos tienen dificultad para retener la humedad necesaria para el desarrollo correcto del pollito. El ingreso de enfermedades aumenta en huevos con fisuras.
- Huevos excesivamente deformes.
- Huevos de piso o sucios

Figura 5
Huevos de no incubables.



Los huevos descartados deben ser almacenados lejos de los huevos incubables. Es esencial poner los huevos cuidadosamente dentro de la máquina incubadora o la bandeja transportadora con la punta del huevo hacia abajo.

Los huevos de desecho y los huevos sucios se pondrán en bandejas separadas, nunca en la misma bandeja. Los huevos puestos en el suelo deben mantenerse completamente separados de los puestos en los nidos y, para evitar la contaminación, conviene lavarse las manos después de recoger los huevos del mismo.

3) Desinfección:

Los huevos deben recogerse lo más pronto posible y se desinfectarán en un sitio libre de polvo, (cámara de desinfección). Se deben fumigar, en la mismo galpón. Los desinfectantes con mejor resultado son los que contienen formol. Los huevos que estén

muy sucios con heces no deben lavarse ni deben ponerse nunca cerca de los limpios. (Nilipour, 1994).

Figura 6.

Cámara de desinfección en galpón



El uso de Formol y Permanganato de Potasio es un método habitual, este método produce una reacción química que genera calor y libera gas. Se usa un litro de formalina por cada 25 m³ a una proporción de tres partes de formalina a dos partes de permanganato de potasio. La formalina debe colocarse sobre el concreto o sobre metal y no sobre la viruta o ningún otro material inflamable. (Cobb, 2016)

4) Almacenamiento en granja

Una vez recolectados y desinfectados los huevos son llevados a una sala de atemperamiento, dentro de la granja, aislada de los galpones. En esta sala se tendrán temperatura menor a 21°C (0 fisiológico) para evitar el desarrollo embrionario, mientras que los huevos esperan ser transportados a la planta de incubación.

Mantener un buen control de roedores en la sala de almacenamiento de huevos es fundamental para evitar pérdidas por plagas o contaminación. La sala de manejo de huevos es la primera etapa del enfriamiento de los huevos y es aconsejable mantenerla fría – más fría que el gallinero, pero más tibia que la sala de almacenamiento.

Figura 7

Sala de almacenajes de huevos en granja.



5) Transporte

El objetivo principal es conseguir transportar los huevos fértiles de las granjas a la planta de incubación con el menor movimiento posible, a fin de no dañar el disco germinal. Deben evitarse los cambios bruscos de temperatura, por lo que se procurará que tanto la habitación donde se guardan los huevos en la granja, como el camión y el lugar destinado a almacenarlos en la planta de incubación, se hallen, básicamente, a la misma temperatura. El ambiente del camión debe controlarse igual que el de las habitaciones destinadas a guardar los huevos, incluyendo su limpieza y desinfección, ya que, de no hacerse así, éste se convierte en un transmisor de patógenos. El camión debe hallarse en buenas condiciones mecánicas, con los amortiguadores en buen estado y el conductor deberá conducir con cuidado para evitar el movimiento de los huevos ya que, si éstos se agitan mucho, se incrementa la mortalidad embrionaria. Una buena técnica es utilizar en el camión termómetros o registradores de las temperaturas, a fin de poder monitorizarlas. Debido a la bioseguridad solo se debe transportar los huevos de la granja a la planta de incubación tres veces a la semana. (Rodríguez-Moya & Cruz-Bermúdez, 2017)

6) Sala de incubación:

Ya en la planta los huevos ingresan a la sala de incubación. En la misma permanecerán a una temperatura igual o inferior a 23,9° C hasta que el lugar en la incubadora esté libre. En la planta de incubación los huevos deben mantenerse en estado fisiológico cero, para que el desarrollo del disco germinal se detenga hasta que se coloquen en la incubadora. El cuarto de huevos o sala previa a la incubación debe estar preparado para recibir los huevos procedentes de la granja. (Nilipour, 1994).

Figura 8

Sala de incubación en planta avícola de reproductoras pesadas.



7) Incubación:

El proceso de incubación para el género *Gallus* sp. es de 21 días (504 horas). El tamaño y el tipo de incubadora seleccionados depende de las necesidades y de los planes futuros de cada productor.

La incubadora debe ubicarse bajo techo para protegerlas contra cambios importantes del clima. Es esencial que el cuarto tenga un buen sistema de ventilación para proveer suficiente aire fresco. Manteniendo las unidades dentro es más fácil mantener la temperatura y la humedad uniformes.

Hay básicamente dos tipos de incubadoras: las incubadoras de aire forzado y las de ventilación natural. Las incubadoras con aire forzado tienen ventiladores que proporcionan la circulación de aire interna. La capacidad de estas unidades puede ser muy grande. Las incubadoras de ventilación natural son generalmente pequeñas. Sin ventiladores para la circulación del aire. El intercambio de aire es logrado por la subida y el escape del aire caliente, viciado y la entrada de aire fresco por la parte baja de la incubadora. (Smith, 2013)

Figura 9
Incubadora



Condiciones para la incubación

Los resultados pobres en nacimientos se producen comúnmente por un incorrectas temperatura y/o humedad inadecuada. Esto significa que la temperatura o la humedad fueron demasiado altas o bajas por un lapso suficiente de tiempo que interfirió con el crecimiento y el desarrollo normal del embrión. Los resultados pobres también ocurren por una ventilación incorrecta, no mover los huevos y la limpieza de las máquinas.

Los períodos prolongados de altas o bajas temperaturas alterarán el éxito de la incubación. Una incubadora donde existan altas temperaturas tiende a producir nacimientos tempranos. Una que funcione constantemente a temperatura más baja tiende a producir nacimientos tardíos. En ambos casos el número de BB nacidos será bajo.

La humedad se controla cuidadosamente para prevenir la pérdida innecesaria de humedad del huevo. La humedad relativa en la incubadora se debe de controlar tres días antes de comenzar a incubar debiendo permanecer en 58-60%. Al incubar, la humedad se aumenta hasta la humedad relativa de 65%.

El peso del huevo debe disminuir cerca del 12% durante la incubación para esperar un buen índice de nacimientos. (Aves, (s/f)

Temperaturas de Incubación

0 a 19 Días = 37,5° C - 37,7° C

20 a 21 Días = 36,1° C - 37,2° C

Humedad relativa en incubadoras

50% - 60% H.R. HUMEDAD INCUBADORA (Aves, (s/f)

8) Transferencia

Es la etapa del proceso donde los huevos son retirados de la incubadora y transportados a las nacedoras, esto se efectúa al día 18, juntamente con la vacunación en máquina in - ovo.

Figura 10

Transferencia. Máquina de vacunación In ovo.



9) Nacedoras.

Los pollitos no eclosionan exactamente al mismo tiempo. Incluso si dos huevos incubables reciben los mismos tratamientos de preincubación e incubación, aún difieren unas horas en el tiempo de eclosión, por la variación natural en el desarrollo embrionario. El factor crucial en la tasa de desarrollo embrionario – y por lo tanto determinante del tiempo de

incubación – es la temperatura. El responsable de la sala de incubación debe asegurar que los huevos incubables tengan las mismas, o muy similares, características antes de colocarlos en la incubadora. Una vez dentro, las condiciones uniformes, especialmente la distribución uniforme de la temperatura es esencial para conseguir una reducida ventana de nacimientos.

Figura 11

Nacedoras y selección de pollitos recién nacidos.



El huevo.

El huevo fértil es aquel que es producido por un plantel reproductor, donde conviven los machos con las hembras, y por lo tanto ese huevo ha sido fertilizado, en lugar de presentar un blastodisco, presenta un blastodermo, o sea contiene un embrión antes de haber sido puesto, cuya formación ha comenzado a partir de la fecundación en el infundíbulo, a si todo se puede destacar que no todo huevo puesto es fértil y no todo huevo fértil es incubable. (FENAVI, 2014).

Estructura del huevo

Cáscara y membranas de la cáscara: La cáscara es la parte externa dura del huevo, que está constituida principalmente por carbonato de calcio y forma una cubierta protectora para el contenido fluido del huevo. Es porosa para permitir los intercambios de humedad, oxígeno y anhídrido carbónico, con la atmósfera exterior (Instituto Colombiano Agropecuario ICA, 2014). Hay dos membranas de la cáscara, ambas delgadas y flexibles. Separando estas membranas, en el extremo más grueso del huevo, se formará la cámara de aire, y es de aquí que el embrión toma oxígeno, inmediatamente antes de la rotura del huevo (USDA, 2014).

Albúmina y chalaza: La albúmina o clara del huevo, consta de cuatro partes, tres de ellas forman capas distintas alrededor de la yema: La chalaza, por otra parte, está adherida a la superficie de la yema y a la capa media de la albúmina. Su función puede compararse con la de un amortiguador. También sirve para mantener a la yema en una posición central. Las bandas de la chalaza están enrolladas en direcciones opuestas. La yema, que se ha originado en el ovario, está encerrada en una membrana llamada membrana vitelina. Sobre la superficie de la yema está situada la célula germinal o blastodisco. Aunque existe el blastodisco en todos los huevos, sólo entra en actividad cuando es fertilizado por un espermatozoide.

La yema constituye un almacén de materiales nutritivos para el pollito que se está incubando. Está compuesta por capas concéntricas de color claro y oscuro (ICA, 2014).

La precisión y experticia a la hora del manejo, en las diferentes etapas de producción, será decisiva para mantener altos estándares de calidad, inocuidad y rendimientos adecuados. Llevar adelante operaciones normalizadas bajo estrictos protocolos de bioseguridad hará la diferencia productiva, para lograr un estatus sanitarios adecuado se deberá comprender los factores intervinientes en la Microbiología del Huevo.

Microbiología del huevo.

Para que un microorganismo produzca alteraciones en el huevo debe penetrar a través de los poros de la cáscara hasta la membrana interna, crecer sobre la membrana y alcanzar la clara o la yema. Dentro de los microorganismos asociados con más frecuencia al deterioro, se encuentran las bacterias Gram negativas y los hongos. (Rojas Jiménez, 2018)

Los poros de la cáscara juegan un papel vital en el intercambio gaseoso entre el embrión en desarrollo y el medio ambiente, pero también actúan de vía de entrada de los microorganismos desde el exterior de la cáscara.

Antes de la oviposición se admite que el huevo es "prácticamente" estéril, aunque esto es solamente cierto para las bacterias responsables de la putrefacción. En el caso de otros microorganismos como por ejemplo Salmonella Enteritidis la transmisión vertical juega un papel importante en la contaminación del huevo fértil.

De manera general, la contaminación microbiana del huevo puede producirse por dos vías:

- **Transmisión vertical:** contaminación del albumen y/o membrana vitelina y/o la yema por microorganismos que se encuentran en el ovario de la gallina o durante su paso por el oviducto. Se produce en el proceso de su formación. Esta ruta de contaminación es consecuencia de bacterias que invaden e infectan el aparato reproductor del ave.
- **Transmisión horizontal o transcascárida** contaminación posterior a la puesta, cuya causa suele ser ambiental. Esta vía supone la contaminación inicial de la superficie del huevo, seguida de la penetración subsiguiente del microorganismo en el albumen o, en algunos casos, directamente en la yema debido a contaminación fecal en la superficie de la cáscara. Es una de las formas más habituales de contaminación del huevo.

La contaminación vertical es la que juega un papel más relevante en la transmisión de Salmonella.

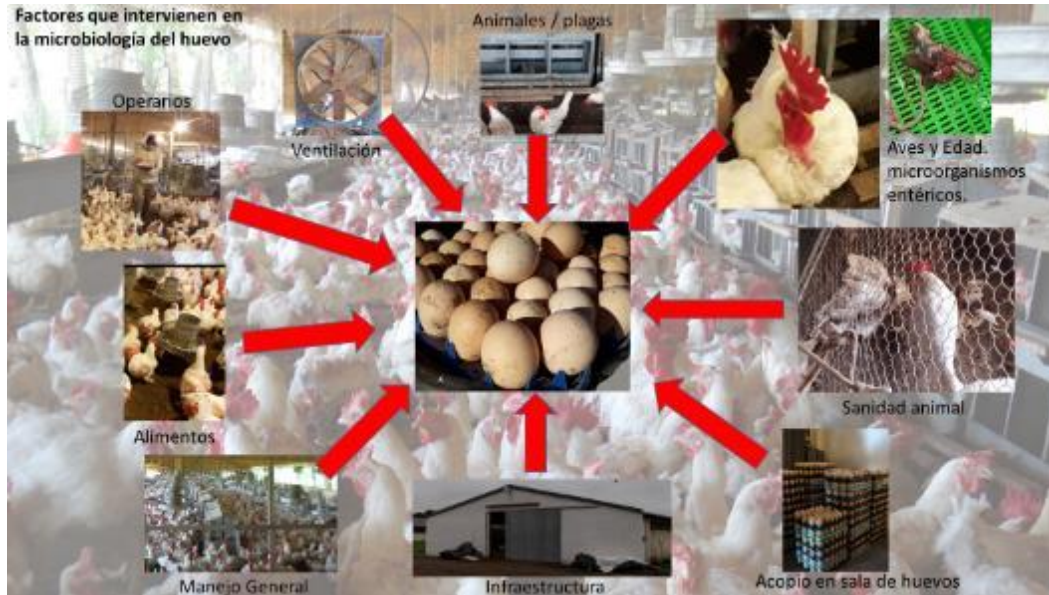
En el caso de bacterias de descomposición está la posibilidad de que el ovario se halle contaminado por estos microorganismos como consecuencia de infecciones ascendentes.

Conjuntamente a la contaminación endógena de los huevos durante su formación, la forma más habitual es la contaminación microbiana de la cáscara, se produce a partir de las heces en los nidos, en los sistemas colectores centro de clasificación, manos de los operarios, operaciones generales de manejo, ventilación, plagas, infraestructura y alimentos. (Domínguez, 2012)

Estos factores intervinientes la contaminación del huevo que ocurren en la producción primaria podrían reunirse en la siguiente figura 12

Figura 12

Factores intervinientes en la contaminación del huevo.



Elaboración propia.

La producción de huevos fértiles comienza en la granja, y con ella los microorganismos ubicuos de las instalaciones llegarán al huevo marcando un camino solo limitado por barreras físicas y químicas que poseen los huevos y por las acciones que se tomen para minimizar las contaminaciones, en el CÓDIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA LOS HUEVOS Y LOS PRODUCTOS DEL HUEVO propuesto por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación se expone que **“Los productores de huevos deberían tomar todas las medidas razonables para reducir la probabilidad de que ocurran peligros en el interior o en la superficie de los huevos durante la producción primaria.”**

El concepto anterior insta a observar todos los factores que se encuentran involucrados en el proceso de obtención del huevo fértil, la manera de reducir la probabilidad de ocurrencia de peligros es directamente proporcional al nivel de control sobre dichos factores.

la carga microbiana de la cáscara (número y tipo de microorganismos presentes), las condiciones de almacenamiento y manipulación (temperatura ambiente, humedad relativa, composición de la atmósfera) y factores intrínsecos del huevo, como pH, composición y barreras físicas y químicas (inhibidores y factores antinutricionales). Son fundamentales para entender el proceso de infección que originan los microorganismos en los huevos fértiles.

El calor acelera la actividad metabólica conjunto con la humedad permite el desarrollo de hongos tanto en el interior como en el exterior de los huevos y la consecuente infección del huevo fértil.

La luz y el oxígeno disminuyen la resistencia de la cáscara a la penetración microbiana. El envejecimiento fluidifica la clara, que deja de soportar y proteger a la yema, que por adherencia a la cáscara no tarda en contaminarse, el huevo de forma natural se encuentra protegido de la contaminación exterior gracias a la barrera física que le proporciona su cáscara y membranas y a barreras químicas antibacterianas presentes en su composición.

Existen múltiples factores que inciden en la contaminación superficial de los huevos fértiles, elegimos separar la contaminación en superficial y en interna entendiendo a la primera como la contaminación que se deposita sobre la superficie del huevo y a la segunda como la que finalmente atraviesa las barreras físicas y químicas y se instala en la yema. La contaminación interna se encuentra sujeta a la superficial.

Habiendo detallado la complejidad del proceso productivo y los múltiples factores a considerar, es necesario pensar en alguna estrategia de análisis basada en datos objetivos obtenidos de manera sistematizada para la resolución de problemas y evitar fallas.

Análisis de riesgos

La aplicación de sistemas de análisis de riesgos y / o el análisis sistematizado de la información nos permite identificar fallas que representan un mayor riesgo para la producción, considerando los factores asociados al manejo, los procesos, el personal y las instalaciones.

. Las fallas, para este análisis podrán ser ponderadas y asociadas a valores según diferentes criterios, como podría ser, determinar el impacto que tienen esas fallas. Y de esa manera se establecerá una escala de importancia de fallas.

Esto permite identificar las fallas donde la implementación de recursos generará un mayor impacto en los resultados finales. Con esto se logra una gestión basada en el análisis de la información y la priorización de recursos limitados.

La incorporación de criterios de riesgo y confiabilidad en la planeación general de las actividades es una tendencia global, que requiere nuevas tecnologías de procesos y de gestión.

Esto representa un reto en la actualidad, ya que la resistencia al cambio en los paradigmas tradicionales es un obstáculo importante, principalmente por una concepción inadecuada del proceso de planeación, ya que el empleo de metodologías analíticas no pretende cambiar como tal, la forma en la que se hace la producción, sino la forma en la que se planea o se resuelven fallas. (Aguilar – Otero et al., 2010)

Las técnicas de análisis de riesgo son empleadas en la búsqueda y evaluación de escenarios que pueden representar un impacto adverso para la producción e identifica los escenarios de mayor riesgo

Estos estudios, están basados en encontrar respuesta a tres interrogantes:

- ¿Qué puede salir mal?
- ¿Qué tan frecuente es?
- ¿Cuáles son sus efectos?

Las preguntas planteadas anteriormente deben responderse en virtud de un análisis en las siguientes etapas

- 1) Identificación de Riesgos; esta etapa es la de mayor importancia en la gestión de los riesgos ya que un riesgo no identificado es un riesgo que no se conocerá y por ende nunca podrá ser evaluado ni podrán tomarse medidas para reducirlo, eliminarlo o elaborar un plan para enfrentarlo.
- 2) Análisis de los Riesgos; el análisis de riesgos se realiza en términos cualitativos generalmente. De tenerse datos se podrá realizar una evaluación cuantitativa, pero generalmente se carece de ellos o son poco fiables. Los pasos fundamentales que componen esta etapa son:
 - Evaluación del Impacto
 - Cuantificación o Categorización del Riesgo

De todas formas, todo riesgo identificado debe quedar cuantificado en cuanto a sus efectos al menos en términos de costo, plazos y calidad-funcionabilidad de forma que ayude a su clasificación. La clasificación de los riesgos permite darle respuesta a los mismos, las cuales pueden ser: eliminar el riesgo, transferirlo, reducirlo, etc.

- 3) Respuesta a los Riesgos; una vez identificados los riesgos y conocido sus posibles efectos o daños debe realizarse su "gestión", que es equivalente a determinar la

respuesta adecuada a cada riesgo. La respuesta a los riesgos debe estar en consonancia con la repercusión económica a que puede dar lugar cada uno. Los riesgos, una vez identificados, pueden tener una respuesta inmediata (eliminar, reducir, compartir, transferir, asegurar, aceptar, etc.) o tener una respuesta de solución o aceptación a largo plazo para los cuales no se podrán tomar acciones inmediatas, pero el conocimiento de los mismos permitirá estar alerta y elaborar previamente un plan de contingencias para el caso en que se presenten e incluso, convertir la situación de riesgo en beneficios para la Empresa (Aguilar-Otero et. al., 2012)

El sector avícola deberá hacer sus producciones eficientes buscando un balance costo beneficio entre rendimientos, calidad, bienestar animal, inocuidad, cuidado de recursos humanos y naturales. Para esto será necesario destinar recursos para el control de los factores asociados a las fallas basados en un sistema de análisis sistematizado de la información, que buscará obtener los mayores impactos positivos con mínimos recursos. La toma de decisión basada en datos objetivos acompañada de nuevas tecnologías amigables puede potenciar el sistema productivo y ser las bases del futuro avícola.

Ozono, una tecnología amigable con el medio ambiente con potencial para establecerse en la industria avícola.

Ozono

El ozono, O₃, es termodinámicamente inestable, junto con el flúor (F₂), es uno de los agentes oxidantes más potentes que se conocen. Este poder oxidante promueve su uso como bactericida alternativo a la cloración ya que el producto final de la reacción desinfectante es el oxígeno "O₂," que resulta inocuo. (Villacis Aveiga & Costa, 2009)

Mecanismo de acción sobre las células

Los mecanismos de acción del ozono están estrechamente ligados a la producción de cuatro especies fundamentales (Ozónidos, Aldehídos, Peróxidos y Peróxido de Hidrógeno) cuando reaccionan con los fosfolípidos de membrana celular. (Muñoz, 2004).

El ozono reacciona con sustancias lipídicas de membrana formando especies reactivas del oxígeno (ERO) también denominadas sustancias prooxidantes que son generalmente moléculas muy pequeñas y altamente reactivas, debido a la presencia de una última capa de electrones no apareados. Las ERO dañan las moléculas del interior de la célula, principalmente proteínas, lípidos y ácidos nucleicos ocasionando en la misma un estrés oxidativo.

Por lo cual los efectos tóxicos del ozono se deben a su acción oxidante sobre la membrana celular, siendo las acciones principales, la peroxidación de lípidos y la oxidación de proteínas de la membrana (Rafael et Al., 1992)

La peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, alterando la permeabilidad de la membrana y provocando la muerte celular. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales para el funcionamiento normal de las membranas celulares; pero también son vulnerables al ataque oxidativo.

La oxidación de las proteínas afecta principalmente a un grupo de aminoácidos como la fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; formando entrecruzamientos de cadenas peptídicas con formación de grupos carbonilos. (Jerlick, 2000 – Reylli, 1990 y COLLADO & ALVIRA, 1994.)

La célula posee mecanismos enzimáticos y no enzimáticos para protegerse de esas acciones, pero el bombardeo continuo de ERO provoca un desequilibrio entre los agentes oxidantes y los agentes de protección llevando a la lisis y muerte celular. (Corrales, 2012)

Normativas Internacionales y Nacionales.

En el capítulo IV Aspectos Higiénicos Sanitarios del Codex Alimentarius se hace referencia al Ozono como agente desinfectante y como un prometedor reemplazo del cloro en la desinfección del agua. Además, en PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS 46a reunión Lima, Perú, 17 – 21 de noviembre de 2014 especifica que el ozono puede ser efectivo frente a parásitos resistentes a técnicas tradicionales de potabilización de agua.

En la norma española UNE-EN 1278:2010 productos químicos destinados al tratamiento de aguas para consumo humano, se detalla la actitud y características del ozono para la potabilización del agua de consumo.

El Ozono ha sido declarado agente antimicrobiano seguro "GRASS" por el Ente estadounidense Food and Drug Administration (F.D.A), del USDA (U.S. Department of Agriculture) y del EPA (Environmental Protection Agency)

El Reglamento Europeo Nº 528/2012 sobre productos biocidas incluye el ozono como biocida para distintos usos dentro del grupo de desinfectantes, aplicable para la desinfección de superficies, materiales, equipos, muebles, sistemas de aire acondicionado, paredes, suelos de lugares públicos y privados, zonas industriales y otras zonas destinadas a actividades profesionales, pero también destinado a la desinfección del aire. Esto puede verse desde la lista de biocidas permitidos de la European Chemical Agency. (ECHA, 2021)

Distintos organismos internacionales han fijado los límites máximos de exposición al ozono como se indica a continuación (tabla 4)

Tabla 3.
Límites de exposición al ozono. (Innst, 2020)

LÍMITES DE EXPOSICIÓN AL OZONO	
FDA (Food and Drug Administration)	Exige que la producción de ozono de los dispositivos médicos en interiores no supere las 0,05 ppm.
OSHA (Occupational Safety and Health Administration)	Requiere que los trabajadores no estén expuestos a una concentración promedio de más de 0,10 ppm durante 8 horas.
NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health)	Recomienda un límite superior de 0,10 ppm, que no debe excederse en ningún momento.
EPA (Environmental Protection Agency)	Establece una concentración máxima promedio de 8 horas al aire libre de 0,08 ppm.
OMS (Organización Mundial de la Salud)	Establece un límite de 0,10 mg/m ³ para una media máxima diaria de ocho horas.

En nuestro país lo podemos ver indicado en el Capítulo II, “condiciones generales de las fábricas y comercios de alimentos” del Código Alimentario Argentino, Artículo 119 - (Res 1976, 7.11.85) punto 7. (Res 1871, 20.09.88) autoriza el uso de ozono e iones de plata como tratamiento de agua para bebida, cuando se carece de agua potabilizada por servicios oficiales.

En el ANEXO CAPITULO XXII. HUEVOS Y OVOPRODUCTOS dispone que para la higiene de las dependencias avícolas puede utilizarse ozono, pero este no deberá hacerse en más de 0,5 miligramos por metro cúbico.

Breve descripción de los antecedentes sobre el uso del ozono en la industria alimenticia.

En 1785 el científico holandés Von Marum obtuvo por primera vez ozono, a partir de oxígeno puro del aire, aplicando descargas eléctricas. (Parzanese, 2013)

En 1906 en Niza, Francia se utilizó por primera vez el ozono para tratamientos de agua. Su acción en el agua no solo es bactericida, sino que también oxida compuestos orgánicos e inorgánicos como así también controla plagas y mejora sus características físicas. (Rodríguez Vidal J. 2003) En 1997 el ozono fue aprobado como producto GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA (US FDA – 1997) y en 2001 se aprobó su empleo en la industria alimentaria. En la actualidad la acción germicida del ozono está ampliamente reconocida por su alto poder oxidante; su acción no es solo inmediata sobre los

compuestos de membrana de los microorganismos si no también los subproductos generados por esa reacción tienen efecto germicida (Fernández et al., 2010).

Desde hace más de una década, Alimentos Argentinos, estimula, la utilización del Ozono en la industria alimenticia, para la conservación, limpieza y desinfección de agro alimentos (Parzanese, 2013)

Numerosos estudios han evaluado la efectividad del ozono en el control del crecimiento microbiano y la calidad, tanto en productos frescos como procesados, tales como uvas, jugos de naranja, fresa y mora. Además, se comprobó que el tratamiento con ozono retrasa en un 20% a 30% la maduración de muchos vegetales, lo que permite la prolongación de su vida útil. Un estudio reciente en Brasil en la Universidad Federal de Viçosa, Department of Agricultural Engineering, estableció que la aplicación de ozono permite un aumento de la vida útil de la zanahoria sin alterar el peso, la firmeza y el color. (Pellanda, 2017)

Los beneficios aportados a la conservación de frutas y hortalizas se deben principalmente a la acción del ozono sobre el etileno ($H_2C=CH_2$), compuesto orgánico que actúa en el inicio de la maduración de frutas y verduras. El alto poder oxidante del ozono reacciona con el etileno transformándolo en dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), (Parzanese, 2013 y Baiocchi, 2012).

Especialistas en citricultura del INTA Concordia comprobaron que la ozonización inhibe la esporulación de *Penicillium* sp. sobre naranjas en cámaras de conservación (Vázquez et al., 2010)

La ozonización continua o intermitente del ambiente de las cámaras a concentraciones de 0,3 ppm (límite máximo para exposiciones de hasta 15 min según la legislación de los EEUU) no resulta fitotóxica e inhibe de forma importante el crecimiento aéreo de micelio y la esporulación en frutos conservados en frío (4-5°C), pudiendo así reducir la carga de inóculo fúngico presente en los almacenes y también evitar la proliferación de cepas patogénicas resistentes a los fungicidas (Vall et al., 2004).

El Centro de Investigación Desarrollo e Innovación para los Procesos Agroalimentarios (CIDiPA UNLZ FCA) y ECO 03, realizaron ensayos en cámaras de conservación frutihortícola en el Mercado Central de Buenos Aires donde se evaluó el efecto de la ozonización combinada con la refrigeración para la conservación de plantas de brócoli y encontraron que la ozonización combinada con la refrigeración retarda el amarilleo en plantas de brócoli (100% plantas con amarilleo en cámara con refrigeración, 0 % de plantas con amarilleo en cámaras con ozonización y refrigeración luego de 7 días de conservación) Por otro lado se trabajó para evaluar si la ozonización es capaz de inhibir el desarrollo de *Penicillium* sp en limones, para ello se trabajó en el Laboratorio Central y en el de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de

Zamora y se determinó que la ozonización reduce la proporción de limones con daño fúngico (control 100% Vs. Ozonizados 45% luego de 32 días de tratamiento) y daña subletalmente a *Penicillium* sp. Inhibiendo su esporulación minimizando las posibilidades de contaminaciones entre los limones. (Marchessi et al., 2020)

La bibliografía señala la posibilidad de combinar la refrigeración con la ozonificación en la industria cárnica y pesquera, para efectivizar la conservación de estos productos, desde que se procesan almacenan y comercializan. La refrigeración como método de conservación es eficiente, pero no destruye los microorganismos; estos activan su crecimiento cuando el producto recupera la temperatura ambiente. La combinación de bajas temperaturas con la ozonificación permite la conservación del alimento y la disminución de la contaminación microbiológica natural, permitiendo el aumento de la vida útil. (Parzanese, 2013)

En Honduras, se realizaron ensayos de ozonificación sobre carne de cerdo fresca, comprobando una significativa reducción logarítmica microbiana con respecto al tratamiento control. (Gatti, 2006).

En búsqueda de desarrollos sostenibles Cuba y Brasil estimulan el uso de la ozonificación para la potabilización de agua o para el tratamiento de efluentes (Sartori, 2007 - BATALLER, 2010).

En trabajos más específicos realizados en Guayaquil, Ecuador, lograron inactivar el crecimiento de *Escherichia coli* en agua, mostrando diferencias significativas frente a otros tratamientos. (Villacis Aveiga, 2009).

Chile concluyó que el tratamiento con ozono es un buen sanitizante siendo capaz de la eliminación de *Brettanomyces bruxellensis* en maderas de roble americano para guarda de la industria vitivinícola, (Ruiz Oñate, 2012).

En producciones agropecuarias hay antecedentes del uso del ozono para la desinfección de suelos y de granos en el control de plagas y en apicultura para desinfección de panales. (Villacis Aveiga, 2009 - Sartori, et al., 2007)

En países europeos y en Estados Unidos, en la avicultura, se recomienda la utilización del ozono en galpones y salas de incubación para eliminar los agentes causantes de enfermedades, disminuyendo la necesidad de ventilación en lugares de climas fríos. Investigadores del INTA Concepción del Uruguay, Entre Ríos, comprobaron en ensayos de laboratorio, una disminución significativa del crecimiento en cultivos de *Salmonella* sp. y *Aspergillus* sp., aislados de plantas avícolas, con la aplicación de ozono. (Margus, 2011) Por su parte el CIDiPA y ECO 03, evaluaron la ozonización para la desinfección en huevos

fértiles logrando una significativa reducción de la carga microbiana superficial del huevo fértil sin afectar la viabilidad de los pollitos. (Marchessi et al., 2019)

La priorización de recursos y el uso de tecnologías alternativas amigables con el medio ambiente han llegado para establecerse en la industria buscando la mejora continua.

Hipótesis.

La toma de decisiones utilizando un sistema de análisis de datos permite un uso eficiente y racional de los recursos destinados al control de los factores asociados a las fallas en la producción avícola.

La ozonización es capaz de reducir in vitro la viabilidad de *Aspergillus fumigatus*.

Objetivos

Objetivos generales:

Elaborar un sistema de análisis que permita hallar los factores implicados en las muertes embrionarias; generar nuevas evidencias sobre la ozonización para establecerla en la industria avícola como una herramienta innovadora que aplicada junto con un manejo responsable de la información permitirá procesos más eficientes sustentados en cuidar el medio ambiente, los recursos humanos y la sanidad animal.

Objetivos específicos

1. Elaborar un sistema de análisis de información para detectar las causas más probables de mortalidad embrionaria combinando las fases de muertes con los motivos de las muertes.
2. Implementar el sistema de análisis propuesto para encontrar los riesgos asociados más probables que causaron las muertes embrionarias de pollitos provenientes de tres granjas de una misma firma comercial.
3. Determinar la incidencia de las contaminaciones microbianas en huevos no eclosionados. Aislar e identificar cepas fúngicas de embriones muertos.
4. Evaluar in vitro la actitud desinfectante del ozono frente a esporas de las cepas fúngicas aisladas y su susceptibilidad al ozono por medio de la prueba del malondialdehído.

Capítulo IV: Materiales y Métodos

1) Análisis sistematizado AR - 2:1

Para la sistematización del análisis de la información proveniente del estudio embrionario considerando la fase – motivo de muerte, se confeccionaron dos planillas:

- Planilla de recolección de datos a campo: esta permitió registrar para cada huevo analizado la fase y el motivo de dicha muerte.
- Planilla de análisis de datos: esta planilla fue elaborada para poder ordenar los resultados obtenidos y visualizar las combinaciones (Fase - motivo) más representativas de cada granja.

Las combinaciones posibles son las siguientes

Tabla 4.
Combinaciones

Combinaciones	
Fase - Contaminación Fúngica	F_{I, II, III y IV} - CF
Fase I, II, III y IV - Contaminación Bacteriana	- F_{I, II, III y IV} - CB
Invertidos	I
Fase I, II, III y IV Cachados	F_{I, II, III y IV} - CH
Fase III Perforación por Maquina In – ovo hematoma en cuello.	F_{III} - IO
Fase I, II, III y IV Traumatismos	F_{I, II, III y IV} - T
Fase I, II, III y IV - Malformaciones	F_{I, II, III y IV} - M
Fase I, II, III y IV - Deshidratado	F_{I, II, III y IV} - D
Fase IV - Picado no nacido	F_{IV} - PNN
Otras sin determinar	S/D

Para cada una de las combinaciones, se calculó el promedio de los tres carros estudiados por granja. Una vez obtenidos todos los promedios se eligieron las más representativas.

Para la elaboración del sistema de análisis que considero, las combinaciones de fase – motivo de muerte expuestas en la tabla 4;

- se confeccionó una lista teórica de los riesgos asociados a cada Fase (I, II, III y IV) y a los motivos observables de muerte (contaminados, cachados, picados no nacidos, invertidos, malformaciones, traumatismos, vacunación y picado muerto) está se basó en bibliografía de referencia avícola.

Los riesgos teóricos obtenidos por revisión bibliográfica se clasificaron en las siguientes categorías:

- Tiempo de almacenamiento (TA),
 - condiciones de temperatura y humedad (TH),
 - manejo humano (MH),
 - estado higiénico sanitario (EHS),
 - alimento (ALIMEN),
 - salud (salud),
 - ventilación (VENT) y
 - genética (GEN).
- d) Se calculó la frecuencia de ocurrencia (FO) de cada una de las causas (total de apariciones de la causa / total de causas) y se asignó este FO a cada una de las categorías de clasificación.
- e) Se formuló una lista de chequeo ponderado, en base a una serie de preguntas para establecer el nivel de adecuación del establecimiento respecto a las categorías de clasificación. La sumatoria de conformidades proporciona un factor de ponderación (FP) (FP: 0 -19%; 4, 20 – 39; 3, 40 -59; 2, 60 – 79; 1 y 80 – 100; 0) que corresponde con el nivel de adecuación del establecimiento a cada una de dichas categorías. El producto del FO por el FP será igual a la ponderación total (PT) de cada categoría.

Aquella categoría que muestre el valor más alto de PT será la que tenga prioridad para revisar, y se buscarán los riesgos asociados en la lista de riesgos que pertenezcan a la categoría.

La edad de la gallina será considerada un agravante con lo cual las categorías EHS, SALUD y MH se verán afectadas por el Factor Edad (FE).

Si todas las categorías arrojan valor de PT igual a "0". Se trabajará según el valor porcentaje de adecuación más bajo. Indicando que estas categorías son las posibles más asociadas a las muertes embrionarias.

2) Aplicación del sistema de análisis para establecer las causas más probables de muerte embrionaria.

Se realizó una embriodiagnos a nacimientos provenientes de tres planteles de reproductoras pesadas LÍNEA GENÉTICA Cobb de tres granjas distintas de una misma firma comercial, ubicadas en Azul, Villa Lia y 25 de mayo, estas granjas presentaron cada una de ellas animales de edades diferentes (67, 90 y 40 semanas respectivamente).

y se aplicó el sistema propuesto anteriormente para cada una de las combinaciones de Fases - Motivos de muerte.

Estos lotes que se encontraban en incubadoras FRANKEN separadas, totalizando 13140 huevos por incubadora por granja, (6 carros en cada incubadora se tomaron tres de los seis carros y se muestreo de la manera habitual en la industria avícola, según indicaciones del veterinario responsable del establecimiento, la bandeja superior, la central y la inferior y se seleccionaron todos los huevos donde no se observó eclosión. Estos huevos se colocaron en maples plásticos con la parte roma hacia arriba y se rotularon. Finalmente se realizó la observación visual de los pollitos no nacidos.

El veterinario de la empresa respondió las preguntas de la lista de chequeo ponderado, en base a su observación, experiencia y registros (de operaciones y sanitarios).

3) Incidencia de las contaminaciones microbianas en huevos no eclosionados. Aislamiento e identificación de cepas fúngicas a partir de embriones muertos.

Incidencia de las contaminaciones

Se recolectaron datos de embriodiagnos efectuadas a nacimientos provenientes de tres planteles de reproductoras pesadas linea Cobb de tres granjas distintas de una misma firma comercial, ubicadas en Azul, Villa Lia y 25 de mayo, estas granjas presentaron cada una de ellas animales de edades diferentes (67, 90 y 40 semanas respectivamente).

Estos lotes que se encontraban en incubadoras separadas totalizaron 13140 huevos por incubadora por granja, existiendo 6 carros en cada incubadora, se tomaron tres de los seis carros y se muestreo de la manera habitual en la industria avícola, según indicaciones del veterinario responsable del establecimiento, la bandeja superior, la central y la inferior y se seleccionaron todos los huevos donde no se observó eclosión. Estos huevos se colocaron en maples plásticos con la parte roma hacia arriba y se rotularon. Finalmente se realizó la observación visual de los pollitos no nacidos.

Ya establecida la metodología de muestreo se procedió a la observación directa y la recolección de muestras microbianas para realizar aislamientos y clasificar las muertes por contaminación microbiana en bacteriana o fúngica. Los datos se volcaron en la planilla 1. Se determinó el porcentaje de muertes por contaminación fúngica y microbiana, estos corresponden con la relación entre muerte por contaminación fúngica / total de muertes y muerte por contaminación microbiana / total de muertes. El resultado se expresó en porcentaje.

Aislamiento e identificación de cepas fúngicas

a) Primer aislamiento a campo:

A partir de los huevos con contaminación fúngica hallados durante la embriodiagnos, con la ayuda de un ansa, se tomaron muestras de cada uno de estos y se las sembró por duplicado en superficie en una placa de Petri que contenía el medio de cultivo agar Sabouraud. Se incubaron a 24 ± 1 °C durante 72 hs.

b) Aislamiento en el laboratorio.

A partir de los crecimientos obtenidos en el paso anterior se procedió a la purificación de los cultivos, repicando sucesivamente los hongos a medios de cultivo frescos. Para finalmente obtener 86 cultivos puros.

Identificación de géneros fúngicos

Se identificó el género, según características macroscópicas y microscópicas realizando un montaje con cinta adhesiva, para ello se tomó un trozo de 4 cm de cinta por los extremos y se apoyó sobre la colonia a observar, luego la cinta se colocó con cuidado sobre el portaobjeto evitando que quede aire entre las superficies observando en microscopio óptico (Arcano Binocular XSZ107 BN) a 400 x (figura 13). La identificación del género se realizó utilizando claves taxonómicas presentes en: Gilman (1963), Alexopoulos (1996) y de García (2012)

Identificación de especie

Cultivos monospóricos

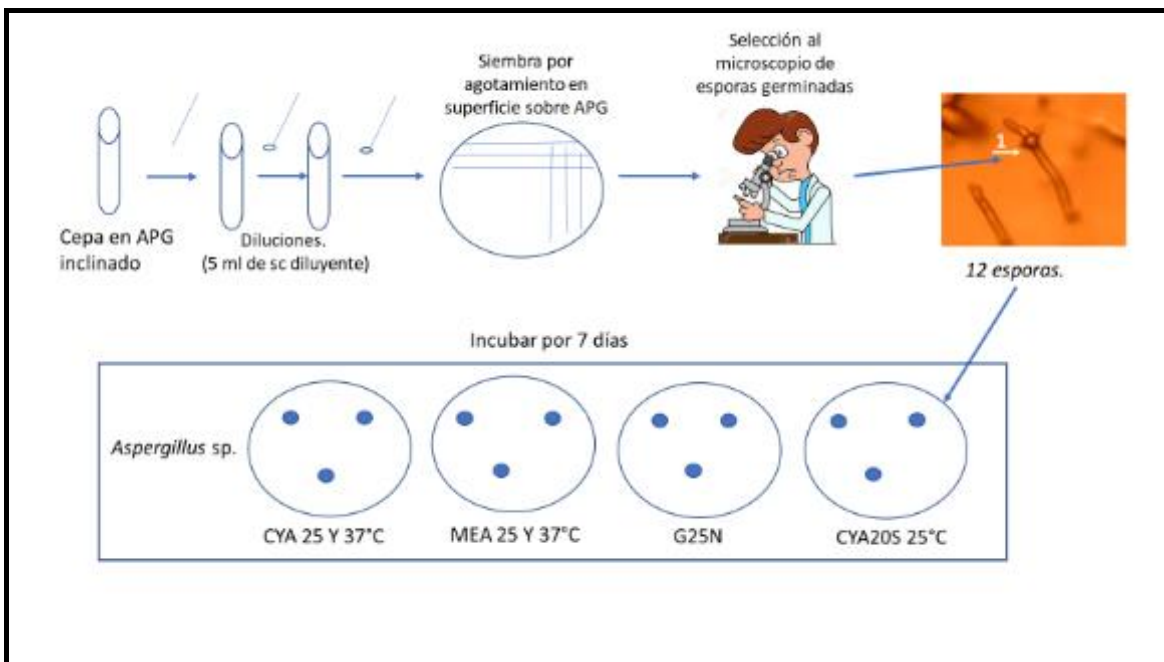
Para la determinación de especie de las cepas aisladas se necesitan cultivos desarrollados a partir de una espora simple. Para lo anterior, se toman dos tubos con 5 ml de agua destilada estéril con Tween 80 al 0,05%; con una ansa recta se toma una pequeña porción del crecimiento de un cultivo puro del hongo, y se lo suspende en uno de los tubos con 5 ml de agua destilada estéril con Tween 80, luego con un ansa rulo se toma una alícuota y se la traspasa al otro tubo (dilución seriada); por duplicado se toman 10µl del segundo tubo y se siembra por agotamiento en superficie, flameando el ansa entre grupos de estrías sobre APG. Luego, las cajas se incubaron a 25 ± 2 °C y se observó a las 24 – 36 horas para ver la germinación de una espora. (Allen et al., 2008) Bajo microscopio se tomó con capilar de vidrio una de las esporas germinadas (se consideró germinada cuando el tubo germinativo presentó el doble de longitud que el diámetro de la espora)

Determinación de especie

Se realizó a partir de cada cepa de *Aspergillus* sp., utilizando los cultivos monospóricos obtenidos en el paso anterior y se sembró en CYA, MEA, G25N y CY20S, en tres puntos equidistantes entre sí, (usando una espора recién germinada para cada siembra), siguiendo el esquema de siembra que se describe en la figura 13. Se incubó durante 7 días a 28 y 37 ± 2 °C. La identificación se realizó siguiendo las claves taxonómicas de Klich y Pitt (1988). La medición de las estructuras fúngicas se realizó utilizando ocular micrométrico 10 x (Arcano) y Objetivo micrométrico (Carl Zeiss)

Figura 13

Esquema de siembra para determinación de especie de *Aspergillus* sp.



Conservación de cepas

En tubos de ensayo de 4 x 15 cm se colocó APG hasta 1/3 del tubo, luego se esterilizó a 121°C durante 15 minutos y al terminar se colocaron inclinados hasta la solidificación del medio de cultivo. Seguidamente se sembraron las cepas aisladas, se incubaron por 24- 48 horas a 25 ± 2 °C para ser conservados en heladera a 4 °C.

4) Actividad Fungicida de la ozonización frente a las cepas de fúngicas.

El experimento se efectuó en tres oportunidades de manera independiente

Preparación del inóculo de esporas

Se tomó una placa de Petri que poseía un cultivo fúngico incubado por 5 días. Y se realizó un lavado en placa con solución fisiológica estéril con tween 80 al 0.05%. Se procedió a suspender las esporas realizando movimientos circulares en la placa. Se transfirió 1 ml del sobrenadante a un tubo que contenía 9 ml de solución fisiológica estéril con tween 80 al 0,05% y se lo denominó tubo 0. A partir de este se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-4}

Título del inóculo por conteo en cámara de neubauer

Se tomó con micropipeta automática 10 ul (previo agitación en vortex) del tubo denominado 10^{-1} ; se apoyó el tips en uno de los bordes de la cámara de conteo para que por capilaridad se llenen las dos cámaras de conteo. Se llevó al microscopio óptico (400 X) y se realizó el conteo de 5 cuadrados principales por duplicado (conteo en ambas cámaras). Se determinó así el número de esporas / mililitro en el tubo 0 y en las diluciones, para el conteo final se eligieron los recuentos que se encontraron entre 10 y 50 esporas.

Para determinar el número de esporas por mililitro en el tubo del cual proviene la alícuota se aplicó la siguiente ecuación.

Ecuación 1

$$N^{\circ} \text{ de esporas } \times \text{ ml}^{-1} = \sum \frac{\text{esporas en cuadrados principales}}{N^{\circ} \text{ de cuadrados principales contados}} \times 10000$$

Nota: el método no permite diferenciar esporas viables de no viables.

Viabilidad del inóculo

Una vez determinado el título teórico del inóculo, se sembró según el método horizontal para recuento en placa utilizando medio Agar Papa Glucosado aplicando siembra en superficie; se sembró una alícuota de 0,1 ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} (se usaron 3 placas para la siembra de cada dilución) se incubó por 96 horas a 25 grados centígrados y se realizaron los recuentos de unidades formadoras de colonias en las diluciones que presentaron entre 5 y 50 ufc. (ANMAT, 2014). El resultado del recuento de ufc en la placa donde se pudo contar se trasladó al tubo 10^{-1} , aplicando el factor de conversión 10 si se realizó el conteo en la dilución 10^{-2} ; 100 en la 10^{-3} ; 1000 en la 10^{-4} .

Actividad Fungicida

Para la evaluación de la actividad fungicida del ozono frente a cepas fúngicas se procedió a sembrar a partir de los tubos 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} en placa por triplicado; se buscará la reducción en el número de esporas viables en la placa.

La siembra para conocer la viabilidad del inóculo y la actividad fungicida se realizaron en paralelo.

Ozonización:

Se trabajó en una cámara cerrada de 22 litros donde se colocaron las 9 placas abiertas correspondientes a las diluciones sembradas para evaluar la actividad fungicida del ozono y se encendió el equipo generador de ozono (Modelo; AR1200 SERIE 18) provisto por la empresa ECO 03 que suministró un promedio de 10 ppm del gas durante 1 hora. Figura 14 (Marchessi et al., 2019)

Incubación y conteo:

Se incubaron en estufa de cultivo a 25 grados centígrados durante 96 horas para un primer recuento y 168 horas para el recuento final. El conteo se realizó en las diluciones que presentaron entre 5 y 50 ufc.

Criterio de aceptación:

Para evaluar la acción de un desinfectante sobre esporas fúngicas, Díaz – Enríquez et al., (2017) sugieren que el desinfectante es eficaz si logra reducir al menos en dos órdenes logarítmicos la viabilidad de dichas esporas.

Figura 14
Equipo de ozonización.

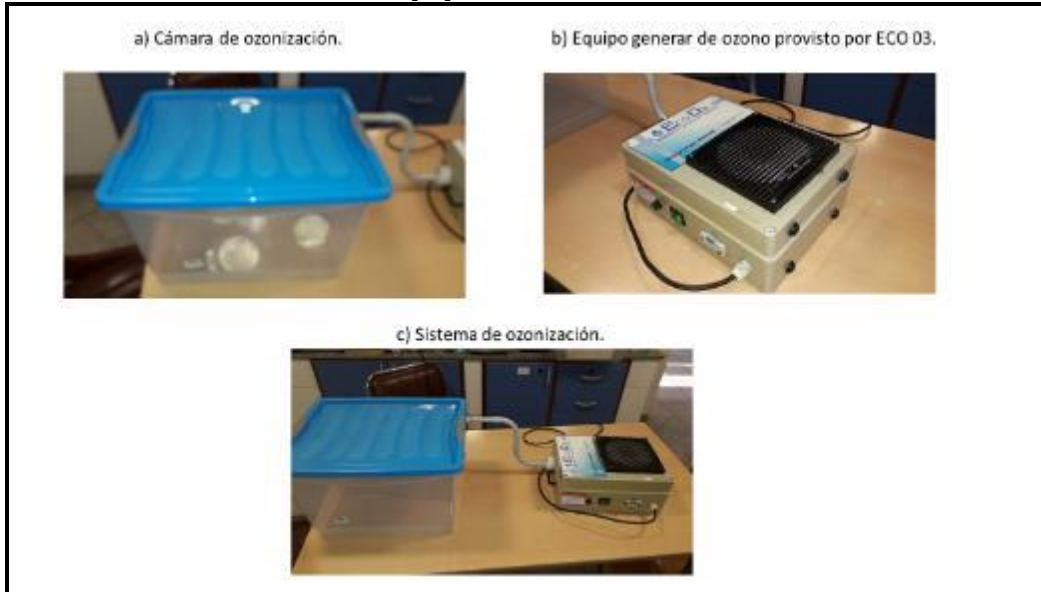
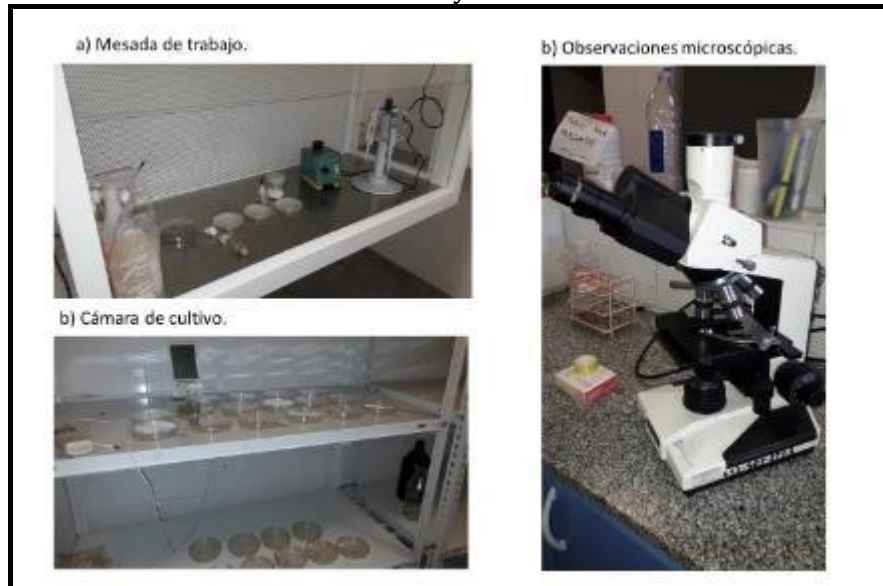


Figura 15.
Materiales y métodos.



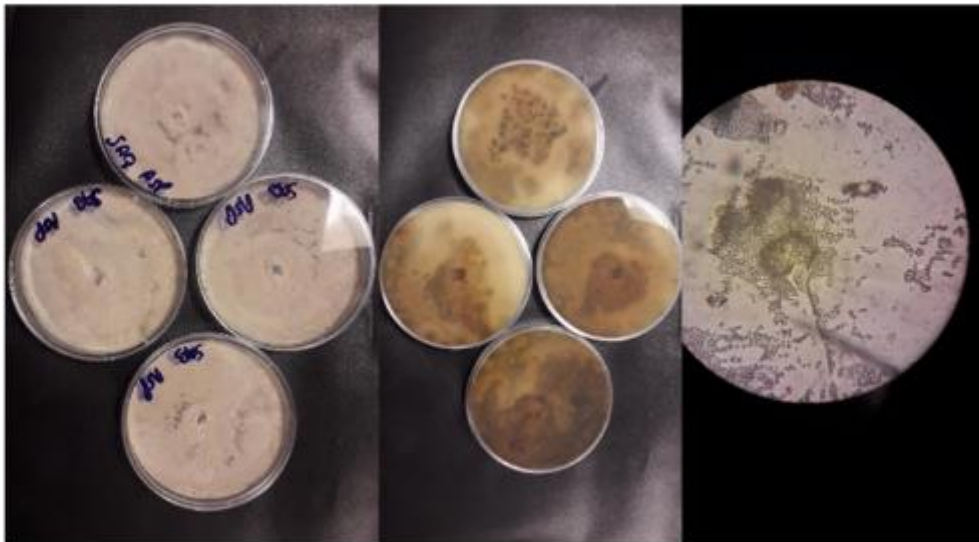
Susceptibilidad al ozono de las esporas de las cepas aisladas de embriones muertos de gallinas reproductoras pesadas.

El trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología y en el Laboratorio Central de la FCA - UNLZ.

Cultivos axénicos se obtuvieron a partir de embriones muertos de huevos de reproductoras pesadas provenientes de una planta de incubación de la localidad de Ministro Rivadavia, provincia de Buenos Aires.

Figura 16

De izquierda a derecha. Placa con *Aspergillus fumigatus* frente y dorso. Observación microscópica a 400 x



El tratamiento de ozonización se realizó sobre una suspensión de 10^7 esporas/ml. en una cámara cerrada de 22 litros, donde se alcanzó una concentración estable de ozono de 10 ppm., por 60 minutos (Marchessi *et al.*, 2020).

Figura 17
Cámara de ozonización



El daño celular por peroxidación lipídica provocado por el ozono se determinó por el método del malondialdehído (MDA) el cual consiste en cuantificar su formación por reacción con ácido tiobarbitúrico en condiciones ácidas, se midió con un espectrofotómetro Shimadzu UV – 160A. La concentración de MDA se calculó utilizando el coeficiente de extinción del MDA $1.54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y se expresó como nmol/mL El método descrito es el enunciado por Gutiérrez-Salinas *et al.*, (2009) y el detalle puede verse en el Anexo N° 3.

Este procedimiento se realizó por triplicado tanto para el control **(T1)** esporas sin ozonizar y para **(T2)** esporas ozonizadas.

Paralelamente se determinó la viabilidad de las esporas **(T1)** y **(T2)**; siguiendo el método horizontal para recuento de viables en placa, por siembra en superficie en agar Sabouraud e incubando a 25°C durante 48 – 72 horas (ANMAT, 2014)

Observaciones y resultados

1. Sistema de Análisis de Riesgos.

Diseño de planillas

- a) La planilla 1 se utilizó a campo y fue posible registrar tanto la fase y el motivo de muerte de cada uno de los huevos analizados durante la embriodiagnos. Para esto se diseñó
- b) una lámina con fotografías propias. Anexo N° 1 Lámina para embriodiagnos.

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
 Año 2023**

Planilla 1

Registro de datos a campo.

Nacedora N°/ carro N°	Granja	N° de huevos totales en nacedora	Bandeja	N° de huevos por bandeja	N° de huevos a evaluar ***		H1*	H2	H3	H4	H5	H...	Hn
			Superior			Fase							
			Medio			Causa							
			Inferior			Aislamiento N°							
						Foto N°							

- c) En la planilla 2 se vuelcan los datos registrados en la planilla 1 para calcular las combinaciones más representativas.

**Planilla 2.
Análisis de datos**

	N° de Itens por estante			Sumatoria	Huevo sin eclosionar	Cargados	% general	Resultado A	Embriodiagnos %
	Superior	Medio	Inferior						
infértil									
F1									
F2									
F3									
F4									
S/D									
infértil contaminado									
F1 CONTAMINADO									
F2 CONTAMINADO									
F3 CONTAMINADO									
F4 CONTAMINADO									
S/D CONTAMINADO									
F1 Traumatismo									
F2 TRAUMATISMO									
F3 TRAUMATISMO									
F4 TRAUMATISMO									
F3 MAQUINA IN OVO									
F1 CACHADO									
F2 CACHADO									
F3 CACHADO									
F4 CACHADO									
PNN									
PICADO MUERTO									
S/D CAUSA									
F2 MALFORMACION									
F3 MALFORMACION									
F4 MALFORMACION									
Invertido									
Total, de muertos									
Total de infértiles									
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)									

d) Se calcula el promedio de los 3 carros analizados de cada granja. Y se determinan las fases – motivos más representativos.

d) Listado de riesgos y clasificación en categorías.

Fase I	Categorías
Tiempo inadecuado de almacenamiento del huevo	TA
Condiciones inadecuadas de la sala de almacenamiento	TH
Tiempo inadecuado de permanencia en el nido	MH
Condiciones de temperaturas bajas	TH
Cambios bruscos de temperatura y humedad	TH
desinfección deficiente de huevos	EHS
Prealemtamiento excesivo de las incubadoras	TH

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Condiciones de la incubadora incorrectas.	TH
Calidad deficiente de la cascara.	ALIMEN.
Deficiencia nutricional	ALIMEN.
Enfermedades del plantel	SALUD
transporte deficiente	MH
falta de oxigeno	VENT.
stress	SALUD
Fase II	
Cambios bruscos de temperatura en incubadora	TH
Volteo inadecuado o insuficiente	MH
Temperatura y humedad inadecuada	TH
Falta de oxígeno en la sala de incubación	VENT.
Calidad de la cascara deficiente	ALIMEN.
Tiempo inadecuado de permanencia en el nido	MH
Mala Nutrición	ALIMEN.
estado sanitario deficiente	SALUD
Deficiencia en B12 Y D3	ALIMEN.
Presencia excesiva de bacterias	EHS
Factores genéticos determinantes.	SALUD
deficiencia en vitamina e	ALIMEN.
Tiempo inadecuado de almacenamiento del huevo	MH
condensación de agua sobre el huevo	EHS
Fase III	
Condiciones de temperatura y humedad inadecuadas	TH
infección por agentes etiológicos	EHS
alta humedad en nacedora	TH
huevos enfriados excesivamente	TH
Deficiencia de Biotina Vitamina D	ALIMEN.
Temperatura muy alta en nacedora	TH
Falta de ventilación	VENT.
insuficiente perdida de agua	TH
Salud deficiente.	SALUD
Fase IV	
Volteo insuficiente	MH
temperatura inadecuada	TH
Huevos colocados invertidos	MH

alto grado de humedad	TH
insuficiente perdida de agua	TH
Salud deficiente	SALUD

Contaminados	Categorías
tiempo inadecuado de permanencia en el nido	MH
higiene y limpieza en nido deficiente	EHS
desinfección deficiente de los huevos	EHS
Incubación de huevos de piso.	EHS
higiene general deficiente	EHS
Condensación de agua sobre los huevos	EHS
alimentación inadecuada, deficiente	ALIMEN.
Salud deficiente	SALUD
Cachados	
Manejo brusco	MH
deficiencia de vitamina D y /o calcio	ALIMEN.
Enfermedades Bronquitis infecciosa, síndrome de baja postura	SALUD
temperatura ambiente inadecuada	TH
Picado no nacidos	
Inadecuada alimentación/NUTRICIÓN DE LAS REPRODUCTORAS	ALIMEN.
Enfermedad en las reproductoras	SALUD
Genes letales	GEN
Huevos colocados invertidos	MH
Calidad de la cascara deficiente	ALIMEN.
Traumatismos	MH
Problemas con el volteo	MH
Humedad baja en nacedora	TH
Mala circulación de aire en nacedora	VENT.
Transferencia tardía	MH
Exceso de fumigación en nacedora	EHS
Alta humedad y temperatura en incubación	TH
Cambios bruscos de temperatura	TH
malformaciones	
Factores hereditarios determinantes	GEN

Factores ambientales inadecuados durante la incubación	TH
Deficiencia en vitaminas y o en minerales	ALIMEN.
Almacenamiento por más de 7 días	TA
Volteo incorrecto	MH
Manejo inadecuado durante la primera semana	MH
Salud del plantel deficiente	SALUD
Traumatismo	
Manejo brusco	MH
In ovo	
Colocación inadecuada en las bandejas	MH
Picado Muerto	
Bajo grado de humedad en incubadora	TH
Temperatura alta o baja durante periodos cortos	TH
Ventilación insuficiente en nacedora	VENT.
Mala posición. Estrés	SALUD
Nutrición deficiente de las reproductoras	ALIMEN.
Invertidos	
Colocación inadecuada en las bandejas	MH

e) Cálculo de Factor de Ocurrencia.

Tabla 5.
Factor de ocurrencia.

Factor de ocurrencia			
Categorías	CÓDIGO	Cantidad de apariciones	Factor de Ocurrencia
Condiciones de temperatura y humedad	TH	22	24,44
Manejo Humano	MH	19	21,11
ALIMENTO	ALIMEN	16	17,78
Salud	SALUD	15	16,67
Estado higiénico sanitario	EHS	10	11,11
Ventilación	VENT.	5	5,56
Tiempo de almacenamiento	TA	2	2,22
Genética	GEN	1	1,11
		90	100,00

Factor Edad

Tabla 6
Factor Edad.

EDAD	FACTOR
Entre 20 y 60 semanas de las reproductoras	1
Más de 60 semanas	2
Si el segundo ciclo de postura se realiza en otro establecimiento	1

f) Factor de Ponderación:

El factor de ponderación corresponderá con la adecuación del establecimiento a una serie de preguntas para cada una de las categorías, y para esto se propone una planilla de Excel que proporciona el FP automáticamente al introducir la respuesta "1" (Cumple) o "0" (no cumple) a cada una de las preguntas.

La lista de chequeo se compone de las siguientes preguntas ordenadas según el flujo de producción:

Salud.

1. La mortalidad en el último tiempo es la habitual (si es "no" colocar -2)
2. Se cumplió con el plan de vacunas
3. Se escuchan ruidos respiratorios normales
4. Presentan comportamiento normal en el consumo de alimentos y agua y lo consumen en el tiempo esperado (2 HORAS)
5. Los animales no presentan inflamaciones en cabeza, ojos o fosas nasales
6. El caminar es normal (no vacilante ni extraño)
7. La recolección de huevos es la habitual (en cantidad de huevos y recolección diaria)
8. Los animales presentan comportamiento normal respecto a las necesidades fisiológicas (diarreas)
9. Los huevos poseen la forma color habitual
10. El comportamiento general de los animales es normal

Alimentación

1. Se proporciona alimento adecuado según la fase de crecimiento animal
2. El encargado de la nutrición animal formuló los alimentos y se respetó la fórmula del nutricionista en la fabricación del alimento balanceado.

3. Hay registros sobre problemas alimenticios y / nutricionales y/o nutricionales
4. El almacenaje de los alimentos se encuentra protegido de contaminaciones
5. Se mantiene el mismo alimento (Es decir se cambió el alimento últimamente)
6. Se mantiene el mismo proveedor de materias primas y o producto terminado
7. Se realiza control adecuado de las materias primas.
8. De realizar cambios en la formulación, fue hecho por personal capacitado
9. Se proporcionan suplementos vitamínicos adecuados

Condiciones de temperatura y humedad

1. En los galpones la granja las temperaturas fueron las adecuadas (los animales no estuvieron sometidos a temperaturas ni humedad comprometedoras)
2. En la sala de almacenaje huevos en la granja los registros de temperatura son normales
3. En la sala de almacenaje de huevos, previo a la incubación, los registros de temperatura son normales
4. Se hace precalentamiento adecuado antes de ingresar los huevos a la incubadora
5. Las mediciones en los registros de temperatura, de las incubadoras involucradas en los lotes con problemas están correctos
6. Las condiciones ambientales durante la transferencia fueron las adecuadas.
7. Las mediciones en los registros de temperatura de las nacedoras involucradas en los lotes con problemas fueron las adecuadas
8. Las mediciones en los registros de humedad relativa de las incubadoras involucradas en los lotes con problemas están correctas
9. Las mediciones en los registros de humedad relativa de las nacedoras involucradas en los lotes con problemas están correctos

Ventilación

1. Están en correcto funcionamiento los ventiladores en la granja
2. La ventilación en las incubadoras funciona correctamente
3. La ventilación en las nacedoras funciona correctamente
4. La ventilación, temperatura y humedad relativa en las salas son las adecuadas

Manejo humano

1. No se incorporan trabajadores nuevos sin experiencia habitualmente
2. La manipulación de los huevos en granja es la adecuada (es decir no se realizan movimientos bruscos)
3. Los sistemas de transporte de huevos dentro de los galpones funcionan correctamente
4. Los maples plásticos se lavan y desinfectan adecuadamente
5. El transporte de los huevos de la granja a la planta es el habitual
6. El transporte está condicionado correctamente (temperatura)
7. Los maples vuelven a la granja desde donde vienen

8. Los operarios poseen elementos de protección personal para realizar el trabajo adecuadamente en granja
9. Los operarios poseen elementos de protección personal para realizar el trabajo adecuadamente en planta de incubación
10. La manipulación es adecuada a la hora de la carga de huevos en la incubadora (no se realizan movimientos bruscos)
11. Se observa deterioro de los elementos de incubación
12. Las pérdidas registradas durante la transferencia por huevos cachados es la habitual
13. El manejo en la vacunación es el adecuado. (preparación y manejo)
14. La carga de los huevos en las nacedoras se realizó por el personal habitual.
15. El funcionamiento de las incubadoras es correcto
16. El funcionamiento de las nacedoras es correcto
17. Los registros se llenan de manera clara y legible.
18. No se han observado enfermedades profesionales.
19. Hay sistemas de verificación de procedimientos
20. Hay sistemas de verificación de registros.

Tiempo de almacenamiento

1. El tiempo antes de la entrada a las incubadoras es menor a 7 días
2. La cantidad de huevos en espera es la adecuada (es decir no supera las capacidades de las incubadoras)
3. No hay indicios de que por razones ajenas a los operarios se haya atrasado la carga de los huevos
4. El transporte de los huevos se realizó normalmente

Estado higiénico Sanitario

1. Se respetan normas de bioseguridad
2. Existen POES y Registros de estos en la granja.
3. Dentro de la granja la circulación se encuentra restringida
4. No se observa presencia o indicio de plagas en granja
5. No se observan presencia de animales ajenos a la producción en granja
6. Los materiales de la construcción de la granja impiden el anidamiento de plagas
7. Se respeta el flujograma del recorrido del huevo en granja
8. Hay sistemas de aireación forzada, (presión positiva y negativa en las salas) en la planta de incubación.
9. La cama se encuentra libre de humedad excesiva o agua
10. La cama se cambia periódicamente
11. Los huevos de piso o sucios son descartados para la incubación
12. Las superficies y rincones se encuentran libres de enmohecimiento
13. El agua de consumo de los animales es segura
14. Los elementos de limpieza y desinfección en granja son suficientes y adecuados
15. Los vestuarios en la granja se encuentran en condiciones adecuadas de higiene

16. Las dimensiones de la granja evitan el hacinamiento (densidad adecuada)
17. Se utilizan antifúngicos u otras sustancias desinfectantes.
18. Los animales muertos son eliminados frecuentemente
19. Existen instalaciones de sanitización adecuadas en cada galpón
20. Las construcciones en la sala de huevo evitan contaminaciones externas
21. Al terminar el ciclo productivo se hace vacío sanitario
22. Se respetan normas de bioseguridad en planta
23. Hay registros de procedimientos estandarizados de saneamiento en planta
24. Los POES se realizan en tiempo y forma.
25. Los vestuarios en la planta se encuentran en condiciones adecuadas de higiene y dotados de elementos para contención de peligros biológicos.
26. Los huevos de piso o sucios se trabajan de manera diferencial en planta (no se mezclan bajo ningún motivo con incubables)
27. Los elementos de limpieza y desinfección en planta son suficientes y adecuados
28. los sanitarios son funcionales y completos en planta
29. Se observa cartelería sobre buenas prácticas
30. Se observan buenas condiciones de higiene en sala de huevos
31. Se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de incubadoras
32. Se observan adecuadas condiciones de higiene en incubadoras
33. Se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de transferencia (maquina in – ovo).
34. Existen registros de preparación de diluciones de limpieza de la máquina in -ovo
35. Se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de nacedoras
36. Se observan adecuadas condiciones de higiene en las nacedoras
37. Se realizan periódicamente análisis microbiológicos ambientales o de superficies

El sistema automáticamente establece el factor de ponderación en base a los cumplimientos de la lista de chequeo para cada una de las categorías, donde el técnico contesta si cumple o no cumple a cada una de las preguntas.

A continuación, se muestran a modo de ejemplo capturas de pantalla de lo hasta aquí descrito.

Figura 18
 Salud del plantel. 100 % de adecuación en el establecimiento.

Salud del Plantel		Referencias	
		Valores de Situación	
4	La mortalidad en el último tiempo es la habitual (si es "no" colocar 0)	1	Cumple
5	se cumplió con el plan de vacunas	1	No cumple
6	se escuchan ruidos respiratorios normales	1	
7	presentan comportamiento normal en el consumo de alimentos y agua	1	
8	los animales no presentan inflamaciones en cabeza, ojos o fosas nasales	1	
9	el caminar es normal (no vacilante ni extraño)	1	
10	La recolección de huevos es la habitual (en cantidad)	1	FP
11	Los animales presentan comportamiento normal en sus necesidades fisiológicas (diarreas)	1	FALSO
12	Los huevos poseen la forma habitual	1	FALSO
13	el comportamiento general de los animales es normal	1	FALSO
14	Sumatoria	10	Porcentaje 100

Figura 19
 Salud del plantel con incumplimientos

Check List General. Salud del Plantel		Referencias	
		Valores de Situación	
4	La mortalidad en el último tiempo es la habitual (si es "no" colocar 0)	1	Cumple
5	se cumplió con el plan de vacunas	0	No cumple
6	se escuchan ruidos respiratorios normales	1	
7	presentan comportamiento normal en el consumo de alimentos y agua	1	
8	los animales no presentan inflamaciones en cabeza, ojos o fosas nasales	0	
9	el caminar es normal (no vacilante ni extraño)	1	
10	La recolección de huevos es la habitual (en cantidad)	0	FP
11	Los animales presentan comportamiento normal en sus necesidades fisiológicas (diarreas)	1	FALSO
12	Los huevos poseen la forma habitual	1	FALSO
13	el comportamiento general de los animales es normal	1	FALSO
14	Sumatoria	7	Porcentaje 70

2) Aplicación del sistema para determinar los riesgos más probables que ocasionaron las muertes embrionarias detectadas en la embriodiagnos realizada.

Los registros de la planilla 1, pueden verse en detalle en el anexo N° 1 embriodiagnos

Se utilizó el sistema propuesto para hallar los riesgos asociados a cada una de las combinaciones Fase / Motivo más representativas, las cuales se detallan a continuación.

Determinación de Fase – Motivo representativas.

A continuación, se presentan las planillas de análisis de información. Estas planillas se completaron para cada uno de los carros examinados y granja. (Desde figura 18 hasta figura 26)

Villa Lía. Análisis sistematizado

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 20
Resultados en planilla 1 para carro 1 Villa Lia.

Nacedora N°	3	Incubadora N°			Superior	13	Medio	10	Inferior 13		
Carro	1	Granja	Villa Lia.	calculo ponderado							
	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	cargados	% general	Media ponderada	Embriodiagnosis %	metodo simple	
Infertil	1	3	1	5	4872	21672	77,52	1,12	2,88	1,32	
F1	2	2	2	6	4872	21672	77,52	1,35	3,46	1,59	
F2	0	2	0	2	4872	21672	77,52	0,45	1,15	0,53	
F3	4	0	0	4	4872	21672	77,52	0,90	2,31	1,06	
F4	4	4	2	10	4872	21672	77,52	2,25	5,76	2,65	
S/D	3	5	4	12	4872	21672	77,52	2,70	6,92	3,17	
Infertil contaminado	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F1 CONTAMINADO	1	0	1	2	4872	21672	77,52	0,45	1,15	0,53	
F2 CONTAMINADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F3 CONTAMINADO	1	0	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,58	0,26	
F4 CONTAMINADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
S/D CONTAMINADO	3	4	4	11	4872	21672	77,52	2,47	6,34	2,91	
F1 Traumatismo	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F3 MAQUINA IN OVO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F1 CACHADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F2 CACHADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F3 CACHADO	1	0	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,58	0,26	
F4 CACHADO	0	1	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,58	0,26	
PNN	4	1	0	5	4872	21672	77,52	1,12	2,88	1,32	
PICADO MUERTO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
S/D CAUSA	3	6	4	13	4872	21672	77,52	2,92	7,49	3,44	
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F3 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
Invertido	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00	
Total de muertos	13	13	8	34							
Total de infértiles	1	3	1								
% nacimientos (no eclosionados /	89,68	89,68	93,65								

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 21
Resultados en planilla 1 para carro 2 Villa Lia.

Carro 2	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	cargados	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	
Infertil	0	0	2	2	4872	21672	77,52	0,45	1,12	0,529
F1	2	2	0	4	4872	21672	77,52	0,90	2,25	1,058
F2	0	2	1	3	4872	21672	77,52	0,67	1,69	0,794
F3	5	4	9	18	4872	21672	77,52	4,05	10,12	4,762
F4	6	4	1	11	4872	21672	77,52	2,47	6,18	2,910
S/D	2	0	0	2	4872	21672	77,52	0,45	1,12	0,529
Infertil contaminado	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F1 CONTAMINADO	2	0	0	2	4872	21672	77,52	0,45	1,12	0,529
F2 CONTAMINADO	0	0	1	1	4872	21672	77,52	0,22	0,56	0,265
F3 CONTAMINADO	0	0	3	3	4872	21672	77,52	0,67	1,69	0,794
F4 CONTAMINADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
S/D CONTAMINADO	2	0	0	2	4872	21672	77,52	0,45	1,12	0,529
F1 Traumatismo	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F3 TRAUMATISMO	1	0	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,56	0,265
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F3 MAQUINA IN OVO	1	0	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,56	0,265
F1 CACHADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F2 CACHADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F3 CACHADO	1	0	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,56	0,265
F4 CACHADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
PNN	3	4	2	9	4872	21672	77,52	2,02	5,06	2,381
PICADO MUERTO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
S/D CAUSA	5	8	4	17	4872	21672	77,52	3,82	9,55	4,497
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F3 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,000
Invertido	0	0	1	1	4872	21672	77,52	0,22	0,56	0,265
Total de muertos	15	12	11	38						
Total de infértiles	0	0	2							
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	88,10	90,48	91,27							

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 22
Resultados en planilla 1 Carro 3 Villa Lia.

Carro 2	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	cargados	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	
Infertil	0	1	1	2	4872	21672	77,52	0,45	1,28	0,53
F1	4	3	1	8	4872	21672	77,52	1,80	5,14	2,12
F2	0	0	2	2	4872	21672	77,52	0,45	1,28	0,53
F3	6	3	5	14	4872	21672	77,52	3,15	8,99	3,70
F4	3	2	3	8	4872	21672	77,52	1,80	5,14	2,12
S/D	0	1	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
Infertil contaminado	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F1 CONTAMINADO	1	2	1	4	4872	21672	77,52	0,90	2,57	1,06
F2 CONTAMINADO	0	0	1	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
F3 CONTAMINADO	1	0	1	2	4872	21672	77,52	0,45	1,28	0,53
F4 CONTAMINADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
S/D CONTAMINADO	0	1	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
F1 Traumatismo	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F3 MAQUINA IN OVO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F1 CACHADO	1	0	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
F2 CACHADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F3 CACHADO	0	1	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
F4 CACHADO	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
PNN	0	1	2	3	4872	21672	77,52	0,67	1,93	0,79
PICADO MUERTO	1	0	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
S/D CAUSA	9	3	5	17	4872	21672	77,52	3,82	10,92	4,50
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F3 MALFORMACION	0	0	0	0	4872	21672	77,52	0,00	0,00	0,00
F4 MALFORMACION	0	1	0	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
Invertido	0	0	1	1	4872	21672	77,52	0,22	0,64	0,26
Total de muertos	13	9	11	33						
Total de infértiles	0	1	1							
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	89,68	92,86	91,27							

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 23
Resultados en planilla 1 carro 1 Azul.

Azul. Análisis Sistematizado

Nacedora N°	3	Incubadora N°		Superior	13	Medio	10	Inferior 13		
Carro	1	Granja	AZUL	calculo ponderado						
	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	Plantel	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	
Infertil	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1	0	1	2	3	6202	16632	62,71	1,12	2,60	0,79365079
F2	2	0	1	3	6202	16632	62,71	1,12	2,60	0,79365079
F3	3	7	11	21	6202	16632	62,71	7,83	18,21	5,55555556
F4	6	6	4	16	6202	16632	62,71	5,97	13,88	4,23280423
S/D	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
Infertil contaminado	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1 CONTAMINADO	0	1	2	3	6202	16632	62,71	1,12	2,60	0,79365079
F2 CONTAMINADO	1	0	0	1	6202	16632	62,71	0,37	0,87	0,26455026
F3 CONTAMINADO	0	0	1	1	6202	16632	62,71	0,37	0,87	0,26455026
F4 CONTAMINADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
S/D CONTAMINADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1 Traumatismo	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 MAQUINA IN OVO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1 CACHADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 CACHADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 CACHADO	0	0	1	1	6202	16632	62,71	0,37	0,87	0,26455026
F4 CACHADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
PNN	5	0	2	7	6202	16632	62,71	2,61	6,07	1,85185185
PICADO MUERTO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
S/D CAUSA	4	13	12	29	6202	16632	62,71	10,81	25,15	7,67195767
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
Invertido	1	0	0	1	6202	16632	62,71	0,37	0,87	0,26455026
Total de muertos	11	14	18	43						
Total de infértiles	0	0	0	0						
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	91,27	88,89	85,71							

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 24
Resultados en planilla 1 carro 2 Azul.

	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	Plantel	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	
Infertil	0	0	2	2	6202	16632	62,71	0,75	2,13	0,52910053
F1	1	1	1	3	6202	16632	62,71	1,12	3,20	0,79365079
F2	2	1	0	3	6202	16632	62,71	1,12	3,20	0,79365079
F3	6	6	5	17	6202	16632	62,71	6,34	18,11	4,4973545
F4	6	2	2	10	6202	16632	62,71	3,73	10,65	2,64550265
S/D	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
Infertil contaminado	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1 CONTAMINADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 CONTAMINADO	1	0	0	1	6202	16632	62,71	0,37	1,07	0,26455026
F3 CONTAMINADO	2	0	0	2	6202	16632	62,71	0,75	2,13	0,52910053
F4 CONTAMINADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
S/D CONTAMINADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1 Traumatismo	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 MAQUINA IN OVO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1 CACHADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 CACHADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 CACHADO	1	2	0	3	6202	16632	62,71	1,12	3,20	0,79365079
F4 CACHADO	2	1	0	3	6202	16632	62,71	1,12	3,20	0,79365079
PNN	2	1	1	4	6202	16632	62,71	1,49	4,26	1,05820106
PICADO MUERTO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
S/D CAUSA	6	6	7	19	6202	16632	62,71	7,09	20,24	5,02645503
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
Invertido	1	0	0	1	6202	16632	62,71	0,37	1,07	0,26455026
Total de muertos	15	10	8	33						
Total de infertiles	0	0	2							
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	88,10	92,06	93,65							

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 25
Resultados en planilla 1 carro 3 Azul.

	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	Plantel	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	
Infertil	0	1	0	1	6202	16632	62,71	0,37	0,76	0,26455026
F1	1	1	0	2	6202	16632	62,71	0,75	1,52	0,52910053
F2	2	0	0	2	6202	16632	62,71	0,75	1,52	0,52910053
F3	7	10	7	24	6202	16632	62,71	8,95	18,26	6,34920635
F4	4	12	4	20	6202	16632	62,71	7,46	15,22	5,29100529
S/D	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
Infertil contaminado	0	1	0	1	6202	16632	62,71	0,37	0,76	0,26455026
F1 CONTAMINADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 CONTAMINADO	1	0	0	1	6202	16632	62,71	0,37	0,76	0,26455026
F3 CONTAMINADO	1	1	0	2	6202	16632	62,71	0,75	1,52	0,52910053
F4 CONTAMINADO	1	1	0	2	6202	16632	62,71	0,75	1,52	0,52910053
S/D CONTAMINADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F1 Traumatismo	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 MAQUINA IN OVO	0	1	1	2	6202	16632	62,71	0,75	1,52	0,52910053
F1 CACHADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F2 CACHADO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 CACHADO	2	0	4	6	6202	16632	62,71	2,24	4,57	1,58730159
F4 CACHADO	1	1	2	4	6202	16632	62,71	1,49	3,04	1,05820106
PNN	0	4	2	6	6202	16632	62,71	2,24	4,57	1,58730159
PICADO MUERTO	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
S/D CAUSA	8	13	2	23	6202	16632	62,71	8,58	17,50	6,08465608
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F3 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	6202	16632	62,71	0,00	0,00	0
Invertido	0	0	1	1	6202	16632	62,71	0,37	0,76	0,26455026
Total de muertos	14	23	11	48						
Total de infértiles	0	1	0	1	49					
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	88,89	81,75	91,27							

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

25 de mayo. Análisis sistematizados.

Figura 26
Resultados en planilla 1 carro 1 25 de Mayo

	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	cargados	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	TOTALES
Infertil	1	0	1	2	7102	41202	82,76	0,34	0,73	0,52910053
F1	3	1	1	5	7102	41202	82,76	0,86	1,83	1,32275132
F2	1	0	2	3	7102	41202	82,76	0,52	1,10	0,79365079
F3	2	8	5	15	7102	41202	82,76	2,59	5,50	3,96825397
F4	5	7	0	12	7102	41202	82,76	2,07	4,40	3,17460317
S/D	1	2	2	5	7102	41202	82,76	0,86	1,83	1,32275132
Infertil contaminado	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F1 CONTAMINADO	1	1	0	2	7102	41202	82,76	0,34	0,73	0,52910053
F2 CONTAMINADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 CONTAMINADO	1	1	2	4	7102	41202	82,76	0,69	1,47	1,05820106
F4 CONTAMINADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
S/D CONTAMINADO	0	1	1	2	7102	41202	82,76	0,34	0,73	0,52910053
F1 Traumatismo	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 MAQUINA IN OVO	0	2	0	2	7102	41202	82,76	0,34	0,73	0,52910053
F1 CACHADO	1	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,37	0,26455026
F2 CACHADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 CACHADO	0	0	1	1	7102	41202	82,76	0,17	0,37	0,26455026
F4 CACHADO	1	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,37	0,26455026
PNN	0	2	0	2	7102	41202	82,76	0,34	0,73	0,52910053
PICADO MUERTO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
S/D CAUSA	8	10	5	23	7102	41202	82,76	3,96	8,44	6,08465608
F2 MALFORMACION	0	0	1	1	7102	41202	82,76	0,17	0,37	0,26455026
F3 MALFORMACION	0	0	1	1	7102	41202	82,76	0,17	0,37	0,26455026
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
Invertido	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
Total de muertos	12	18	10	40						
Total de infértiles	1	0	1	2						
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	90,48	85,71	92,06							

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Figura 27
Resultados en planilla 1 carro 2. 25 de Mayo

	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	cargados	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	
Infertil	0	1	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,48	0,26455026
F1	0	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,48	0,26455026
F2	2	1	4	7	7102	41202	82,76	1,21	3,35	1,85185185
F3	4	6	3	13	7102	41202	82,76	2,24	6,22	3,43915344
F4	5	4	3	12	7102	41202	82,76	2,07	5,75	3,17460317
S/D	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
Infertil contaminado	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F1 CONTAMINADO	0	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,48	0,26455026
F2 CONTAMINADO	1	0	1	2	7102	41202	82,76	0,34	0,96	0,52910053
F3 CONTAMINADO	0	0	1	1	7102	41202	82,76	0,17	0,48	0,26455026
F4 CONTAMINADO	1	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,48	0,26455026
S/D CONTAMINADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F1 Traumatismo	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 MAQUINA IN OVO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F1 CACHADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F2 CACHADO	1	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,48	0,26455026
F3 CACHADO	1	1	0	2	7102	41202	82,76	0,34	0,96	0,52910053
F4 CACHADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
PNN	1	2	1	4	7102	41202	82,76	0,69	1,92	1,05820106
PICADO MUERTO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
S/D CAUSA	5	6	6	17	7102	41202	82,76	2,93	8,14	4,4973545
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 MALFORMACION	1	0	1	2	7102	41202	82,76	0,34	0,96	0,52910053
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
Invertido	0	2	0	2	7102	41202	82,76	0,34	0,96	0,52910053
Total de muertos	11	11	11	33						
Total de infértiles	0	1	0	34						
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	91,27	91,27	91,27							

Figura 28
Resultados en planilla 1 carro 2. 25 de Mayo

	Superior	Medio	Inferior	Sumatoria	Huevo sin eclosionar	cargados	% general	Resultado A	Embriodiagnos %	
Infertil	0	0	1	1	7102	41202	82,76	0,17	0,43	0,26455026
F1	2	1	3	6	7102	41202	82,76	1,03	2,59	1,58730159
F2	1	1	0	2	7102	41202	82,76	0,34	0,86	0,52910053
F3	6	3	7	16	7102	41202	82,76	2,76	6,89	4,23280423
F4	3	3	7	13	7102	41202	82,76	2,24	5,60	3,43915344
S/D	1	1	0	2	7102	41202	82,76	0,34	0,86	0,52910053
Infertil contaminado	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F1 CONTAMINADO	0	1	1	2	7102	41202	82,76	0,34	0,86	0,52910053
F2 CONTAMINADO	0	1	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,43	0,26455026
F3 CONTAMINADO	1	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,43	0,26455026
F4 CONTAMINADO	1	0	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,43	0,26455026
S/D CONTAMINADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F1 Traumatismo	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F2 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F4 TRAUMATISMO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 MAQUINA IN OVO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F1 CACHADO	0	1	0	1	7102	41202	82,76	0,17	0,43	0,26455026
F2 CACHADO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 CACHADO	1	1	1	3	7102	41202	82,76	0,52	1,29	0,79365079
F4 CACHADO	0	1	1	2	7102	41202	82,76	0,34	0,86	0,52910053
PNN	0	2	2	4	7102	41202	82,76	0,69	1,72	1,05820106
PICADO MUERTO	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
S/D CAUSA	9	0	11	20	7102	41202	82,76	3,45	8,62	5,29100529
F2 MALFORMACION	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
F3 MALFORMACION	0	2	1	3	7102	41202	82,76	0,52	1,29	0,79365079
F4 MALFORMACION	0	0	0	0	7102	41202	82,76	0,00	0,00	0
Invertido	0	0	1	1	7102	41202	82,76	0,17	0,43	0,26455026
Total de muertos	13	9	17	39						
Total de infértiles	0	0	1	40						
% nacimientos (no eclosionados / potenciales)	89,68	92,86	86,51							

Con todos los datos recabados se determinó el promedio de los tres carros para cada combinación fase – motivos de muerte, se marcan con color las combinaciones más representativas (Tabla 8).

Tabla 7
Promedio para cada una de las fases motivos de muerte.

	Villa Lía	Azul	25 de mayo
Infértil contaminado	0,00	0,25	0,00
F1 CONTAMINADO	1,62	0,87	0,69
F2 CONTAMINADO	0,40	0,90	0,30
F3 CONTAMINADO	1,18	1,51	1,43
F4 CONTAMINADO	0,00	0,51	0,14
S/D CONTAMINADO	2,70	0,00	0,72
F1 CACHADO	0,21	0,00	0,12

Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre *Aspergillus fumigatus* aislado de embriones muertos.
Año 2023

F2 CACHADO	0,00	0,00	0,00
F3 CACHADO	0,59	2,88	0,87
F4 CACHADO	0,19	2,08	0,89
F1 Traumatismo	0,00	0,00	0,00
F2 TRAUMATISMO	0,00	0,00	0,00
F3 TRAUMATISMO	0,19	0,00	0,00
F4 TRAUMATISMO	0,00	0,00	0,00
F3 MAQUINA IN OVO	0,00	0,51	0,56
F1 CACHADO	0,21	0,00	0,12
F2 CACHADO	0,00	0,00	0,00
F3 CACHADO	0,59	2,88	0,87
F4 CACHADO	0,19	2,08	0,89
Invertidos	0,40	0,88	0,46
F2 MALFORMACION	0,00	0,00	0,28
F3 MALFORMACION	0,00	0,00	0,71
F4 MALFORMACION	0,21	0,00	0,00
PNN	3,29	4,97	1,46
PICADO MUERTO	0,21	0,00	0,00

Una vez obtenidas las combinaciones fases – motivo más representativas, para cada una de las granjas se aplicó el análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos.

Villa Lía.

Figura 29
Análisis automatizado en Excel

Binomio								
Fase I - Contaminado								
Fase I	Causa	FO	Porcentaje de Adecuación a la categoría	FP	Categorías mas probables	Edad	nueva ponderación (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como máximo)	
TH		24,44	77,7777778	1	24,44			
MH	MH	20,21	60	1	20,21			
EHS	EHS	11,11	50	2	22,22	2	44,44	
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	55,5555556	2	35,56			
SALUD	SALUD	16,67	70	1	16,67	2	33,34	
VENT.		5,56	50	2	11,12			

Riesgos.	
Tiempo inadecuado de permanencia en el nido	
transporte deficiente	
incubación de huevos de piso	
Calidad deficiente de la cascara	
alimentación inadecuada deficiente	
desinfección de huevos inadecuada	
higiene y limpieza en nido deficiente	
higiene general deficiente	
Condensación sobre los huevos	
Reducción de 25 a 9 riesgos.	

Figura 30
Análisis automatizado en Excel

Fase III - Contaminado								
Fase III -	Causa	FO	Porcentaje de Adecuación a la categoría	FP	Categorías mas probables	Edad	nueva ponderación (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)	
TH		24,44	77,7777778	1	24,44			
EHS	EHS	11,11	50	2	22,22	2	44,44	
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	55,5555556	2	35,56			
VENT.		5,56	50	2	11,12			
SALUD	SALUD	16,67	70	1	16,67	2	33,34	
	MH	21,11	60	1	21,11			

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Riesgos
Alimentos contaminados
Deficiencia de Biotina Vitamina D
Infección por agentes etiológicos
Higiene y limpieza de nido deficiente
Desinfección de los huevos inadecuada
Incubación huevos de piso
Higiene general deficiente
Condensación sobre los huevos
Tiempo inadecuado de permanencia en el nido.

Reducción de 18 a 9 riesgos

Figura 31

Análisis automatizado en Excel

Fase III - Traumatismo							
Fase III	Causa	FO	Porcentaje de Adecuacion a la categoria	FP	Categorias mas probables	Edad	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)
TH		24,44	77,77777778	1	24,44		
EHS		11,11	50	2	22,22	2	33,34
ALIMEN.		17,78	70	1	17,78		
VENT.		5,56	50	2	11,12		
SALUD		16,67	70	1	16,67	2	33,34
	MH	21,11	60	1	21,11		

Riesgos
infección por agentes etiológicos
Deficiencia de Biotina Vitamina D
Manejo brusco

Reducción de 10 a 3 riesgos.

Figura 32

Análisis automatizado en Excel

Fase III - Cachado									
Fase III	Causa	FO	Porcentaje de Adecuacion a la categoria	FP	Categorias mas probables	Edad	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)	segundo ciclo en otro galpon	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)
TH	TH	24,44	77,7777778	1	24,44				
EHS		11,11	50	2	22,22	2	44,44		
ALIMEN.	ALIMEN.	17,78	55,5555556	2	35,56				
VENT.		5,56	50	2	11,12				
SALUD	SALUD	16,67	70	1	16,67	2	33,34		
	MH	21,11	60	1	21,11	2	42,22	1	42,22

Riesgos.
Manejo brusco
Deficiencia de Biotina Vitamina D
Deficiencia de vitamina D o calcio
Infección por agentes etiológicos

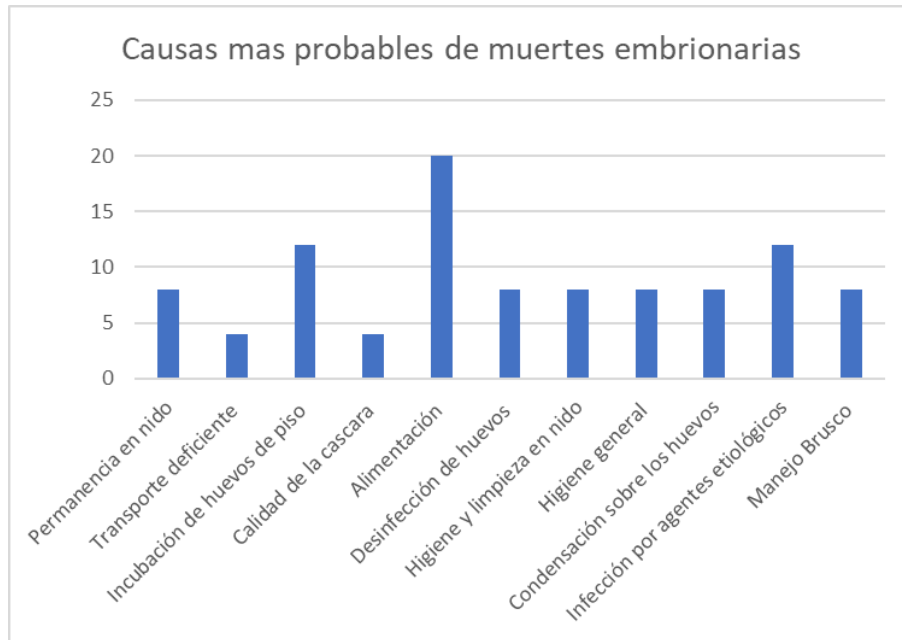
Reducción de 15 a 4 riesgos.

Frecuencia de las causas más probables.

Tabla 8 Frecuencia de las causas más probables.

Causas generales	Apariciones	Frecuencia %
Permanencia en nido	2	8
Transporte deficiente	1	4
Incubación de huevos de piso	3	12
Calidad de la cascara	1	4
Alimentación	5	20
Desinfección de huevos	2	8
Higiene y limpieza en nido	2	8
Higiene general	2	8
Condensación sobre los huevos	2	8
Infección por agentes etiológicos	3	12
Manejo Brusco	2	8
Total	25	100

Gráfico 1
Causas más probables de muertes embrionarias.



Se puede observar una generalización en las posibilidades de las causas de las muertes, aunque la alimentación y la incubación de los huevos piso podrían ser las que deban atenderse con mayor celeridad. La infección por agentes etiológicos podría darse por la alimentación como así también por el estado higiénico sanitario de los animales.

25 de mayo

- F1 Vs. Contaminado
- F3 Vs. Contaminado
- F3 Vs. Cachados
- F2 Vs. Malformaciones
- F3 Vs. Malformaciones

Figura 33
Análisis automatizado en Excel

Binomio							
Fase I - Contaminado							
Fase I	Causa	FO	Porcentaje de Adecuación a la categoría	FP	Categorías mas probables	Edad	nueva ponderación (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como máximo)
EHS	EHS	11,11	38,88888889	3	33,33	1	33,33

Riesgos
Higiene y limpieza en nido deficiente
Desinfección deficiente de huevos
Incubación de huevos de piso
Higiene general deficiente
Condensación sobre los huevos

De 19 a 5 causas

Figura 34
Análisis automatizado en Excel

Binomio							
Fase III - Contaminado							
Fase III -	Causa	FO	Porcentaje de Adecuacion a la categoria	FP	Categorias mas probables	Edad	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)
EHS	EHS	11,11	38,8888889	3	33,33	1	0

Riesgos
Infección por agentes etiológicos
Higiene y limpieza de nido deficiente
Desinfección de los huevos
Incubación de huevos de piso
Higiene general deficiente
Condensación sobre los huevos
de 19 a 6 causas.

Figura 35
Análisis automatizado en Excel

Fase III - Cachado						Edad	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)	segundo ciclo en otro galpon	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)
Fase III	Causa	FO	Porcentaje de Adecuacion a la categoria	FP	Categorias mas probables	Edad	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)	segundo ciclo en otro galpon	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)
EHS		11,11	38,8888889	3	33,33	1	33,33		

Riesgos
Infección por agentes etiológicos
De 15 a 1

Figura 36
Análisis automatizado en Excel

Fase II - Malformaciones						Edad	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)
Fase II	Causa	FO	Porcentaje de Adecuacion a la categoria	FP	Categorias mas probables		
EHS		11,11	38,88888889	3	33,33	1	33,33

Riesgos.
Infección por agentes etiológicos

De 21 a 1

Figura 37
Análisis automatizado en Excel

Fase III - Malformaciones						Edad	nueva ponderacion (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como maximo)
Fase III	Causa	FO	Porcentaje de Adecuacion a la categoria	FP	Categorias mas probables		
EHS		11,11	38,88888889	3	33,33	1	33,33

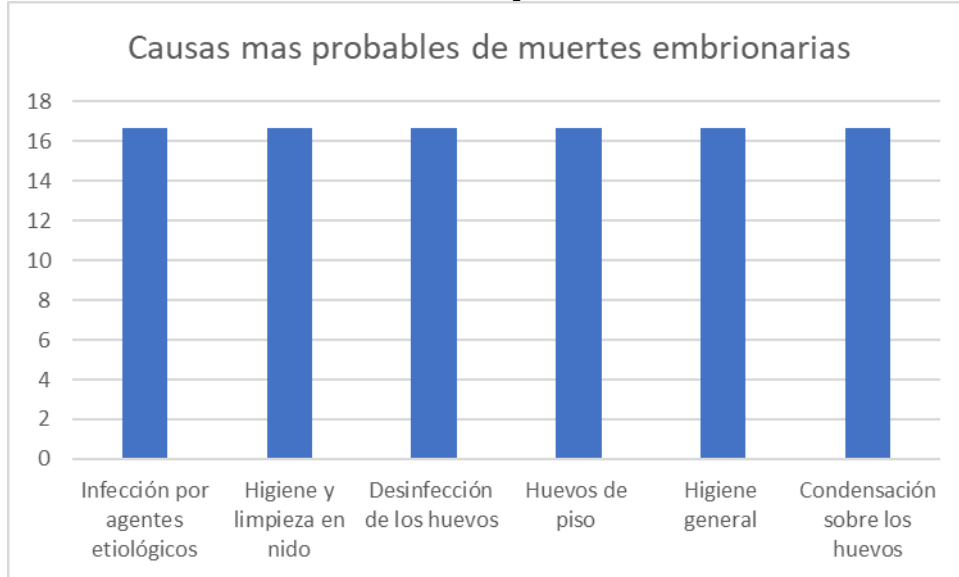
de 16 a 1

Frecuencia de las causas más probables.

Tabla 9
Frecuencia de causas más probables de muerte embrionaria.

Causas	Apariciones	Frecuencia
Infección por agentes etiológicos	2	16,67
Higiene y limpieza en nido	2	16,67
Desinfección de los huevos	2	16,67
Huevos de piso	2	16,67
Higiene general	2	16,67
Condensación sobre los huevos	2	16,67
Total	12	100,00

Gráfico 2. Frecuencia de las causas más probables de muertes embrionarias



En esta granja se observa la totalidad de las muertes asociadas al deficiente estado higiénico sanitario general, se recomienda rever procedimientos operativos estandarizados de saneamiento y concientizar sobre la aplicación de estos.

Azul


- F3 Vs. Contaminado
- F2 Vs. Contaminado
- F1 Vs. Contaminado
- F3 Vs. Cachados
- F4 Vs. Cachados

En el caso de la granja de Azul, el veterinario no disponía de información actualizada ni pudo concurrir al establecimiento en las semanas posteriores al análisis, con lo cual no recibí las check completos para llevar adelante el análisis de riesgo.

Como pudo verse en los dos casos de aplicación del check list, el número de riesgos asociados más probables a la causa de las muertes bajó drásticamente, esto permite accionar más rápido enfocándose en estos factores involucrados, que al encontrarse desviados pudieron ser los mayores responsables de las muertes embrionarias.

El sistema propuesto funciona de manera semi automática, ingresando en una planilla de Excel las respuestas a las preguntas de la lista de chequeo. Las siguientes imágenes son ejemplo del sistema al que damos por llamar AR 2:1 reactivo.

Figura 38
Pantalla inicial del sistema.

AR 2:1 reactivo		
<i>Sistema de Analisis de Riesgo para detectar factores asociados a muertes embrionarias.</i>		
Modo de uso:		
0) Coloque el valor correspondiente al rango de edad de las gallinas en la hoja "EDAD"		
1) A partir de los datos obtenidos de la embriodiagnos, considerando "Fases y Causas" arme los binomios "Fase - Causa" mas representativos. Utilice la lamina de referencias que se encuentra en una de las hojas de este libro.		
2) complete las listas de verificación que se encuentran en la hoja "Ponderaciones" colocando un "1" cuando "cumple" y un "0" cuando no cumple. Excepto en los casos especiales indicados en la planilla.		
3) busque el / los binomios que determino en 1) entre las hojas de este libro.		
4) En la celda "Categoría mas probable" abra el filtro y destile "0" si el sistema no arroja categorías, tilde el "0" nuevamente y desde el filtro de "Porcentaje de adecuación para cada categoría" abra el filtro y destile "100". Trabaje con los porcentajes de adecuación y remítase al check list para ver las preguntas implicadas. Continúe como en 5)		
5) A mayor valor en las celdas de "Categoría mas probable" mayor posibilidad que esos factores estén asociados a la muerte, considere que la posibilidad aumenta si observa que en las celdas de "Fase" y "Causa" se ven las mismas categorías		
6) Sabiendo el valor de las categorías, dirijase a la hoja "Factores Asoc. a Fases y Causas" y elija los factores que pertenezcan a la categoría, para cada termino del binomio: esos serán los factores asociados a revisar, y las categorías con mayor valor serán los que deban atenderse primero.		
<small>nota: el los factores asociados podrán adaptarse a cada empresa, y la lista de chequeo es genérica para establecimientos avícolas de reproductoras pesadas. No se incluye infértiles.</small>		

Factor Edad. En esta hoja del libro de Excel deberá colocar manualmente el valor correspondiente al factor según se detalla.

Figura 39
Factor EDAD.

Edad de la gallina	
	valor
entre 20 y 60 semanas coloque un 1. a partir de 60 coloque un 2. (deje el 1 abajo) este caso solo que el segundo ciclo se realice en el mismo galpon.	1
Si el segundo ciclo se realiza en otra granja coloque un 2 , (deje el 1 arriba)	1

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Planillas de chequeo ponderado, al completarse arrojarán el porcentaje de adecuación a la categoría.

Figura 40
Planilla de chequeo en Excel

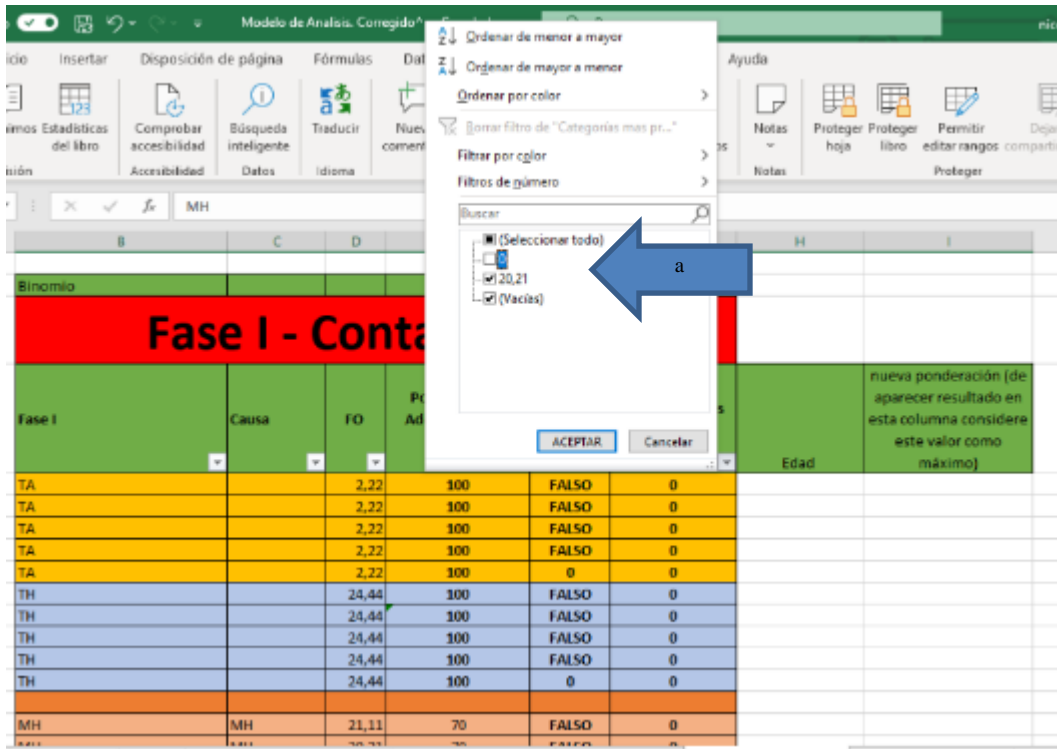
Sumatoria		9	100	←
Condiciones de temperatura y humedad		Sitacion		
en LOS GALPONES DE la granja las temperaturas fueron las adecuadas (los animales no estuvieron sometidos a temperaturas ni humedad comprometedoras)		1		
en la sala de ALMACENAJE DE huevos en la granja los registros de temperatura son normales		1		
en la sala DE ALMACENAJE de huevos previo a la incubación, los registros de temperatura son normales		1		
se hace precalentamiento adecuado antes de ingresar los huevos a la incubadora		1		
Los mediciones en los registros de temperatura, de las incubadoras involucradas en los lotes con problemas están correctos		1		
las condiciones ambientes durante la transferencia fueron las adecuadas.		1		
Los mediciones en los registros de temperatura de las nacedoras involucradas en los lotes con problemas están correctos		1		
Los mediciones en los registros de humedad RELATIVA de las incubadoras involucradas en los lotes con problemas están correctos		1		
Los mediciones en los registros de humedad RELATIVA de las nacedoras involucradas en los lotes con problemas están correctos		1	Porcentaje	←
Sumatoria		9	100	←
Ventilación		Sitacion		
Están en correcto funcionamiento los ventiladores en la granja		1		
la ventilación en las incubadoras funciona correctamente		1		
la ventilación en las nacedoras funciona correctamente		1		
La ventilación Y TEMPERATUA en las salas es adecuada (se observan corrientes inadecuadas)		1	Porcentaje	←
Sumatoria		4	100	←

Ahora el analista deberá dirigirse a la hoja del libro donde se encuentre la combinación de Fase / Motivo más representativa que determinó en la embriodiagnos (a). Y desde el filtro de categorías más probables deberá des tildar la opción "0" (b)

Figura 41
Combinación Fase / Motivo

Binomio							
Fase I - Contaminado						a	
Fase I	Causa	FO	Porcentaje de Adecuación a la categoría	FP	Categorías mas probables	Edad	nueva ponderación (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como máximo)
TA		2,22	100	FALSO	0		
TA		2,22	100	FALSO	0		
TA		2,22	100	FALSO	0		
TA		2,22	100	FALSO	0		
TA		2,22	100	0	0		
TH		24,44	100	FALSO	0		
TH		24,44	100	FALSO	0		
TH		24,44	100	FALSO	0		
TH		24,44	100	FALSO	0		
TH		24,44	100	0	0		
MH	MH	21,11	100	FALSO	0		
MH	MH	20,21	100	FALSO	0		
MH	MH	20,21	100	FALSO	0		
MH	MH	20,21	100	FALSO	0		
MH	MH	20,21	100	0	0	EDAD	nueva ponderacion
EHS	EHS	11,11	100	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	100	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	100	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	100	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	100	0	0	1	0
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	0	0	EDAD	nueva ponderacion
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	0	0	1	0
VENT.		5,56	100	FALSO	0		
VENT.		5,56	100	FALSO	0		
VENT.		5,56	100	FALSO	0		
VENT.		5,56	100	FALSO	0		
VENT.		5,56	100	0	0		

Figura 42
Filtrado de categorías más probables.



El sistema indicará cuales son las categorías implicadas con FP diferente a 0. (c) en el caso que la combinación se encuentre sujeto al Factor EDAD (FE) el sistema lo considerará y arrojará una nueva ponderación. En el caso del ejemplo las gallinas tienen 47 semanas por eso el valor del FE es "1" (d)

Figura 43
Visualización de las categorías más probables

Fase I	Causa	FO	Porcentaje de Adecuación a la categoría	FP	Categorías más probables	Edad	nueva ponderación (de aparecer resultado en esta columna considere este valor como máximo)
MH	MH	20,21	70	1	20,21		

Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre *Aspergillus fumigatus* aislado de embriones muertos.
Año 2023

MH	MH	20,21	70	1	20,21		
MH	MH	20,21	70	FALSO	0	EDAD	nueva ponderacion
EHS	EHS	11,11	83,33333333	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	83,33333333	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	83,33333333	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	83,33333333	FALSO	0	1	0
EHS	EHS	11,11	83,33333333	0	0	1	0
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	FALSO	0		
ALIMEN.	Alimentacion	17,78	100	0	0	EDAD	nueva ponderacion
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	FALSO	0	1	0
SALUD	SALUD	16,67	100	0	0	1	0

Sabiendo la / las categorías implicados deberá ir al listado general y elegir aquellos que corresponden a la fase y al motivo. Por ejemplo “Fase I – Contaminado” para la categoría EHS (E)

Figura 44
Riesgos hallados.

Fase I	Categorías Generales	Contaminados	Categorías Generales
Tiempo de almacenamiento del huevo	TA		
Condiciones de sala de almacenamiento	TH	tiempo de permanencia en nido	MH
		higiene y limpieza en nido	EHS
Permanencia en nido	MH	desinfección de los huevos	EHS
Frio	TH	huevos de piso	EHS
Cambios bruscos de temperatura y humedad	TH	higiene general	EHS
Desinfección de huevos	EHS	Condensación sobre los huevos	EHS
Pre calentamiento		incubación de huevos de piso	MH
Condiciones de la incubadora		Alimentación	ALIMEN.
Calidad de la cascara	EN.	SALUD	SALUD
Deficiencia nutricional	EN.	Cachados	
Enfermedades del plantel	D	Manejo brusco	MH
transporte deficiente		deficiencia de vitamina D o calcio	ALIMEN.
falta de oxigeno	VENT.	Enfermedades Bronquitis infecciosa, síndrome de baja postura	SALUD
stress	SALUD	tamaño del huevo	EDAD
Fase II		temperatura ambiente	TH
Cambios bruscos de temperatura o ventilación	TH		
Volteo inadecuado o insuficiente	MH	picado no nacidos	
Baja temperatura o alta humedad en la incubación	TH	Inadecuada alimentación	ALIMEN.
Falta de oxigeno en la sala de incubación	VENT.	Enfermedad en las reproductoras	SALUD
cascara muy delgada	ALIMEN.	genes letales	GEN
permanencia en nido	MH	huevos invertidos	MH

Los riesgos señalados (E) serán los asociados a los fracasos más representativos detectados en la embriodiagnos y los que deben tener prioridad hacer atendidos para corregir las desviaciones que llevan a los fracasos.

3. Incidencia de la contaminación microbiana en la muerte embrionaria

Tabla 10

Porcentajes de contaminación fúngica y bacteriana.

Granja	Contaminacion Fungica	Contaminacion Bacteriana	Totales	%CF	%CB
Villa Lia	23	7	30	76,67	23,33
Azul	11	3	14	78,57	21,43
25 de mayo	9	7	16	56,25	43,75
Promedio General	43			70,50	29,50

En la tabla 8 se detalla el porcentaje de huevos no eclosionados por contaminación fúngica y bacteriana para las tres granjas. Mostrando un promedio de contaminación fúngica del 70 por ciento indicando una alta incidencia de las contaminaciones fúngicas en las muertes por contaminación microbiana.

Determinación de géneros fúngicos procedentes de aislamientos de embriones muertos.

Tabla 11.

Géneros fúngicos detectados en los aislamientos fúngicos a partir de embriones muertos por embriodiagnos.

Granja	contaminación fúngica	Géneros
Villa Lia	46	<i>Aspergillus sp</i>
Azul	22	<i>Aspergillus sp</i>
25 de mayo	18	<i>Aspergillus sp</i>
Total de cepas (se trabajó por duplicado)	86	

Sobre el total de huevos estudiados se determinó el número de huevos no eclosionados por contaminación fúngica expresado en porcentaje Villa Lia; 2,03%, Azul; 0,97% y 25 de mayo; 0,79%.

Figura 45

Cultivos obtenidos a campo durante la embriodiagnos

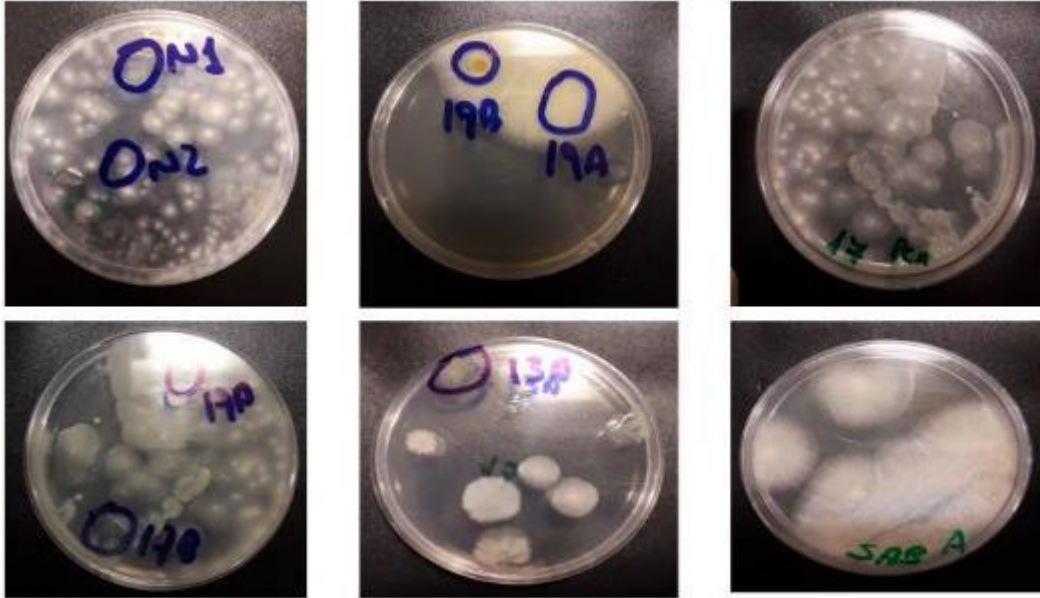
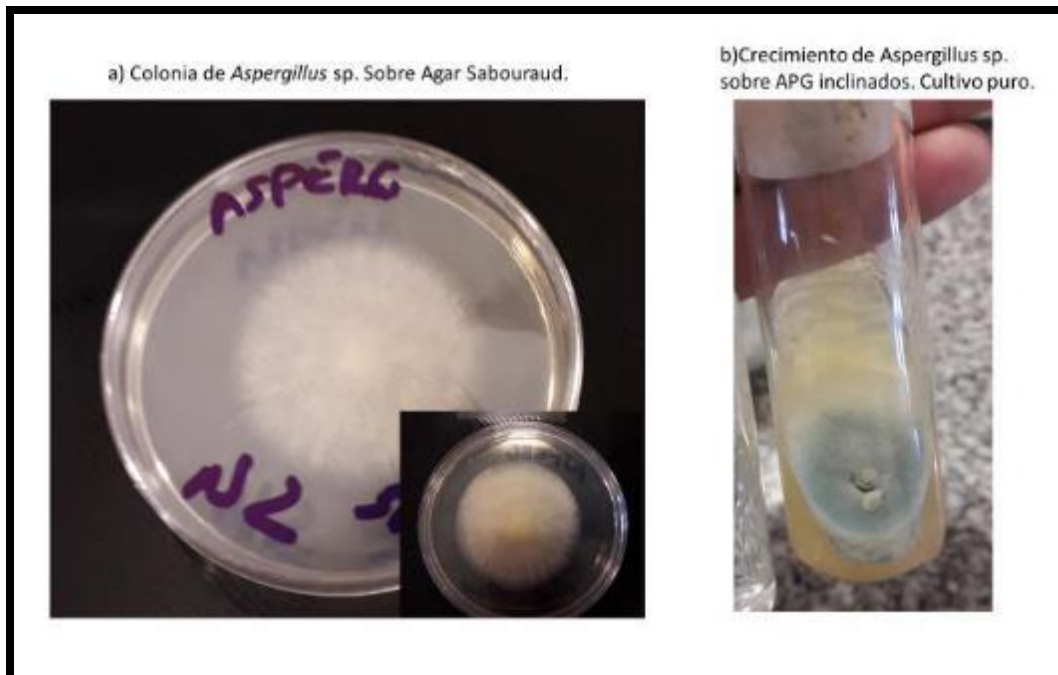


Figura 46

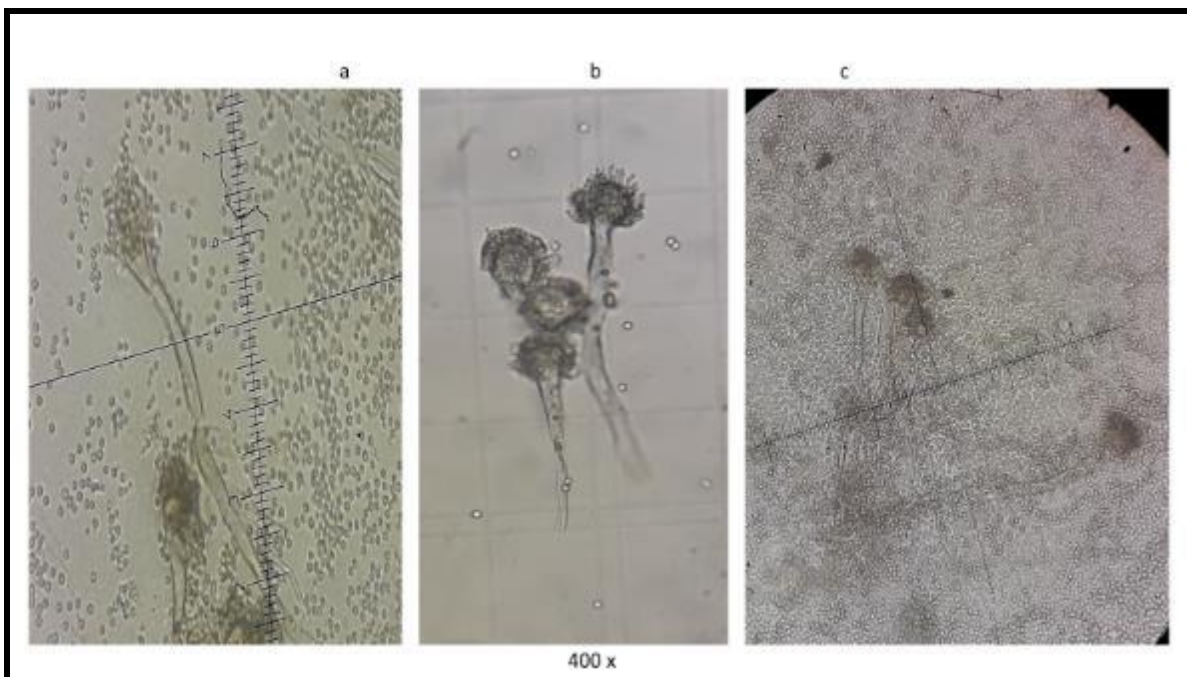
Aislamiento de *Aspergillus* sp.



La totalidad de los estudios morfológicos macro y microscópicos en las 86 cepas aisladas respondieron a las características taxonómicas del género *Aspergillus* sp.: colonias afelpadas vellosas, verde a verde azuladas con reverso incoloro a amarillento. Conidióforos surgiendo de las hifas septadas hialinas que aumentan de tamaño hacia la parte superior en cabezuelas globosas con conidios en cadena (Gilman, 1963).

Los porcentajes de contaminación fúngica hallados se encuentran por encima de los valores admisibles (0,3%) señalados por otros autores (Juárez Estrada, 2014).

Figura 47
Estructuras reproductivas de *Aspergillus* sp.



El mayor número de contaminados se encontró en la granja con animales de 97 semanas. La presencia de *Aspergillus* en los embriones muertos es una preocupación, deben reverse los procedimientos de manejo, de saneamiento y las medidas de bioseguridad en las tres granjas.

Los valores determinados acusan deficiencias en el estado higiénico sanitario e inconvenientes con el manejo, que requieren medidas correctivas. Para ello se deberán verificar e intensificar los procedimientos de buenas prácticas avícolas y las normas de

bioseguridad en las granjas y en la planta de incubación, para evitar pérdidas económicas y minimizar el riesgo sanitario en los animales y en los trabajadores.

Determinación de especies.

Cultivos monospóricos

En la figura 42, se observan diferentes desarrollos miceliares sobre agar sabouroad a 400 x, las flechas indican las esporas germinadas que serán usadas para la determinación de especie.

Figura 48

Diferentes desarrollos miceliares sobre agar Sabouraud.

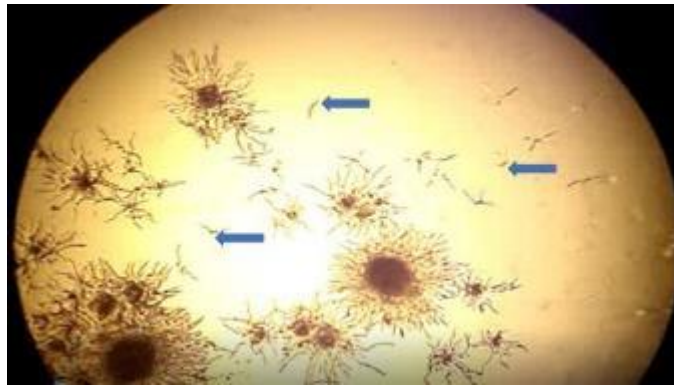


Figura 49

Crecimientos para determinación de especie de *Aspergillus* sp. (día 7)

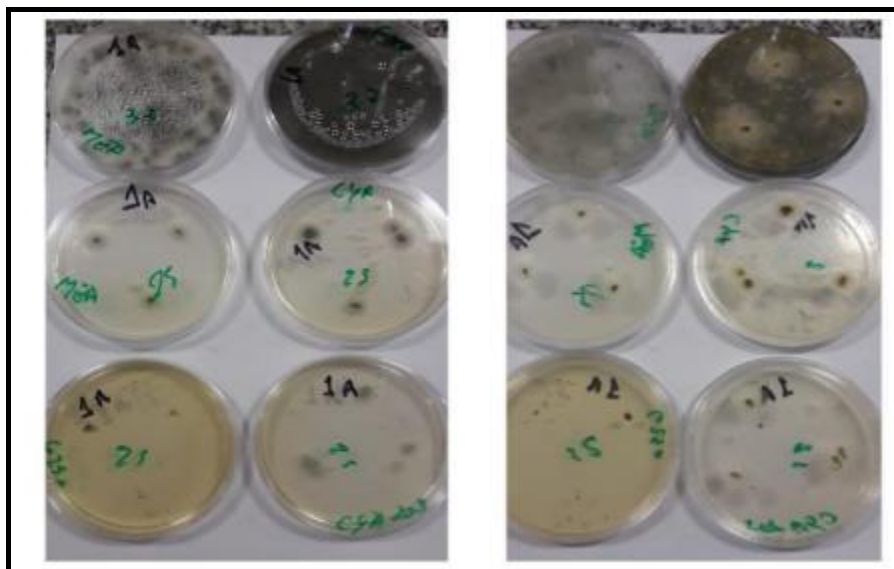


Figura 50.

Duplicado. Crecimientos para determinación de especie de *Aspergillus* sp. (Día 7)

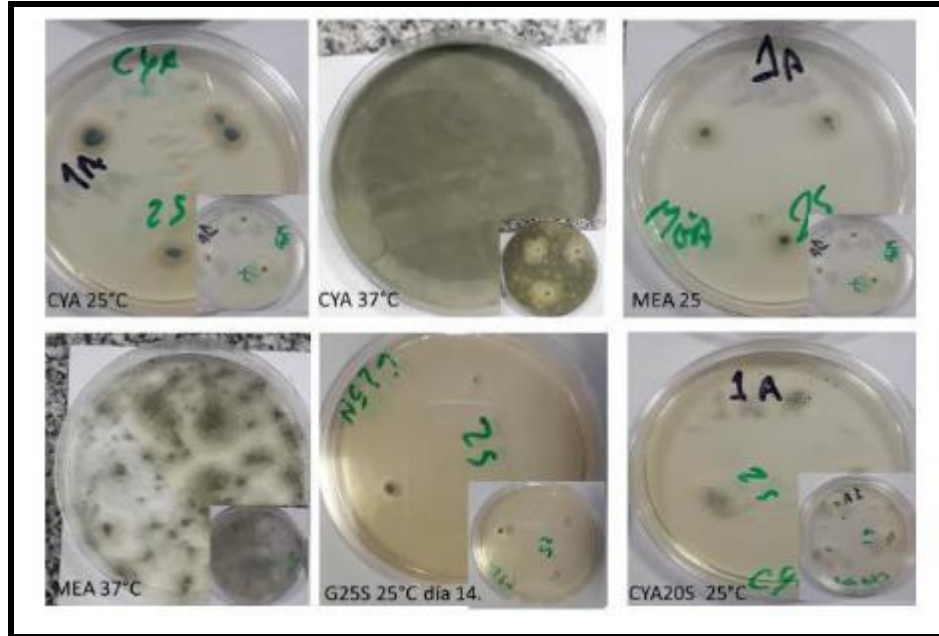
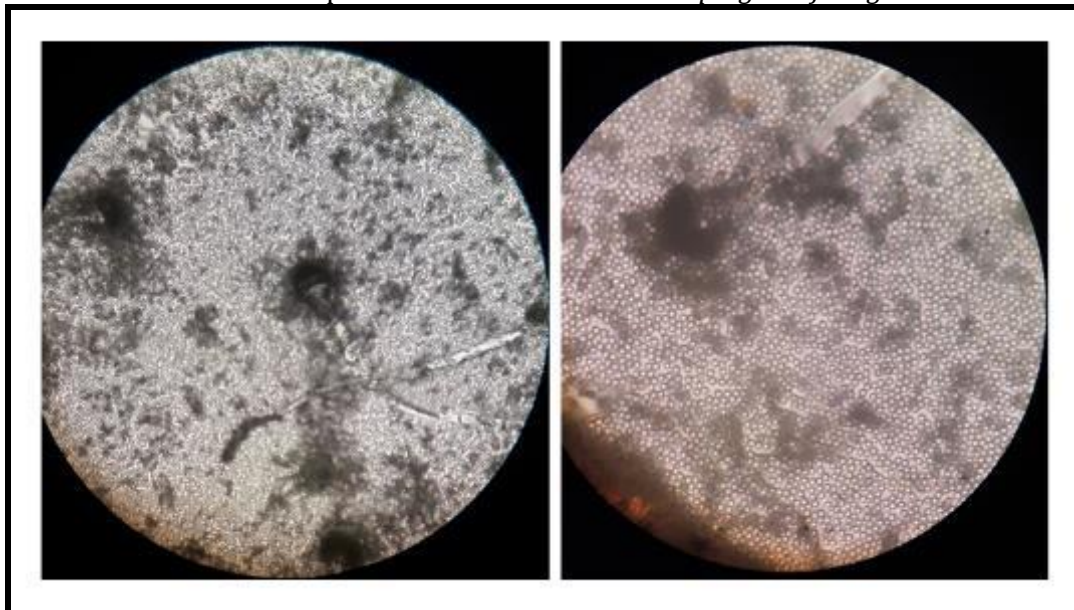


Figura 51

Estructuras reproductivas característicos *Aspergillus fumigatus*.



Se observa **Aspergillus predominante uniseriado**, no osmófilico, diámetro de colonia sobre CY20S menos que dos veces el tamaño sobre CYA, Conidios maduras verdes, oliva, turquesa, marrón o negras, Colonias verdes, turquesa u olivas, conidios rugosas o lisas,

cleistoteicios ausentes, estipes que se expanden gradualmente dentro de la vesícula, crece a 37°C, reverso generalmente no amarillo brillante (ocasionalmente amarillo), vesícula piriforme o espatulada, conidios predominantemente globosos.....**A. fumigatus**

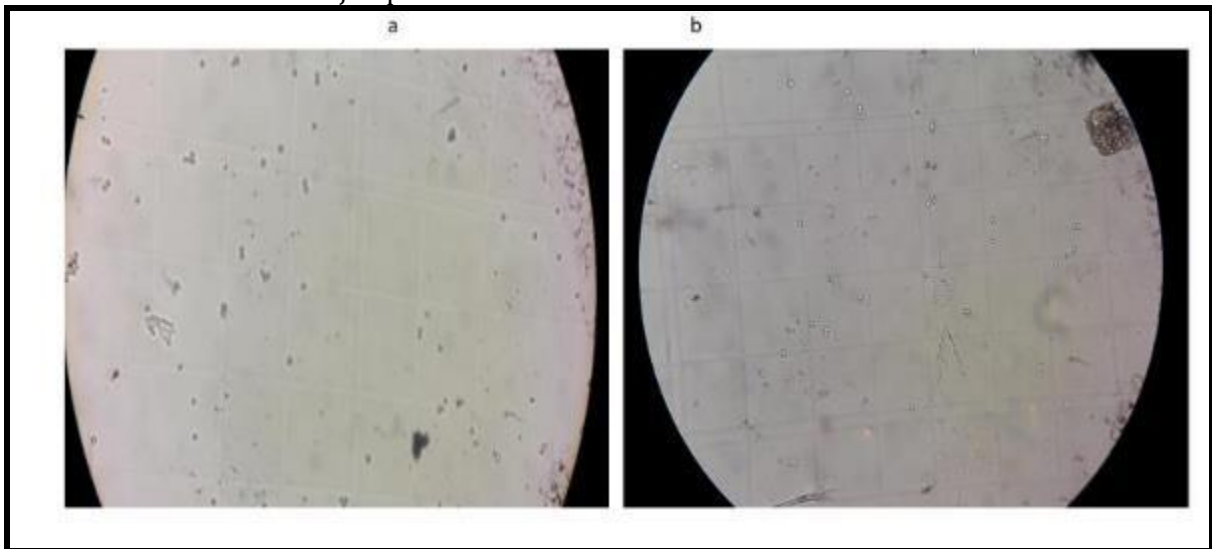
4) Actividad Fungicida de la ozonización frente a las cepas de *Aspergillus* sp.

Título del inóculo por conteo en cámara de Neubauer para esporas de *Aspergillus fumigatus* en el tubo 0.

Tabla 12
Título del inóculo por conteo en cámara de Neubauer.

	1	2	3	4	5	Promedio	esporas / ml	Promedio del duplicado
Repeticion 1	12	17	15	17	12	15	1,46E+05	
Repeticion 1	14	16	18	17	15	16	1,60E+05	1,53E+05
Repeticion 2	27	21	28	31	34	28	2,82E+05	
Repeticion 2	32	19	29	33	32	29	2,90E+05	2,86E+05
Repeticion 3	29	35	31	32	39	33	3,32E+05	
Repeticion 3	27	38	35	34	35	34	3,38E+05	3,35E+05

Figura 52.
Ejemplo de conteos en cámara de Neubauer



Viabilidad del inóculo y actividad antifúngica

Recuentos a las 96 horas.

Tabla 13.

Recuentos en placa a las 96 para determinación de actitud desinfectante del ozono

	Dilución -1			Promedio	Ufc / ml	Dilución -2			Promedio	Ufc / ml	Dilución -3			Promedio	Ufc / ml	Dilución -4			Promedio	Ufc / ml	
Rep 1 Viabilidad	>50	>50	>50			>50	>50	>50			22	17	14	18	1,77E+05	<5	<5	<5			0
Rep. 2 Viabilidad	>50	>50	>50			>50	>50	>50			36	44	32	37	3,73E+05	<5	<5	<5			0
Rep. 3 Viabilidad	>50	>50	>50			>50	>50	>50			38	32	30	33	3,33E+05	<5	<5	<5			0
Rep. 1 Ozono	0	0	0	0	<1	0	0	0	0	<1	0	0	0	<1							
Rep. 2 Ozono	0	0	0	0	<1	0	0	0	0	<1	0	0	0	<1							
Rep. 3 Ozono	0	0	0	0	<1	0	0	1	0	<1	0	0	0	<1							

Recuentos a las 168 horas.

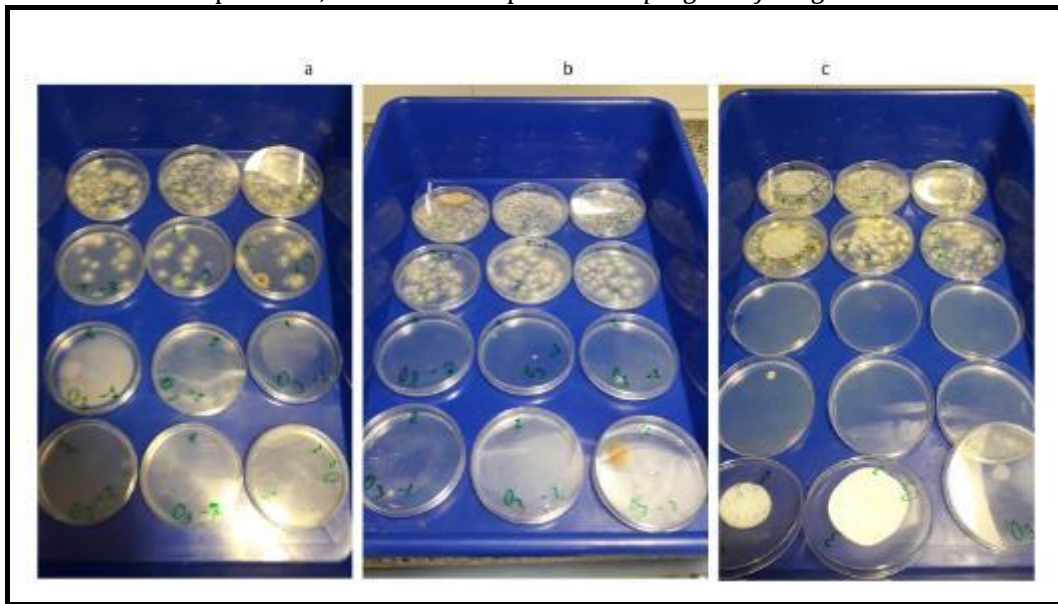
Tabla 13 bis.

Recuentos en placa a las 168 horas, para determinación de actitud desinfectante del ozono

	Dilución -1			Promedio	Ufc / ml	Dilución -2			Promedio	Ufc / ml	Dilución -3			Promedio	Ufc / ml	Dilución -4			Promedio	Ufc / ml	
Rep 1 Viabilidad	>50	>50	>50			>50	>50	>50			incontables o crecimientos o extendidos.					<5	<5	<5			
Rep 2 Viabilidad	>50	>50	>50			>50	>50	>50			incontables o crecimientos o extendidos.					<5	<5	<5			
Rep 3 Viabilidad	>50	>50	>50			>50	>50	>50			incontables o crecimientos o extendidos.					<5	<5	<5			
Rep 1 Ozono	1	0	0	0	<1	0	0	0	<1	0	0	0	<1								
Rep 2 Ozono	0	2	0	0	<1	1	0	0	<1	0	0	0	<1								
Rep 3 Ozono	4	0	0	0	<1	0	0	1	<1	0	0	0	<1								

Figura 53

Tratamientos ozonizados: placas inferiores. Viabilidad: Concentración del inóculo. Placas superiores, recuentos en placa de *Aspergillus fumigatus*.



a) repetición 1, b) repetición 2 y c) repetición 3.

Como se puede observar el número de esporas viables en la dilución 10^{-1} asciende a $>1 \times 10^4$ ufc/ml y finalmente en placa el número es $>1 \times 10^3$ luego de la ozonización el número de esporas sobrevivientes es <1 . Esto demuestra una reducción en las placas tratadas de tres órdenes decimales tras el tratamiento de ozonización.

Susceptibilidad de la spora de *Aspergillus fumigatus*.

Viabilidad (ensayo de referencia)

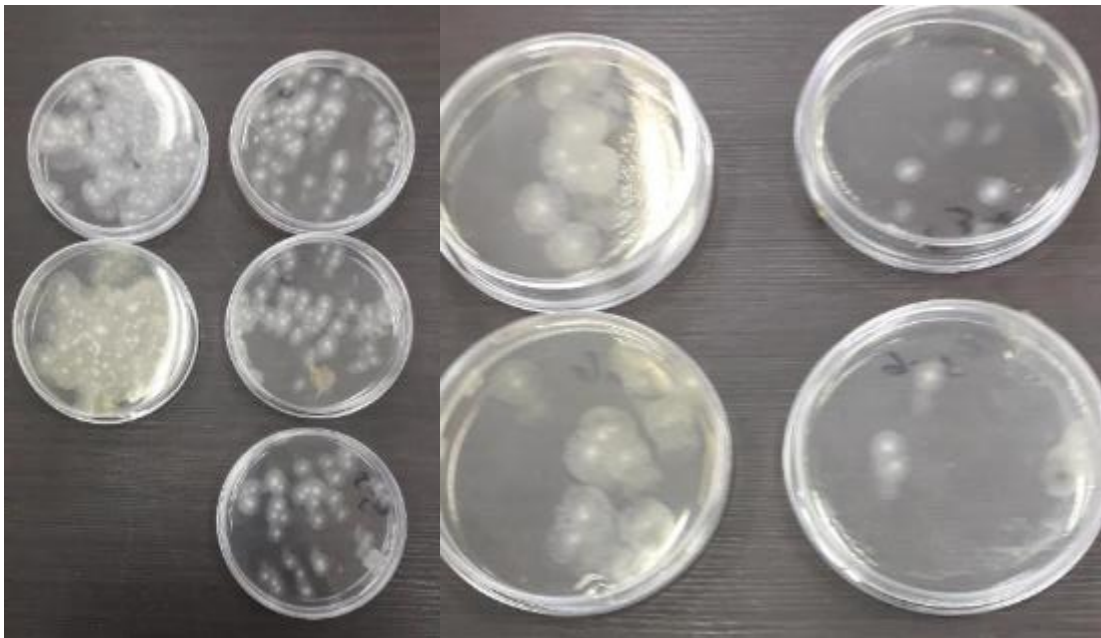
Tabla 14
Viabilidad de las esporas control Vs. Ozonizadas

	-2			-3			-4			-5			-6		-7		
Control	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	11	12	<5	<5	<5
Ozono	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	45	43	35	4	5	<5	<5	<5

Control	1.2×10^8 esporas de <i>Aspergillus fumigatus</i> / ml.
Ozonizado	4×10^7 esporas de <i>Aspergillus fumigatus</i> / ml.

Figura 54

Recuentos en placa. Izquierda (dilución - 5) >50 ufc para el control, 40 promedio para el tratamiento ozonizado. Derecha. (dilución -6) Promedio 12 para el control y 4 para el ozonizado.



En la figura 48, se observa una reducción en el número de esporas de *Aspergillus fumigatus* luego del tratamiento de ozonización (de $1,2 \times 10^8$ a 4×10^7 ufc/ml.)

Ensayo de peroxidación: sustancias reactivas del Ácido Tiobarbitúrico

Barrido espectral: 534

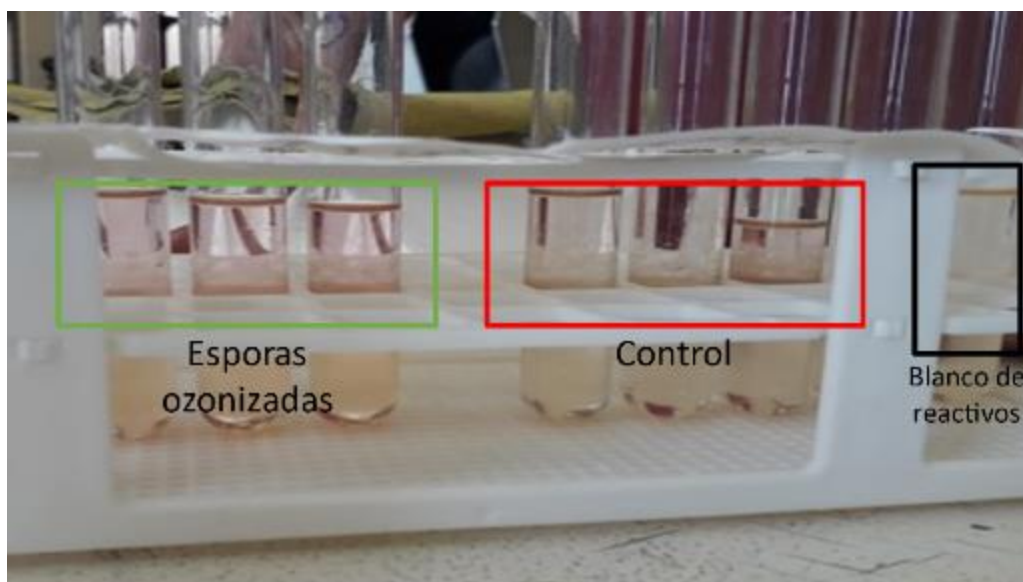
Tabla 15

Concentración de MDA en el control y en el ozonizado.

Tratamiento	Absorbancia	Concentración en nmol/mL.
Control	0.026	1,64E+02
Control	0.029	1,88E+02
Control	0.028	1,82E+02
Ozonizada	0.107	6,95E+02
Ozonizada	0.130	8,44E+02
Ozonizada	0.121	7,86E+02

Figura 55.

De izquierda a derecha. Esporas ozonizadas (3). Control, esporas sin ozonizar (3) blanco de reactivos.



Los resultados obtenidos de la determinación del daño celular por peroxidación lipídica en las esporas de *Aspergillus fumigatus* se expresan como el promedio de las tres experiencias nmol/ml de MDA. **T1. Control:** $1,78 \times 10^2$, **T2. Ozonizado:** $7,75 \times 10^2$.

Se observó un aumento en la concentración de MDA en **T2** con respecto a **T1**. Paralelamente se observó una reducción en la viabilidad de las esporas de **T1** con respecto a **T2**.

Estos resultados indican que la ozonización provoca pérdida de viabilidad de las esporas por el efecto oxidativo originado por el tratamiento de ozonización descripto.

Discusión:

El aumento de la demanda de la carne de pollo a nivel mundial obliga a las empresas avícolas a mejorar día a día sus rendimientos productivos, la obtención de pollitos bb para engorde es un eslabón clave en la cadena agroalimentaria. Se observa heterogeneidad en la cadena avícola, desde grandes empresas integradas hasta pequeñas plantas enfocadas en operaciones específicas.

El enfoque de análisis de riesgos en la industria avícola se encuentra descripto para la implementación de los sistemas de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP) (Arévalo, 2019) pero no se ha encontrada bibliografía que evidencie la utilización de métodos sistematizados para la evaluación de los resultados obtenidos en análisis embrionarios de los pollitos no nacidos, siendo fundamental para establecer los riesgos asociados a las muertes embrionarias predominantes. El método aquí planteado, debe ser considerado flexible y cada establecimiento podrá realizar cambios en los riesgos asociados según su experiencia. No obstante, sería conveniente implementar este sistema en más granjas y confrontar los riesgos asociados obtenidos con los riesgos que considere el personal responsable de esos establecimientos, con el fin de ajustar la metodología.

El análisis sistematizado de los resultados de embriodiagnos, resulta “reactivo” es decir se efectúa a partir del análisis de las muertes, esto motiva a pensar en sistemas “activos” que puedan minimizar los daños, para ello se desarrolló un sistema de análisis preventivo el cual puede verse en el Anexo N° 5, con este nuevo sistema se podrá actuar precozmente y corregir los desvíos que desencadenan el aumento de las muertes embrionarias con la consiguiente disminución de los rendimientos.

A la hora de hacer más eficiente las producciones es necesario incorporar sistemas de análisis de información, como así también ir dejando atrás procedimientos que pueden ser perjudiciales para los animales, el medio ambiente o las personas, por esto es necesario incorporar tecnologías amigables con el medio ambiente, el caso de la ozonización aquí planteado es una posibilidad que viene analizándose desde finales de la

década del 80'. Whistler (1989) evaluó comparativamente el uso de la ozonización frente al formaldehído para desinfección en incubadoras, estudiándolo para *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* y *Proteus* spp. Y estableció que el ozono fue capaz de lograr 4 reducciones decimales bacterianas. En este caso se inóculo en placas con medio de cultivo adecuado y se expusieron dentro de las incubadoras para luego de la aplicación del ozono o del formol proceder a la incubación y a los recuentos.

Existen 2 experiencias donde se evaluó la desinfección de huevos fértiles por medio de ozonización, en la primera de 1989 Whistler, determinó que al trabajar con una concentración de 17,3 ml / litro de ozono aplicado de manera gaseosa en un ambiente con un 90% de humedad se logró una reducción significativa de la carga microbiana en superficie del huevo pero se vio una baja significativa en la viabilidad de los pollitos, en una segunda instancia Clímaco, 2018 aplicó entre 0,005 a 0,01 ml / litro (5 a 10 ppm) de ozono durante 20 minutos y no encontró diferencias significativas en el número de mesófilos aerobios totales en superficie.

Como en cualquier aplicación de un desinfectante, hallar la combinación ideal entre concentración y tiempo de exposición es fundamental para obtener los resultados deseados y considerando las experiencias previas, nuestros estudios en el caso de la desinfección de huevos fértiles donde se aplicaron 0,01 ml/litro (10 ppm) en 60 minutos lograron reducciones significativas en concentraciones e intervalos medios entre los otros dos autores citados, además de realizarse en seco lo cual minimiza las posibilidades de penetración del gas ozono al interior del huevo en las concentraciones de trabajo. Por otro lado, trabajar en humedades mayores del 85%, incrementa la posibilidad de tener *Aspergillus* o *Pseudomonas* (Nilipour, 1994,) por este motivo trabajar en seco mejora las posibilidades de éxito. No obstante, es necesario continuar con las experiencias para hallar la combinación ideal de tiempo de exposición y concentración del gas.

La reducción de microorganismos en la superficie de la cascara del huevo no sería importante si no va acompañada con un buen resultado en los nacimientos, esto lleva a la pregunta si la ozonización puede dañar la viabilidad de los pollitos; en las condiciones planteadas por Whistler, (1989) se vio afectada la misma al trabajar con 17,3 ml/litro de ozono, y otros trabajos como Fuhrmann, (2010) evalúan concentraciones de 10 a 50 ml/litro de ozono y su efecto sobre los constituyentes del huevo, demostrando que en la dosis alta hay daños significativos en los constituyentes internos y en los de la superficie, pero dosis más bajas no deberían tener efecto alguno en los componentes internos del huevo. Por esta razón trabajar a 10 ppm de ozono durante 1 hora en seco no debería derivar en daños a la viabilidad de los pollitos que es coincidente con lo planteado por Marchessi, (2019) donde un tratamiento en condiciones reales de trabajo en una granja de reproductoras pesadas fue capaz de disminuir significativamente el número de microorganismos mesófilos aerobios en la superficie del huevo sin afectar la viabilidad de los pollitos.

En cuanto al efecto de la ozonización sobre cepas de *Aspergillus fumigatus* aisladas de embriones muertos, se encontró concordancia con Margus (2011) en donde el ozono fue capaz de reducir significativamente el número de unidades formadoras de colonias de 4 cepas de *Aspergillus fumigatus* aislado de pulmón o de cama al cabo de 10 minutos de exposición al ozono, aunque no es posible establecer, según la información detallada en dicho trabajo la concentración de ozono con la cual se realizó la experiencia, igualmente será necesario para próximos ensayos variar el tiempo de exposición, en este caso se trabajó en función a la concentración de 0,01 ml/litro (10 ppm de ozono) y el tiempo de exposición (1 hora) establecida en una experiencia anterior a campo, no obstante evaluar nuevas condiciones de concentración y tiempo son esenciales para la futura incorporación del sistema de desinfección de huevos fértiles en las granjas de reproductoras pesadas.

Evaluar el efecto sobre la viabilidad de las esporas fúngicas es importante debido a que las muertes por contaminación fúngica se encuentran muy por encima de los valores de referencia (0,3%) señalados por Juárez Estrada, (2014). Donde también existe coincidencia que los mismos acusan deficiencia en el estado higiénico sanitario del establecimiento y si no se verifican e intensifican los procedimientos de buenas prácticas avícolas y las normas de bioseguridad en las granjas y en la planta de incubación, no se podrán evitar pérdidas económicas y los riesgos sanitarios en los animales y en los trabajadores aumentarán. (Perez y Carrasco, 2000 - Marchessi et al., 2020)

En cuanto a la susceptibilidad de la espora al ozono, se observó que la misma es susceptible, si bien no se encontraron trabajos específicos sobre la aplicación del ozono sobre esporas fúngicas, estudios anteriores determinaron que el tratamiento de ozonización provoca aumento de la permeabilidad de las membranas celulares por fugas de proteínas y oxidación lipídica comprometiendo la viabilidad en cultivos de *Escherichia coli* (Komanapalli et al., 1997) por otro lado Jerlick et al., (2000) enunciaron que los componentes esenciales para el funcionamiento celular son vulnerables al ataque oxidativo

Por lo dicho es posible continuar estableciendo las bases de nuevas tecnologías amigables con el medio ambiente, capaces de maximizar rendimientos productivos, minimizar el uso de agentes químicos, cuidar el bienestar animal y a los recursos humanos, mejorando la calidad de los productos y garantizando la inocuidad dentro de un marco normativo nacional e internacional.

*las partes por millón de un gas se miden en unidades de volumen sobre unidades de volumen; Para hacer las conversiones se trabajó con las siguientes equivalencias: $1 \text{ g/m}^3 = 1 \text{ mg/l} = 500 \text{ ppm}$, se considera que 1 mol de ozono (48 gramos) ocupan un volumen 24,2 litros y que la densidad del aire es 1,19 g/litros (a 25°C y 1 atm.) (Asociación Argentina del Ozono, 2010)

Conclusiones.

1. Con la bibliografía de referencia y con el uso de los conceptos de análisis de riesgo, fue posible crear un procedimiento sistematizado para analizar la información, que al aplicarlo a los datos obtenidos por *embriodiagnos* permitirá visibilizar los factores asociados a los fracasos.
2. Con la aplicación del análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos, en la práctica, se han reducido los riesgos asociados a las muertes embrionarias, y de esta manera se pueden dirigir eficientemente las acciones correctivas.
3. Las muertes embrionarias por contaminación microbiana son responsables de un gran porcentaje de fracasos y ponen en compromiso sanitario al proceso, a la salud de los trabajadores y a las futuras instalaciones de engorde. Se pudo establecer que, dentro de las muertes embrionarias por contaminación, la especie *Aspergillus fumigatus* presenta el mayor porcentaje de incidencia.
4. La ozonización es efectiva in – vitro para reducir considerablemente la viabilidad de las esporas de *Aspergillus fumigatus*. Las esporas de *Aspergillus fumigatus* son susceptibles al ataque oxidativo provocado por la ozonización.

En un contexto productivo donde las contaminaciones fúngicas poseen el potencial para originar grandes pérdidas, es necesario contar con normas de bioseguridad y Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento que establezcan las medidas suficientes para la minimización de la incidencia de microorganismos patógenos en general y en particular de *Aspergillus fumigatus*, es clave indicar que en la obtención del pollito BB deben aumentarse los esfuerzos para lograr este objetivo ya que las muertes embrionarias por contaminación, no solo ocasionan perdidas inmediatas si no que son capaces de comprometer la operatividad en las futuras instalaciones de engorde.

La necesidad de encontrar procedimientos de desinfección eficientes y amigables con el medio ambiente es crucial. Los microorganismos ubicuos en la granja pueden alojarse en el huevo fértil y con este llegar a la planta de incubación, siendo los huevos el vector para contaminar dicha planta.

La demanda creciente de carne de pollo a nivel mundial y nacional impulsa a la competitividad industrial, buscando constantemente la modernización, que tiene que ir acompañada de nuevas propuestas tecnológicas amigables con el medio ambiente y con herramientas de gestión creadas en función de las necesidades y características del sector. La producción se ve obligada a cumplir, mantener y dar seguimiento de actualización a

todas las normativas involucradas en el proceso productivo en busca de mantener estándares de bienestar animal, medio ambiente y seguridad alimentaria.

La Argentina tiene todas las características óptimas para una producción avícola rentable (terreno, clima, mano de obra calificada, granos y un correcto status sanitario) ***si adicionamos un manejo sistematizado de la información y tecnologías amigables con el medio ambiente, el potencial de crecimiento será aún mayor maximizando rendimientos productivos, minimizando el uso de productos químicos, cuidando la sanidad animal obteniendo productos de calidad y garantizando la inocuidad de los alimentos.***

Anexo N° 1. Lámina de referência para embriodiagnos

Lamina de referência para fases y causas de muertes embrionarias para aplicar durante la embriodiagnos.

Se recolecto documentación fotogràfica durante un estudio embrionario realizado a pollitos no nacidos provenientes de tres granjas de reproductoras pesadas ubicadas en Azul, 25 de mayo y Villa Lia. Luego se recopilaron en una lámina. En la lámina se incluyeron las fases de muerte y las causas de las muertes.

Figura 56 Referencia de embriodiagnos



Con esta lámina (que incluye las fases de muertes y los motivos de estas), el análisis embrionario se hace más sencillo y se estandarizan las observaciones y la forma de registrar los datos, lo cual es vital para el posterior análisis sistematizado.

Anexo N° 2 Embriodiagnos

Objetivo:

- Recolectar datos de fases y formas de muertes evidentes de embriones por medio de embriodiagnos.

Materiales y Métodos

Se recolectaron datos de embriodiagnos efectuadas a nacimientos provenientes de tres planteles de reproductoras pesadas Cobb de tres granjas distintas de una misma firma comercial, ubicadas en Azul, Villa Lia y 25 de mayo, estas granjas presentaron en cada una de ellas animales de edades diferentes (67, 90 y 40 semanas respectivamente), además se estudiaron huevos de pisos. Estos lotes que se encontraban en incubadoras separadas totalizaron 13140 huevos por incubadora por granja, existiendo 6 carros en cada incubadora, se tomaron tres de los seis carros y se muestreo de la manera habitual en la industria avícola, según indicaciones del veterinario responsable del establecimiento, la bandeja superior, la central y la inferior y se seleccionaron todos los huevos donde no se observó eclosión. (Lamina N° 10) Estos huevos se colocaron en maples plásticos con la parte roma hacia arriba y se rotularon. Finalmente se realizó la observación visual de los pollitos no nacidos.

Imagen 57
Muestreo.



Figura 58
Embriodiagnos en planta avícola, ejemplo de documentación fotográfica.



Consideraciones:

- La contaminación es la responsable mayoritaria de las muertes embrionarias, la presencia de contaminantes fúngicos y las condiciones ambientales provocan la diseminación de esporas de hongos en la planta de incubación y puede ser causante de aspergilosis en los animales recién nacidos

- Los huevos de piso no deben ser incubados, estos se encuentran altamente contaminados por materia fecal y pueden explotar durante la incubación originando contaminación cruzada con huevos vecinos explicando muertes por contaminación en fase 3 o 4.
- Las operaciones de manejo atribuibles a los operarios deben ser atendidas, es necesario implementar planes de capacitación y mejorar las condiciones laborales.
- Las muertes por malformaciones, principalmente en la granja de 25 de mayo, son una preocupación, es necesario verificar los procedimientos en esa granja para detectar las posibles causas de este problema.
- El manejo no atribuible al operario debe ser encarado desde decisiones empresariales que tiendan a mejorar todos los aspectos que alteran la salud y desarrollo del embrión.
- Debido al origen multifactorial de las muertes embrionarias es necesario trabajar en base a sistemas de análisis de datos para encontrar los riesgos más probables ligados a las muertes en cada fase – motivo observable.

Anexo N° 3 Medio de cultivo

Medio Agar papa glucosado. (APG)

Medio adecuado para el recuento y aislamiento de hongos y levaduras en alimentos y materiales de importancia sanitaria, es un medio no selectivo donde la infusión de papa y la glucosa favorecen el desarrollo exorbitante de hongos y levaduras. El agar es el agente solidificante.

Infusión de papa.....200.0 gramos

Glucosa.....20.0 gramos

Agar.....15 gramos

pH Final: 5.6 ±0,2

(Britania, 2018)

Agar extracto de malta. (MEA)

Extracto de malta.....20 gramos

Peptona.....1 gramo

Glucosa.....20 gramos

Agar.....20

Agua.....1000 ml

(Pitt, J. I., & Hocking, A. D. 2009)

Agar Czapeck extracto de levadura (CYA)

K₂ HPO₄ 1 gramo

Solución Czapeck concentrada...10 ml

Extracto de levadura.....5 gramos

Sacarosa.....30 gramos
Agar.....15 gramos
Agua Destilada.....1000 ml
(Pitt, J. I., & Hocking, A. D. 2009)

Agar Czapeck sacarosa (CY20S)

K₂ HPO₄ 1 gramo
Solución Czapeck concentrada...10 ml
Extracto de levadura.....5 gramos
Sacarosa.....200 gramos
Agar.....15 gramos
Agua Destilada.....1000 ml
(Pitt, J. I., & Hocking, A. D. 2009)

Agar nitrato 25% glicerol (G25N)

K₂ HPO₄ 0,75 gramos
Solución Czapeck concentrada...7,5 ml
Extracto de levadura.....3,7 gramos
Glicerol (grado analítico)250 gramos
Agar.....12 gramos
Agua Destilada.....750 ml.
(Pitt, J. I., & Hocking, A. D. 2009)

Solución Czapeck concentrada

NO₃Na.....20 gramos.
ClK.....5 gramos
SO₄Mg.7H₂O.....5 gramos
SO₄Fe 7 H₂O.....0,1 gramos
SO₄Zn 7 H₂O.....0,1 gramos
SO₄Cu 5 H₂O.....0,05 gramos
H₂O.....100 ml.
(Pitt, J. I., & Hocking, A. D. 2009)

Anexo N° 4 Detalle del método propuesto por Gutiérrez-Salinas *et al.* 2009

Ensayo de peroxidación: Determinación de las sustancias reactivas del Ácido Tiobarbitúrico

Reactivos:

Reactivo cromógeno de ácido tiobarbitúrico (TBA): disolución de 5 g/L de ácido tiobarbitúrico (4,6-dihidroxipirimidina-2-tiol) en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0,3% (V/V) en agua destilada.

- Reactivo antioxidante: disolución de 2,2 g/L de butil-hidroxi-tolueno (BHT) en etanol.
 - Disolución tampón de HCl-glicocola a pH=3,5: disolver 75,05 g de glicocola y 58,44 g de NaCl en 900 mL de agua destilada, ajustar a pH 3,5 con hidróxido de sodio 0,1 M y completar a 1000 mL con agua destilada.
 - Reactivo catalizador: disolución de 2,7 g/L de tricloruro de hierro (III) FeCl₃.6H₂O, en agua destilada.
-

Realizar estas operaciones para las 3 placas ozonizadas y para las 3 placas control de peroxidación.

- Se realizaron 2 lavados con 1 ml de TCA al 0,1 % y se recolecto en un tubo de ensayo
- Se agregaron los reactivos en el siguiente orden:
 - a) Reactivo antioxidante 0.2 ml
 - b) Catalizador 0,2 ml
 - c) Solución tampón 3 ml
 - d) Ácido tiobarbitúrico 0.2 ml.
- Se llevó durante una hora a 5°C en oscuridad
- Se colocó en baño termostático a 95 - 100°C durante 60 minutos.
- Se enfriaron en baño de hielo
- Se agregaron 4 ml de nbutanol-piridina (15:1 V/V), se agitaron manualmente durante 1 minuto y se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos.
- Se procedió a la lectura en espectrofotómetro (Shimadzu UV – 160^a) frente a un blanco de reactivos. Para obtener la longitud de onda adecuada se realizó un barrido espectral.

(Estepa, et Al., 2001)

La concentración de MDA se calculó utilizando el coeficiente de extinción del Malón dialdheido $1.54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y se expresó como nmol/m

Anexo N° 5 Sistema preventivo de fallas: AR – 2.1

Este sistema se diseñó para que sea de diagnóstico y preventivo, el mismo está compuesto por las preguntas de la lista de chequeo ponderada que establece los porcentajes de adecuación a las categorías descriptas (TA, TH, MH, EHS, ALIMEN, SALUD, VENT Y GEN) en el sistema Reactivo, adicionando el estatus de “Críticas” y “Muy Críticas” a cada una de las preguntas de la lista, los incumplimientos “muy críticos” restarán valor a la ponderación final. Luego los datos obtenidos a causa de los incumplimientos automáticamente se presentarán en gráficos de situación. Estos permitirán diagnosticar y observar, si se realizan acciones correctivas, el efecto de la aplicación.

Considerando los riesgos asociados a cada una de las preguntas de la lista de chequeo, se evaluaron y se les asignaron status de críticos y muy críticos, de esta manera algunas preguntas tendrán mayor peso en el porcentaje de adecuación del establecimiento a cada categoría.

La lista de chequeo comprendida por las mismas preguntas del sistema de análisis de riesgo tendrá las siguientes posibilidades de respuesta “Cumple” o “No cumple” y en donde los ítems sean críticos los incumplimientos se completarán con un “0” y para los “muy críticos” con un “-2”. Los cumplimientos se completarán con “1” en ambos casos. Las preguntas correspondientes a un estatus “muy crítico” se verán resaltadas en rojo.

Salud.

11. La mortalidad en el ultimo tiempo es la habitual
12. Se cumplió con el plan de vacunas
13. Se escuchan ruidos respiratorios normales
14. Presentan comportamiento normal en el consumo de alimentos y agua y lo consumen en el tiempo esperado (dos horas)
15. Los animales no presentan inflamaciones en cabeza, ojos o fosas nasales
16. El caminar es normal (no vacilante ni extraño)
17. La recolección de huevos es la habitual (en cantidad y veces de recolección)
18. Los animales presentan comportamiento normal respecto a las necesidades fisiológicas (diarreas)
19. Los huevos poseen la forma color habitual
20. El comportamiento general de los animales es normal

Alimentación

10. Se proporciona alimento adecuado según la fase de crecimiento animal
11. El encargado de la nutrición animal formuló los alimentos y se respetó la formula del nutricionista
12. Hay registros sobre problemas alimenticios
13. El almacenaje de los alimentos se encuentra protegido de contaminaciones
14. Se mantiene el mismo alimento (Es decir se cambió el alimento últimamente)
15. Se mantiene el mismo proveedor de materias primas y/o producto terminado
16. Se realiza control adecuado en la recepción de las materias prima
17. Re realizar cambios en la formulación, fue hecho por personal capacitado
18. Se proporcionan suplementos vitamínicos adecuados

Condiciones de temperatura y humedad

10. En los galpones de la granja las temperaturas fueron las adecuadas (los animales no estuvieron sometidos a temperaturas ni humedad comprometedoras)

11. En la sala de almacenaje de huevos en la granja los registros de temperatura son normales
12. En la sala almacenaje de huevos previo a la incubación, los registros de temperatura son normales
13. Se hace precalentamiento adecuado antes de ingresar los huevos a la incubadora
14. Los mediciones en los registros de temperatura, de las incubadoras involucradas en los lotes con problemas están correctos
15. Las condiciones ambientes durante la transferencia fueron las adecuadas.
16. Los mediciones en los registros de temperatura de las nacedoras involucradas en los lotes con problemas están correctos
17. Los mediciones en los registros de humedad relativa de las incubadoras involucradas en los lotes con problemas están correctos
18. Los mediciones en los registros de humedad relativa de las nacedoras involucradas en los lotes con problemas están correctos

Ventilación

21. Están en correcto funcionamiento los ventiladores en la granja
22. La ventilación en las incubadoras funciona correctamente
23. La ventilación en las nacedoras funciona correctamente
24. La ventilación y temperatura en las salas es adecuada (se observan corrientes inadecuadas)

Manejo humano

21. No se incorporan trabajadores nuevos sin experiencia habitualmente
22. La manipulación de los huevos en granja es la adecuada (es decir no se realizan movimientos bruscos)
23. Los sistemas de transporte de huevos dentro de los galpones funcionan correctamente
24. Los maples plásticos se lavan y desinfectan adecuadamente
25. El transporte de los huevos de la granja a la planta es el habitual
26. El transporte está condicionado correctamente (temperatura)
27. Los maples vuelven a la granja desde donde vienen
28. Los operarios poseen elementos de protección personal para realizar el trabajo adecuadamente en granja
29. Los operarios poseen elementos de protección personal para realizar el trabajo adecuadamente en planta
30. La manipulación es adecuada a la hora de la carga de huevos en la incubadora (no se realizan movimientos bruscos)
31. Se observa deterioro de los elementos de incubación
32. Las pérdidas registradas durante la transferencia por huevos cachados es la habitual
33. El manejo en la vacunación es el adecuado. (preparación y manejo)
34. La carga de los huevos en las nacedoras se realizó por el personal habitual.

35. El funcionamiento de las incubadoras en correcto
36. El funcionamiento de las nacedoras es correcto
37. Los registros se llenan de manera clara y legible.
38. No se han observado enfermedades profesionales.
39. Hay sistemas de verificación de procedimientos
40. Hay sistemas de verificación de registros.

Tiempo de almacenamiento

25. El tiempo antes de la entrada a las incubadoras es menor a 7 días
26. La cantidad de huevos en espera es la adecuada (es decir no supera las capacidades de las incubadoras)
27. No hay indicios de que por razones ajenas a los operarios se haya atrasado la carga de los huevos
28. El transporte de los huevos se realizó normalmente



Estado higiénico Sanitario

38. Se respetan normas de bioseguridad
39. Existen POES y Registros de los mismos en la granja.
40. Dentro de la granja la circulación se encuentra restringida
41. No se observa presencia o indicio de plagas en granja
42. No se observan presencia de animales ajenos a la producción en granja
43. Los materiales de la construcción de la granja impiden el anidamiento de plagas
44. Se respeta el flujograma del recorrido del huevo en granja
45. Hay sistemas de aireación forzada, (presión positiva y negativa en las salas) en la planta de incubación.
46. La cama se encuentra libre de humedad excesiva o agua
47. La cama se cambia periódicamente
48. Los huevos de piso o sucios son descartados para la incubación
49. Las superficies y rincones se encuentran libres de enmohecimiento
50. El agua de consumo de los animales es segura
51. Los elementos de limpieza y desinfección en granja son suficientes y adecuados
52. Los vestuarios en la granja se encuentran en condiciones adecuadas de higiene
53. Las dimensiones de la granja evitan el hacinamiento DENSIDAD ADECUADA
54. Se utilizan antifúngicos u otras sustancias desinfectantes.
55. Los animales muertos son eliminados frecuentemente
56. Existen instalaciones de sanitización adecuadas en cada galpón
57. Las construcciones en la sala de huevo evitan contaminaciones externas
58. Al terminar el ciclo productivo se hace vacío sanitario
59. Se respetan normas de bioseguridad en planta
60. Hay registros de procedimientos estandarizados de saneamiento en planta
61. Los POES se realizan en tiempo y forma.
62. Los vestuarios en la planta se encuentran en condiciones adecuadas de higiene y dotados de elementos para contención de peligros biológicos.
63. Los huevos de piso o sucios se trabajan de manera diferencial en planta (no se mezclan bajo ningún motivo con incubables)

- 64. Los elementos de limpieza y desinfección en planta son suficientes y adecuados
- 65. Los sanitarios son funcionales y completos en planta
- 66. Se observa cartelería sobre buenas prácticas
- 67. Se observan buenas condiciones de higiene en la sala de huevos
- 68. Se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de incubadoras
- 69. Se observan adecuadas condiciones de higiene en incubadoras
- 70. Se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de transferencia (maquina in - ovo.
- 71. Existen registros de preparación de diluciones de limpieza de la máquina in -ovo
- 72. Se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de nacedoras
- 73. Se observan adecuadas condiciones de higiene en las nacedoras
- 74. Se realizan periódicamente análisis microbiológicos ambientales o de superficies
- 75.

Este sistema funcionará automáticamente al completar la lista de chequeo, a continuación, las siguientes capturas de pantalla del sistema AR 2:1 Preventivo.

Figura 59
Sistema preventivo.

	
<i>Diagnóstico y Prevención.</i>	
Modo de uso: Diagnóstico.	
1) luego de la lamina de referencias encontrara 9 planillas de verificación (A, B...I)	
2) Complete las listas de verificación utilizando una cada 10 días durante 3 meses. colocando un "1" cuando cumple, un "0" cuando no cumple y un "-2" en las preguntas criticas marcadas en rojo.	
3) observe los datos obtenidos en la hoja "resumen activo"	
4) Elabore y ponga en marcha acciones correctivas.	
5) repita el proceso y observe la evolucion de los indicadores.	

Al finalizar el sistema brindará el porcentaje de adecuación por categoría y el número de incumplimiento de factores críticos y muy críticos (F)

Figura 60
Incumplimientos de factores críticos y muy críticos.

Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre *Aspergillus fumigatus* aislado de embriones muertos. Año 2023

se observan buenas condiciones de higiene en sala de huevos	1			
se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de incubadoras	1			
Se observan adecuadas condiciones de higiene en incubadoras	1			
Se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de transferencia (maquina in - ovo.	1			
Existen registros de preparación de diluciones de limpieza de la maquina in -ovo	1			
se observan adecuadas condiciones de higiene en la sala de nacedoras	1			
se observan adecuadas condiciones de higiene en las nacedoras	1			
se realizan periódicamente análisis microbiológicos ambientales o de superficies	1			
Sumatoria	37			
		NO CUMPLE	Totales	% de incumplimientos Críticos y No críticos
		Críticos	0	26
		Muy Críticos	0	11
		% DE ADECUACION	100	37



Se propone realizar una verificación cada 10 días durante 3 meses y así obtener un diagnóstico del porcentaje de adecuación del establecimiento a cada categoría en función del tiempo (g). Realizando acciones correctivas, observando, se podrá ponderar el efecto de las mismas y su evolución en los gráficos que el sistema generará en una de sus hojas.

Figura 61
Evolución de porcentajes de cumplimientos en función del tiempo.

Categoría	Mes 1				Mes 2				Mes 3			
	% de Adec.	% de Adec.	% de Adec.	Promedio	% de Adec.	% de Adec.	% de Adec.	Promedio	% de Adec.	% de Adec.	% de Adec.	Promedio
Condiciones de temperatura y humedad	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Manejo Humano	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
ALIMENTO	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Salud	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Estado higienico sanitario	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Ventilacion	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Tiempo de almacenamiento	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

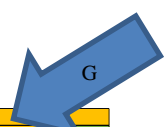
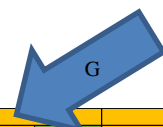
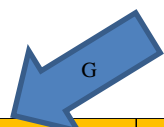
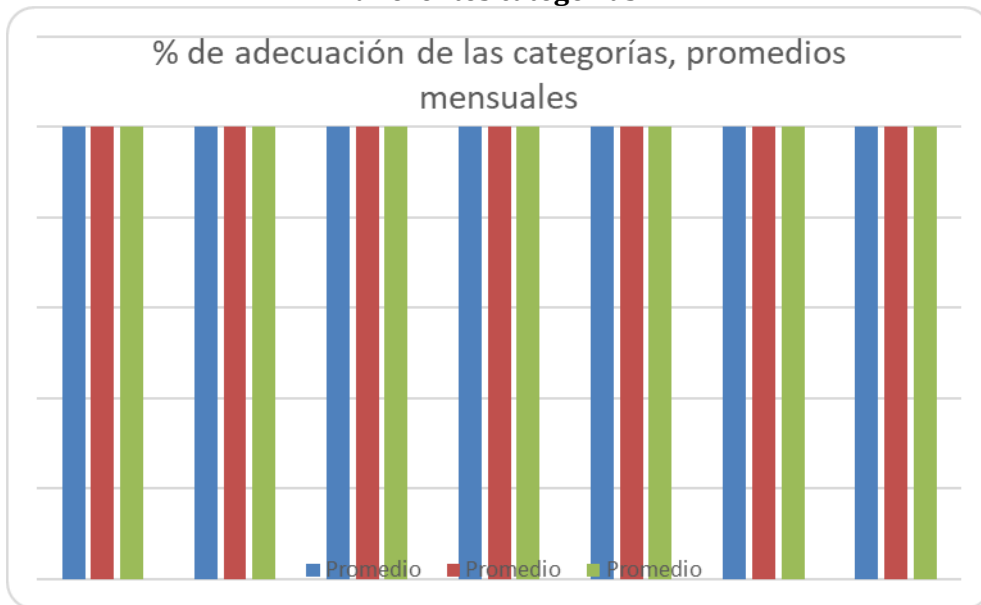
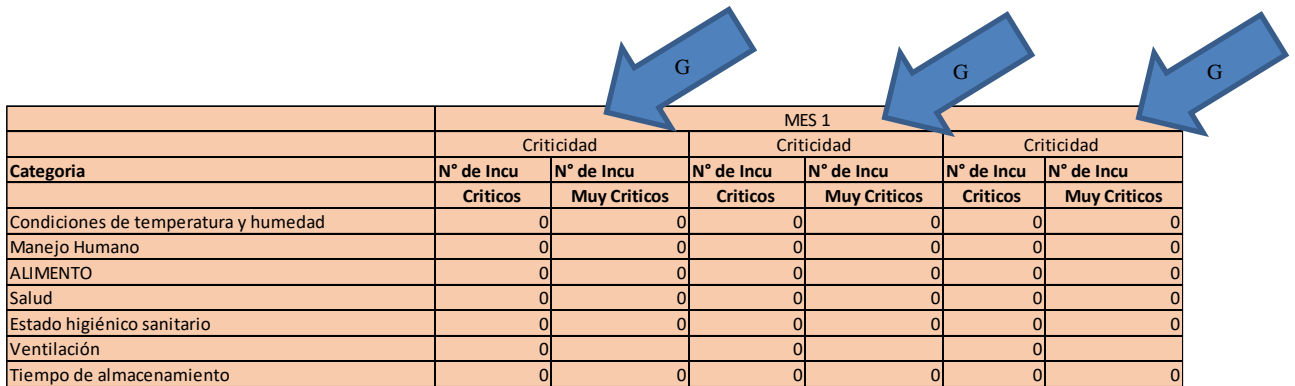


Figura 62 Representación gráfica de porcentajes de adecuación de adecuación de las diferentes categorías.



Conjuntamente mostrará la evolución de los incumplimientos “críticos” y “muy críticos” (h).

Figura 63
Evolución a través del tiempo de los incumplimientos “críticos” y “muy críticos”



Categoría	MES 1					
	Criticidad		Criticidad		Criticidad	
	N° de Incu Críticos	N° de Incu Muy Críticos	N° de Incu Críticos	N° de Incu Muy Críticos	N° de Incu Críticos	N° de Incu Muy Críticos
Condiciones de temperatura y humedad	0	0	0	0	0	0
Manejo Humano	0	0	0	0	0	0
ALIMENTO	0	0	0	0	0	0
Salud	0	0	0	0	0	0
Estado higiénico sanitario	0	0	0	0	0	0
Ventilación	0	0	0	0	0	0
Tiempo de almacenamiento	0	0	0	0	0	0

Figura 64
Representación gráfica del número de implementos críticos y muy críticos



El análisis sistematizado de los datos permitirá tomar decisiones de gestión tendiente a minimizar los fracasos y a la mejora productiva. Aplicar acciones correctivas estableciendo como prioridades a aquellos riesgos que originan los mayores fracasos dirigiendo racionalmente los recursos de control.

Con el desarrollo propuesto de un sistema preventivo de fallas en base a un check list ponderado, se logrará actuar precozmente y mantener un adecuado control y seguimiento de los factores a controlar que son causantes de los fracasos en los nacimientos.

Bibliografía

Agencia Europea Química (ECHA) 2021. Recuperado de [//echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.030.051](https://echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.030.051)

Aguilar-Otero, J. R., Torres-Arcique, R., & Magaña-Jiménez, D. (2010). Análisis de modos de falla, efectos y criticidad (AMFEC) para la planeación del mantenimiento empleando criterios de riesgo y confiabilidad. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 25(1), 15-26

Alexopoulos, C. J. C. W. Mims, and M. Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons, New York. 868p.

ALLEN, S. D., JANDA, W. M., KONEMAN, E. W., PROCOP, G. W., SCHRECKENBERGER, P. C., WINN, W. C., & WOODS, G. L. (2008). *Koneman diagnóstico microbiológico: texto y atlas color*. Médica Panamericana.

ANMAT. 2014. Microorganismos Indicadores. Metodología Analítica Oficial.

Arévalo, L., Nelson, M., & Mosetti, M. F. (2019). Planta de faena avícola. Organización Panamericana para la Salud. (2017). Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control. Disponible en: paho.org/hq/dmdocuments/2017/food-safety-hacpp-cha-analisis-peligros-puntos-criticos-control.pdf

Asociación Argentina del Ozono. (2010) Ozono III, Mezcla Medica, Unidades de concentración utilizadas en gases. Buenos Aires, Argentina.

Aves I. (s/f) Huevo incubables y nociones de incubación artificial. Cátedra de Aves I. Material didáctico. Facultad de Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina. Buenos Aires, Argentina.

Baiocchi A. (2012) Ozono como desinfectante. COPAL. Buenos Aires Argentina

Mayra O. BATALLER, Lidia A. FERNÁNDEZ y Eliet VÉLIZ (2010) EFICIENCIA Y SOSTENIBILIDAD DEL EMPLEO DEL OZONO EN LA GESTIÓN DE LOS RECURSOS HÍDRICOS *Rev. Int. Contam. Ambient.* 26 (1) 85-95, 2010. Centro de Investigaciones del Ozono, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana, Cuba

Barroeta, A., Izquierdo, D., & Pérez, J. (2013). Manual de Avicultura: Breve manual de aproximación a la empresa avícola para estudiantes de veterinaria. *UNB. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Unitat de Ciència Animal. Facultat de Veterinària*, 62.

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnóstico. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Britania (2018) Agar Papa Glucosado. Ficha Técnica. Disponible en https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2969ba1d3f5.pdf

Clímaco, W. L. D. S., Melo, É. D. F., Vaz, D. P., Saldanha, M. M., Pinto, M. F. V. D. S., Fernandes, L. C. C., ... & Lara, L. J. C. (2018). Eggshell microbiology and quality of hatching eggs subjected to different sanitizing procedures. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53(10), 1177-1183.

Cobb (2016). Guía de manejo de reproductoras. Disponible en: cobbstorage.blob.core.windows.net/guides/35500180-bc9a-11e6-bd5d-55bb08833e29.pdf

COLLADO, E., & ALVIRA, D. (1994). Estrés oxidativo y degradación de proteínas. *Medicina clínica*, 103(5), 189-196.

Corrales L, Muñoz MA, (2012) Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, D.C., Colombia

D'Aquino, M., & Nuñez, L. (1997). Influencia de la materia orgánica sobre la acción de desinfectantes. *Rev. argent. infectol*, 3-9.

Díaz-Enriquez, E., Mayo-Abad, O., Miró-Frutos, I., Pérez-Gutiérrez, Y., & Tsoraeva, A. (2017). Determinación de la eficacia de los desinfectantes empleados en las áreas asépticas de un centro productor de biofarmacéuticos. *VacciMonitor*, 26(2), 54-59.

Domínguez, F. (2012). Aspectos microbiológicos del huevo y sus derivados. *Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de química. México, DF.*

Federico, V. F. J. (2016). Manual de normas básicas de Bioseguridad de una granja Avícola.

FENAVI. (2014). Federación Nacional de Avicultores de Colombia. Extraído de Fenavi: <http://www.fenavi.org>

Fernandez I, Fernández-Torres, I., Bataller-Venta, M., Hernández-Castro, C., Sánchez-Urrutia, E., & Morales-Chacón, Y. (2010). Actividad antimicrobiana de los subproductos generados por la reacción del ozono con los microorganismos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41(2), 121-125.

Fuhrmann, H., R. Nadine, A. Buchner, and P. Braun. 2010. The effect of gaseous ozone treatment on egg components. *J. Sci. Food Agr.* 90:593–598.

de García, M. C. C., Restrepo, S. R., Molano, A. E. F., Toquica, M. C., & Estupiñán, N. V. (2012). Biología de hongos. Universidad de los Andes

Gatti, P. R. Y. (2006). *Efecto de la aplicación de ozono gaseoso sobre la carga bacteriana en piezas cárnicas de bovinos mantenidas en cámaras de frío* (Doctoral dissertation, Universidad de Concepción).

Gilman, J. C. (1963). *Manual de los hongos del suelo* (No. 589.2 G42m Ej. 1 008746). Continental,.

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Instituto Colombiano Agropecuario ICA. (2014). Las Buenas Prácticas de Bioseguridad en Granjas de reproducción Aviar y Plantas de incubación, Conceptos básicos para su aplicación en Colombia. Guía Metodológica. Bogotá, Colombia.

Jerlick A, Pitt AR, Schaur RJ, Spickett CM (2000). Pathway of phospholipid oxidation by HOC1 in human LDL, detected by LC-MS. *Free Radic Biol Med* 2000;28(5):673-82.

Jiménez Rojas, C. E. (2018). Evaluación microbiológica de huevo fértil con dos procesos de desinfección y el uso de cuatro productos comerciales en la granja guacata en el municipio de fusagasugá, cundinamarca.

Juarez Estrada, M. (2014). Los avicultores y su entorno N° 84, BM editores.

Klich, M. A., & Pitt, J. I. (1988). A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs.

Marchessi, N.C.; Del Rio, E.; Chamorro, A.; Pezuk, A.; Trejo, N.G.; Rodríguez.; Ramos, D, Abbiati N.; Benavidez, E.; Galian, L.R. (2019). Desinfección de huevos fértiles por ozonificación. *Revista Argentina de producción animal*. V 39, 2019 Suplemento 1. Bahía Blanca.

Marchessi, N.; Chamorro, A.; Pezuk, A.; Del Rio, E.; Corbalán G.; Orellana E.; Rodríguez, N., Alonso D.; Trejo, N.G. Benavidez, E.; Galian, L.R. 2020. Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos para destino eficiente de recursos. *Revista Argentina de producción animal REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL VOL 40 SUPL. 1: 171-214 (2020)*

Marchessi, N.; Pezuk, A.; Corbalán G.; Orellana; Chamorro, A E.; Del Rio, E.; Rodríguez, N., Alonso D.; Trejo, N.G. Benavidez, E.; Galian, L.R. 2020. Incidencia del género *Aspergillus* sp. en huevos no eclosionados por contaminación microbiana. *Revista Argentina de producción animal. REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL VOL 40 SUPL. 1: 405-438 (2020)*

Marchessi, N.; Alonso D.; Benavidez, E.; Galian, L.R. 2022. Susceptibilidad al ozono de las esporas de *Aspergillus fumigatus* aisladas de embriones muertos de gallinas reproductoras pesadas. *REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL*. Aceptado aun no publicado.

Margus J, Gómez S.C, Bueno J. D. (2011) Efecto del ozono sobre el crecimiento de bacterias y hongos de importancia avícola Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad Autónoma de Entre Ríos (UADER) (Fac. de Humanidades, Artes y Ciencias Sociales, (EEA INTA Concepción del Uruguay) Entre Ríos, Argentina

María, S. Á. J., Daniel, C. B., Francisco, P. R. O., Luis, C. J., Macedo Barragán, R. J., Jorge, G. M. L., & Guillermo, T. I. (2012). Efecto de un probiótico en pollos de engorda. *Abanico veterinario*, 2(1), 28-31.

Milián, G., Pérez, M., & Bocourt, R. (2008). Empleo de probióticos basado en *Bacillus* sp y de sus endosporas en la producción avícola. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 42(2), 117-122. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193015494001.pdf>

Ministerio de Agroindustria, Presidencia de la Nación (2018). Boletín Avícola Año XXI N°81. Buenos Aires Argentina.

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Muñoz C. (2004) Mecanismos de Acción del ozono. Aspectos generales. Asociación Mexicana de Ozonoterapia, México df. México.

Muñoz Arantxa, Nazaret Dominguez-Gasca a, Concepcion Jimenez-Lopez b, Alejandro B. Rodriguez-Navarro a (2015), *Importance of egg shell cuticle composition and maturity for avoiding trans-shell Salmonella contamination in chicken eggs*. Departamento de Mineralogía y Petrología, Universidad de Granada, Campus Fuente Nueva s/n, 18071 Granada, Spain b Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, Campus Fuente Nueva s/n, 18071 Granada, Spain.

Nilipour, A. (1994). Optimo manejo del huevo fértil. *Selecciones avícolas*, 36(10), 0659-664.

Perez, J. y Carrasco, L. (2000). Rev. Iberoam Micol, 17, 18 – 22.

Palacios, E. P. (2005). El complejo agroindustrial avícola argentino. Reconversión y perspectiva de inserción en el mercado regional e internacional. *Revista Aportes para la Integración Latinoamericana*.

Parzanese, M. (2013). *Tecnologías para la Industria Alimentaria: Ozono en alimentos* (No. H2720). Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires (Argentina).

Pedroso, M., & CENSA, O. (2004). Probióticos en aves una alternativa posible. *ACPA*, 1, 2004.

Pellanda L., Leda R, D Antonino F., Fernannces Heleno, F. Cecon R, Carvalho Goncalvez D. Da Silva J. (2017) *Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality (2017) Department of Agricultural Engineering, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil*

Plano, C. M., & Di Matteo, A. M. (2001). Atlas de patología de la incubación del pollo. *Obra realizada en Granja Tres Arroyos, SA Argentina. Distribuido por Embrex Inc., Duham, US*, 8-119.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food spoilage* (Vol. 519). New York: Springer.

Rafael F. Sala Rey, Giuseppe L. Squadrito (1992) El ozono como oxidante de lípidos biológicos: causas y efectos, parte B efectos nocivos. *Revista de Química*. Vol. VI. N° 2, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú.

Reylli PM, Burkley GB (1990). Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. *Br J Surg* 1990;77:1324-5.

Rodríguez-Moya, J., & Cruz-Bermúdez, A. I. (2017). Factores que afectan la incubabilidad de huevo fértil en aves de corral. *Nutrición Animal Tropical*, 11(1), 16-37.

Ruiz Oñate, E. G. (2012). Efecto del ozono sobre la eliminación de *Brettanomyces bruxellensis* en maderas de roble americano.

Sandoval, A., Yuño, M., Bakker, M. L., Rodríguez, E., & Beretta, A. (2005). Aplicación de la embriodiagnos para evaluar la eficiencia de la planta de incubación de parrilleros en una empresa avícola comercial en la Argentina. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 34(2), 75-89.

Sartori, L., Daniel, L. A., & Schulz, H. E. (2007). Adecuación de la Calidad Microbiológica de Desechos de Lagunas de Estabilización por la Aplicación de Ozono. *Información tecnológica*, 18(6), 83-92

Smith. W. (2013) Procedimiento para incubación de huevos. Disponible en <https://www.avicultura.mx/destacado/Procedimiento-para-la-incubaci%C3%B3n-de-huevos>

Tortorano, A. M., Viviani, M. A., Biraghi, E., Rigoni, A. L., Prigitano, A., & Grillot, R. (2005). In vitro testing of fungicidal activity of biocides against *Aspergillus fumigatus*. *Journal of medical microbiology*, 54(10), 955-957.

UNE – EN 1278:2010 Recuperado de <https://docplayer.es/56799254-Productos-quimicos-utilizados-en-el-tratamiento-del-agua-destinada-al-consumo-humano-cuya-secretaria-desempena-aenor.html>

United States Department of Agriculture USDA. (Marzo de 2014). A Guide to the Mitigation of Salmonella Contamination at Poultry Hatcheries. Best management Practices Handbook , 20- 45.

Vall, L. P., Smilanick, J. L., & Crisosto, C. H. (2004). Conservación frigorífica de cítricos en atmósferas ozonizadas: efecto sobre las enfermedades de postcosecha. *Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos*, (372), 321-328.

Vázquez, D. E., Meier, G. E., Bello, F., Cocco, M., & Almirón, N. J. (2010). Aplicación de oxígeno ionizado en conservación de naranja [*Citrus sinensis* [L. Osbeck] Lane Late. In *Congreso Argentino de Citricultura. 6. 2010 06 02-04, 2, 3 y 4 de Junio 2010. Tucumán. AR.*

Villacis Aveiga, M., & Costa, A. M. (2009). Determinación de la cinética de inactivación de la *Escherichia coli* con ozono.

Whistler, P.E., Sheldon, B.W. (1989). Comparison of ozone and formaldehyde as poultry hatchery disinfectants as an alternative hatching egg disinfectant. Poultry Science Association, Inc.

Ybran R. G, Lacelli G.A, . Gallard E.A (2018) La cadena avícola de carne en el norte santafesino. INTA Ediciones. Reconquista. Santa Fe. Argentina.

Bibliografía complementaria

Al-Bahry, S. N., Mahmoud, I. Y., Al-Musharafi, S. K., & Al-Ali, M. A. (2012). Penetration of spoilage and food poisoning bacteria into fresh chicken egg: a public health concern. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 1(1), 33-39.

Astorga-Quirós, K., Zúñiga-Vega, C., & Rivera-Méndez, W. (2014). Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (*Allium sativum* L.). *Revista Tecnología en Marcha*, 27(1), ág-77.

Barrientos, O., & Rony, A. (2003). Evaluación de huevo fértil no apto para incubación.

Canet, E. (s/f) Producción Avícola. E.E.A, Pergamino. Bs. As. Extraído de: <https://inta.gob.ar/proyectos/PNPA-1126051>

Cevallos, M. B. (2010). *Estudio y caracterización de las prácticas de manejo sanitario y bioseguridad en granjas avícolas de pequeños y medianos productores de cuatro zonas de alta producción en el Ecuador* (Bachelor's thesis, Quito: USFQ, 2010).

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Corena, G., & Carolina, A. (2017). *Evaluar del patrón de mortalidad embrionaria durante el proceso de incubación mediante el método C. Daniels con el fin de obtener datos de régimen específico* (Doctoral disertación).

De Leon, J. G. M. P. (2007). *Introducción al análisis de riesgos*. Editorial Limusa

Dirección de inocuidad de productos de origen animal (SENASA). (2019) Industria avícola. Buenos Aires Argentina. Extraído de: <http://www.senasa.gob.ar/cadena-animal/aves/industria>

Fernández-Torres, I., Bataller-Venta, M., Hernández-Castro, C., Sánchez-Urrutia, E., & Morales-Chacón, Y. (2010). Actividad antimicrobiana de los subproductos generados por la reacción del ozono con los microorganismos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41(2), 121-125.

Fraga, C. G., Shigenaga, M. K., Park, J. W., Degan, P., & Ames, B. N. (1990). Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proceeding sof the National Academy of Sciences*, 87(12), 4533-4537.

Galindo, S. L. R. (2005). Bioseguridad en granjas avícolas. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 6(2), 1-17

Jin, T. Z., Gurtler, J. B., & Li, S. Q. (2013). Development of antimicrobial coatings for improving the microbiological safety and quality of shell eggs. *Journal of food protection*, 76(5), 779-785

QUISPE PIZARRO, P. I. T. H. E. R. (2020). Identificación de las causas de no ecolosión de huevos fertiles de la línea ross 308 en el proceso de incubación en Yapacani Santa Cruz.

Lago, N. B., Godoy, L. C. B., & Borges, I. C. (2013). Evaluación de la efectividad de un desinfectante mediante el método de placas de contacto. *Revista Cubana de Farmacia*, 47(2), 185-192

Ministerio de Agroindustria (2017) Anuario avicola. Producción Nacionl de Carne Aviar. Año XX. N° 80. Bs. As. Argentina.

Mossel, D. A. (1984). Intervention as the rational approach to control diseases of microbial etiology transmitted by foods. An actualization of the tale of the frog and the grouse—after Lafontaine (1621–1695). 1. *Journal of Food Safety*, 6(2), 89-104.

Ramseyer, F. Terré, E. – (2019). Con fuerte aumento de la demanda china, la carne aviar marca records de producción y comercio global. Bolsa de Comercio de Rosario. AÑO XXXVII - N° Edición 1929 – 01. Extraído de <https://bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/con-fuerte>

Rey, R. S., & Squadrito, G. (1992). El ozono como oxidante de lípidos biológicos: causas y efectos parte b: efectos nocivos. *Revista de Química*, 6(2), 181-190.

Ross, T. (2010). Investigación de las pautas de incubación. Disponible en chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/RossTechInvestigacindelaspcticasdeincubacinmayo2010.pdf

**Análisis sistematizado de resultados de embriodiagnos. Y efecto antimicrobiano del ozono sobre
Aspergillus fumigatus aislado de embriones muertos.
Año 2023**

Saint, H., & Rose, M. (2002). *El efecto sobre el porcentaje de nacimiento y calidad de pollitos de huevos considerados no aptos para la incubación* (Bachelor's thesis, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2014.).

Wilson, G. S. (1933). The necessity for a safe milk supply. *Lancet*, 225, 829-832.