

EMBRIODIAGNOSIS: HERRAMIENTA DE DIAGNÓSTICO DEL PROCESO DE INCUBACIÓN DE HUEVOS DE GALLINAS

Embryodiagnosis: a diagnostic tool for chicken egg incubation process

 Manuel Colas Chavez^{1*},  Edmundo Pérez Rodríguez¹,  Gabriel Gorrín Armas²

¹Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de La Habana (UNAH), San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba

²Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) (UNLP-CONICET), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN: La presente revisión tuvo como objetivo realizar una actualización de la embriodiagnosia en cuanto a su base conceptual, clasificación por categorías, fórmulas de cálculo y valores normales. La embriodiagnosia es una herramienta imprescindible para el análisis integral del proceso de incubación por un personal con adiestramiento apropiado. Se considera como la práctica de seleccionar y abrir el cascarón de los huevos que quedan al final del periodo normal de incubación de los cuales no logró eclosionar un pollito. Se realiza con la finalidad de determinar las causas del fallo en el nacimiento de los pollitos, así como precisar la edad cronológica del desarrollo embrionario donde se produjo el fallo que condujo al fracaso de la incubación para ese embrión en específico. Además, ayuda a valorar si el huevo es infértil o bien si existen otras causas que afectan la integridad y por tanto la viabilidad del embrión. Sirve para discernir la casuística de la problemática en cada categoría (fase I, II y III) lo que contribuye a corregir el problema a tiempo en la granja de reproductores, en el traslado del huevo fértil a la planta de incubación o por mala operación de las condiciones de almacenamiento y durante la incubación. Finalmente son explicados los cálculos simple y ponderado.

Palabras clave: desarrollo embrionario, control biológico, etapas de la incubación.

ABSTRACT: This review aimed to provide an updated synthesis of embryodiagnosis, including its conceptual basis, categorical classification, calculation formulas, and standard reference values. Embryodiagnosis is an essential tool for comprehensive incubation analysis, requiring properly trained personnel. This technique involves the selective opening of eggshells from eggs that failed to hatch after the normal incubation period. This procedure is performed to determine the causes of chick hatching failure, as well as to identify the precise chronological stage of embryonic development at which the failure occurred, leading to incubation failure for that specific embryo. Additionally, it helps assess whether the egg is infertile or if other factors compromise embryo integrity and viability. This analysis identifies case patterns within each category (Phase I, II, and III), enabling timely corrective actions in breeder flock management, fertile egg transport to hatcheries, or due to improper handling of storage conditions and during incubation. The review concludes by detailing both basic and weighted calculation methods.

Key words: embryonic development, biological control, incubation stages.

INTRODUCCIÓN

La mortalidad embrionaria (ME) constituye un problema de importancia económica en la industria avícola (1). A principios del siglo XX cuando los lotes de producción eran pequeños, la tasa de ME no superaba el 10 %. Sin embargo, hacia 1950 con la transición de métodos de manejo primitivos hacia prácticas modernas de producción intensiva (reproducción en confinamiento e incubación artificial a gran escala) los valores de ME alcanzaron el 25 % o más (2).

La ME en pollos no se distribuye uniformemente durante los 21 días de incubación. Modelos matemáticos han establecido que la curva de mortalidad presenta dos picos durante las diferentes fases del desarrollo que ocurren en la primera y tercera semana. Estos se relacionan con los cambios en el metabolismo de los embriones, la edad de las reproductoras y el manejo de los huevos fértiles. En este sentido, la ME se divide en temprana, intermedia y tardía (3).

*Correspondencia a: Manuel Colas Chavez. E-mail: olimpia731026@gmail.com

Recibido: 20/01/2025

Aceptado: 20/03/2025

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Contribución de los autores: Manuel Colas Chavez: Conceptualización, Escritura - borrador original, Redacción: revisión y edición. Edmundo Pérez Rodríguez: Visualización, Redacción: revisión y edición. Gabriel Gorrín Armas: Visualización, Redacción: revisión y edición. Los autores participaron en el análisis de la parte especial. Los autores participaron en la discusión de los resultados, leyeron, revisaron y aprobaron el texto final.



Plano y Di Mateo (2001) señalan que la embriodiagnosia es una herramienta imprescindible para médicos veterinarios y gerentes de distintas áreas de producción avícola. Esta técnica permite un análisis integral del proceso de incubación dirigido al diagnóstico de posibles causas de falta de productividad en la planta incubadora (4). Es la práctica de revisar los huevos de 21 días de incubación que quedan sin eclosionar en las bandejas de las nacedoras con la finalidad de determinar las causas de la falla en el nacimiento de los pollitos, así como precisar la edad cronológica del desarrollo embrionario en la que se produjo la falla que condujo al fracaso de la incubación para ese embrión en específico. Contribuye a determinar si el huevo es infértil o si existen otras causas que afectan su integridad y por lo tanto la viabilidad del embrión (5).

Como se trata de una población, hay individuos que normalmente no completan su desarrollo embrionario muriendo en alguna etapa del proceso, por ese motivo se definen estándares comparables con los valores hallados (4).

Una vez conocido el momento en que se produce la ME por encima de los valores normales se pueden tomar las medidas correctivas (sanitarias o nutricionales) tanto en las granjas de los reproductores, el transporte de huevos fértiles a la planta de incubación o en la fábrica de raciones. Posterior a los 21 días del proceso de la incubación se producen alteraciones que hacen muy difícil determinar la edad exacta a la que murió el embrión, motivo por el cual se dan claves para ubicarlos por períodos que corresponden a las posibles causas de muerte o falta de productividad (4). El examen de los pollitos nacidos también permite tomar acciones correctivas, así como pronosticar la productividad del futuro lote en la granja de producción. De allí, la importancia del diagnóstico de las patologías perinatales (6).

Se han destacado diversos estudios que abordan aspectos claves del proceso de incubación en aves de corral, entre ellos la evaluación de los factores que influyen en su éxito o fracaso. Entre ellos se destaca lo relacionado con el manejo del huevo fértil antes del proceso (7), el análisis de la relación entre la ME y variables como la edad de las reproductoras, la fertilidad y pérdida de peso del huevo durante la incubación (8), la identificación de puntos críticos en la incubación y el manejo posterior de los parrilleros (9), el desarrollo de modelos matemáticos para describir la distribución temporal de la ME temprana, así como el efecto de las máquinas incubadoras sobre la distribución de fallas en el proceso (10). Rodríguez y Cruz (11) destacaron diversos factores que afectan la incubabilidad de huevo fértil en aves de corral, aportando elementos relevantes para optimizar este proceso en sistemas productivos.

En Cuba, se han desarrollado diversas investigaciones en reproductores ligeros, destacándose el impacto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento de los huevos fértiles en la eclosión de los pollitos de primera calidad (12), el potencial incubatorio de huevos clasificados como defectuosos (por forma o peso) de reproductoras ligeras White Leghorn (13), así como el análisis de componentes de covarianza (efecto directo y materno) en una línea pura ligera en rasgos de postura y la calidad de huevos incubables en una nueva reproductora bilineal (L78) (14).

En reproductores pesados se destaca el estudio de los resultados de la incubación de huevos con diferentes días

de almacenamiento. Se investigaron los parámetros de calidad de los huevos de líneas camperas (15), el efecto del cierre nocturno del nidal sobre la calidad del huevo y su aprovechamiento en planta de incubación (16) y la evaluación de la calidad de los huevos de cáscara marrona de tres híbridos obtenidos a partir del cruzamiento de líneas puras de la raza Rhode Island Red (17).

No obstante, es necesario profundizar en las causas multifactoriales que afectan a los huevos embrionados en sus diferentes fases de desarrollo, así como conocer las patologías embrionarias y neonatales que impactan en la viabilidad de los pollitos. En este contexto, Rodríguez et al. (18) realizaron un aporte significativo diseñando el software IncubaData, especializado en evaluar parámetros críticos durante el régimen de incubación y optimizar el control biológico en plantas incubadoras.

El presente trabajo tuvo como objetivo actualizar el conocimiento publicado sobre las pruebas de diagnóstico (ovoscopia y embriodiagnosia) para evaluar el desarrollo embrionario en las plantas de incubación, clasificación por categorías, fórmulas de cálculo para análisis de datos y valores normales en cada etapa de la incubación. Este trabajo pudiera constituir un material de consulta especializada para estudiantes de pregrado y posgrado, así como para profesionales del sector avícola que laboran en plantas incubadoras.

PARTE ESPECIAL

La baja eclosión de huevos impacta en la eficiencia productiva y representa un problema económico clave en la industria avícola. Por cada disminución porcentual en los pollitos vendibles nacidos a partir de huevos incubados, el costo para producir un pollito de engorde vendible aumenta aproximadamente 1,2 %. Este fenómeno está determinado por la infertilidad y la ME, que ocurre antes y durante la incubación. La ME no se distribuye de manera uniforme a lo largo del período de incubación de 21 días. Por el contrario, se distribuye en dos fases: primera semana (fase temprana) y la tercera semana de incubación (fase final) (11, 19, 20).

La recopilación de datos precisos sobre infertilidad, incubabilidad, el tiempo y la naturaleza de las pérdidas de embriones por medio de ovoscopías y embriodiagnosia, permite comparar el rendimiento de la planta de incubación con las guías de manejo estándar de la línea genética. Esto proporciona una base para investigar problemas de incubabilidad, identificar factores que causan desviaciones en el patrón normal de ME, detectar errores, identificar causas probables y proponer soluciones. La aplicación de estas prácticas como parte de un programa de calidad se refleja en la economía del sistema productivo avícola mediante la obtención de un mayor número de pollitos nacidos (4).

1. Pruebas de diagnóstico para el análisis de la evolución de los embriones en el proceso en la planta de incubación

1.1 Ovoscopia

Observación a partir del día 5 de incubación que consiste en proyectar un rayo de luz sobre el huevo generando un efecto de translucidez. Permite visualizar en cierta forma el interior del huevo. Al comparar con los demás embriones se

puede concluir si se encuentra retrasado en desarrollo (ME) o se trata de un huevo claro, denominación más empleada, indicando huevos infértiles y aquellos que presentan ME temprana (18).

1.2 Embriodiagnos

Es la práctica que se utiliza para estudiar los huevos que no eclosionaron tras los 21 días de incubación. Consiste en realizar la necropsia de los huevos en las bandejas de las nacedoras marcadas como muestras para determinar si éstos eran fértiles o si se ha producido alguna interrupción de su desarrollo durante el proceso de incubación (4). Permite diagnosticar causas de baja productividad en las plantas de incubación (21). Además, contribuye a identificar si las desviaciones que se presentan respecto a un patrón que entregan las casas proveedoras de genética para cada línea se están presentando en el proceso de incubación o provienen de la granja de reproductoras, sitios de almacenamiento y conservación del huevo previo al cargue en máquinas (4).

1.3. Procedimiento de embriodiagnos (4)

1. Rotular las bandejas de la nacedora como muestras y el tamaño de la misma depende de la planta de incubación, se recomienda revisar cuatro bandejas, una de la parte superior, dos de la parte media y una de la inferior.
2. Durante la transferencia de los huevos de la incubadora a la nacedora no se deben realizar ovoscopías a las muestras con el fin de no extraer los huevos claros.
3. El día del nacimiento recolectar la totalidad de huevos no eclosionados y desechos de las bandejas de muestra. Colocar en una bandeja para su posterior análisis en un lugar apropiado con buena iluminación (alejado y aislado de las salas de incubación, nacedoras y otros pollitos).
4. Romper la cáscara en el espacio de la cámara de aire y retirar las membranas testáceas.
5. Identificar el estado de desarrollo embrionario y clasificar los huevos separándolos por grupos en infértiles, mortalidad (temprana, intermedia y tardía), contaminados, malformados y con mala posición.
6. Registrar los datos obtenidos en la planilla de embriodiagnóstico.
7. Analizar los datos y contrastarlos con la guía de la línea genética.
8. Utilizar un recipiente de 20 litros para arrojar los residuos que ya se analizaron.
9. Debe participar un técnico de conjunto con el especialista encargado de realizar la embriodiagnos, cuya función será realizar las anotaciones correspondientes en una planilla.

Incluir en el apartado de observaciones, los tratamientos efectuados al lote, temperatura ambiente registrada, cualquier inconveniente durante el transporte de los huevos, el número total de pollitos nacidos del lote, la cantidad total de huevos no eclosionados que quedaron como remanentes en las bandejas y el porcentaje de nacimiento real del lote y el índice de nacimiento estándar del lote.

Como resultado de la disección del total de los huevos no eclosionados, el técnico asistente debe anotar en la planilla por categoría lo que se observa de cada parte, según lo recomendado al inicio. Para calcular el índice por categoría,

se divide el total de huevos analizados por categoría entre el total de huevos puestos a incubar en las bandejas, y el resultado se multiplica por 100. La embriodiagnos se puede hacer abriendo los huevos en su parte media, con los dedos pulgares de ambas manos o abriéndolos por el polo superior, donde se encuentra la cámara de aire. Este último procedimiento es el más recomendado. Se retira con tijeras la periferia de la misma (4), esto permitirá observar el interior del huevo minuciosamente (Figura 1).

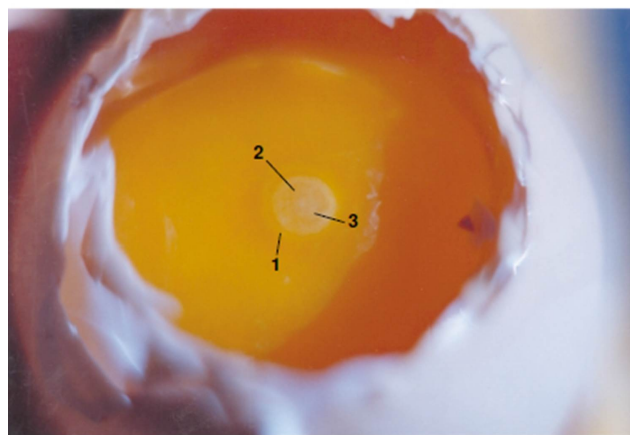


Figura 1. Huevo embrionado en las primeras horas de incubación. Se aprecian claramente, el área opaca (1) del área pelúcida (2) y la línea primitiva (3). / Embryonated egg in early incubation stages. Clearly visible are: opaque area (1), area pellucid (2) and primitive streak (3).

2. Clasificación por categorías

A medida que el operador observa los huevos que va abriendo, hace el diagnóstico del momento en que se interrumpió el proceso de incubación o si se trata de un huevo infértil, contaminado o cascado. El ayudante irá anotando estos datos en una planilla, para luego hacer los cálculos y así conocer los desvíos de los valores normales.

Se definen las siguientes categorías en la falla de la eclosión (4, 22):

2.1. Huevos infértiles

No se fertilizaron y por tanto no tienen desarrollo embrionario. Se observa el blastodisco (formación blanquecina 3 y 4 mm de diámetro) (Figura 2A).

2.2. Huevos fértiles

El óvulo fecundado en el momento de la postura es un embrión con alrededor de 50 000 células. Se forma el blastodermo con un área interna o pelúcida (embrión propiamente dicho) y un área externa u opaca (Figura 2B).

Este diagnóstico diferencial entre huevo fértil e infértil es relativamente fácil en huevos frescos. En el momento de efectuar la embriodiagnos a los 21 días de incubación se producen cambios y por este motivo, se tienen en cuenta otras características (además de la observación del blastodermo) que ayudan a su identificación, por ejemplo, la yema es menos brillante y no se encuentra ubicada en posición central como en el huevo fértil (4). Es notable en este período la formación de las estructuras anexas del embrión tal como se observa en la Figura 3C. Además, se define la ME.

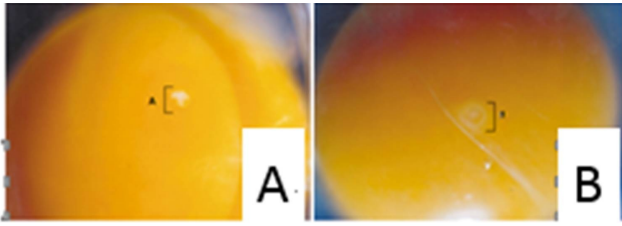


Figura 2. A. Huevo infértil. B. Huevo embrionado fértil en las primeras horas. Se observa la formación del blastodermo (1). / A. Infertile egg. B. Embryonated egg in early incubation stages: Blastoderm formation is observed (1).

2.3. Fase I.

ME temprana: comprende la primera fase de la incubación desde el 1er día hasta el 4to día (Figura 3A-E). Se aprecia la descripción del desarrollo embrionario, desde las primeras horas hasta el 4to día de incubación. A: Primeras horas de incubación. Se diferencian el área opaca (1) del área pelúcida (2) y la línea primitiva (3). B: 1er día de incubación. Aparece el mesodermo a cada lado del área pelúcida, en forma de cuernos, constituyéndose el falso proamnios. C: 2do día de incubación. En la porción proximal se observan los vasos sanguíneos intraembrionarios como un anillo vascular (1) que se originan en la aorta. Los vasos sanguíneos extraembrionarios (2) que unirán el embrión con el saco vitelino. D: 3er día de incubación. Comienza la formación del amnios que rodea al embrión. Se forman los arcos aórticos y la torsión del corazón sobre sí mismo y comienza la formación de alas, patas, nariz y alantoides. Se observan los vasos sanguíneos (1) y el órgano pulsátil (2). E: 4to día de incubación. Se inicia la formación del estomodeo (futura boca) y lengua del embrión. Se comienza a notar la formación del ojo (1).

Durante la embriodiagnosia se pueden observar formaciones que pueden confundir el diagnóstico de ME en este período:

- Coágulos de sangre o restos de tejidos ovulatorios en el vitelo (Figura 4A), que se diferencia de la formación temprana de un embrión. Se observa un desprendimiento de tejidos o sangre de la gallina en el momento de la ovulación, es frecuente encontrarlo.
- Vitelo moteado o revuelto (Figura 4B), asociado a cuadros tóxicos de la gallina (intoxicación por nicarbazina, afecta también el color de la cáscara del huevo y produce infertilidad).
- Manchas blancas en el vitelo (Figura 4C), relacionadas con estados sanitarios de la gallina. Se deben diferenciar de la formación temprana de las estructuras anexas del embrión (Figura 3C).

2.4. Fase II o ME media

En la Figura 5 (A-Ñ), comprende el período de los embriones muertos desde el 5to hasta el 17mo día de incubación. Lo más importante en esta fase comienza con la formación del ojo (Figura 5A) y finaliza cuando el pollito se prepara para la eclosión (Figura 5Ñ). La ME va acompañada de procesos naturales de degradación de la sangre que produce un color que puede confundirse con huevos contaminados por bacterias (23, 24). Estos últimos presentan un olor fétido característico (Figura 6).

En la Figura 5Ai: 5to día de incubación, se pueden observar a simple vista los ojos (1), comienza la diferenciación sexual, se forman la molleja, el proventrículo. Los cartílagos comienzan a osificarse (formación ósea). Aii: Es visible el saco amniótico (1), la alantoides se hace funcional y hay una gran curvatura en la zona cefálica. B: 6to día, inicio de la formación del pico, se detalla la estructura denominada diamante del pico (1) y comienzan los movimientos voluntarios del embrión. Ci: 7mo día, rotación del embrión. Se define muy bien la vascularización del vitelo (1). Los movimientos voluntarios del embrión son notables y se encuentra todavía sobre la superficie del saco vitelino. Cii: El amnios (1) se visualiza como una estructura serosa transparente que envuelve al embrión.



Figura 3. Desarrollo embrionario desde las primeras horas hasta el cuarto día de incubación (A-E). / Embryonated egg in early incubation stages up to day fourth (A-E).

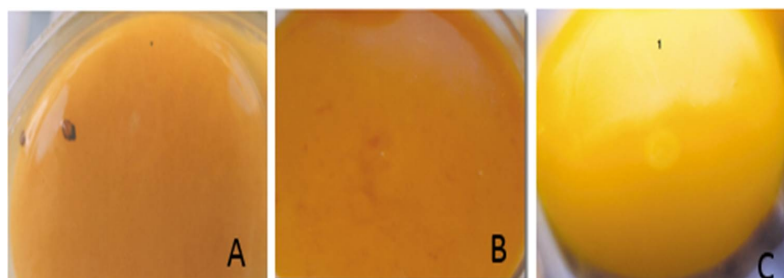


Figura 4. A. Coágulos de sangre o restos de tejidos ovulatorios en el vitelo. B. Vitelo moteado o revuelto. La albúmina y la yema pueden aparecer mezclados (huevo revuelto). C. Manchas blancas en el vitelo. / A. Blood clots or ovulatory tissue remnants in the yolk. B. Mottled or scrambled yolk. Egg white and yolk may appear mixed (scrambled egg). C. White spots on the yolk.

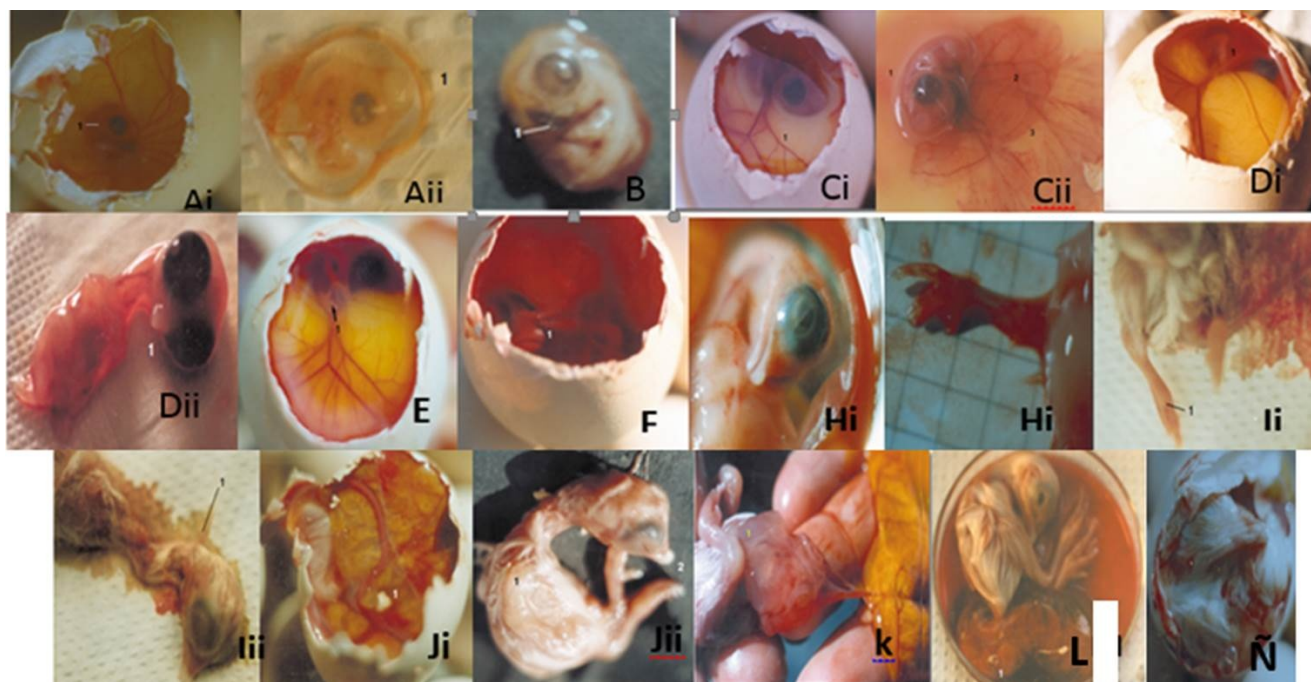


Figura 5. Período del desarrollo embrionario desde el quinto día hasta el 17mo día de incubación (A-Ñ). / *Period of embryonic development from the fifth day to the 17th day of incubation (A-Ñ).*

El saco vitelino (2) es un área ópticamente más densa y vascularizada. La alantoides (3) es menos vascularizada y menos densa. El abdomen es más prominente por el desarrollo de las vísceras en su interior y el pico tiene forma de pico de loro. Di: 8vo día, el embrión se ubica lateralmente al vitelo (1), se notan los dedos y las patas. Dii: Se inicia la formación de los folículos de las plumas y el pico tiene forma de diamante (1). E: 9no día, las patas se orientan hacia la cámara de aire (1). F: 10mo día, el pico comienza a endurecerse (1), el embrión está separado del saco vitelino y flota libremente en el líquido amniótico. Se pueden observar los poros de la piel y se consume la albúmina. G: 11no día, el cuerpo del embrión crece rápidamente, el párpado (1) comienza a cubrir el ojo. Hi: 12mo día, se percibe el plumón (1) en alas, muslos y cuello. Hii: Los dedos están completamente formados, se produce la mineralización ósea y comienza el desarrollo de las escamas en la piel de las extremidades posteriores. Ii: 13er día, en este momento comienza la absorción de la proteína que contiene el líquido amniótico y aparecen la cresta, barbillas y escamas de las patas (1). Iii: En este momento el plumón (1) cubre a todo el embrión. Ji: 14to día, en este momento las proporciones corporales son las características de un pollo, el embrión efectúa una rotación y altera su posición con relación al eje longitudinal del huevo. La cabeza gira en dirección de la cámara de aire. El pico (1) aparece con la punta córnea hacia el polo superior del huevo. Jii. El plumaje es evidente (1), se observa muy bien el pico córneo (2). K: 15to día, la albúmina ha desaparecido en su totalidad. Si se encuentran vestigios de ésta, es por humedad alta, temperatura baja o ambas situaciones en la incubadora. El intestino comienza (1) a penetrar al interior de la cavidad abdominal. L: 16to día, Se observa muy bien la presencia de plumas en todo el embrión. El vitelo (1), tiene un rol importante en este momento, si la temperatura de la incubadora sube a valores muy altos, se desnaturalizan las proteínas afectando así su valor nutritivo. Las uñas y pico se endurecen más aún. En el saco alantoideo aparece un acúmulo de material oscuro producto de las

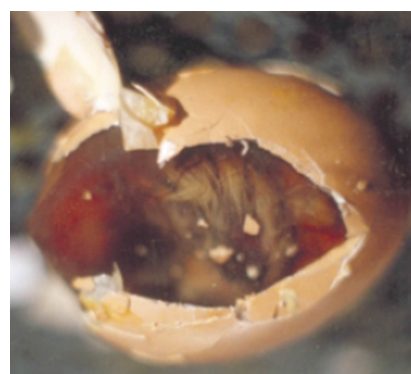


Figura 6. Contaminación bacteriana en el huevo embrionado. / *Bacterial contamination in the embryonated eggs.*

excreciones del metabolismo del embrión. Ñ: 17mo día, el embrión ha absorbido todo el líquido amniótico y alantoideo. Se ubica en posición normal para nacer con el pico debajo del ala derecha.

2.5. Preparación para la eclosión picando la cámara de aire

Etapa que se caracteriza por la absorción del saco vitelino y el pasaje a una respiración pulmonar (Figura 7). Se evidencia el desarrollo embrionario a partir del 18vo día hasta picar la cámara de aire. Ai: 18vo día, el embrión completó su crecimiento, el pico se orienta hacia la derecha. Comienza la absorción de la yema junto con la entrada del saco vitelino (1) en la cavidad abdominal. Aii: El embrión no ha picado la cámara de aire (1), algunos adelantados comienzan la ruptura del amnios. Bi: 19no día, el embrión ocupa todo el espacio del huevo excepto la cámara de aire. Comienza la respiración pulmonar. La absorción del vitelo se produce paulatinamente hasta que penetra totalmente en la cavidad abdominal (Figura 7Bi-Biii).

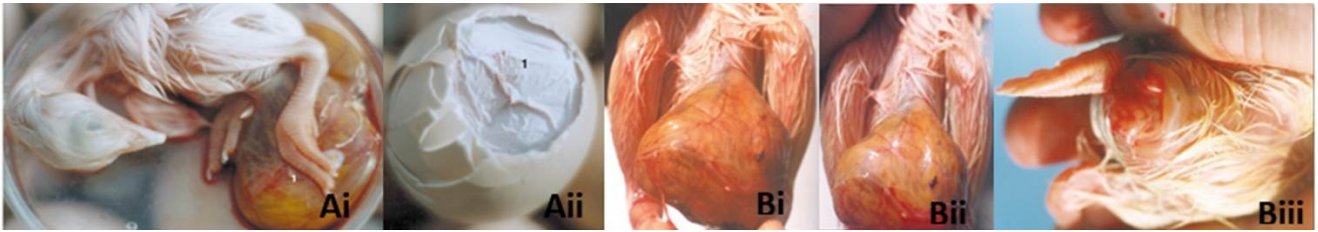


Figura 7. Descripción del desarrollo embrionario a partir del 18vo día hasta picar cámara de aire. / *Description of embryonic development from day 18th to internal pipping.*

2.6. Picados no nacidos (PNN)

Figura 8 (Ai - Bii) se aprecia el completamiento del desarrollo embrionario hasta el nacimiento del pollito. Ai: 20mo día, el embrión luego de romper la cámara de aire ocupa todo el espacio disponible y comienza a picar (1). Aii: El saco vitelino ya fue totalmente incorporado a la cavidad abdominal y comienza la cicatrización del ombligo. Bi: El embrión luego de permanecer 24 horas con respiración pulmonar comienza con los esfuerzos para eclosionar. Pica la cáscara del huevo (1) en forma rotativa y en sentido inverso a las agujas del reloj. Los pollitos nacen mojados y agotados por el esfuerzo realizado (2). Bii: Una manera de determinar que el nacimiento de los huevos viables se ha completado es calculando el porcentaje de pollitos con el plumón del cuello mojado. Como índice se calcula que con un 5 % finalizó el nacimiento retirándose los carros de las nacedoras.

2.7. Pollitos con malformaciones

En la **Figura 10 (A-S)** se observan imágenes que corresponden a etiologías variadas.

En la **Figura 10** se destacan las malformaciones congénitas de los embriones durante el proceso de incubación (A-J). A: Se observan tres patas en un mismo miembro del embrión (triplopodia). B: Duplicación del maxilar superior (1). C: Malformación del miembro inferior puesto que no se ha desarrollado el hueso largo del tarso, siendo el resto del embrión de características normales. D: Encefalocele (hernia del cerebro) es la más frecuente, de etiologías muy diversas, comúnmente el exceso de temperatura durante la incubación. E: Embrión cíclope, ambos ojos se fusionan en uno en la línea media, hallazgo poco frecuente. F: Anoftalmía (ausencia total de ojos). G: Embrión dicéfalo, la duplicación es anterior o craneal. H: La duplicidad es posterior cuando las partes



Figura 8. Completamiento del desarrollo embrionario hasta el nacimiento del pollito. / *Completion of embryonic development until birth.*

En la **Figura 9** se observan pollitos que picaron el cascarón pero no eclosionaron totalmente por baja temperatura y/ o alta humedad durante el período de incubación (24, 25).



Figura 9. Los embriones pican muy arriba (1) y en una franja ancha o no nacen. La pérdida de peso durante el período de la incubación ha sido menor al 12 %. / *Embryos pip too high (1) and in a wide band or fail to hatch. Weight loss during the incubation period has been less than 12 %.*

anteriores del cuerpo están normales, mientras que la parte posterior o caudal es doble. Ii: Embriones unidos o fusionados. El caso mostrado en esta foto se denomina cefalotoracópago (1). Iii: Cuando los embriones provienen de un mismo huevo o cigoto comparten el mismo vitelo, a diferencia de aquellos que se originan de un huevo de doble yema con distintos cigotos y que no poseen vitelo en común (2). J: malformaciones de las extremidades por traumatismos debido a las bandejas de las nacedoras, cinta transportadora, o cajas de pollitos con los pisos muy lisos y resbaladizos.

En la **Figura 10** se observan también las patologías perinatales de la incubación (K-S). K: Los signos nerviosos al momento del nacimiento de etiologías variadas. L: Pollitos con la parte superior del pico sangrando por esfuerzos realizado durante la eclosión relacionado con la poca pérdida de humedad durante el período de incubación. M: Ombligo mal cicatrizado. N: Botones negros en el ombligo, mal cicatrizado, ya que partes del saco vitelino o tejidos extraembrionarios no se absorbieron completamente al momento de cerrarse el orificio umbilical. Ñ: Onfalitis. O: Granuloma por *Aspergillus fumigatus*. Nódulos en las serosas (1) en la masa encefálica (2) y en los pulmones (3),

también pueden encontrarse tapones caseosos en los bronquios. P: Deshidratación y gota. El pollito que sufre deshidratación suele presentar un proceso de gota que puede ser articular (1) cuando los cristales de ácido úrico se depositan en las articulaciones o visceral, cuando afecta los órganos internos. Un signo característico de deshidratación de los pollitos es la observación de la vena metatarsiana (2). Q: Pollitos pegajosos, se puede deber a baja temperatura, alta humedad, ventilación inadecuada o a explosión de huevos en la nacedora. R: Pollitos con el plumón corto, seco y los ojos pegados; puede ser por temperatura alta, humedad baja, excesiva ventilación en la nacedora. S: Pollitos con infección bacteriana (*Escherichia coli* y *Salmonella* spp.). Los pollitos presentan generalmente pericarditis (1). El saco vitelino se lo encuentra indurado o coagulado (2), siendo una lesión más fácil de observar en pollitos que transcurren la primera semana de vida.

2.8. Huevos cascados

Huevos que al abrirlos, se les encuentra deshidratados o vacíos de contenido por fisuras de la cáscara durante la manipulación con la consiguiente pérdida excesiva de humedad (23).

2.9. Huevos contaminados

La aparición de estos huevos y su incidencia varía en función del manejo de las granjas de reproductores. La contaminación puede ser debida a bacterias (*E. coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* spp., *Clostridium* sp.) o hongos (*Aspergillus* spp.) (26, 27, 28, 29, 30, 31). La contaminación fúngica se caracteriza por el color verde azulado del interior del huevo, en algunos casos se puede observar una colonia (Figura 11A). La contaminación por bacterias produce un olor fétido característico y cambios de coloración (Figura 11B).

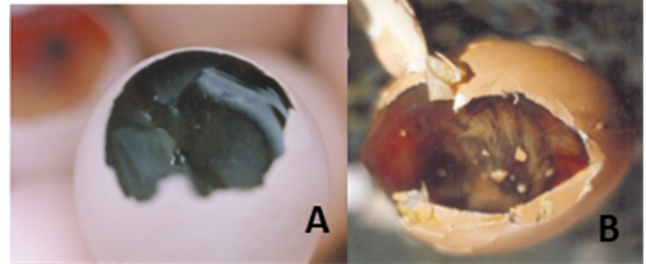


Figura 11. Huevo embrionado contaminado. A. por hongos. B. por bacterias. / Contaminated embryonated egg. A. by fungi. B. by bacteria.



Figura 10. Malformaciones congénitas de los embriones durante el proceso de la incubación (A-J). Patologías de la incubación perinatal (K-S). / Congenital malformations of embryos during the incubation process (A-J). Perinatal incubation pathologies (K-S).

Pollitos de descarte: Figuras 10 (D-Ñ), se trata en el acápite de patología perinatal.

Se recomienda para situaciones de dificultades de diagnóstico hacer una ovoscopia a los ocho días de incubación para abrir los huevos sin desarrollo embrionario y de esa manera hacer un diagnóstico diferencial entre ME muy temprana y huevo infértil (23).

3. Fórmulas de cálculo para análisis de los datos

Los datos obtenidos en el proceso de incubación se pueden calcular por el método simple o ponderado. En el caso del simple se puede calcular sobre el universo de las cuatro bandejas de la nacedora y con el fin de procesar la información del nacimiento del lote correspondiente de ese día. Con este método se cometen muchos errores, por lo que es mejor trabajar con el método de cálculo ponderado donde la información, se obtiene de las cuatro bandejas sobre el universo del nacimiento de ese lote analizado (4). A continuación, se expone el ejemplo del cálculo de cada método:

3.1. Método simple

Universo de cuatro bandejas

Un lote de reproductoras pesadas con un índice de eclosión del 85 %, un día determinado baja a 82,07 %. Se analizan los huevos remanentes que no eclosionaron de cuatro bandejas de las nacedoras, la capacidad total de huevos puestos en estas bandejas como universo, de 648 huevos puestos a incubar a razón de 162 huevos en cada una de ellas. Para realizar el cálculo del índice en cada uno de los indicadores, se eligen según la técnica, una bandeja de la parte superior de la nacedora, dos del medio, y una de la parte inferior y se realiza la embriodiagnos, donde se obtienen los siguientes datos:

- Fase I: 63 embriones muertos, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 9,72%.
- Fase II: 7 embriones muertos, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 1,08%.
- Fase III: 20 embriones muertos, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 3,09%.
- PNN: 6 embriones, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 0,92%.
- Infértiles: 44 huevos, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 6,79%.
- Contaminados: 3 huevos, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 0,46 %
- Cascados: 9 huevos, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 1,39%.
- Malformaciones: 4 embriones, entre el universo de 648 huevos, igual a un índice de: 0,62%.

Posteriormente, se suman todos los valores (63+7+20+6+44+3+9+4), para un valor total de 156 huevos, que quedaron remanentes en las cuatro bandejas, se divide esta cifra, entre el universo de 648 huevos y se obtiene un índice de huevos no eclosionados de 24,07%.

Para el cálculo del % de nacimiento: Si del 100% de los huevos en bandejas, no eclosionó el 24,07%, (100%-24,07% = 75,93%), se considera el índice de nacimiento de estas bandejas, y no del lote, que resultó de un 82,07%.

Solo se obtiene una realidad de las cuatro bandejas, pero no la del lote.

3.2. Método ponderado

Evaluación de la fórmula ponderada para el cálculo del índice de huevos no eclosionado e índice de nacimiento del lote (4). Se toman exactamente las mismas cuatro bandejas y los mismos valores del método simple, pero se les pondera sobre el universo total del lote del nacimiento analizado ese día.

Procedimiento para determinar el cálculo ponderado por etapa, se muestra un ejemplo de la fase I mediante la fórmula siguiente:

Fórmula 1 para el cálculo de la media ponderada - $A \times B / C = N$

Fórmula 2 para el cálculo del índice ponderado por ítem o fase analizada - $N / H \times 100 = \text{índice por ítem o fase analizada}$.

Donde:

A: Número de huevos de un ítem o fase analizada, por ejemplo, se encontraron 63 huevos con embriones muertos en la Fase I.

B: Número total de huevos que no eclosionaron del lote analizado (n=12 110), por ejemplo, se cargaron las incubadoras con un total de 67 554 huevos, de los que nacieron 55 444 pollitos (nacimiento del 82,07%), se restan y se obtiene el valor total de huevos que quedaron sin eclosionar como resultado en las bandejas de las nacedoras del lote (12 110).

C: Universo total de huevos puestos a incubar del lote analizado, para este ejemplo, es de 67554 huevos.

N: Media ponderada resultante de la operación anterior.

Datos a tener presente

En el lote, se obtuvo un nacimiento de 55 444 pollitos de un total de huevos en el lote de 67 554, para un porcentaje de nacimiento del 82,07%. Lo que significa que quedaron en bandejas del lote huevos sin eclosionar 12 110.

Fórmula 1. $A \times B / C = N$

Ejemplo $(63 \times 12110) / 67.554 = 11,29$.

Fórmula 2. $N / H \times 100 = \text{índice por ítem o fase analizada}$.

Donde:

H: Es la cantidad real de huevos remanentes (sin eclosionar), analizados de las cuatro bandejas de la nacedora.

Para este ejemplo, en total son 156 huevos que quedaron sin eclosionar en las cuatro bandejas elegidas.

Fórmula 2. $N / H \times 100 = \text{índice por ítem o fase analizada}$.

Ejemplo $(N=11,29 / H= 156) \times 100 = 7,24\%$, que es el índice ponderado para la Fase I, para el nacimiento de 82,07%. Valor distinto, inferior al que se encontró en la misma fase, con la fórmula que toma el universo de las cuatro bandejas de 9,72% en el método simple.

A continuación, se relacionan los cálculos de todos los índices ponderados de los distintos ítem o fases:

Fase I:
 $(63 \times 12110) / 67554 = 11,29$.
 $(11,29 / 156) \times 100 = 7,24\%$.

Fase II:
 $(7 \times 12110) / 67554 = 1,25$.
 $(1,25 / 156) \times 100 = 0,80\%$

Fase III:
 $(20 \times 12110) / 67554 = 3,58$.
 $(3,58 / 156) \times 100 = 2,30\%$

PNN:
 $(6 \times 12110) / 67554 = 1,07$.
 $(1,07 / 156) \times 100 = 0,69\%$

Infértil:
 $(44 \times 12110) / 67554 = 7,88$.
 $(7,88 / 156) \times 100 = 5,05\%$

Contaminado:
 $(3 \times 12110) / 67554 = 0,54$.
 $(0,54 / 156) \times 100 = 0,35\%$

Cascado:
 $(9 \times 12110) / 67554 = 1,61$.
 $(1,61 \times 156) \times 100 = 1,03\%$

Malformaciones:
 $(4 \times 12110) / 67554 = 0,72$.
 $(0,72 \times 156) \times 100 = 0,46\%$

Para calcular el índice de nacimiento se realiza la sumatoria total de todas las categorías de los índices de huevos no eclosionados, que resultó ser 17,92%, $(100\% - 17,92\% = 82,08\%$ de nacimiento) en correspondencia con el que se proyecta de 82,08%. Valor más cercano al 82,08% del índice de nacimiento real del lote, que el 75,93% que se proyecta, cuando no se ponderan los valores y se utiliza como universo las cuatro bandejas analizadas. En la **Tabla 1** se muestra la comparación de los distintos métodos de cálculo de los valores encontrados en la embriodiagnosis a partir del ejemplo anterior.

4. Valores normales

Los datos obtenidos durante la embriodiagnosis que se reflejaron en la planilla, sirven para fines diagnósticos si se compara con valores normales o estándares. Los estándares son distintos para cada empresa debido a que pueden variar según la línea genética, la edad del lote, el aprovechamiento de huevos incubables, el tiempo de permanencia de los huevos en el almacén y al equipamiento de incubadoras (21). Es conveniente que cada empresa cuente con sus propios estándares mediante la acumulación de datos de la rutina de la embriodiagnosis. Las empresas proveedoras de la línea genética le pueden proveer los valores normales para cada edad de los lotes en cuestión (4). Los valores estándares que sirven tanto para diagnóstico de situación de una operación determinada o bien para fijar objetivos de mejoramiento del personal involucrado se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 1. Comparación de los distintos métodos de cálculo de los valores encontrados en la embriodiagnosis. / *Comparison of different calculation methods for the values found in embryodiagnosis.*

Atributos	Cantidad	Método	Método
		Simple (%)	Ponderado (%)
Fase I	63	9,72	7,24
Fase II	7	1,08	0,80
Fase III	20	3,09	2,30
PNN	6	0,92	0,69
Infértiles	44	6,79	5,05
Contaminados	3	0,46	0,35
Cascados	9	1,39	1,03
Malformaciones	4	0,62	0,46
Totales	156	24,07	17,92
Nacimiento proyectado	-	75,93	82,08
Nacimiento real del lote		82,08	

Tabla 2. Valores estándares que se establecen en cada categoría. / *Standard values set for each categories.*

Categorías	Estándares (%)	
Infertilidad	3,0 - 10,0	
Mortalidad	Fase I	2,0 - 4,0
	Fase II	0,5 - 0,7
	Fase III	2,0 - 4,0
PNN	0,7 - 0,9	
Contaminados	0,5	
Cascados	0,3	
Malformaciones	0,3	
Pollitos de descarte	0,3	

PNN: Picados no nacidos

Una vez que se conoce en qué período del proceso de incubación hay desvíos, se pueden buscar las posibles causas o desvío de los valores normales.

CONCLUSIONES

La embriodiagnosis permite identificar y cuantificar la distribución de las pérdidas de incubabilidad por categoría de desarrollo embrionario, así como establecer antecedentes y evaluar la tendencia del proceso de incubación comparado con los estándares del genotipo. Al establecer cómo se comporta la ME, se obtiene una herramienta fundamental para monitorear un parámetro crítico en la incubación y tomar decisiones correctivas ante señales de anomalía o factores desfavorables que comprometan el desarrollo.

Las condiciones de incubación particulares de cada empresa avícola pueden modificar el patrón de la curva de mortalidad, incluso cuando se mantiene la tendencia asociada a los mecanismos biológicos propios del embrión de pollo. Por ello, la implementación de pruebas diagnósticas es fundamental para identificar oportunamente las causas de mortalidad embrionaria y determinar si se trata de un problema operativo o está vinculado al lote de reproductoras.

REFERENCIAS

- Hortúa-López LC, Cerón-Muñoz MF, Zaragoza-Martínez MdL, Angulo-Arizala J. Avicultura de traspatio: aportes y oportunidades para la familia campesina. *Agronomía Mesoamericana*. 2021; 32(3): 5-6. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v32i3.42903>
- Romanoff AL. Critical periods and causes of death in avian embryonic development. *The Auk*. 1949; 66(3): 264-270. <https://digitalcommons.usf.edu/auk/vol66/iss3/3>
- Jassim EW, Grossman M, Koops WJ, Luykx RAJ. Multiphasic analysis of embryonic mortality in chickens. *Poult. Sci*. 1996; 75(4): 464-471. <https://doi.org/10.3382/ps.0750464>
- Plano CM, Di Matteo AM. Atlas de patología de la incubación del pollo. Buenos Aires. 2001; 8-119.
- Juárez-Estrada MA. Embriodiagnóstico. Evaluación casuística del fracaso en el desarrollo embrionario durante el proceso de incubación. Parte I. Los Avicultores y su entorno N° 84, BM Editores. Departamento de Producción Animal: Aves FMVZ-UNAM. 27-Fracaso Desarrollo Embrionario_1.pdf
- Sardá-Jova R, Vidal-Pavón A. Patología de la incubación. Instituto de Investigaciones Avícolas, La Habana, Cuba. Patología de la incubación
- Boleli IC, Morita VS, Matos Jr JB, Thimotheo M, Almeida VR. Poultry Egg Incubation: Integrating and Optimizing Production Efficiency. *Brazilian Journal of Poultry Science*. Rev. Bras. Cienc. Avic. 2016; 18(spe 2): 001-016. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0292>
- Tona K, Voemesse K, N'nanlé O, Oke OE, Kouame YAE, Bilalissi A, et al. Chicken Incubation Conditions: Role in Embryo Development, Physiology and Adaptation to the Post-Hatch Environment. *Front. Physiol*. 2022;13: 895854. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.895854>
- Navarro MP. Puntos críticos de incubación y primera semana de vida en parrilleros de conformación. En: Memorias del XVIII Congreso Latinoamericano de Avicultura, Bolivia. 2003; 93-96.
- Wang YH, Lin J, Wang J, Wu SG, Qiu K, Zhang HJ, et al. The Role of Incubation Conditions on the Regulation of Muscle Development and Meat Quality in Poultry. *Front. Physiol*. 2022; 13:883134. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.883134>
- Rodríguez-Moya J, Cruz-Bermúdez AI. Factores que afectan la incubabilidad de huevo fértil en aves de corral. *Nutrición Animal Tropical*. 2017; 11(1): 16-37. <http://dx.doi.org/10.15517/nat.v11i1.28295>
- Kettrukat T, Grochowska E, Therkildsen M. The effect of incubation temperature on the development of the locomotory system and welfare in broiler chickens: A review. *Livestock Science*. 2023; 276: 105326. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105326>
- Sardá R, Vidal A. Resultados de la incubación de huevos con diferentes días de almacenamiento. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola*. 2008; 32: 2.
- Ruiz D, Sardiñas A, García AJ. Componentes de covarianza de efecto directo y materno de una línea pura ligera en rasgos de postura. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola*. 2006; 30(1): 5-8.
- Godínez-Doval O, Villa-Castillo JR, Fumero-Durán JE. Parámetros de calidad de los huevos de líneas camperas. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola*. 2013; 37(2): 37-42.
- Pérez EO, Quintana D, González LW, Sánchez A. Efecto del cierre nocturno del nidal sobre la calidad del huevo y su aprovechamiento en planta de incubación. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola*. 2013; 37(1): 69-72.
- Mesa M, Villa JR. Evaluación de la calidad de los huevos de cáscara marrona de tres híbridos obtenidos a partir del cruzamiento de líneas puras de la raza Rhode Island Red. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola*. 2017; 41(2): 9-14.
- Rodríguez-Vaillant Y, Sardá R, Edghill E, Vidal A. El programa IncubaData: Valoración de cinco implementaciones. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola*. 2016; 40(1): 71-76.
- Gairal NM. Fisiología de la puesta de la gallina. *Veterinaria Digital*. 2019. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/fisiologia-de-la-puesta-de-la-gallina/>
- Gualpa-García AM. Parámetros básicos de incubación para asegurar la eclosión en los huevos de gallina. Repositorio Universidad Técnica de Babahoyo. 2022. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/13262>.
- Ross Tech. Investigación de las prácticas de incubación. Reproductora. 2010;1-39. http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/RossTechInvestigacindelaprticasinmayo2010.pdf
- Souza da Silva C, Molenaar R, Giersberg MF, Rodenburg TB, van Riel JW, De Baere K, et al. Day-old chicken quality and performance of broiler chickens from 3 different hatching systems. *Poult. Sci*. 2021; 100(3):100953. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.050>
- Intriago MVA, Cedeño ROA, Hurtado EA, Rivera FRD. Manejo en edad de reproductoras y temperatura de incubación sobre ventana de nacimiento y calidad del pollito BB. *Ciencia UNEMI*. 2023; 16(43): 24-34. <http://dx.doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol16iss43.2023pp24-34p>
- McIlwaine K, Law CJ, Lemon K, Grant IR, Smyth VJ. A Review of the Emerging White Chick Hatchery Disease. *Viruses*. 2021; 13(12): 2435. <https://doi.org/10.3390/v13122435>
- Wijnen HJ, van der Pol CW, van Roover-Reijrink IAM, De Smet J, Lammers A, Kemp B, et al. Low incubation temperature during late incubation and early feeding affect broiler resilience to necrotic enteritis in later life. *Front. Vet. Sci*. 2021; 8:1-16. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.784869>
- Gast RK, Porter Jr RE. Salmonella infections. In: Swayne DE, Boulianne M, Logue SM, et al, eds. *Diseases of Poultry*. 14th ed. Wiley; 2020:719-753. *Diseases of Poultry | Wiley Online Books*
- Nolan LK, Villancourt J, Barbieri NL. Colibacillosis. In: Swayne DE, Boulianne M, Logue SM, eds. *Diseases of Poultry*. 14th ed. Wiley. 2020:770-830. *Diseases of Poultry | Wiley Online Books*
- Araujo ICS, Lopes TSB, Lara LJC, Costa BTA. Animal welfare of embryos and newly hatched chicks: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2023; (21)2: e05R01. <https://doi.org/10.5424/sjar/2023212-19605>

29. Hashemi S, Ghalyanchilangeroudi A, Hosseini SM, Sheikhi N. Comparative trachea transcriptome analysis between avian infectious bronchitis virus and avian pathogenic *E.coli* individual infection and co-infection in SPF chickens. *Acta Virol.* 2020; 64(4): 457-469. https://doi.org/10.4149/av_2020_413
30. Rezaee MS, Liebhart D, Hess C, Hess M, Paudel S. Bacterial Infection in Chicken Embryos and Consequences of Yolk Sac Constitution for Embryo Survival. *Veterinary Pathology.* 2021; 58(1): 71-79. <https://doi.org/10.1177/0300985820960127>
31. Chevalier S, Bouffartigues E, Bodilis J, Maillot O, Lesouhaitier O, Feuilleley MGJ, et al Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. *FEMS Microbiol.* 2017; 41(5), 698-722. <https://doi.org/10.1093/femsre/fox020>