



INVESTIGACION

CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGIA

VOLUMEN 12

Nº 23

2020

MEDICINA.FISICA.FARMACOLOGIA.BIOLOGIA.PSIQUIATRIA.BIOLOGIAMARINA.EMPRESA.DERECHO.ECONOMIA.BELLASARTES

INVESTIGACION

CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Revista Nº 23
VOLUMEN 12 2020

Director

José Luis Vázquez López
investigación@galicia.com
36201 Vigo - España

Dirección Creativa e Innovación

María del Mar Vázquez Jiménez
mariadelmarvj@gmail.com

Consejo de Redacción

Francisco Javier Rodríguez Berrocal
Almudena Fernández Briera
José Luis Vázquez López

Comité Científico

Jesús Souza Troncoso
José Luis Legido Soto
Juan Manuel Vieites Baptista de Sousa
María Victoria Besada Montenegro
Francisco Javier Rodríguez Berrocal
Almudena Fernández Briera
Ángel Tomás Camacho García

Secretaría y Departamento de Divulgación

Raquel María Vázquez

Revista adscrita al

INSTITUTO DE CULTURA,
CIENCIA Y TECNOLOGÍA (ICCT)
www.institutociencia.es

ISSN: 1889 - 4399

DEPÓSITO LEGAL:

VG - 347 - 2009

Patrocina



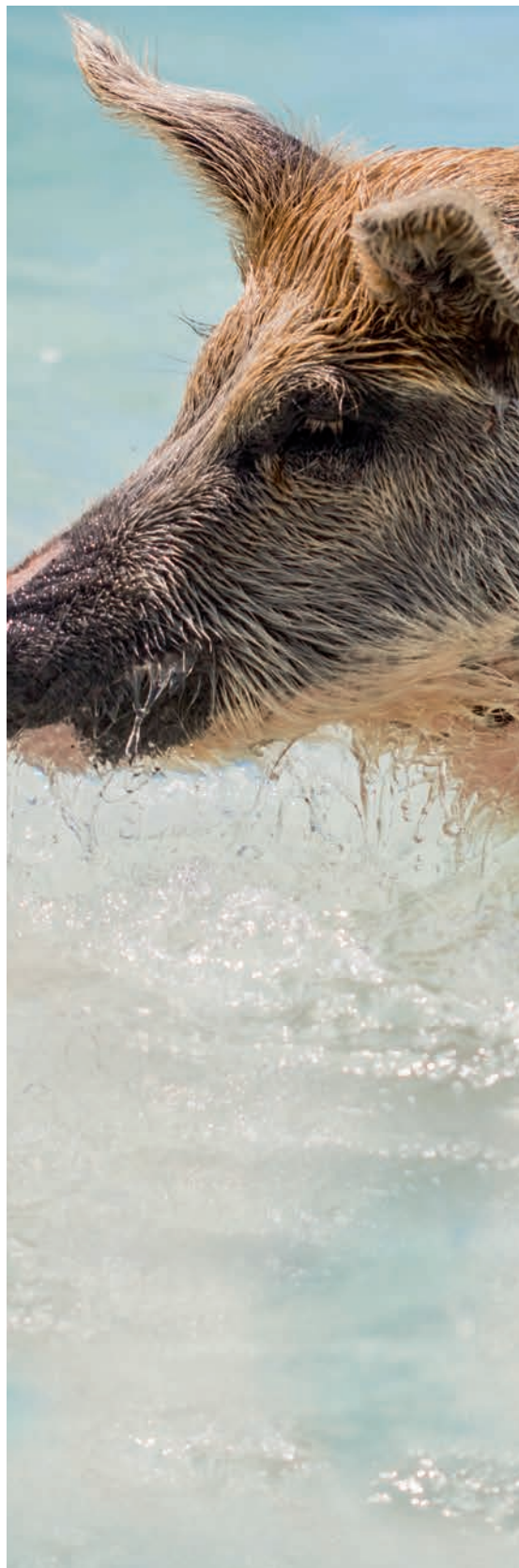
XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE ECONOMÍA,
EMPREGO E INDUSTRIA



INSTITUTO CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Queda prohibida la reproducción total o parcial de cualquiera de los contenidos de esta publicación, sin citar la procedencia. La revista "Investigación" no se hace responsable, ni se identifica con artículos, ni opiniones que publican sus autores y colaboradores.

LOS INVESTIGADORES DE INSTITUCIONES, EMPRESAS, LABORATORIOS Y UNIVERSIDADES INTERESADOS EN REMITIR ARTÍCULOS, PREVIAMENTE DEBERÁN CONTACTAR CON NUESTRO DEPARTAMENTO DE REDACCIÓN PARA RECIBIR INSTRUCCIONES: investigación@galicia.com



índice

SUMARIO
VOLUMEN 12 Nº 23 2020

Editorial

6 **L** A INNOVACIÓN

Antonio De Ron Pedreira
Delegado Institucional del CSIC en Galicia.

Crisis Socioeconómica

8 **C** CRISIS 2008 VERSUS CRISIS COVID 19: LECCIONES SIN APRENDER

Ignacio Temiño Aguirre (1), Inmaculada Puebla Sánchez (2), Francisco José Martínez López (3)

(1) *Consultor Senior de Finanzas y Economía. Profesor PhD de Estrategia Empresarial y de Administración y Dirección de Empresas. Universidad Francisco de Vitoria. España.*

(2) *Director del Centro de Simulación Empresarial. Profesor PhD de Gamificación y Sistemas de Gestión Empresarial. Universidad Francisco de Vitoria. España.*

(3) *Catedrático de Economía Financiera y Contabilidad de la Universidad de Huelva. España.*

Ecografías de alta resolución

16 **A** APLICACIÓN DE LA ECOGRAFÍA DE ALTA RESOLUCIÓN EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA MERALGIA PARESTÉSICA. ESTUDIO DE 99 PACIENTES

Norberto Gómez Rodríguez (1), José Ángel Rodríguez Lorenzo (2)

(1) *Servicio de Reumatología del Hospital Povisa de Vigo. España.*

(2) *Servicio de Radiología del Hospital HM de Vigo. España.*

24 **R** **Nutrición**
EVALUACIÓN DE ESTABILIDAD DE MEZCLAS COMPLEJAS DE NUTRICIÓN PARENTERAL TOTAL
Otero Millán, L. (1); Lago Rivero, N. (1); Vázquez López, C. (1); Ledo Rumbao, C. (1); Pérez Veiga, A. (1); Piñeiro Corrales, G. (1); Legido Sodo, J. L. (2)
(1) Servicio Farmacia EOXI Vigo. España.
(2) Departamento Física Aplicada Universidad de Vigo. España.

31 **T** **Biotecnología Vegetal**
TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE ENCINA PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS TOLERANTES A PHYTOPHTHORA CINNAMOMI
Vanesa Cano, María Teresa Martínez, Elena Corredoira
Grupo Biotecnología y Mejora Forestal. Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG-CSIC). Santiago de Compostela. España.

43 **S** **Instalaciones eléctricas de Hospitales**
SOLUCIONES INNOVADORAS EN LAS INSTALACIONES ELÉCTRICAS DE HOSPITALES EXISTENTES, PARA LA MEJORA DE SU SEGURIDAD DE FUNCIONAMIENTO
Xavier Novoa Conde
Ingeniero Industrial Electricidad/Electrónica por la Universidad de Vigo. MBA por la UNED.
SERGAS - Servicio de mantenimiento del Área Sanitaria de Vigo. España.

54 **D** **Acuicultura**
DESARROLLO DE UN FILTRO BIOLÓGICO INNOVADOR PARA SU APLICACIÓN EN ACUICULTURA BASADO EN UN RELLENO SOSTENIBLE DE CONCHA DE MEJILLÓN
Leticia Regueiro (1), Diego Méndez (1), Mohamed Soula (1), Martiña Ferreira (1), Raúl Muñoz (2), Pedro García Encina (2), Celina Costas (1)
(1) Área de I+D+i de ANFACO-CECOPECA.
(2) Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Ambiental. Universidad de Valladolid. Spain.

60 **R** **Parasitología en la Caza Mayor**
RIESGOS PARASITOLÓGICOS EN LA PRÁCTICA DE LA CAZA MAYOR: EL JABALÍ
Adrián Roo González, Miguel Arbones Broullón, Raúl Iglesias Blanco, Cristina Arias Fernández, Ignacio Pastor Herranz
Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo. España.

editorial

LA INNOVACIÓN

Hace años, muchos científicos nos preguntábamos como sería la investigación y la ciencia en el siglo XXI, y el año 2020 era una referencia habitual de futuro. De hecho, la propia Unión Europea estableció el Horizonte 2020, su mayor programa de investigación e innovación para el periodo 2014-2020, para apoyar la excelencia científica, el liderazgo industrial y las soluciones a los retos sociales. Ahora estamos ya en la mitad del año 2020, ha transcurrido, por tanto, una quinta parte del siglo XXI y pueden hacerse reflexiones acerca de lo acaecido hasta ahora y lo que deparará el resto del siglo. Ha habido grandes cambios científicos y se ha establecido en la sociedad el trinomio I+D+i=Investigación+Desarrollo+innovación. Sin embargo, a estas alturas del siglo actual, debería hacerse una reflexión acerca de la “i” minúscula de este trinomio, la innovación. En efecto, en todas las escalas y ámbitos hay una apuesta decidida por la “Innovación”, que, por tanto, merece ser escrita con mayúscula.

En instituciones públicas, en el caso de Galicia, la Agencia Galega de Innovación (GAIN) ya ostenta el propio término, en España, el Plan Estatal es el principal instrumento de la Administración General del Estado para el desarrollo y consecución de los objetivos de la Estrategia Española de Ciencia y Tecnología y de Innovación, y estos mismos planteamientos pueden extenderse a la Unión Europea, con su próximo

programa Horizonte Europa para desarrollar la investigación y la innovación. Adicionalmente, en el caso de las instituciones privadas, para ellas la innovación es actualmente una prioridad en el cumplimiento de sus objetivos empresariales.

La Innovación es un cambio que introduce novedades, y que se refiere a modificar elementos ya existentes con el fin de mejorarlos, aunque también es posible en la implementación de elementos totalmente nuevos. Ello daría lugar a que las ideas innovadoras lleven a nuevos productos, servicios, o procedimientos, que encuentren una aplicación exitosa, imponiéndose en la sociedad. La sociedad cambia cuando los factores de producción se combinan de una manera novedosa, dando lugar, entre otros procesos, al emprendimiento, al crecimiento económico y al progreso social. La Innovación no es solo aplicable a la ciencia y la tecnología, sino que puede desarrollarse en las humanidades y en la cultura, y los conceptos de vanguardia y creatividad se hacen relevantes en este contexto.

No se podría hablar de Innovación en estos tiempos difíciles sin mencionar la enfermedad COVID-19 (“*coronavirus disease*”) causada por el virus SARS-CoV-2 (síndrome respiratorio severo agudo, “*severe acute respiratory syndrome*”, coronavirus 2). El esfuerzo de toda la sociedad, en Galicia, en España, en Europa,

y en todos los territorios afectados mundialmente, se basa en encontrar un medicamento eficaz contra la enfermedad y/o una vacuna frente al virus. ¿Y a qué recurren los investigadores?: a la Innovación. Algunos proyectos que está desarrollando el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (en colaboración con otras instituciones) incluyen aspectos como: uso de antivirales para impedir el transporte del virus dentro de las células; una nueva aplicación web que permite seguir la evolución global de la pandemia al integrar todos los indicadores epidemiológicos y poder comparar la evolución entre países; una tecnología que persigue detectar y cuantificar el material genético del virus en el alcantarillado y en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs); herramientas de edición genética para tratar de destruir “el corazón” -el genoma- del virus; realizar simulaciones de la interacción de fármacos empleados contra el ébola, el VIH, la gripe o la hepatitis B con la maquinaria de replicación del genoma del virus recurriendo a técnicas informáticas y a la ayuda de los ordenadores de miles de personas voluntarias conectadas a través de una plataforma de computación; etc. Todo ello es Innovación, inspirada, en este caso, por la presencia de una enfermedad desconocida que ha estimulado a los investigadores.

Sin embargo, lo anterior no es más que el principio. Al comienzo de esta editorial me preguntaba, al igual que otros científicos, como sería la investigación y la ciencia en el siglo XXI. La clave puede estar en los Objetivos del Milenio (ODM), ocho propósitos de desarrollo humano establecidos en el año 2000, que trataban de la vida cotidiana en diversos aspectos fundamentales y que en 2015 fueron evaluados y se ampliaron, conociéndose ahora como los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), que resumen lo que la Humanidad espera del progreso científico, tecnológico, social, económico, etc. La consecución de estos objetivos, en el presente siglo, contribuirá al progreso de la Humanidad y al cuidado del Planeta, en ámbitos tan relevantes como Salud y Bienestar, Educación, Ciencias Naturales, Ciencias Sociales y Humanas, Cultura y Comunicación e Información.

En el caso del CSIC ha habido una importante transformación reorganizativa de áreas de I+D+i para adaptarnos a los ODS. Hemos pasado de una estructura organizativa “clásica” en áreas como Agricultura, Química, Física, Alimentos, Humanidades, etc. a la actual basada en tres grandes áreas: Vida, Materia y Sociedad (con sus respectivas uniones e intersecciones).

Vida. Una visión integrada de la investigación en ciencias de la vida permite establecer áreas prioritarias y diseñar nuevas estrategias transversales de actuación en temáticas tan importantes como el desarrollo sostenible, el medio ambiente y el cambio climático, la medicina de precisión y personalizada, la agricultura y la alimentación del futuro o el envejecimiento saludable. La biología, la biofísica, la genética, la fisiología, las enfermedades infecciosas y las poco frecuentes, llamadas “raras”, la neurobiología, el cáncer, la inmunología, la genómica y la bioinformática son algunas de las disciplinas en las que desde la comunidad científica desarrollamos actividades de gran impacto y valor traslacional.



Materia. Para la realización de la investigación en esta área son necesarias infraestructuras singulares y equipamientos, como las denominadas Infraestructuras Científico-Técnicas Singulares (ICTs). En Galicia están el Centro de Supercomputación de Galicia y el Buque Oceanográfico Sarmiento de Gamboa. También pueden destacarse, en relación con el CSIC en el resto de España, el Observatorio Astronómico Calar Alto, la Sala Blanca Integrada de Micro y Nano Fabricación del Centro Nacional de Microelectrónica, el laboratorio RMN Manuel Rico y el Centro Nacional de Aceleradores, entre otros.

Sociedad. Entre los rasgos fundamentales de la área hay que destacar su capacidad para generar análisis críticos de las corrientes de pensamiento de la sociedad actual, mediante la aportación de respuestas a los grandes problemas de índole ideológica y ética planteados en el mundo de hoy, así como su esencial contribución a la preservación e interpretación del patrimonio cultural e intelectual en todas sus manifestaciones.

De esta manera, desde CSIC se aborda la consecución de dichos objetivos, que es una tarea común y solidaria. Por ello, no sólo los científicos deberemos esforzarnos en conseguirlos, sino que la sociedad civil debe ser consciente de su relevancia y contribuir a los logros que suponen para el deseado y necesario progreso de la Humanidad a lo largo de este siglo, y quizá de los venideros, para quienes estén allí entonces...

Antonio De Ron Pedreira

Delegado Institucional del CSIC en Galicia

CRISIS 2008 VERSUS CRISIS COVID 19:

LECCIONES SIN APRENDER

Ignacio Temiño Aguirre¹, Inmaculada Puebla Sánchez², Francisco José Martínez López³

¹ Consultor Senior de Finanzas y Economía y Profesor PhD de Estrategia Empresarial y de Administración y Dirección de Empresas. Universidad Francisco de Vitoria. España.

² Director del centro de Simulación Empresarial. Profesor PhD de Gamificación y Sistemas de Gestión Empresarial. Universidad Francisco de Vitoria. España.

³ Catedrático de Economía Financiera y Contabilidad de la Universidad de Huelva. Spain.

RESUMEN

Las crisis socioeconómicas forman ya parte de nuestra imagen del mundo, se suceden de forma ininterrumpida con causas y efectos que debemos analizar con detenimiento para aprender de ellas y poder solventar en las próximas de forma más eficiente sus embates. En este artículo se analizan con detalles las características de las crisis de 2008, con unas peculiaridades muy relacionadas con el ámbito financiero y las causadas por la actual situación de pandemia del COVID 19, cuyos efectos, si no somos capaces de mejorar, pueden ser de gran repercusión en nuestra economía. Para ello, establecemos una serie de premisas que nos permiten conocer las dos crisis para poder en las conclusiones realizar un amplio grupo de propuestas que pueden ser de gran efectividad para no caer en los errores del pasado. Se trata de un artículo que enuncia una hoja de ruta clara y que puede ser de gran interés tanto para responsables políticos e institucionales como de empresas que se ven afectadas por las sucesivas crisis.

Palabras clave: Crisis económica, crecimiento, empleo, sistema financiero, deuda pública, estrategia empresarial.

1. INTRODUCCIÓN

Estamos construyendo un mundo nuevo, una era en la que todo se debe reajustar. Se suceden las crisis de forma ininterrumpida y cada vez más profundas para lo bueno y lo malo. Por ello, creemos que debemos ir aprendiendo lecciones para poder afrontar las próximas de forma más efectiva.

Las crisis tienen dos vertientes, son una onda, sube y baja (Flores y Martínez, 2020). Por eso hay quien entiende las crisis como un periodo de depresión y otros de oportunidad (Reinhart, Reinhart y Trebesch, 2016), sobre todo esta última acepción es muy notable en el mundo oriental. Nosotros añadimos una tercera vertiente, es un periodo de aprendizaje, no debemos dejarnos las lecciones sin estudiar, cosa que desgraciadamente hacemos más habitualmente de lo deseable. Estas crisis forman parte de un ciclo mayor como es el paso de la era Nacional-Industrial a la Mundial-Informacional (Martínez, 2007). El mundo está desajustándose y hace falta un cambio muy profundo para que se estabilice. Son pequeños seísmos que nos alertan de uno mucho mayor.

Con las crisis podríamos aprender, así se hizo en la política monetaria, tras analizar algunos años después la crisis de 1929 (Eichengreen, 1995). En cambio, ahora se concatena una crisis tras otra, unas de origen financiero, otras más de corte productivo, económico, social, o incluso sanitario, todas, con una influencia global en todo el mundo y multisectorial, afectando a casi todo tipo de actividades.

Las últimas crisis concatenadas se vienen produciendo desde hace casi medio siglo, desde 1973, año de inflexión según muchos modelos (Reid, 1982), con la crisis del petróleo, y el inicio del decrecimiento del tamaño de las empresas. Luego vino la del 1982, la de 1992, la de 2000 y la de 2008, que se superpuso con una crisis más económica que financiera en 2012 y la actual de 2020.

2. CRISIS DEL 2008 VS COVID 19: VISIÓN GLOBAL

Se está escribiendo mucho en relación a las crisis en general (Rodric, 2009) y a estas dos crisis, 2008 VS, 2020-COVID 19, en particular (BBVA, 2020) y consideramos que merece la pena realizar algunas precisiones.

Crisis del 2008

La crisis del 2008 fue una crisis financiera y se caracterizó por lo siguiente:

- Colapso del mercado de capitales procedente de USA por la titulización masiva de RMBS (Residencial Mortgage Backed Secure) lo que popularmente se denominó la venta de paquetes de hipotecas subprime.
- Una sobreemisión de deuda soberana por parte de muchos países como mecanismo de financiación de sus finanzas públicas. Esta situación llevó a que los Gobiernos tuvieran que realizar ajustes presupuestarios importantes en sus cuentas públicas como mecanismo para salir de la crisis (Álvarez, Davia y Legazpe, 2013) buscando el crecimiento económico y la disciplina fiscal.
- Un deterioro de los balances de los bancos por el efecto de las dos cuestiones anteriores, que llevó a la falta de solvencia de los mismos al financiar la actividad crediticia de forma expansiva con apelación a los mercados de capitales. Al contrario de una práctica más acorde con lo que debe ser la actividad bancaria, esto es, el macheo del balance de Activos/Pasivos (fundamentalmente financiar la actividad crediticia de los clientes con depósitos a corto, medio y largo plazo de clientes y de forma residual apelación al mercado de capitales).

En resumen, significó una crisis bancaria a nivel global que llevó a la desaparición de importantes grupos bancarios, en unos casos por intervención de los gobiernos, en otros por liquidación de la Entidad y en muchos otros por procesos de concentración y de fusión con otros bancos.

La crisis del COVID 19

Por otra parte, la crisis del COVID 19 es de naturaleza económica y con rasgos sistémicos (Puebla, Temiño y Martínez, 2020). Algunos analistas lo han calificado como una guerra, desde nuestro punto de vista, nada más lejos de la realidad porque aquí no se han destruido infraestructuras, ni sistemas (Reinhart, Reinhart y Trebesch, 2020). Aunque en este punto nos gustaría significar que esta situación puede ocasionar tensiones geopolíticas importantes provocadas por algunos posicionamientos en relación a la responsabilidad de por donde se inició la pandemia, en particular las acusaciones de USA hacia China.

Sin duda, estamos asistiendo a “un cambio de Era o a una Era de cambio” por razones; socio-económicas, y donde la globalización económica probablemente está puesta en tela de juicio, al menos como la veníamos conociendo hasta ahora, a nivel mundial (Bordo y Schwartz, 1998). Probablemente el proteccionismo económico sea la herramienta más utilizada por los Gobiernos en un primer momento y los efectos que cambiarán nuestra manera de trabajar, de consumir, de ahorrar, de viajar y de vivir. Las nuevas tecnologías pasaran a ser el centro de las relaciones personales y profesionales suponiendo para muchas personas un cambio sustancial en la forma de vivir y de trabajar.

La situación de partida en esta crisis, era diferente a la anterior, si bien es cierto que esta última ha sido sobrevenida y es coincidente con la salida de la primera y vamos a indicar algunos aspectos relevantes de ello:

- Según datos del FMI y de la Comisión Europea los finales de 2019 se calificaron de estabilidad económica. Para el 2020 se proyectaron crecimientos de la economía mundial del 3,2% del PIB y del 3,3% para el 2021. Para Europa se estimaban para el 2020 un 0,9% y para el 2021 del 1,5% todo ello del PIB.
- Los hogares y las empresas tanto en USA como en Europa estaban menos apalancadas (Rodrik, 2009).
- Los bancos en USA y Europa estaban más capitalizados y por tanto están mejor preparados para soportar la situación planteada porque sus niveles de solvencia y liquidez son muy adecuados.

Ahora, y como consecuencia de la crisis del COVID 19, las perspectivas económicas serán muy diferentes por países y están muy condicionadas por tres elementos fundamentales:

- Las medidas de desconfinamiento.
- Las posibilidades de nuevos episodios de rebote del virus.
- De las políticas económicas y fiscales que cada país ponga en práctica de manera inmediata.

Las perspectivas económicas globales que se están manejando ahora para el 2020 y 2021 en términos de PIB podrían cambiar a peor en función de nuevos rebotes del virus, serían algo parecido a lo siguiente:

- USA, caídas entre un 4,5 y 7%.
- Europa, caídas entre un 5 y 8%.
- China, crecimiento entre un 1-2% (año 2019 creció un 6%).

La economía mundial caerá como mínimo en 2020 un 2,5% del PIB y se espera que mejore algo en el 2021.

Según todos los analistas se piensa que la salida de la crisis en términos de crecimiento del PIB, será más gradual que la caída brusca, por el efecto de la pandemia.

3. CRISIS DEL 2008 VS COV 19: VISIÓN NACIONAL

Debemos ahora centrarnos en hacer un apunte para la Economía Española por el COVID 19, pues las extremas medidas de confinamiento de la población, además del retraso por parte del Gobierno en muchas de sus actuaciones, sobre todo en adoptar las medidas preventivas necesarias para la salud de los ciudadanos, va a producir un colapso económico considerable de los sectores económicos de nuestra economía, a saber: turismo, hostelería, servicios, automóvil, ocio y la venta minorista, entre otros muchos.

La existencia de un tejido empresarial fundamentalmente representado por Pymes de un tamaño excesivamente pequeño supone un grave inconveniente para la ganancia rápida de competitividad. Además, partimos de una situación desfavorable en cuanto al volumen de Deuda Pública en vigor, una de las mayores de toda la UE (Pérez y Ramos, 2015), de una tasa de paro elevada y con una política económica, de los últimos tiempos expansiva en cuanto al gasto público.

La caída abrupta del PIB y una destrucción de empleo para el 2020 serán muy significativos, pudiendo ser en el primer caso incluso un desplome entre el 8 y 13% del PIB y que lleguemos alcanzar una tasa de paro del 23%.

El Gobierno español no ha sabido dotar del dinamismo necesario al tejido económico español. Incluso el programa de apoyo a las Pymes mediante avales del ICO está resultando ineficiente para paliar los efectos directos en las cuentas de resultados de las mismas (Instituto de Crédito Oficial, 2020). La combinación del retraso de las líneas de liquidez, la deficiente gestión de los ERTE, y la prohibición de despedir trabajadores, producirá la desaparición de numerosas empresas.

Todo lo anterior llevará casi sin remisión al Gobierno Español a solicitar y/o aceptar el “rescate” económico de la UE toda vez que las consecuencias de esta crisis para nuestra economía serán devastadoras, como se indica más adelante.

El Memorandum Of Understanding (MOU), como dispositivo del Mecanismo Europeo de Estabilidad (MEDE), es el camino adecuado, mediante la suscripción del mismo, por

el que la UE establezca las condiciones en las que se debe desarrollar el citado “rescate” que consistirá en numerosos condicionamientos entre ellas:

- Disciplina fiscal y presupuestaria. Mayor austeridad en el gasto público.
- Ajustes del gasto público. Reducción el tamaño de la Administración general y autonómica.
- Posible congelación de los sueldos de los funcionarios y la contratación pública.
- Posible reducción de las pensiones y, en general, del Estado del bienestar.
- Reducción de la burocracia por efecto de las nuevas tecnologías, aumentando por ello la eficiencia.
- Exigencias de gobernabilidad.

Todo ello, respetando desde la UE la soberanía y la Constitución Española. Hay que indicar que para la Economía Española, aunque serán tiempos muy difíciles, contamos con una ventaja competitiva, que es nuestra pertenencia a la Unión Europea (Tirole, 2014), y esto va a resultar determinante para todos nosotros (Puebla, Temiño y Martínez, 2020).

4. CONCLUSIONES

Por todo lo anterior, entendemos que tenemos lecciones por aprender y que debemos esforzarnos en entender las crisis y poder detectar los principales efectos para nuestra economía y cómo solventarlos:

Los efectos negativos para la Economía Española podrían ser:

- La Economía Española va a entrar en una recesión que será bastante prolongada, con caídas de la demanda agregada, consumo interno, inversión y los necesarios recortes en el gasto público. Además, y por el efecto de una menor actividad económica se producirán una reducción de la recaudación fiscal. Las empresas no liquidarán el impuesto de sociedades en los términos actuales, reducirán las cotizaciones a la Seguridad Social, no pagarán apenas dividendos y la destrucción de empleo provocará un incremento del subsidio de desempleo, significando todo ello un aumento del gasto público. Todo lo anterior nos llevara a un incremento de la presión fiscal fundamentalmente la directa y subirán el impuesto de sociedades, el IRPF, sucesiones y los impuestos indirectos, para pagar la deuda pública acumulada en la crisis y la que teníamos previamente.

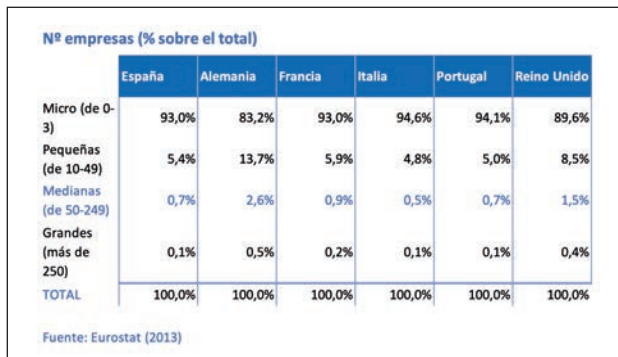


Figura 1. Número de Empresas por categorías. Fuente: Eurostat 2013. https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-datasets/-/naida_10_gdp [18], [19].

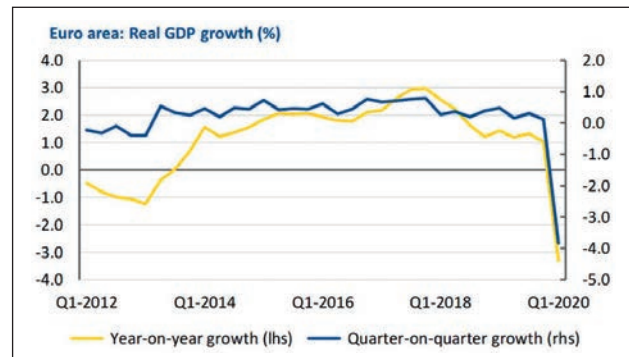


Figura 2. Área Euro. Crecimiento real GDP %. Fuente: Eurostat 2020.

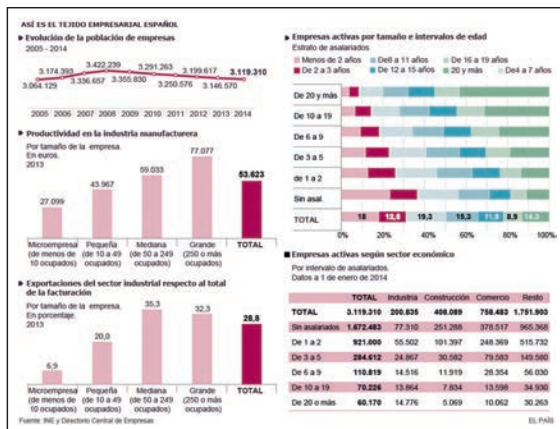


Figura 3. Tejido Empresarial Español. Fuente: INE [20] y Directorio Central de Empresas.



Figura 4. Afiliados a la Seguridad Social España, abril 2020. Fuente: Ministerio de Empleo y Seguridad Social.

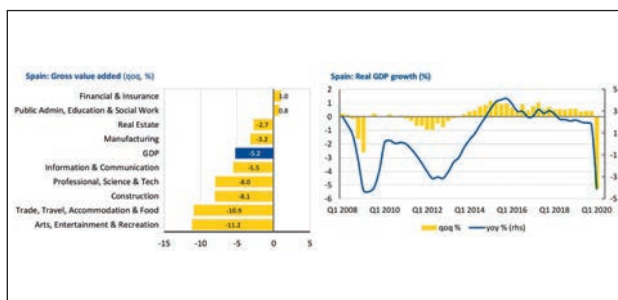


Figura 5. Crecimiento real GVA y GDP % España. Fuente: Eurostat 2020. https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-datasets/-/naida_10_gdp

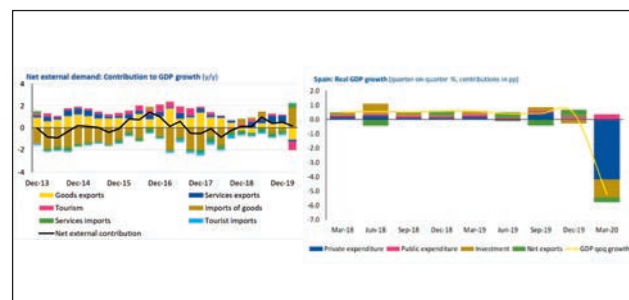


Figura 6. Demanda externa neta. Contribución al crecimiento del GDP España. Fuente: Eurostat 2020. https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-datasets/-/naida_10_gdp

- Las empresas grandes para poder competir y exportar, bajarán salarios a cambio de flexibilidad laboral, con más teletrabajo, mejora de la conciliación laboral e incremento de la contratación de las mujeres (Temíño, 2019). Además, las empresas convertirán costes fijos en variables, se renegociarán los alquileres y se amortizarán muchos empleados fijos por la irrupción de nuevas tecnologías y la contratación en el régimen de autónomos con cotizaciones muy bajas (contratos mercantiles frente a laborales).
 - El Mercado inmobiliario se verá muy afectado y caerán significativamente los precios por metro cuadrado de oficinas, especialmente en las grandes ciudades, así como los precios de alquileres de viviendas residenciales en los centros de las ciudades. Consecuencia directa o indirecta por la irrupción del teletrabajo (Infante, Infante, Gallardo, Martínez y García, 2018). En cierto modo, transforma los costes fijos (infraestructuras centrales de menor tamaño) en costes variables, dotando a los empleados de los medios óptimos para teletrabajar en diferentes lugares (Roca y Martínez, 2006).
 - Los costes de financiación de la deuda pública crecerán de forma considerable por efecto de los desequilibrios de nuestra economía que llevarán de manera directa a un incremento de la prima de riesgo.
 - La Deuda Pública puede alcanzar en diciembre 2020, el 140-150 % del PIB. Esto tendrá un efecto colateral negativo en el coste del servicio de la deuda para nuestra economía. Este previsible porcentaje de Deuda/PIB es consecuencia de los importantes vencimientos de este año de emisiones anteriores que hay que cubrir, el incremento del gasto público y de la abrupta reducción del PIB nominal.
 - La no existencia de un Plan Director del Gobierno para procurar, en unos años, la reindustrialización del País (aprovechando las infraestructuras viarias, aeroportuarias y de alta velocidad para generar polos de desarrollo orientadas a un mayor y mejor negocio logístico).
 - La destrucción de empleo y la rigidez de nuestra economía podrá producir un efecto emigratorio importante de jóvenes talentos hacia otras economías.
 - La banca española destinará las líneas ICO con aval del Estado, a empresas en sectores con proyección.
 - Se producirá una transformación en la venta minorista por el desarrollo del e-commerce en España y alcanzará niveles de aprox. un 40% entre 2021 y 2023. Los sectores, de salud, farmacia, tecnologías, manufactura, consumo de ocio, plataformas y venta online serán algunos de los grandes beneficiarios de este cambio en la conducta de los minoristas. (Un dato significativo es que, según el Observatorio de Ecommerce, en 2019 el 79% de la población en EEUU se sentía cómoda comprando online, en Gran Bretaña era el 80%, en Suecia el 84%, mientras que en España era tan solo el 12%) (Observatorio Ecommerce, 2020).
 - El Turismo, y en general el sector hotelero sufrirá una reconversión, precedida de una renegociación de contratos y de pérdida de potenciales clientes. En 2019 recibimos 84 millones de visitantes que gastaron unos 93.000 millones de euros. Un sector que representa de manera directa un 13% del PIB e indirecta está cerca del 22% y emplea a más de dos millones de personas.
 - Incremento de la inmigración no controlada por la existencia de organizaciones específicas, agravadas por las posibles situaciones en la evolución tardía del COVID 19 en otros países.
 - Un incremento significativo de la economía informal (economía sumergida).
- Los efectos positivos para la Economía Española podrían ser:
- Los ciudadanos seremos más ahorradores, planificadores, austeros y tendremos más respecto a otro shock inesperado en el futuro.
 - El teletrabajo ha llegado para quedarse (Infante, Infante, Gallardo, Martínez y García, 2018). España entró en la crisis con un retraso estructural en el uso de las tecnologías. Hemos perdido el miedo y aprendido a usar herramientas digitales. Esto puede producir en España un salto en productividad y en calidad de vida. La destrucción de empleo comentada anteriormente, aumentará el emprendimiento (Temíño, Puebla y Sola, 2014) entre los más seniors ante la dificultad de encontrar trabajo y habiendo conocido la flexibilidad del teletrabajo (McKinsey, 2020a). Nacerán nuevos autónomos y crearán nuevas microempresas produciendo la regeneración de nuestro tejido empresarial.
 - La formación universitaria y de profesionales, ya no abandonará la forma online: e-learning, blended-learning (Puebla, I., y Temíño, I., 2018) donde la gamificación y las herramientas de simulación empresarial sistémicas (Business Simulation Center, 2020) tendrán un papel muy relevante (Puebla, 2017).
 - La ciberseguridad, las tecnologías como Blockchain, Inteligencia Artificial, Big data, Cloud, etc., servirán

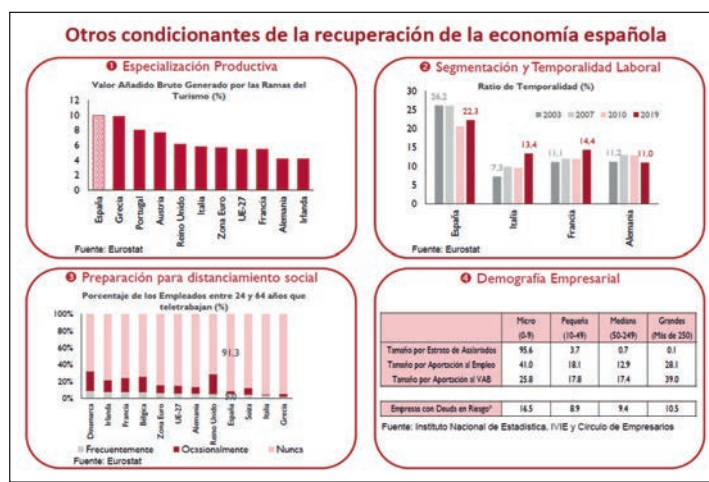


Figura 7. Condicionantes de la recuperación económica española. Fuente: Eurostat 2019.

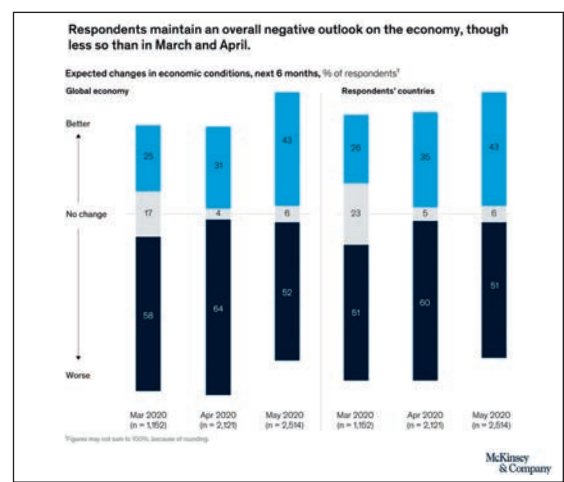


Figura 8. Situación económica mundial. Fuente: McKinsey & Company, 2020d.

de palanca para una mayor seguridad (Temiño, 2019) y transformación de las organizaciones (Romero, García, Puebla y Temiño, 2019).

- España podría jugar un papel importante en la reindustrialización de Europa por disponer de mano de obra especializada (industria de la automoción), muy buen nivel en ingeniería y costes laborales y de producción competitivos (Vázquez, 2014).
- Se realizarán inversiones, no de mucha intensidad en capital, pero sí de despliegue logístico para dotar de más y mejores sistemas de conexión a internet tanto en las ciudades como en el entorno rural de todo el territorio Nacional. Las necesidades de teletrabajar y la proliferación en el uso de medios y sistemas tecnológicos tanto para hogares como empresas.
- En restauración se producirá un desarrollo interesante por medio del sector de franquicias, generando empleo interesante.
- El turismo nacional y de interior (turismo rural) se reforzará.
 - Existe una posibilidad de que los europeos elijan España frente a alternativas más lejanas, reforzándose las oportunidades dentro de Europa y ahí nuestra oferta de costas jugará un papel determinante.
- Con independencia de los términos de salida del Brexit, UK buscará una mayor y mejor colaboración con España. El Reino Unido es nuestro quinto socio comercial y representa el 9,8% de nuestras exportaciones (McKinsey,

2020c) con una balanza comercial de 6.600 millones de euros a nuestro favor.

- Aumentarán en el futuro los espacios de coworking y al Economía en Red.
- Se producirá un cambio en el modo de vida de los ciudadanos y buscarán viviendas fuera de la ciudad, preferentemente con jardín.
- Posiblemente existirá un cambio en el comportamiento de las personas. Las familias llevarán a casa a muchos de sus ancianos y las residencias de ancianos sufrirán un gran cambio en su planteamiento social. Los abuelos recobrarán valor social y se tenderá a revalorizar su figura dentro de las familias (la conciliación laboral y personal, así como la menor tasa de natalidad ayudará a todo ello) (McKinsey, 2020b).

En el gráfico de la figura 7, se expresan algunos condicionamientos que pueden limitar la recuperación de la economía española, a saber:

Sin perder de vista la evolución económica global mundial durante estos tres meses, ver figura 8.

Una circunstancia parece clara, y es que nada va a ser igual que antes de esta situación de confinamiento, bien por la pérdida de alguna persona querida, por alguna que ha estado enferma o simplemente por la incertidumbre de cada día. Además, a estas alturas no sabemos cuándo va a terminar e incluso que una vez superada no estamos exentos de que se pueda reproducir en un tiempo no muy lejano.

Este confinamiento nos ha hecho pensar mucho desde diferentes ángulos y quizás hemos aprovechado para ir más a la esencia de cada uno. El sentido de la responsabilidad personal, respeto por la vida humana, dignidad de la persona, sentido de la muerte, protección de la propia salud y la de los demás, familia, solidaridad, dedicación, ayuda mutua, cuidado, compasión, quizás han sido valores a los que hemos recurrido.

En algunos casos, la dimensión espiritual, la generosidad y la empatía han sido asuntos que se han puesto de manifiesto de una forma más acusada. La convivencia más intensa con la familia, las videoconferencias con familiares y amigos, ha sido algo muy presente en la vida de los ciudadanos.

Para finalizar queremos decir que somos un gran País, que hemos sabido superar momentos históricos complicados, contamos con talento joven y seniors, creatividad, grandes empresas, empresarios y con rasgos característicos que nos hace ser un País en donde la calidad de vida es algo diferencial y finalmente pertenecemos a un Gran Proyecto (todavía inacabado que es la UE y Eurozona) que sin duda sabrá complementarnos para salir de esta situación todavía más reforzados. Tenemos que aprender las lecciones, ese es nuestro reto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez, C.; Davia, M. A., y Legazpe, N. Impacto laboral de la crisis económica, privación de empleo y precariedad. *Papeles de Economía Española*, Nº 135, págs. 83-98. 2013.
2. BBVA. De la gran recesión a la gran pandemia, diferencias entre la crisis de 2008 y la de 2020. [Consulta 25-05-2020].
3. Bordo, M. D., y Schwartz, A. J. Under what circumstances, past and present, have international rescues of countries in financial distress been successful? NBER Working Paper 6824. 1998.
4. Business Simulation Center (CSE) Universidad Francisco de Vitoria. www.ufvbusinessu.es/cse [Consulta 25-05-2020].
5. Eichengreen, B. *Golden Fetters: The Gold Standard and the Great Depression 1919-1939*. Oxford University Press. 1995.
6. Eurostat. <https://ec.europa.eu/eurostat> [Consulta 11-05-2020].
7. Eurostat. https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-datasets/-/naida_10_gdp [Consulta 25-05-2020].
8. Flores, J. y Martínez, F. J. Ciclos históricos y prospectiva: nuestro futuro según nuestro pasado. *Revista de Pensamiento Estratégico y Seguridad CISDE*, 5 (1). 2020.
9. Infante, A.; Infante, J. C.; Gallardo, J.; Martínez, F. J., y García, M. Evolución del teletrabajo en el sector empresarial español: causas de su lenta implantación. *International Journal of Information Systems and Software Engineering for Big Companies (IJISEBC)*. Vol. 5, Nº 1, Págs. 87-93. 2018.
10. Infante, A.; Infante, J. C.; Gallardo, J.; Martínez, F. J., y García, M. La demanda de competencias digitales en el mercado laboral español. *Certiuni Journal*, (4), 51-56. 2018.
11. Instituto de Crédito Oficial (ICO). <https://www.ico.es/web/ico/sobre-ico> [Consulta 23-05-2020].
12. Instituto Nacional de Estadística (INE). <https://www.ine.es/> [Consulta 27-04-2020].
13. Martínez López, F. J. ¿Hacia la Segunda revolución francesa? Cuadernos para el diálogo. Nº 16, Págs. 60-65. 2007.
14. McKinsey & Company. "Coronavirus and the changing face of retail and consumer goods". McKinsey & Company Publishing. Mayo 2020 a.
15. McKinsey & Company. "Higher education in the age of COVID-19". McKinsey & Company Publishing. Mayo 2020 b.
16. McKinsey & Company. "Revenue growth management in the COVID-19 crisis". McKinsey & Company publishing. Mayo 2020 c.
17. McKinsey, The-coronavirus-effect-on-global-economic-sentiment. McKinsey & Company Publishing. <https://www.mckinsey.com/business-functions/strategy-and-corporate-finance> [Consulta 4-05-2020d].
18. Observatorio E Commerce. <https://observatorioecommerce.com/> [Consulta 20-05-2020].
19. Pérez Ramírez, R., y Ramos Escamilla, M. La retracción del Estado ante las nuevas tendencias del mercado global. *Investigación: cultura, ciencia y tecnología*, Nº. 13, 2015, págs. 52-57.
20. Puebla, I. "Gamification as a Systemic Tool". In UPV and SESGE. 2017.
21. Puebla, I.; Temiño, I. "La importancia de los Centros de Simulación Empresarial en la formación universitaria". *International Journal of Information Systems and Software Engineering for Big Companies (IJISEBC)*. 5(2), 115-122, 2018.
22. Puebla, I.; Temiño, I.; Martínez, F. "Toda crisis es una oportunidad. Pongámonos en marcha después del COVID19" *España Buenas Noticias*, 2020.
23. Reid, M. *The Secondary Banking Crisis, 1973-75: Its Causes and Course*. Springer, 1982.
24. Reinhart, C. M.; Reinhart, V., y Trebesch, C. *Capital Flow Cycles: A Long*, Global View. Mimeo. 2020.
25. Reinhart, C. M.; Reinhart, V., y Trebesch, C. *Global Cycles: Capital Flows, Commodities, and Sovereign Defaults, 1815-2015*. *American Economic Review*, 106(5): 574-80. 2016.
26. Roca, J. C., y Martínez, F. J. *Telework In The ICT Sector: Multivariate Analysis Of Its Determinant Factors In Spain*. *International Journal of Networking and Virtual Organisations*. Vol 3, Nº 1. Pág. 86-101. 2006.
27. Rodrik, D. "Growth after the crisis". Harvard Press. 2009.
28. Romero, J.; García-Crespo, A.; Puebla, I. y Temiño, I. "Estudio de Internacionalización para América Latina de un Software basado en la Nube". *Revista Internacional de Sistemas (RIS)*, 23, 48-59 10.7203/RIS.23.1.45919. 2019.
29. Temiño, I. Grupo Santander, Mercadona, Grupo Inditex, Apple, Amazon, Grupo Repsol, Starbucks, Cirque du Soleil, Dirección y Organización Comercial y Ventas, *Lecturas Empresariales Editorial ESIC 2012-2019*. 2019.
30. Temiño, I.; Puebla, I., y Sola, F. *El Plan de Empresa. La creación de empresas y el emprendimiento*. Editorial Universidad Francisco Vitoria. 2014.
31. Tirole, J. *Country Solidarity in Sovereign Crises*, *American Economic Review*, 105(8): 2333-63. 2014.
32. Vázquez López, J. L. Desde la investigación, innovación y desarrollo tecnológico: el Instituto de Cultura, Ciencia y Tecnología (ICCT). *Investigación: cultura, ciencia y tecnología*, Nº. 11, Págs. 6-7. 2014.

APLICACIÓN DE LA ECOGRAFÍA DE ALTA RESOLUCIÓN EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA MERALGIA PARESTÉSICA. ESTUDIO DE 99 PACIENTES

USE OF HIGH-RESOLUTION ECOGRAPHY IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF PARESTESIC MERALGIA. STUDY OF 99 PATIENTS

Norberto Gómez Rodríguez (1), José Ángel Rodríguez Lorenzo (2)

(1) Norberto Gómez Rodríguez (MD). Servicio de Reumatología del Hospital POVISA, Vigo. Rheumatology Service, POVISA Hospital, Vigo.

(2) José Ángel Rodríguez Lorenzo (MD). Servicio de Radiología Hospital HM, Vigo. Radiology Service, HM Hospital, Vigo.

RESUMEN

Introducción y objetivo

La neuritis del nervio cutáneo femoral lateral (NCFL) o meralgia parestésica es una entidad plurietiológica, más frecuente en diabéticos y obesos, que se caracteriza por dolor disestésico en la cara anterolateral del muslo. Se sospecha por la clínica, pero la confirmación diagnóstica se realiza mediante procedimientos neurofisiológicos y técnicas de imagen tales como resonancia magnética y ecografía. El objetivo del presente estudio ha sido valorar la utilidad de la ecografía de alta resolución para el diagnóstico y tratamiento de la meralgia parestésica.

Material y métodos

Estudio observacional descriptivo efectuado entre el 1 de junio de 2018 y el 31 de diciembre de 2019 durante el que se realizó una ecografía de alta resolución a todos los pacientes que acudieron a una consulta de reumatología con semiología clínica sugestiva de compromiso del NCFL. (Ecógrafo Toshiba Aplio 500 y sonda de 18 MHz).

Resultados

Se recogieron 104 pacientes de quienes 99 (92 mujeres y 7 varones) presentaron signos ecográficos de neuropatía del NCFL. Sus edades estuvieron comprendidas entre los 21 y los 88 años ($67 \pm 15,9$ años). La diabetes (32%) y la

obesidad (20%) fueron los principales factores de riesgo. El promedio de duración de la sintomatología fue de $14,6 \pm 20,6$ meses; rango: 1-108 meses). El síntoma más frecuente fue la cruralgia (82%) asociada a trastornos de la sensibilidad en el territorio del NCFL (63%). La meralgia parestésica fue derecha en el 33%, izquierda en el 26% y bilateral en el 40% de los enfermos. Se identificaron causas anatómicas directas de compromiso del NCFL en 12 pacientes. Tras el diagnóstico, se efectuó una infiltración perineural ecoguiada con 1 ml de mepivacaína al 2% y 20 mg triamcinolona acetónido. Se realizó un control a los seis meses, momento en que permanecían asintomáticos 57 pacientes y referían alivio parcial 35, mientras que el dolor disestésico se había reactivado con la misma intensidad en siete.

Conclusión

La ecografía de alta resolución es una técnica de fácil aplicación en la práctica clínica, posee elevada eficacia y seguridad tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de la meralgia parestésica, permitiendo identificar causas de compromiso mecánico en el trayecto subinguinal e intrapélvico del NCFL.

Palabras clave: Meralgia parestésica. Síndrome de Bernhard-Roth. Ecografía. Nervio cutáneo femoral lateral. Infiltración perineural.

ABSTRACT

Background

Neuritis of the lateral femoral cutaneous nerve (LFCN) also called meralgia paresthetica has several potential causes. It is more frequent in diabetics and obese people, characterized by dysesthetic pain in the anterolateral aspect of the thigh. It is suspected by the clinic, but the diagnostic confirmation is made by neurophysiological procedures and imaging techniques such as MRI and ultrasound examination. The objective of the present study has been to assess the usefulness of high-resolution sonography for the diagnosis and treatment of meralgia paresthetica.

Material and methods

A descriptive observational study was performed between June 1, 2018 and December 31, 2019. During this period, all patients who presented with symptoms suggestive of meralgia paresthetica underwent a sonographic examination of the groin path (high-frequency linear array transducer with frequency range of 18 MHz, Toshiba Aplio 500).

Results

A total of 104 patients were collected, of whom 99 (92 women and 7 men) presented ultrasound signs of LFCN neuropathy. Their ages ranged from 21 to 88 years (67 ± 15.9 years). Diabetes (32%) and obesity (20%) were the main risk factors. The average duration of the symptoms was 14.6 ± 20.6 months; range: 1-108 months). The most frequent symptom was cruralgia (82%) associated with sensitivity disorders in the NCFL territory (63%). Meralgia paresthetica was right in 33%, left in 26%, and bilateral in 40% of patients. Ultrasound images uncovers a underlying cause of LFCN in 12 patients. After diagnosis, ultrasound-guided perineural injection was performed with mepivacaine (1 cc) and triamcinolone acetonide (20 mg). Six months after the procedure, the patients were reviewed at the consultation: 57 patients remained asymptomatic, 35 reported partial relief of symptoms and 7 reported no improvement of dysesthetic pain.

Conclusions

High resolution ultrasonography was easily applied in clinical practice. It has high efficacy and safety both in the diagnosis and in the treatment of meralgia paresthetica, allowing the identification of causes of mechanical compromise in the subinguinal and intrapelvic path of the LFCN.

Keywords: Meralgia paresthetica. Bernhard-Roth syndrome. Ultrasound examination. Lateral femoral cutaneous nerve. Perineural injection.

INTRODUCCIÓN

El nervio cutáneo femoral lateral (NCFL) o femorocutáneo tiene su origen en el plexo lumbar, característicamente a partir del segundo y tercer nervios lumbares. Emerge por el borde lateral del psoas mayor a la altura de la cresta iliaca, se dirige caudalmente por el interior de la pared pélvica y sobre el músculo iliaco hacia la región inguinal, atraviesa bajo el ligamento inguinal entre uno y dos centímetros por dentro de la espina iliaca anterosuperior y después se divide en varios ramos que recogen la sensibilidad de la cara anterolateral del muslo y aportan fibras del sistema nervioso simpático (Fig. 1). En algo más del 25% de las disecciones anatómicas se han hallado variantes de la trayectoria proximal y yuxtanguinal del NCFL¹⁻³, algunas de las cuales lo hacen más susceptible de compromiso mecánico (neuropatía por atrapamiento).

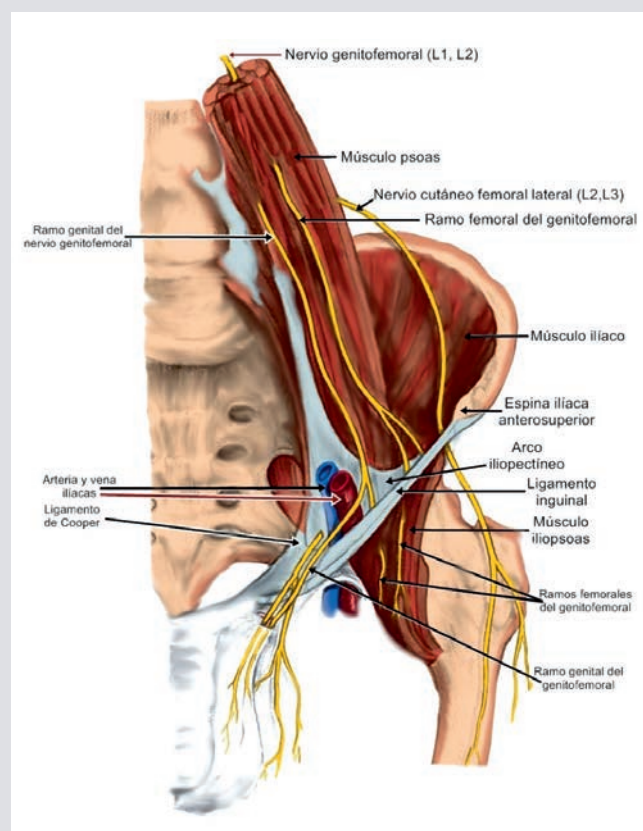


Figura 1. Dibujo del trayecto del nervio femorocutáneo (cutáneo femoral lateral) desde su emergencia detrás del músculo psoas, a lo largo de su trayecto intrapélvico, su paso junto a la espina iliaca anterosuperior, por lo general bajo el ligamento inguinal, hasta su división en las ramas anterior y posterior, que proporcionan innervación sensitiva a la cara anterior y lateral del muslo.



Figura 2. Distribución habitual del dolor y de las disestesias en la meralgia parestésica (área de tono rojizo).

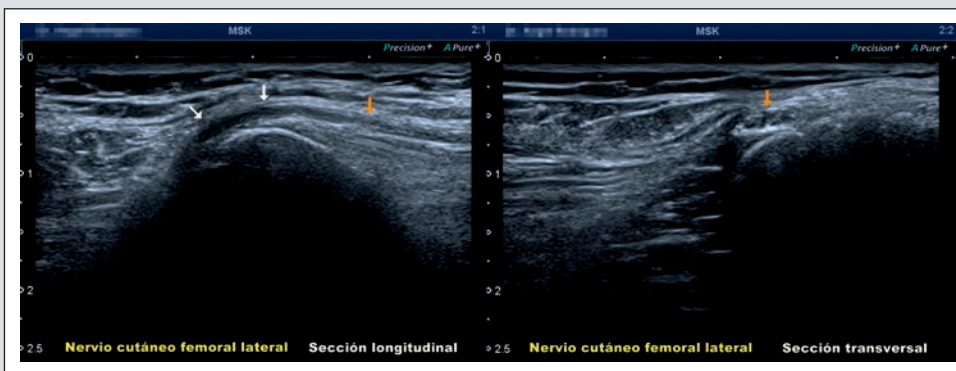


Figura 3. Imágenes ecográficas longitudinal (izquierda) y transversal (derecha) del nervio cutáneo femoral lateral (femorocutáneo) en las que puede observarse el engrosamiento hipoeoico del mismo en el área de compresión (flecha amarilla).

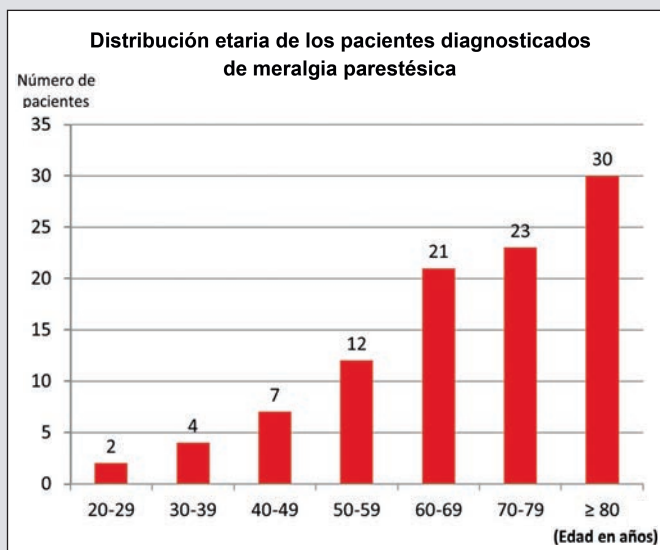


Figura 4. Distribución de los pacientes por segmentos de edad (años).

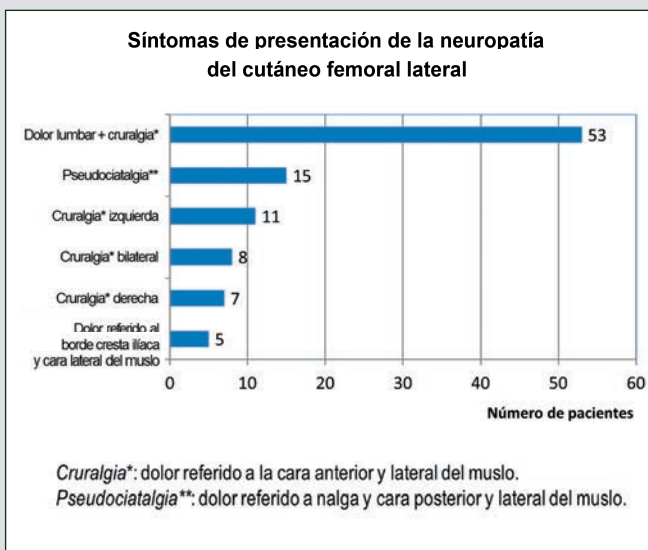


Figura 5. Síntomas de presentación en los pacientes diagnosticados de meralgia parestésica.

La sintomatología asociada a la neuropatía por atrapamiento del NCFL (dolor disestésico referido a cara anterior y lateral del muslo con intensidad variable según la postura y actividad física), fue descrita durante el último cuarto del siglo XIX por Hager W, el neuropatólogo alemán Martin Bernhardt⁴ y el neurólogo ruso Karlovich Roth, quien acuñó el término meralgia parestésica a partir del griego méros -muslo- y álgos -dolor- (Fig. 2). En 1895, Sigmund Freud comunicó que él mismo y uno de sus hijos sufrían este proceso⁵.

Puede presentarse a cualquier edad, pero es excepcional en la

infancia y la mayor parte de los diagnósticos se realizan entre los 30 y los 65 años, con discretas preponderancias en uno u otro sexo según las series⁶⁻¹⁰. La tasa de incidencia anual en la población general se ha estimado entre 32 y 43 casos por cada 100.000 habitantes, pero se incrementa gradualmente con la edad, la obesidad y, sobre todo, en los diabéticos^{8,9}, donde alcanza los 247 casos/10⁵ habitantes. Puede ser bilateral, por lo general en un 10-20% de los enfermos. Además de obesidad y diabetes, la meralgia parestésica se ha asociado, entre otros, con hipotiroidismo, uso de cinturones o prendas de ropa muy ajustados a la cintura, posiciones de decúbito prono para

intervenciones de columna vertebral u otros mecanismos traumáticos, sedestación prolongada, gestación, cirugía abdominopélvica, hernias inguinales y tumores intrapélvicos^{6-8,11}.

El diagnóstico se sospecha por la semiología clínica⁶⁻¹¹, y se confirma a partir de los hallazgos de exploraciones neurofisiológicas como electroneurografía o potenciales evocados, mediante la desaparición transitoria de los síntomas con el bloqueo anestésico yuxtainguinal del NCFL¹¹⁻¹⁵ o con técnicas de diagnóstico por la imagen entre las que destaca la ecografía de alta resolución¹⁶⁻¹⁹.

El tratamiento depende de la intensidad y cronicidad de las manifestaciones clínicas. En la mayoría de los pacientes es suficiente la administración de antineuríticos o la infiltración perineural del NCFL, siendo muy pocos los que requieren neurectomía, cirugía descompresiva o neurectomía^{2,12,20,21}.

El objetivo del presente estudio ha sido valorar la utilidad de la ecografía de alta resolución para confirmar la afectación del NCFL y la eficacia de su tratamiento mediante infiltración perineural ecoguiada con acetónido de triamcinolona y clorhidrato de mepivacaína.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional descriptivo durante el periodo comprendido entre el 1 de junio de 2018 y el 31 de diciembre de 2019, recogiendo los datos demográficos y aplicando una historia clínica protocolizada a todos los pacientes que acudieron a la consulta de reumatología con sintomatología sugestiva de compromiso del NCFL. En quienes la exploración física fue compatible (signo de Tinel y prueba de la compresión pélvica¹⁴), se solicitaron radiografías de la columna lumbar en dos proyecciones (frontal y lateral) y estudio ecográfico de alta resolución del trayecto yuxtainguinal del NCFL y de la estructuras anatómicas de la región inguinocrural y cadera, incluyendo área trocantérea. En quienes coexistía semiología clínica sugestiva de compromiso radicular lumbosacro, de las articulaciones coxofemorales, huesos pélvicos o reumatismos de partes blandas se realizaron pruebas complementarias adicionales como resonancia lumbar, tomografía computarizada y electroneurografía/electromiografía. Se consideró obesidad si el índice de masa corporal fue superior a 30.

El estudio ecográfico de alta resolución se realizó con un equipo Toshiba Aplio 500 mediante una sonda lineal de 18 MHz y, en pacientes obesos, con sonda de 10 a 14

MHz. Los pacientes se posicionaron en decúbito supino, exceptuando a quienes presentaban obesidades graves o mórbidas, que se colocaron en el decúbito contralateral al NCFL que se iba a explorar. Se analizó el trayecto del NCFL con sus variantes, calibre, ecogenicidad intra y perineural en cortes transversales y longitudinales así como el desencadenamiento de dolor a la presión selectiva. El hallazgo de engrosamiento hipoeecogénico^{17,18,20} se consideró confirmativo de meralgia parestésica (Fig. 3) procediéndose, una vez aplicado el protocolo de antisepsia local, a una infiltración ecoguiada perineural con 20 mg de triamcinolona acetónido y 1 ml de clorhidrato de mepivacaína al 2%. Los pacientes fueron citados a revisión a los seis meses del procedimiento.

El análisis estadístico de la asociación entre variables cualitativas se realizó con la prueba de la X^2 o, cuando era necesario, la prueba exacta de Fisher. Para las variables cuantitativas continuas se utilizó la *t de Student*. Se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

En el periodo de estudio fueron atendidos en la consulta de reumatología 898 pacientes. De ellos, 104 pacientes presentaron semiología clínica sugestiva de meralgia parestésica pero en cinco no se objetivaron signos ecográficos de neuropatía del NCFL, identificándose hernias crurales o inguinales (3) y entesitis del sartorio (1) y entesitis del recto anterior femoral (1). En 99 (92 mujeres y 7 varones; 11% de los pacientes consultados), hubo hallazgos ecográficos de neuropatía del NCFL y su edad osciló entre los 21 y los 88 años ($67 \pm 15,9$ años) (Fig. 4). Entre los potenciales factores de riesgo generales destacaron diabetes (32%) y obesidad (20%). Los factores de riesgo recogidos en los pacientes de la serie se resumen en la tabla 1.

Su síntoma más frecuente fue la cruralgia (84%) asociada a trastornos de la sensibilidad en el territorio del NCFL (63%) y a dolor referido a la región lumbar (53%). El dolor tuvo una distribución pseudociatálgica (cara posterolateral del muslo) en el 15%. La duración de la sintomatología fue superior a un año en 29 enfermos, con un promedio de $14,6 \pm 20,6$ meses (rango: 1-108 meses). Las frecuencias de las principales manifestaciones clínicas se representan en la figura 5. La meralgia parestésica fue bilateral en el 40% de los enfermos, derecha en el 33% e izquierda en el 26%. Ninguno de los varones tuvo afectación bilateral, aunque este hallazgo no alcanzó significación estadística ($p > 0,05$). En 46 pacientes

ETIOLOGÍA DE LA MERALGIA PARESTÉSICA	
Factores predisponentes y causas ^{2,6-9}	(%) Pacientes*
Factores predisponentes	
Obesidad	20
Diabetes mellitus	32
Hipotiroidismo	11
Alcoholismo	2
Intoxicación por plomo	0
Polineuropatías metabólicas	1
Dismetría de las extremidades inferiores	44
Escoliosis y acortamiento del músculo psoas	9
Causas intrapélvicas	
Gestación	0
Tumores	1
Cirugía abdominopélvica	47
Traumatismos	2
Causas yuxtainguinales	
Hernias Inguinales	5
Prótesis de cadera y cirugía inguinocrural	23
Entesopatías del sartorio, recto anterior y ligamento inguinal	8
Periostosis en la cresta ilíaca	3
Adenopatías	0
Cinturones o pantalones ceñidos	-
(*) Porcentaje de pacientes (n= 99). 28 pacientes presentaron dos o más factores de riesgo.	

Tabla 1. En la tabla se recogen las principales factores y causas de compromiso del nervio femorocutáneo o cutáneo femoral lateral y los porcentajes en los que estos se hallaban presentes en los pacientes de nuestra serie (n= 99). 28 enfermos presentaron dos o más factores de riesgo.

se requirieron técnicas complementarias como resonancia lumbar (43), tomografía computarizada (9) y electroneurografía/electromiografía (19). Los principales diagnósticos adicionales derivados de dichos estudios se reflejan en la tabla 2.

La ecografía identificó causas anatómicas directas de compromiso del NCFI en 12 pacientes (8 entesopatías calcificantes y 5 hernias inguinales). Tras el diagnóstico, se efectuó una infiltración perineural ecoguiada con 1 ml de mepivacaína al 2% y 20 mg triamcinolona acetónido. Después de seis meses, estaban asintomáticos 57 pacientes, referían alivio parcial 35, mientras que 7 permanecían con dolor disestésico de la misma intensidad. No hubo correlación estadística entre el tiempo de evolución de la meralgia parestésica y la respuesta a la infiltración local, pero las 8 enfermas con persistencia del dolor presentaban coxartrosis (3) o habían sido sometidas a artroplastia de cadera (5).

DISCUSIÓN

El atrapamiento del NCFI suele producirse a su paso junto a la espina ilíaca anterosuperior, aunque también es posible en varios puntos de su recorrido, tanto en su trayecto intrapélvico como en las fascias proximales del muslo^{6,9,12}. Una de las variantes de la trayectoria del nervio que, en lugar de por debajo, discurre a través del ligamento inguinal, incrementa el riesgo de compresión. Los trastornos en la marcha por procesos como artrosis avanzada de las rodillas o la dismetría significativa de las extremidades inferiores²² contribuyen a angular el trayecto yuxtainguinal del NCFI y comprimirlo^{6,11,23}. Los factores predisponentes descritos en la literatura y presentados en nuestros enfermos se han reflejado en la tabla 1.

En nuestra serie destaca la preponderancia femenina (92%), superior incluso a la constatada con anterioridad en nuestra área sanitaria²⁴ donde, en el último quinquenio

COMORBILIDAD EN EL APARATO LOCOMOTOR DIAGNOSTICADA EN LOS 99 PACIENTES CON MERALGIA PARESTÉSICA	
	(%) Pacientes*
Segmentos dorsal y lumbar del raquis	
Espondiloartrosis	30
Escoliosis	12
Espondilolistesis (L3-L4 / L4-L5 / L5-S1)	12
Radiculopatías L4, L5 y / o S1	9
Fracturas vertebrales lumbares	8
Hernias discales lumbares	7
Hiperostosis esquelética idiopática difusa	2
Enfermedad ósea de Paget	1
Siringomielia dorsal	1
Meningioma dorsal	1
Región inguinal, cadera y trocánter	
Artrosis de rodillas	9
Artrosis de cadera	7
Prótesis de cadera	5
Condrocalcinosis articular	7
Entesopatías degenerativas / calcificantes*	7
Otros procesos diagnosticados	
Fibromialgia	7
Enfermedad inflamatoria sistémica : artritis reumatoide / polimialgia reumática	3

Tabla 2. Diagnósticos adicionales de procesos del aparato locomotor realizados en los pacientes con meralgia parestésica. Las entesopatías degenerativas se localizaron en junto a la espina iliaca anterosuperior (entesopatía del sartorio y recto anterior femoral) y en la región trocantérea, correspondiendo en ésta a los tendones glúteos. En 18 pacientes se objetivaron dos o más procesos.

del siglo XX, alcanzaba el 77%. El envejecimiento de la población explica que la mitad de los pacientes sobrepasase los 70 años, situación coherente con la elevada prevalencia de obesidad (20%), diabetes mellitus (32%), así como la frecuente superposición de síntomas de la meralgia parestésica con manifestaciones clínicas de otros problemas del aparato locomotor, en su mayor parte degenerativos. Sin duda, tanto la elevada comorbilidad como el solapamiento semiológico contribuyeron al prolongado periodo entre el comienzo de los síntomas y el diagnóstico de meralgia parestésica, que superó el año en 29 pacientes. La escasa representación masculina explica que no se haya constatado la pérdida de vello en el muslo como manifestación de la meralgia parestésica. Dichas circunstancias, ya reseñadas en la literatura^{9,25,26}, dificultaron el correcto diagnóstico y complicaron el

diagnóstico diferencial¹¹, sobre todo cuando la meralgia parestésica fue bilateral, lo que ocurrió en el 40%.

El diagnóstico de la meralgia parestésica se sospecha a partir de la clínica, pero la verificación requiere técnicas neurofisiológicas (electroneurografía, electromiografía o potenciales evocados)^{12-15,27}, técnicas de imagen como la resonancia magnética²⁸ o desaparición total del dolor disestésico con el bloqueo del NCFI mediante un anestésico como lidocaína o mepivacaína. Sin embargo, la variabilidad del trayecto del nervio hace que los resultados de dichas técnicas no sean totalmente seguros. Un reciente estudio ha demostrado la superioridad de la ecografía de alta resolución frente a la resonancia magnética²⁹. Además, es una técnica de más fácil aplicación en la práctica clínica, permite detectar signos de edema neural

y perineural característicos de la neuropatía del NCFL en su trayecto yuxtainguinal^{16-19,30} al tiempo que puede identificar causas anatómicas de compresión local, como ocurrió en 12 de nuestros pacientes.

Aparte de reducir los factores predisponentes como diabetes y obesidad, el tratamiento inicial, sobre todo en pacientes con síntomas de corta evolución (menos de seis meses), se basa en antineuríticos, analgésicos y antiinflamatorios. Sin embargo, una vez identificados los signos de neuritis del NCFL en la región inguinal, la infiltración perineural

ecoguiada es eficaz y duradera^{18,19,31} como corroboramos en nuestra serie. Así, transcurridos seis meses de dicho procedimiento, el 57% de los pacientes permanecían asintomáticos y el 34% referían mejoría parcial. Rara vez se requieren neurectomía, cirugía descompresiva o neurectomía^{6,12,32}. En quienes la neuropatía del NCFL tiene un curso muy crónico y refractario al tratamiento conservador, se ha preconizado el tratamiento quirúrgico con neurectomía. Esta recomendación se ha basado en recientes estudios anatomopatológicos, que objetivaron lesiones intraneurales irreversibles³³.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carai, A.; Fenu, G.; Sechi, E.; Crotti, F. M.; Montella, A. Anatomical variability of the lateral femoral cutaneous nerve: findings from a surgical series. *Clin. Anat.* 2009; 22: 365-70.
2. De Ridder, V. A.; De Lange, S.; Popta, J. V. Anatomical variations of the lateral femoral cutaneous nerve and the consequences for surgery. *J Orthop Trauma.* 1999; 13: 207-11.
3. Lee, S. H.; Shin, K. J.; Gil, Y. C.; Ha, T. J.; Koh, K. S.; Song, W. C. Anatomy of the lateral femoral cutaneous nerve relevant to clinical findings in meralgia paresthetica. *Muscle & Nerve.* 2017; 55: 646-650.
4. Bernhardt, M. Ueber isoliert im Gebiete des Nervus cutaneus femoris externus vorkommende Parästhesien. *Neurol Zbl.* 1895; 14: 242-244.
5. Schiller, F. Sigmund Freud's meralgia paresthetica. *Neurology.* 1985; 35: 557-558.
6. Ivins, G. K. Meralgia paresthetica, the elusive diagnosis. *Ann Surg.* 2000; 232: 281-286.
7. Kitchen, C.; Simpson, J. Meralgia paresthetica. A review of 67 patients. *Acta Neurol Scandinav.* 1972; 48: 547-555.
8. Van Slobbe, A. M.; Bohnen, A. M.; Bernsen, R. M.; Bernsen, R. M.; Koes, B. W.; Bierma-Zeinstra, S. M. Incidence rates and determinants in meralgia paraesthetica in general practice. *J Neurol.* 2004; 251: 294-7.
9. Parisi, T. J.; Mandrekar, J.; Dyck, P. J.; Klein, C. J. Meralgia paresthetica: relation to obesity, advanced age, and diabetes mellitus. *Neurology.* 2011; 77: 1538-1542.
10. Weng, W. C.; Wei, Y. C.; Huang, W. Y.; Chien, Y. Y.; Peng, T. I.; Wu, C. L. Risk factor analysis for meralgia paresthetica: A hospital-based study in Taiwan. *J Clin Neurosci.* 2017; 43: 192-195.
11. Pokharel, B.; Kalawar, R. P. S.; Khanal, G. P. Meralgia paresthetica-Solving the diagnostic dilemma. *I J B R.* 2018; 9: 96-101.
12. Grossman, M. G.; Ducey, S. A.; Nadler, S. S.; Levy, A. S. Meralgia Paresthetica: Diagnosis and Treatment. *J Am Acad Orthop Surg.* 2001; 9: 336-344.
13. Esteban A. Neuropatía cutánea lateral femoral: meralgia parestésica. Diagnóstico neurofisiológico. *Rev Neurol.* 1998; 26: 414-5.
14. Nouraei, S. A. 1; Anand, B.; Spink, G.; O'Neill, K. S. A novel approach to the diagnosis and management of meralgia paresthetica. *Neurosurgery.* 2007; 60: 696-700.
15. Tataroglu, C.; Coban, A.; Sair, A.; Kizilay, Z. Inguinal segmental nerve conduction of the lateral femoral cutaneous nerve in healthy controls and in patients with meralgia paresthetica. *Clin Neurosci.* 2019; 67: 40-45.
16. Hurdle, M. F.; Weingarten, T. N.; Crisostomo, R. A.; Psimos, C.; Smith, J. Ultrasound-guided blockade of the lateral femoral cutaneous nerve: technical description and review of 10 cases. *Arch Phys Med Rehabil.* 2007; 88: 1362-1364.
17. Tagliafico, A. 1; Serafini, G.; Lacelli, F.; Perrone, N.; Valsania, V.; Martinoli, C. Ultrasound-guided treatment of meralgia paresthetica (lateral femoral cutaneous neuropathy): technical description and results of treatment in 20 consecutive patients. *J Ultrasound Med.* 2011; 10: 1341-6.
18. Onat, S. S.; Ata, A. M.; Ozcakar, L. Ultrasound-Guided Diagnosis and Treatment of Meralgia Paresthetica. *Pain Physician.* 2016; 19: E667-9.
19. Pardal, J. M.; Grande, A.; Grodeso, B.; Segura, T.; García, J. Estudio morfológico con ecografía en la meralgia parestésica: en busca de la eficiencia terapéutica. *Rev Neurol.* 2018; 66: 34.
20. Haim, A.; Pritsch, T.; Ben-Galim, P.; Dekel, S. Meralgia paresthetica: A retrospective analysis of 79 patients evaluated and treated according to a standard algorithm. *Acta Orthop.* 2006; 77: 482-6.
21. Hui, G. K.; Peng, P. W. Meralgia paresthetica: what an anesthesiologist needs to know. *Reg Anesth Pain Med* 2011; 36: 156-61.
22. Goel A. Meralgia paresthetica secondary to limb length discrepancy: Case report. *Arch Phys Med Rehabil.* 1999; 80: 348-9.
23. Omichi, Y.; Tonogai, I.; Kaji, S.; Sangawa, T.; Sairyo, K. Meralgia paresthetica caused by entrapment of the lateral femoral subcutaneous nerve at the fascia lata of the thigh: a case report and literature review. *J. Med Invest.* 2015; 62: 248-250.
24. Gómez, N.; Ibáñez, J.; Penelas-Cortés, Y.; García, T. Análisis comparativo de las consultas externas de reumatología y cirugía ortopédica-traumatología en un área sanitaria gallega. *Rev Esp Reumatol.* 2001; 28: 52-56.
25. Cheatham, S. W.; Kolber, M. J.; Salamh, P. A. Meralgia paresthetica: a review of the literature. *IJSPT.* 2013; 8: 883-893.
26. Kang, K. N.; Rhyu, Ch. J.; Chon, S. W.; Choi, Y.-S.; Yoo, J. I.; Lim, Y. S., et al. Concurrent meralgia paresthetica and radiculopathy of the left leg -A case report-. *Anesth Pain Med.* 2017; 12: 81-84.
27. El-Tantawi, G. A. Reliability of sensory nerve -conduction and somatosensory evoked potentials for diagnosis of meralgia paraesthetica. *Clin Neurophysiol.* 2009; 120: 1346-1351.
28. Chhabra, A.; del Grande, F.; Soldatos, T.; Chalian, M.; Belzberg, A. J.; Williams, E. H., et al. Meralgia paresthetica: 3-Tesla magnetic resonance neurography. *Skeletal Radiol.* 2013; 42: 803-8.
29. Powell, G. M.; Baffour, F. I.; Erie, A. J.; Puffer, R. C.; Spinner, R. J.; Glazebrook, K. N. Sonographic evaluation of the lateral femoral cutaneous nerve in meralgia paresthetica. *Skeletal Radiol.* 2020 Feb 24. doi: 10.1007/s00256-020-03399-8.
30. Khodair, S.; Elshafey, R. Ultrasound guided lateral femoral cutaneous nerve block in meralgia paresthesia; review of 25 cases. *Egypt J Radiol Nucl Med.* 2014; 45: 1127-1131.
31. Okur, S.; Vural, M.; Dogan, Y.; Mert, M.; Caglar, N. Comparative Efficacy of Pregabalin and Ultrasonography-guided Lateral Femoral Cutaneous Nerve Blockage for Meralgia Paresthetica. *Int J Ther Rehabil Res.* 2017; 6:146.
32. Schwaiger, K.; Panzenbeck, P.; Purschke, M.; Russe, E.; Kaplan, R.; Heinrich, K., et al. Surgical decompression of the lateral femoral cutaneous nerve (LFCN) for meralgia paresthetica treatment. Experimental or state of the art?. A single-center outcome analysis. *Medicine.* 2018; 97: 33. e11914. doi: 10.1097/MD.00000000000011914.
33. De Ruiter, G. C. W.; Lim, J.; Thomassen, B. J. W.; van Duinen, S. G. Histopathologic changes inside the lateral femoral cutaneous nerve obtained from patients with persistent symptoms of meralgia paresthetica. *Acta Neurochir.* 2019; 161: 263-269.

REVISIÓN DE ESTABILIDAD DE MEZCLAS COMPLEJAS DE NUTRICIÓN PARENTERAL TOTAL

Otero Millán, L.¹; Lago Rivero, N.¹; Vázquez López, C.¹; Ledo Rumbao, C.¹; Pérez Veiga, A.¹, Piñeiro Corrales, G.¹; Legido Soto, J. L.²

¹ Servicio de Farmacia EOXI Vigo.

² Departamento de Física Aplicada. UVIGO.

RESUMEN

La nutrición parenteral total (NPT) es una mezcla extremadamente compleja en forma de emulsión lipídica. La multitud de especies químicas que la componen pueden dar lugar a un gran número de reacciones que condicionan su estabilidad. Estos procesos pueden dar lugar a especies que suponen un riesgo durante su administración a los pacientes. Se pueden formar glóbulos de gran tamaño o precipitados, que pueden obstruir capilares y formar trombos.

Hay diversos factores a los que debemos de atender a la hora de estudiar la estabilidad de la NPT, como son el pH, la temperatura, el tipo de lípidos que forman la fase grasa y las cantidades del resto de componentes, como por ejemplo de los electrolitos. Cambios en sus concentraciones pueden provocar la desestabilización de la mezcla.

En los estudios, principalmente se pretende analizar la formación de estas partículas de gran tamaño y buscar cambios en ciertos parámetros que influyen en la estabilidad. Los más habituales son el pH o el potencial Z. Para medir esas partículas grandes, en la bibliografía aparecen descritas multitud de técnicas, predominando las basadas en láser o microscopía.

INTRODUCCIÓN

La NPT es una técnica de alimentación que permite aportar nutrientes directamente al torrente circulatorio, en pacientes que son incapaces de alcanzar los requerimientos nutricionales por vía enteral, o en los cuales no se puede utilizar con seguridad el tracto gastrointestinal.

La NPT aporta simultáneamente macronutrientes (aminoácidos, hidratos de carbono y lípidos), que constituyen el aporte calórico y proteico, y micronutrientes (electrolitos, vitaminas y oligoelementos), que complementan la dieta, evitando el desarrollo de déficit.

Actualmente se benefician de este tratamiento pacientes ingresados en unidades de críticos, perioperatorios de cirugía del aparato digestivo, trasplantados inmunodeprimidos, etc., múltiples situaciones clínicas en las que no es posible utilizar la vía enteral. Además, cabe destacar los beneficios de la NPT en la disminución de la morbimortalidad de los recién nacidos prematuros. En estos niños, la privación de sustratos, la demanda acelerada por el daño y las necesidades metabólicas aumentadas asociadas con el crecimiento, contribuyen al rápido desarrollo de una desnutrición energético-proteica. Pero además la terapia nutricional también es un tratamiento ambulatorio, que permite mantener o mejorar el estado nutricional de pacientes que bien por su patología o secuelas de tratamientos (amplias resecciones intestinales, enteritis rádica, etc.) no pueden cubrir sus necesidades metabólicas por vía oral.

Una composición en macronutrientes (glucosa, lípidos y proteínas) y micronutrientes (electrolitos, vitaminas y oligoelementos) adecuada a las necesidades individualizadas del paciente según la situación clínica, es fundamental para cubrir los requerimientos calórico-proteicos, evitar procesos catabólicos y déficit de micronutrientes, que conlleven estados de desnutrición asociados a mayor número de complicaciones y mortalidad.

Para evitar situaciones carenciales, es necesario elaborar NPT con altas concentraciones de macronutrientes y

micronutrientes, requerimientos incrementados por la situación patológica del paciente. Pero esta composición muchas veces va a estar limitada por los datos de estabilidad, y para evitar riesgos, no podemos cubrir los requerimientos del paciente. Administrar una NPT inestable, en la que se hayan formado precipitados o se haya producido una agregación de los glóbulos de grasa, puede comprometer la vida del paciente debido a formación de trombos y obstrucción capilar.

DESARROLLO

La NPT es una mezcla formada por una gran cantidad de componentes con concentraciones variables, en función de las necesidades de cada paciente. Inicialmente, algunos componentes se administraban por separado, para reducir la posibilidad de reacciones entre los componentes que pudiesen dar lugar a especies perjudiciales para los pacientes. Más recientemente, se ha argumentado que la adición de todos los nutrientes en el mismo recipiente, reduce la manipulación durante la administración y el riesgo de contaminación, y puede ser más coste-efectiva que la administración de los componentes por separado (Athanasίου *et al.*, 2014).

De todas maneras, la nutrición parenteral total no está exenta de riesgos, por lo que tanto su prescripción como su preparación y administración deben realizarse por personal capacitado y entrenado. Además, estas mezclas son extremadamente complejas debido a su composición,

y resulta extremadamente difícil predecir inequívocamente su estabilidad y seguridad dados los numerosos procesos fisicoquímicos que pueden ocurrir.

Centrándonos en que nos encontramos frente a una emulsión lipídica, esto resulta ser un primer problema. Las emulsiones se mueven continuamente hacia la agregación y la inestabilidad. Los glóbulos de grasa se suspenden en agua revestidas por una fina capa de fosfolípidos que crea una carga superficial negativa. Pequeños cambios en el microambiente debido a la gran cantidad de componentes de diferente naturaleza que forman parte de la NPT, podrían alterar esta capa. Estos glóbulos pueden agregarse y desplazarse hacia la parte superior por su menor densidad, formando el denominado aspecto cremoso o *creaming*. Finalmente, puede ocurrir el proceso de coalescencia, que ya es irreversible y lleva a la rotura de la emulsión.

Los factores que mayor influencia tienen en la estabilidad de la emulsión lipídica son:

1. **pH de la solución:** a menor pH menor estabilidad de la emulsión.
2. **Temperatura y tiempo:** temperaturas extremas y tiempos prolongados de almacenamiento/administración pueden disminuir la estabilidad. El riesgo de desestabilización de la emulsión es mayor, por ejemplo, en los servicios de neonatología por la lenta velocidad de administración y las elevadas temperaturas dentro de las incubadoras.

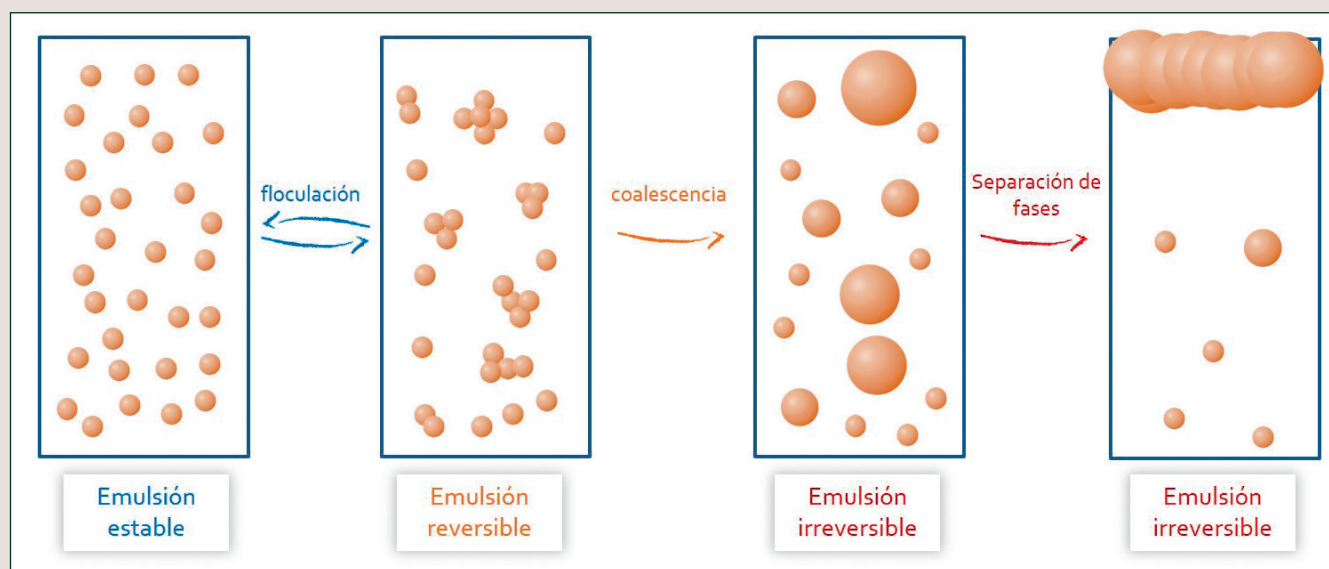


Figura 1: representación de las fases de desestabilización de una emulsión lipídica.

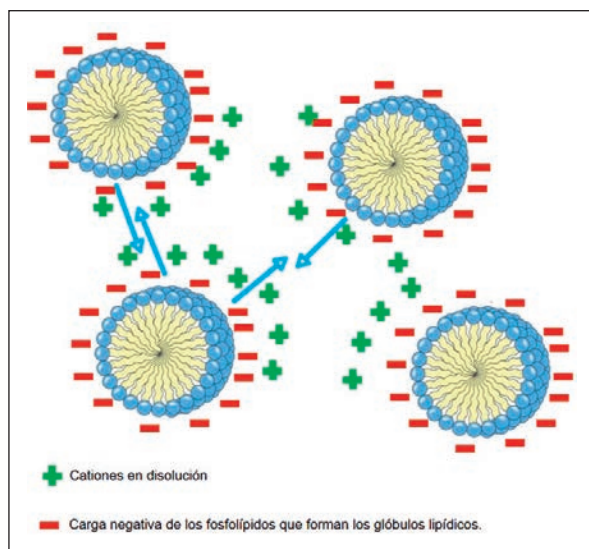


Figura 1: representación de las fases de desestabilización de una emulsión lipídica.

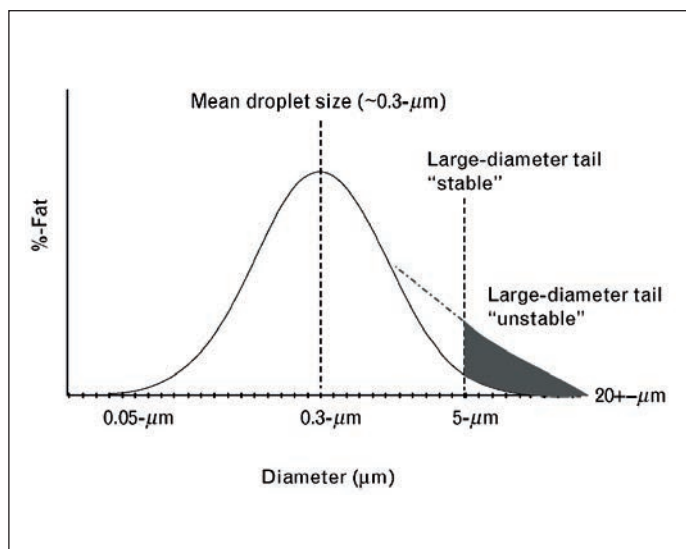


Figura 3: distribución de tamaño de glóbulo en una emulsión lipídica. Explicación de parámetro PFAT5, de Driscoll, D. F. (2005).

3. Concentración de glucosa: si se añade glucosa directamente a la emulsión lipídica se produce un aumento del diámetro de los glóbulos de grasa, que puede llevar a la rotura de la emulsión, posiblemente relacionado con el pH ácido de las soluciones de glucosa. Sin embargo, las soluciones de glucosa muy concentradas pueden tener un efecto beneficioso por su alta viscosidad.

4. Concentración de electrolitos y aminoácidos: al aumentar la carga electrolítica, fundamentalmente de cationes divalentes (calcio y magnesio) y monovalentes (sodio y potasio), disminuye la estabilidad de la emulsión, ya que estos cationes interactuarán con el agente emulsionante aniónico presente en la superficie de los glóbulos lipídicos. Esto puede originar la reducción de la distancia interglobular y aumentará las fuerzas de atracción entre los glóbulos de grasa, resultando en la inmovilización de los mismos a una distancia mínima de las fuerzas repulsivas. Esto dará como resultado su agregación (o floculación que es una etapa reversible), luego la coalescencia de glóbulos y finalmente la separación de fases (Chaieb *et al.*, 2008).

Pese a que, teóricamente, la velocidad de agregación se incrementa de forma lineal con el aumento de concentración de electrolitos, pocos estudios han ofrecido soluciones para predecir la estabilidad de la NPT en este sentido. En algunos, se propone como valor orientativo el número de agregación crítica (CAN), que intenta predecir la cantidad de cambio catiónico que perturbaría

la estabilidad de una emulsión. Se deriva de la teoría DLVO, que describe la contribución electrostática para la estabilización de la NPT frente a la agregación. Se establece que la concentración de electrolitos que debe causar agregación de la emulsión disminuye con el incremento de la valencia:

$$CAN = a + 64 b + 729 c,$$

(donde a, b y c son la suma de las concentraciones (mmol/l) de cationes mono, di y trivalentes, respectivamente). (Klang *et al.*, 2015).

En la bibliografía se encuentran valores de CAN que varían ampliamente según los autores consultados: NPT estables con valores de CAN próximos a 1300 (Barat *et al.*, 1987), en un rango de 300-1400 (Watrobska-Swietlikowska *et al.* 2018) o de 1000-2900 (Watrobska-Swietlikowska *et al.*, 2015). Por tanto, el CAN proporciona una guía para predecir estados de agregación, pero no debe olvidarse la importancia de vigilar las concentraciones de los demás componentes de la NPT, ya que la fórmula no evalúa sus efectos en la NPT. Los aminoácidos tienen un efecto protector sobre la emulsión por su efecto tampón, por situarse en la superficie del glóbulo de grasa aumentando la estabilidad de ésta y por formar complejos con cationes divalentes reduciendo la actividad de estos iones. Los diferentes tipos de soluciones de aminoácidos pueden tener distintos valores de pH y, por lo tanto, distinto

comportamiento. Por esta razón, parece no ser suficiente usar el valor CAN para predecir la inestabilidad de la NPT.

5. **Tipo de lípidos:** Con el paso de los años y el avance del conocimiento sobre terapia nutricional, se han venido utilizando diferentes tipos. Los lípidos o emulsiones lipídicas que se usan actualmente para la preparación de las mezclas de NPT se diferencian, principalmente, en el tamaño de la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos y la proporción de los mismos. La estabilidad de la emulsión lipídica depende en gran parte del tipo y proporción de ácidos grasos incorporados tal y como se puede observar en algunos trabajos (Driscoll *et al.*, 2001, Driscoll *et al.*, 2003). Existen estudios que verifican que las emulsiones de triglicéridos de cadena larga son menos estables que las que incluyen triglicéridos de cadena media; además, se ha observado que concentraciones muy pequeñas de lípidos también pueden desestabilizar la emulsión.

Para estudiar la estabilidad de la emulsión lipídica e impedir los procesos de floculación y coalescencia, es indispensable un control del tamaño de glóbulo. Inicialmente, los estudios se basan en métodos simples, como la inspección visual sobre fondos blanco-negro para posibles cambios de color o cremado o como la microscopía óptica (Mackay *et al.*, 2015; de Oliveira *et al.*, 2009) para estudiar la estabilidad de la emulsión examinando el tamaño de glóbulo de grasa.

La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) en el capítulo 729 usa el parámetro denominado PFAT5, que es definido como el porcentaje de volumen ponderado de grasa que reside en glóbulos de diámetro > 5 micras en la fase dispersa. Los métodos que se utilizan para este fin son dispersión dinámica de luz o espectroscopía de correlación fotónica y técnicas de extinción/oscurecimiento de luz asociadas a contadores de partícula única (LE/SPOS). Según este capítulo, para una emulsión lipídica inyectable dada, el PFAT5 no debe exceder el 0,05%. A raíz de esta definición, son muchos los trabajos que usaron estas técnicas y este valor para analizar la estabilidad de la emulsión lipídica (Parikh *et al.*, 2005; Dorota *et al.*, 2015; Driscoll *et al.*, 2006; Skouliakou *et al.*, 2008; Chaieb *et al.*, 2008; Athanasiou *et al.*, 2014). Otros métodos similares, como las técnicas de difracción láser, también son ampliamente utilizados (Dorota *et al.*, 2015; Skouliakou *et al.*, 2008; Deitel *et al.*, 1992; Athanasiou *et al.*, 2014).

Como podemos observar en algunas revisiones (Klang *et al.*, 2015) donde se analiza la estabilidad de la NPT mediante el tamaño de glóbulo, no se puede concluir cuáles serían las

técnicas idóneas para medir el tamaño de glóbulo ni en donde se sitúa el punto crítico en la estabilidad NPT.

La estabilidad de la emulsión es por tanto un punto esencial en la seguridad para los pacientes. A medida que los glóbulos lipídicos superan las 5 micras puede obstruir la microvasculatura del árbol vascular pulmonar, produciendo un síndrome embólico (Driscoll *et al.*, 2005). Los glóbulos deberían tener un tamaño en torno al de los quilomicrones (0.4-1 micras) (De Cloet, J., *et al.*, 2018).

Las incompatibilidades también pueden ocurrir por la interacción de las sales que se añaden comúnmente a las NPT para realizar el aporte de electrolitos. Probablemente, la incompatibilidad más notoria y que ha sido siempre una de las mayores preocupaciones en la elaboración de las soluciones de NPT es la que puede ocurrir entre las sales de calcio y fosfato. En soluciones acuosas que contienen sales de fosfato, se establece un equilibrio entre las tres especies de fosfato iónico: El ion fosfato trivalente y sus formas monobásica ($H_2PO_4^-$) y dibásica (HPO_4^{2-}). A pH fisiológico (7,4), aproximadamente 60% del fosfato está en la forma dibásica de acuerdo con cálculos basados en la ecuación de Henderson-Hasselbach. Debido a que la sal de fosfato de calcio dibásico es poco soluble, esto aumenta la probabilidad de precipitación de fosfato de calcio a pH cercanos al fisiológico. Por lo tanto, el factor más importante que rige la compatibilidad calcio-fosfato en cualquier NPT es el pH final de la mezcla.

La concentración y tipo de aminoácidos también influye: los aminoácidos pueden formar complejos con el calcio y el fosfato, haciéndolos menos accesibles y por otra, al actuar como tampón, impiden que el pH aumente. De la misma forma, también debemos tener en cuenta los lípidos. Como se ve en algunos trabajos (Chaieb *et al.*, 2008), la compatibilidad calcio-fosfato aumenta en presencia de lípidos. Se observó una disminución de la concentración de calcio tras filtración de la muestra más significativa en las soluciones binarias frente a las que contenían lípidos.

Del mismo modo, tanto la temperatura como el tiempo influyen en la compatibilidad calcio-fosfato. Los aumentos de temperatura provocan un aumento en el movimiento de los componentes de la NPT, existiendo más probabilidades de unión entre los iones calcio y fosfato. El tiempo de reposo prolongado y velocidad de infusión lenta influye negativamente, ya que hay mayor tiempo para la cristalización de la sal (la formación de fosfato cálcico puede tardar entre 24-48 horas después de la preparación) (Allwood *et al.*, 1998; Newton *et al.*, 2008).

La naturaleza de estas sales (orgánicas/inorgánicas) influye directamente en la solubilidad del fosfato de calcio. Dadas

las diferencias en las características de disociación, las concentraciones relativas de calcio o fosfato disponibles para la precipitación son mayores cuando se usan sales inorgánicas. Como vemos en algún estudio, la precipitación incluso se produce a bajas concentraciones de ambas sales. Ésta tiene lugar inmediatamente después de mezclarlas o durante el almacenamiento (Bouchoud *et al.*, 2010).

Las sales de calcio orgánicas tales como el gluconato de calcio (Ca-glu) son ampliamente utilizadas, mientras que la disponibilidad de sales de fosfato orgánicas tales como glucosa-fosfato de sodio (G1P) o glicerofosfato sódico (GP) fue hasta hace poco más limitada porque no estaban registradas y aprobadas en algunos países. Actualmente, ya está extendido el uso de sales orgánicas de fosfato, con las que se reduce el riesgo de precipitación, aún en presencia de concentraciones elevadas tanto de sales de fosfato como de calcio.

Sin embargo, que se reduzca el riesgo no quiere decir que no pueda ocurrir precipitación de fosfato cálcico. Se reporta en estudios que esta precipitación puede ocurrir a concentraciones elevadas de sales orgánicas de calcio y fosfato, originando algún cristal <5micras (Mackay *et al.*, 2015). Se ve que la presencia de calcio desestabiliza las NPT, donde pueden aparecer signos de precipitación a las pocas horas su preparación (Athanasiou *et al.*, 2014). En otro estudio (Chaieb *et al.*, 2008), se encuentran precipitados en mezclas con sales orgánicas (siendo más pronunciado en las muestras con mayor concentración de calcio y fosfato, sin lípidos y con menor concentración de aminoácidos).

En ocasiones, únicamente se realiza una inspección visual de las muestras en busca de principios de sedimentación (Athanasiou *et al.*, 2014), aunque lo habitual es combinar esta técnica con otra más sensible, como LE/SPOS o microscopía, mencionadas en la farmacopea americana o en otros trabajos (USP: Particulate matter in injections, 2013; Mackay *et al.*, 2015; de Oliveira *et al.*, 2009; Chaieb *et al.*, 2008; Bouchoud *et al.*, 2010; Parikh *et al.*, 2005).

La microscopía electrónica es un método poco usado en los estudios para analizar la precipitación en la NPT, posiblemente por ser un método más laborioso y de mayor coste. Resulta sin embargo muy útil, ya que nos servirá para caracterizar los precipitados al visualizar sus formas características y saber su composición acoplando dispositivos como espectroscopía de energía dispersiva (Foinard *et al.*, 2016).

La precipitación de fosfato cálcico en las NPT puede tener consecuencias fatales sobre los pacientes. En 1994 se publicó un informe de alerta de la FDA por la aparición de 2 casos de muerte y, por lo menos, otros 2 casos de distrés respiratorio,

debidos a la infusión de mezclas ternarias que pudieron contener precipitados de fosfato cálcico. Las autopsias de estos pacientes revelaron embolia pulmonar microvascular difusa, encontrándose precipitados de fosfato cálcico.

Además de la precipitación calcio-fosfato, en otros estudios se ha indicado que ciertos oligoelementos pueden interactuar con otros nutrientes formando también precipitados. Estos elementos podrían interactuar con proteínas mediante reacciones redox formando complejos de alta afinidad. Los aminoácidos de las NPT, principalmente los aminoácidos con azufre (cisteína y metionina) se ven afectados por dichas reacciones con elementos como el zinc, cobre, hierro y selenio. Concretamente fue definida la formación de cisteinato de cobre, caracterizado mediante microscopía electrónica de transmisión acoplado a espectrofotometría de energía dispersiva (Foinard *et al.*, 2016). También está descrita la precipitación de calcio con ácido oxálico. Éste es un producto de la degradación de ácido ascórbico, que también es un componente habitual de las NPT junto con otras vitaminas (Cardona Pera *et al.*, 2009).

Entre otros procesos de inestabilidad de las NPT se encuentra la reacción de Maillard, que se produce espontáneamente cuando los aminoácidos y los azúcares reductores se encuentran en solución, particularmente cuando las bolsas son almacenadas a temperatura ambiente o superior. Esta reacción da lugar a la formación de productos no tóxicos (Driscoll *et al.*, 2005; Foinard *et al.*, 2016).

Por otro lado, también es una fuente de inestabilidad de la mezcla la aparición de otras partículas en suspensión, contaminantes o impurezas. Las soluciones utilizadas en la preparación de NPT pueden contener aluminio procedente tanto de la materia prima como del proceso de fabricación o de los envases utilizados. Además, el material utilizado en la preparación de la NPT también puede ceder aluminio a la mezcla (de Oliveira *et al.*, 2010). El aluminio administrado por vía intravenosa puede depositarse en hueso, hígado, cerebro y otros tejidos pudiendo producir complicaciones graves (Hernández-Sánchez *et al.*, 2013). Los recién nacidos, fundamentalmente pretérminos, son mucho más sensibles a concentraciones altas de aluminio por la inmadurez de su función renal (Courtney-Martin *et al.*, 2015).

La mayor concentración de aluminio parece estar en las sales de calcio y fosfato, y estos niños tienen unos requerimientos muy altos de estas sales.

En algunos trabajos se estudia la posibilidad de usar las sales orgánicas de fosfato con sales inorgánicas de calcio, como el cloruro cálcico, con el fin de disminuir la cantidad total de

aluminio presente en la NPT, sin correr peligros en cuanto a la formación de precipitados (Mackay *et al.*, 2015).

Además de evaluar la aparición de precipitados y el tamaño de glóbulo de la fase lipídica para analizar la estabilidad de las NPT, hay otras variables como el pH, el potencial Z o la tensión superficial que también se miden para este mismo fin (Balogh *et al.*, 2006; Dorota *et al.*, 2015; Realdon *et al.*, 2003; Télessy *et al.*, 2011; Turmezei *et al.*, 2014).

En cuanto a la densidad, viscosidad y tensión superficial, son propiedades que influyen en la circulación del fluido y por otra parte nos dan información sobre la estabilidad de las NPT, así en algunos trabajos se analizó la influencia de la NPT en la viscosidad sanguínea, agregación plaquetaria, morfología eritrocitaria y otros parámetros hemorreológicos (Compagnoni *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2006; Kessler *et al.*, 2004). En otros, se analiza el efecto estabilizante de los fosfolípidos en emulsiones aceite-agua con electrolitos (similares a las NPT) mediante medidas de viscosidad y potencial Z (Silvander *et al.*, 2003). El efecto de adicionar fármacos a las NPT también ha sido objeto de estudio. Se han analizado los cambios en la viscosidad de la NPT al añadir heparina a la mezcla (Silvers *et al.*, 1998). Sin embargo, no se relacionan estas variables con la estabilidad de la NPT.

CONCLUSIÓN

En conclusión, debido a la variedad de componentes de la NPT y también a la variedad de procesos que pueden conducir a la desestabilización de la mezcla, es necesaria la realización de estudios completos para determinar los factores y procesos de los que depende su estabilidad, para asegurar la seguridad en la administración de estas mezclas a los pacientes. En estos estudios también se deberían buscar factores predictores de la estabilidad, que nos servirían para discriminar mezclas inestables e inseguras en función de la concentración de cada componente de la mezcla.

BIBLIOGRAFÍA

- Allwood, M. C., & Kearney, M. C. (1998). Compatibility and stability of additives in parenteral nutrition admixtures. *Nutrition*, 14(9), 697-706.
- Anderson, C., & MacKay, M. (2016). Physical compatibility of calcium chloride and sodium glycerophosphate in pediatric parenteral nutrition solutions. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 40(8), 1166-1169.
- Athanasίου, C.; Hatziantoniou, S.; Skouroliakou, M., & Markantonis-Kyroudis, S. (2014). Assessment of the physicochemical stability of all-in-one parenteral emulsions for neonates according to USP specifications. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 38(7), 867-872.
- Balogh, J.; Kiss, D.; Dredán, J.; Puskás, I.; Csempez, F., & Zekó, R. (2006). Tracking of the kinetic stability of 2 types of total nutrient admixtures containing different lipid emulsions. *AAPS PharmSciTech*, 7(4), E112-E117.
- Barat, A. C.; Harrie, K.; Jacob, M.; Diamantidis, T. G., & McIntosh, N. L. (1987). Effect of amino acid solutions on total nutrient admixture stability. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 11(4), 384-388.
- Bouchoud, L.; Fonzo-Christe, C.; Sadeghipour, F., & Bonnabry, P. (2010). Maximizing calcium and phosphate content in neonatal parenteral nutrition solutions using organic calcium and phosphate salts. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 34(5), 542-545.
- Carretero, M. I.; Pozo, M.; Legido, J. L.; Fernández-González, M. V.; Delgado, R.; Gómez, I., ... & Maraver, F. (2014). Assessment of three Spanish clays for their use in pelotherapy. *Applied Clay Science*, 99, 131-143.
- Cardona Pera, D., Cervera Peris, M., Fernández Arévalo, M., Gomis Muñoz, P., Martínez Tutor, M. J., Piñeiro Corrales, G., ... & Vázquez Polo, A. (2009). Consenso español sobre la preparación de mezclas nutrientes parenterales 2008. *FarmHosp*, 81-107.
- Casás, L. M., Pozo, M., Gómez, C. P., Pozo, E., Bessièrs, L. D., Plantier, F., & Legido, J. L. (2013). Thermal behavior of mixtures of bentonitic clay and saline solutions. *Applied Clay Science*, 72, 18-25.
- Chaieb, S.; Chaumeil, J. C.; Jebnoun, S.; Khrouf, N.; Hedhili, A., & Star, S. (2008). Effect of the intravenous lipid emulsions on the availability of calcium when using organic phosphate in TPN admixtures. *Pharmaceutical research*, 25(11), 2545.
- Compagnoni, S. C.; Schulzki, T.; Thoeny, S., & Reinhart, W. H. (2014). Influence of parenteral nutrition on blood rheology and platelet aggregation in vitro. *Biorheology*, 51 (2-3), 187-196.
- Courtney-Martin, G.; Kosar, C.; Campbell, A.; Avitzur, Y.; Wales, P. W.; Steinberg, K., ... & Chambers, K. (2015). Plasma aluminum concentrations in pediatric patients receiving long-term parenteral nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 39(5), 578-585.
- De Cloet, J.; Van Biervliet, S., & Van Winckel, M. (2018). Physicochemical stable standard all-in-one parenteral nutrition admixtures for infants and children in accordance with the ESPGHAN/ESPEN guidelines. *Nutrition*, 49, 41-47.
- De Oliveira Ribeiro, D.; Lobo, B. W.; Volpato, N. M.; da Veiga, V. F.; Cabral, L. M., & de Sousa, V. P. (2009). Influence of the calcium concentration in the presence of organic phosphorus on the physicochemical compatibility and stability of all-in-one admixtures for neonatal use. *Nutrition journal*, 8(1), 51.
- De Oliveira, S. R., Bohrer, D., García, S. C.; do Nascimento, P. C., & NoreMBERG, S. (2010). Aluminum content in intravenous solutions for administration to neonates: role of product preparation and administration methods. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 34(3), 322-328.

16. Deitel, M.; Friedman, K. L.; Cunnane, S.; Lea, P. J.; Chaïet, A.; Chong, J., & Almeida, B. (1992). Emulsion stability in a total nutrient admixture for total parenteral nutrition. *Journal of the American College of Nutrition*, 11(1), 5-10.
17. Driscoll, D. F. (2005). Stability and compatibility assessment techniques for total parenteral nutrition admixtures: setting the bar according to pharmacopeial standards. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 8(3), 297-303.
18. Driscoll, D. F.; Giampietro, K.; Wichelhaus, D. P.; Peterss, H.; Nehne, J.; Niemann, W., & Bistran, B. R. (2001). Physicochemical stability assessments of lipid emulsions of varying oil composition. *Clinical Nutrition*, 20(2), 151-157.
19. Driscoll, D. F.; Silvestri, A. P.; Nehne, J.; Klütsch, K.; Bistran, B. R., & Niemann, W. (2006). Physicochemical stability of highly concentrated total nutrient admixtures for fluid-restricted patients. *American journal of health-system pharmacy*, 63(1).
20. Foinard, A., Pérez, M., Barthélémy, C., Lannoy, D., Flamein, F., Storme, L., ... & Odou, P. (2016). In vitro assessment of interaction between amino acids and copper in neonatal parenteral nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 40(6), 827-834.
21. Food and Drug Administration. Safety alert: Hazards of precipitation associated with parenteral nutrition. *Am J Hosp Pharm* 1994; 51: 1427-8.
22. Gayol, A.; Casás, L. M.; Andreatta, A. E.; Martini, R. E., & Legido, J. L. (2013). Surface Tension of Dialkyl Carbonates+(Alkanes or 1, 4-Dimethylbenzene) and 1, 4-Dimethylbenzene+Alkanes Binary Mixtures at T=308.15 K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 58(3), 758-763.
23. Hernández-Sánchez, A.; Tejada-González, P., & Arteta-Jiménez, M. (2013). Aluminium in parenteral nutrition: a systematic review. *European journal of clinical nutrition*, 67(3), 230-238.
24. Janů, M.; Brodská, H.; Vecka, M.; Masteiková, R.; Kotřílková, E.; Lažauskas, R., Bernatoniene, J. (2011). Comparison of long-term stability of parenteral all-in-one admixtures containing new lipid emulsions prepared under hospital pharmacy conditions. *Medicina (Kaunas)*, 47(6), 46.
25. Kessler, U.; Poeschl, J.; Raz, D.; Linderkamp, O., & Bauer, J. (2004). Effects of intralipid infusion on blood viscosity and other haemorheological parameters in neonates and children. *Acta Paediatrica*, 93(8), 1058-1062.
26. Klang, M. G. (2015). PFAT5 and the evolution of lipid admixture stability. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 0148607115595976.
27. Lago, A.; Rivas, M. A.; Legido, J. L.; Iglesias, T. P., 2009. Study of static permittivity and density of the systems [(n-nonane plus monoglyme or diglyme)] at various temperatures. *Journal of Chemical Thermodynamics*, vol. 41, pp.257-264.
28. Liu, Y.; Yang, H.; Su, Q., & Sakanishi, A. (2006). Influence of parenteral fat emulsion Intralipos® and citric acid on blood viscosity and erythrocyte morphology in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 53(1), 51-54.
29. MacKay, M., & Anderson, C. (2015). Physical compatibility of sodium glycerophosphate and calcium gluconate in pediatric parenteral nutrition solutions. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 39(6), 725-728.
30. Newton, D. W., & Driscoll, D. F. (2008). Calcium and phosphate compatibility: revisited again. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 65(1), 73-80.
31. Parikh, M. J.; Dumas, G.; Silvestri, A.; Bistran, B. R., & Driscoll, D. F. (2005). Physical compatibility of neonatal total parenteral nutrient admixtures containing organic calcium and inorganic phosphate salts. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 62(11).
32. Pastoriza-Gallego, M. J.; Casanova, C.; Legido, J. A., & Piñeiro, M. M. (2011). CuO in water nanofluid: influence of particle size and polydispersity on volumetric behaviour and viscosity. *Fluid PhaseEquilibria*, 300(1), 188-196.
33. Pastoriza-Gallego, M. J.; Casanova, C.; Páramo, R.; Barbés, B.; Legido, J. L., & Piñeiro, M. M. (2009). A study on stability and thermophysical properties (density and viscosity) of Al 2 O 3 in water nanofluid. *Journal of Applied Physics*, 106(6), 064301.
34. Realdon, N.; Zennaro, L.; Perin, F.; Bettero, A.; Bortoluzzi, S; Rigo, A., & Ragazzi, E. (2003). Surface characterisation of bags for total parenteral nutrition by tensiometry and atomic force microscopy. *International journal of pharmaceutics*, 265(1), 27-35.
35. Silvander, M.; Hellström, A.; Wärnheim, T., & Claesson, P. (2003). Rheological properties of phospholipid-stabilized parenteral oil-in-water emulsions—effects of electrolyte concentration and presence of heparin. *International journal of pharmaceutics*, 252(1), 123-132.
36. Silvers, K. M.; Darlow, B. A., & Winterbourn, C. C. (1998). Pharmacologic levels of heparin do not destabilize neonatal parenteral nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 22(5), 311-314.
37. Skourliakou, M.; Matthaiou, C.; Chiou, A.; Panagiotakos, D.; Gounaris, A., Nunn, T., & Andrikopoulos, N. (2008). Physicochemical stability of parenteral nutrition supplied as all-in-one for neonates. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 32(2), 201-209.
38. Télessy, I. G.; Balogh, J.; Turmezei, J.; Dredán, J.; & Zelkó, R. (2011). Stability assessment of o/w parenteral nutrition emulsions in the presence of high glucose and calcium concentrations. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 56(2), 159-164.
39. Turmezei, J.; Jávorszky, E.; Szabo, E.; Dredán, J.; Kallai-Szabo, B., & Zelko, R. (2014). Effect of storage temperature on the stability of total parenteral nutrition admixtures prepared for infants. *Acta poloniaepharmaceutica*, 72(5), 843-849.
40. United States Pharmacopeia. *Globule Size Distribution in Lipid Emulsions*. USP 37-NF 32 ed. Rockville, MD: United States Pharmacopeia; 2014:360
41. United States Pharmacopeia. *Particulate matter in injections*. USP 36: NF 31 ed. Rockville, M. D.: United States Pharmacopeia Convection Inc; 2013.
42. Vijande, J.; Pineiro, M. M.; García, J.; Valencia, J. L., & Legido, J. L. (2006). Density and surface tension variation with temperature for heptane+1-alkanol. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 51(5), 1778-1782.
43. Watrobska-Swietlikowska, D., & Szlagatys-Sidorkiewicz, A. (2015). Evaluation of physical stability of all in one parenteral admixtures for pediatric home care with high electrolytes concentrations. *Nutricionhospitalaria*, 31(1).
44. Watrobska-Swietlikowska, D., Szlagatys-Sidorkiewicz, A., & MacLoughlin, R. (2018). The presence of inorganic calcium in pediatric parenteral admixtures. *Nutricionhospitalaria*, 35(1), 11-18.

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE ENCINA PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS TOLERANTES A PHYTOPHTHORA CINNAMOMI

Vanesa Cano, M^a Teresa Martínez, Elena Corredoira

Grupo de Biotecnología y Mejora Forestal, Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG-CSIC). Santiago de Compostela.

RESUMEN

La enfermedad de la seca está provocando una importante reducción de las poblaciones de encina en el suroeste de la Península Ibérica, originando un grave problema de índole ecológica y económica. La seca es una enfermedad compleja, causada principalmente por un patógeno de raíz transmitido por el suelo, el oomiceto *Phytophthora cinnamomi*. Se ha constatado que la sobreexpresión de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas PR) mediante transformación genética confiere a las plantas transgénicas cierta tolerancia a enfermedades causadas por hongos y oomicetos. En este trabajo se detalla un protocolo eficiente para la transformación genética de embriones somáticos (ES) de encina con el gen *CsTL1* que codifica una proteína PR tipo taumatina. Para la transformación, masas proembriónicas (PEMs) aisladas de tres líneas embriónicas fueron cocultivadas 5 días con la cepa EHA105 de *Agrobacterium tumefaciens* transformada con el plásmido pK7TAU. La eficiencia de transformación estuvo afectada por el tiempo de precultivo y el genotipo de las líneas embriónicas utilizadas. Los mejores resultados se obtuvieron con el precultivo de las PEMs durante un periodo de 1 ó 2 semanas antes de ser transformadas. Estas condiciones permitieron la transformación 2 de las 3 líneas embriónicas evaluadas. La eficiencia de transformación fue del 1,6-3,3% y se obtuvieron un total de 11 líneas transgénicas. El análisis de los niveles de expresión del gen *CsTL1* mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR-rt) mostró una sobreexpresión significativamente mayor en 4 de las 6 líneas evaluadas. Las plantas transgénicas se obtuvieron tras la germinación de los ES, aunque el porcentaje de

conversión varió en función de la línea embriónica (2,8%-75,0%). Los ensayos de tolerancia que se realizaron infectando las plantas transgénicas con el oomiceto, revelaron que 1 de las 5 líneas testadas mostraba un tiempo de supervivencia significativamente mayor que el control sin transformar.

Palabras clave: *Agrobacterium tumefaciens*, embriogénesis somática, La seca, *Quercus ilex*, proteínas relacionadas con la patogénesis, taumatina.

INTRODUCCIÓN

La encina (*Quercus ilex L.*) es uno de los robles más representativos del bosque mediterráneo. Su distribución natural abarca desde Portugal y Marruecos, a las Islas Egeas y Turquía occidental, apareciendo también hacia el norte, en Francia y el norte de Italia. En la Península Ibérica, donde ocupan una amplia superficie, las encinas crecen en formaciones boscosas, los encinares, o formando parte de las dehesas. Los encinares en España son la formación forestal con mayor extensión en superficie seguida de las dehesas.

En el suroeste de la Península Ibérica las encinas crecen formando parte de un sistema agroforestal conocido como dehesas en España y como montados en Portugal. La dehesa es un sistema agrosilvopastoral exclusivo de la Península Ibérica, creado y mantenido por el hombre en las tierras más pobres del monte mediterráneo original, mediante la eliminación del matorral y parte del arbolado. Su versatilidad ha permitido su permanencia desde la edad media hasta el siglo XXI. La encina es un elemento imprescindible de las dehesas,

donde tiene un papel productivo y ambiental fundamental. Esta especie contribuye a la producción directa de la dehesa con bellotas, leña, hongos comestibles, polen y otros, que son consumidos por el hombre y los animales. La ganadería extensiva de base autóctona es el principal aprovechamiento de las dehesas y es un instrumento indispensable para su conservación. En las dehesas pastan ovejas, cabras, vacas, toros, y cerdos, que transforman productos como bellotas, pasto y ramas en otros productos alimenticios de gran calidad y valor añadido como carne, quesos, etc.; siendo el cerdo ibérico y su industria de transformación quien más aporta a su viabilidad económica. La simbiosis de las raíces de la encina con el hongo *Tuber melanosporum* permite la producción trufa negra, producto muy apreciado en la alta cocina. Además, en los últimos años, la caza y el turismo rural se han convertido en otra actividad económica importante de muchas dehesas. Por último, las dehesas también proporcionan importantes servicios ambientales como diversidad estructural y biológica, estabilidad ambiental (control de la erosión, del clima, de los ciclos de nutrientes y agua, de los incendios, etc.), además de ser el hábitat de muchas especies y comunidades de animales y plantas en peligro de extinción.

Desde finales del siglo pasado, las poblaciones de encina en el sur de España y Portugal han experimentado un paulatino deterioro que perdura hasta la actualidad y que progresa por otras regiones de la Península. Este decaimiento resulta de la suma de diferentes factores como la escasa regeneración del arbolado, los cambios en la gestión y manejo de estos sistemas, y sobre todo, por la enfermedad de “la seca” (Sánchez *et al.*, 2000; Corcobado *et al.*, 2013). *Phytophthora cinnamomi* Rands es considerado el principal agente biótico causante de este síndrome (Corcobado *et al.*, 2013), en el que participan también otras especies de *Phytophthora* como *P. quercina* y que de manera secundaria puede verse favorecido por la acción de hongos productores de chancros (*Biscogniauxia mediterranea* y *Botryosphaeria corticola*) y por insectos barrenadores (*Cerambyx welensii* y *Prinobius germari*). Además, factores abióticos como episodios de calor extremo, sequías severas, fuertes lluvias estacionales, periodos de encharcamiento, y la presencia de suelos arenosos o poco profundos pueden acelerar el proceso de la enfermedad y acrecentar su impacto y letalidad (Corcobado *et al.*, 2013; Jung *et al.*, 2018).

P. cinnamomi es un oomiceto de distribución mundial (Jung *et al.*, 2018). Ocupa la séptima posición dentro de los 10 oomicetos más patógenos en plantas (Kamoun *et al.*, 2015), y también es uno de los tres patógenos de plantas incluido en la base de datos de las 100 peores especies invasoras del mundo (Burgess

et al., 2017). Se trata de un patógeno de raíz que se transmite por el suelo y que provoca la pudrición de la raíz, cánceres de corteza y la muerte de muchas especies vegetales (árboles, arbustos y herbáceas) ocasionando grandes pérdidas en la agricultura, horticultura y selvicultura (Jung *et al.*, 2018). En encina, *P. cinnamomi* comienza infectado las raíces finas y si las condiciones son propicias causa la pudrición de la raíz, que se traduce en una serie de síntomas secundarios como la aparición de hojas cloróticas y ramas secas, defoliación y un deterioro generalizado que finaliza con la muerte del árbol pasados unos años (Olswald *et al.*, 2014). En algunos casos, se ha observado que la infección puede producir el colapso del árbol en el mismo año de inicio de la infección (Jung *et al.*, 2018).

Hasta el momento ha sido muy difícil controlar la incidencia de la enfermedad de la seca y cada vez está afectando a más territorios. Los tratamientos químicos como la aplicación de enmiendas cálcicas al suelo, la inyección de fosfanatos en el tronco, o en los últimos años, la fumigación con extractos vegetales han ofrecido tan solo un éxito relativo. Una alternativa al control con fitosanitarios es la producción de plantas resistentes/tolerantes que puedan después ser utilizadas en la reforestación de zonas afectadas por la seca o susceptibles de serlo. La obtención de encinas resistentes/tolerantes utilizando técnicas de mejora tradicional todavía no se ha abordado y, si se hace, tendrán que pasar muchos años antes de completar un ciclo de mejora convencional (Martínez *et al.*, 2019). Por ese motivo, en los últimos años, se están invirtiendo grandes esfuerzos en el aprovechamiento de la tolerancia natural que presentan algunos árboles con la idea de clonarlos utilizando técnicas convencionales o la micropropagación. Por el momento, esta alternativa se encuentra en fase de investigación y los resultados son escasos (Martínez *et al.*, 2019). Otra posibilidad es la utilización de la transformación genética, herramienta biotecnológica, que permite reducir los plazos requeridos por los programas de mejora convencional a la hora de inducir resistencia/tolerancia genética en árboles o en plantas herbáceas.

De momento no se han identificado genes específicos que regulen la inducción de resistencia a *P. cinnamomi*. Para solventar este problema un método alternativo con el fin de inducir, aunque sea de forma genérica, algún tipo de resistencia a enfermedades fúngicas es la sobreexpresión de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas PR) (Ali *et al.*, 2018). Estas proteínas son un elemento clave de los mecanismos de defensa de las plantas, éstas incrementan su síntesis como respuesta a un ataque de patógenos o a un estrés abiótico (Veluthakkal y Dasgupta, 2010). De las 17 familias de proteínas PR identificadas hasta el momento,

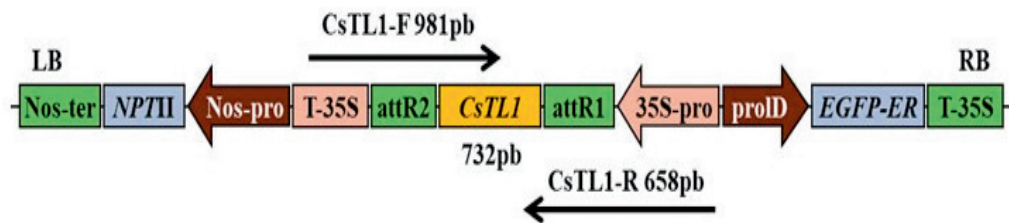


Figura 1. Representación esquemática del plásmido pK7TAU. LB borde izquierdo; RB borde derecho; Nos-ter, Nos-pro terminador y promotor del gen de la nopalina sintasa, respectivamente; NPTII gen de la neomicina fosfotransferasa; 35S-pro, T-35S promotor y terminador del gen del virus del mosaico de la coliflor; EGFP-ER gen de la proteína verde fluorescente (GFP); CsTL1 gen que codifica una proteína tipo taumatina; proID promotor rol D.

las más utilizadas en la transformación genética son las quitinasas, glucanasas, proteínas tipo taumatina (TLP), tioninas y defensinas (Ceasar y Ignacimuthu, 2012). Las proteínas PR tipo taumatina pertenecen a la familia PR5 y actúan provocando la formación de poros transmembranales en las membranas plasmáticas de los hongos, promoviendo así la ruptura osmótica y la inhibición del crecimiento de las hifas y la germinación de las esporas (Ali *et al.*, 2018). Este tipo de proteínas han mostrado actividad antifúngica *in vitro*, por ejemplo, frente a *Fusarium* (Mackintosh *et al.*, 2007) o *P. citrophthora* (Fagoaga *et al.*, 2001) entre otros. En castaño europeo, especie que pertenece a la misma familia que la encina, se ha identificado en cotiledones maduros el gen *CsTL1* que codifica para una TLP y que ha mostrado actividad antifúngica *in vitro* (García-Casado *et al.*, 2000).

El objetivo de este trabajo es definir un protocolo eficiente para la transformación genética de embriones somáticos (ES) de encina con el gen *CsTL1* a fin de obtener plantas que muestren una mayor tolerancia a la infección de *P. cinnamomi*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

La transformación genética se llevó a cabo en tres líneas embriogénicas de encina: Q10-16, E2 y Q8. La línea Q10-16 fue inducida en una hoja aislada de brotes axilares cultivados *in vitro* y establecidos a partir de una encina centenaria (Martínez *et al.*, 2017a), mientras que E2 y Q8 se iniciaron a partir de tegumentos de óvulos también obtenidos de árboles adultos (Barra-Jiménez *et al.*, 2014). Las líneas embriogénicas se mantienen mediante embriogénesis secundaria con subcultivos secuenciales de masas proembriogénicas (PEMs) a intervalos de 6 semanas en medio mineral SH (Schenk y Hildebrandt, 1972) al que se le agrega sacarosa al 3% y agar

Vitro al 0,6% (Pronadisa, España). El pH del medio se ajusta a 5,6 antes de su esterilización en autoclave a 115°C durante 20 min. Los cultivos embriogénicos se incuban en una cámara de crecimiento con un fotoperíodo de 16 h de luz a 25°C y 8 h de oscuridad a 20°C proporcionado por lámparas fluorescentes de color blanco frío con una densidad de flujo de fotones de 50-60 mmol m⁻² s⁻¹ (condiciones estándar).

Genes, plásmido y cepa

El gen *CsTL1*, que codifica una proteína tipo taumatina, fue identificado en embriones zigóticos de castaño europeo y se clonó utilizando el sistema Gateway (Invitrogen, EE.UU.) en el plásmido pK7WG2D (VIB, Universidad de Gante, Bélgica) bajo el control del promotor CaMV35S (Corredoira *et al.*, 2012). El plásmido también incluye el gen indicador de la proteína verde fluorescente (*GFP*) y el gen de selección de la neomicina fosfotransferasa (*NPTII*) que confiere resistencia a kanamicina (Kan). El vector, denominado pK7TAU (Figura 1), se introdujo en la cepa EHA105 de *Agrobacterium tumefaciens* mediante el método de congelación-descongelación (Corredoira *et al.*, 2012).

El cultivo de *Agrobacteriumse* inicia con la siembra de una colonia en 2 mL de medio líquido Luria-Bertani (LB: 1% de triptona, 0,5% de extracto de levadura y 1% de NaCl, pH 7,0 (Sambrook *et al.*, 1989)) que contiene 50 mg/L de Kan. Ese cultivo se incubaba durante toda la noche a 200 rpm, 28°C y en oscuridad. Pasado este tiempo, se toma 1 mL de esta suspensión bacteriana y se inocula en 600 mL del mismo medio (LB + 50 mg/L Kan) y se incubaba a 90 rpm, 28°C y en oscuridad hasta alcanzar una densidad óptica medida a 600 nm (DO600) de 0,6-0,7. En este momento el cultivo bacteriano se centrifuga a 6500 rpm, 10 min a 10°C y el pellet obtenido se resuspende en 200 mL de medio líquido Murashige y Skoog (1962) con 5% de sacarosa (pH 5,6-5,7) (medio de infección).

Transformación genética de los embriones somáticos

Para lograr la transformación genética de los ES de encina con el gen *CsTL1* se estudiaron dos parámetros. Por un lado, se evaluó el efecto del tiempo de precultivo y, por otro lado, se analizó el efecto del genotipo de las líneas embriogénicas. Para evaluar el efecto del precultivo, explantos de la línea Q8 fueron precultivados durante un día, una semana y dos semanas en medio de proliferación antes de ser transformados. Después de cada periodo de precultivo fueron infectados y sembrados en placas Petri para su incubación en la cámara de crecimiento (12 placas con 10 explantos por cada tiempo de precultivo). El efecto del genotipo se determinó en un ensayo donde se comparó la eficiencia de transformación de las líneas embriogénicas E2, Q8 y Q10-16. En este experimento se infectaron 180 explantos en total (6 placas Petri con 10 explantos por cada línea embriogénica).

La transformación se realizó mediante la inmersión de 2 ó 3 PEMs en el medio de infección durante 30 min y su secado posterior sobre papel estéril antes de ser transferidas a placas Petri con medio de proliferación donde se incuban en oscuridad a 25°C. Pasados 5 días, las PEMs cocultivadas con la bacteria se lavaron para eliminar la bacteria durante 30 minutos en una solución de agua estéril con 300 mg/L de carbenicilina (CB) y se transfirieron a placas Petri con medio de proliferación suplementado con 300 mg/L de CB y 75 mg/L de Kan donde se mantuvieron 2 semanas en condiciones estándar. A continuación, los explantos fueron transferidos a un medio de selección que consiste en un medio de proliferación al que se le añade 300 mg/L de CB y 100 mg/L de Kan. Después de 10 semanas, con transferencias periódicas cada dos semanas, a medio de selección, los nuevos embriones somáticos generados y resistentes a la Kan se transfirieron a un nuevo medio con 300 mg/L de CB y 150 mg/L de Kan, con el objetivo de incrementar la presión de selección, donde se incuban durante cuatro semanas. Tras este período, se determinó la eficiencia de transformación, definida como el porcentaje de explantos iniciales que muestran fluorescencia (GFP+).

La fluorescencia se evaluó con una lupa Leica M205 FA equipada con una bombilla de 200 W y un filtro específico para fluorescencia con 470/40x nm de excitación y 525/50 nm de emisión. Las imágenes fueron tomadas con una cámara Leica DSC7000T (Alemania).

Confirmación de la transformación genética

La presencia de los *transgenes* (*NPTII*, *GFP* y *CsTL1*) en las líneas transgénicas fue confirmada mediante

PCR. Para ello, se extrajo el ADN de los ES de las líneas supuestamente transformadas y de los controles no transformados utilizando el kit de extracción REALPURE (Durviz, España) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen de 50 µL que contenía 1 × tampón Taq (Qiagen, Alemania), 2,5 mM de MgCl₂, 2,5 mM de dNTPs, 15 µM de cada cebador, 0,2 µM de Taq ADN polimerasa y 250-500 ng de ADN genómico. El análisis de PCR se realizó con cebadores específicos de los genes: *CsTL1-F* (directo: 5'-AGGTCACCTGGATTTTGGT-3'; reverso: 5'-CACCATGATGAAAACCCTG-3'; incluye la región T-35S), *CsTL1-R* (directo: 5'-GGTAAGGCCGTAGAGT-3'; reverso: 5'-GATCTAACAGAACTCGCC-3'; incluye la región p35S), *NPTII* (directo: 5'-GTCATCTCACCTTGCTCCTGCC-3'; reverso: 5'-AAGAAGGCGATAGAAGCGA') y *GFP* (directo: 5'-CACCGGGGTGGTGGCCAT-3'; reverso: 5'-CTAGTGGATCCCCCGGGC-3'). Los tamaños esperados de fragmentos de PCR fueron 981 pb para *CsTL1-D*, 658 pb para *CsTL1-R*, 472 pb para *NPTII* y 740 pb para *GFP*. Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador MJ Mini™ (Bio-Rad, Hércules, CA) aplicando los siguientes programas después de la activación inicial de la polimerasa: 40 ciclos a 94°C (15 s), 60°C (30 s) y 72°C (1 min) para el gen *CsTL1*; 35 ciclos a 94°C (50 s), 60°C (50 s) y 72°C (70 s) para el gen *NPTII*, y 40 ciclos a 94°C (15 s), 56°C (30 s) y 72°C (1 min) para el gen *GFP*. Los productos obtenidos de la amplificación se resolvieron en gel de agarosa al 1,2% y se confirmaron por la presencia de una única banda del tamaño esperado.

La sobreexpresión del gen *CsTL1* se determinó por qPCR-rt en dos pasos. En primer lugar, se extrajo el ARN a partir de 60-70 mg de ES en estado cotiledonar temprano de las líneas embriogénicas transformadas y los controles no transformados utilizando el Kit Qiagen R Neasy Plant Mini (Qiagen, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para eliminar una posible contaminación con ADN, el ARN se trató con el RNase-free DNase Set (Qiagen, Alemania). A continuación, se sintetizó ADNc con una concentración final de 50 µg/µL a partir de 1 µg de ARN utilizando la retrotranscriptasa Quanta cDNAsynthesis kit (Quanta Biosciences, EE.UU.). Para determinar la eficiencia de la curva de cada par de cebadores se utilizaron diluciones seriadas de ADNc siguiendo el procedimiento de Ebadzad y Cravador (2014).

La cuantificación relativa de los niveles de expresión del gen *CsTL1* se realizó con el Eco Real-Time PCR System (Illumina, EE.UU.), en una placa de 48 pocillos. Cada reacción tiene un volumen final de 15 µL e incluye 1 µL de ADNc, 400 nM de cebadores específicos (diseñados con el software Primer3)

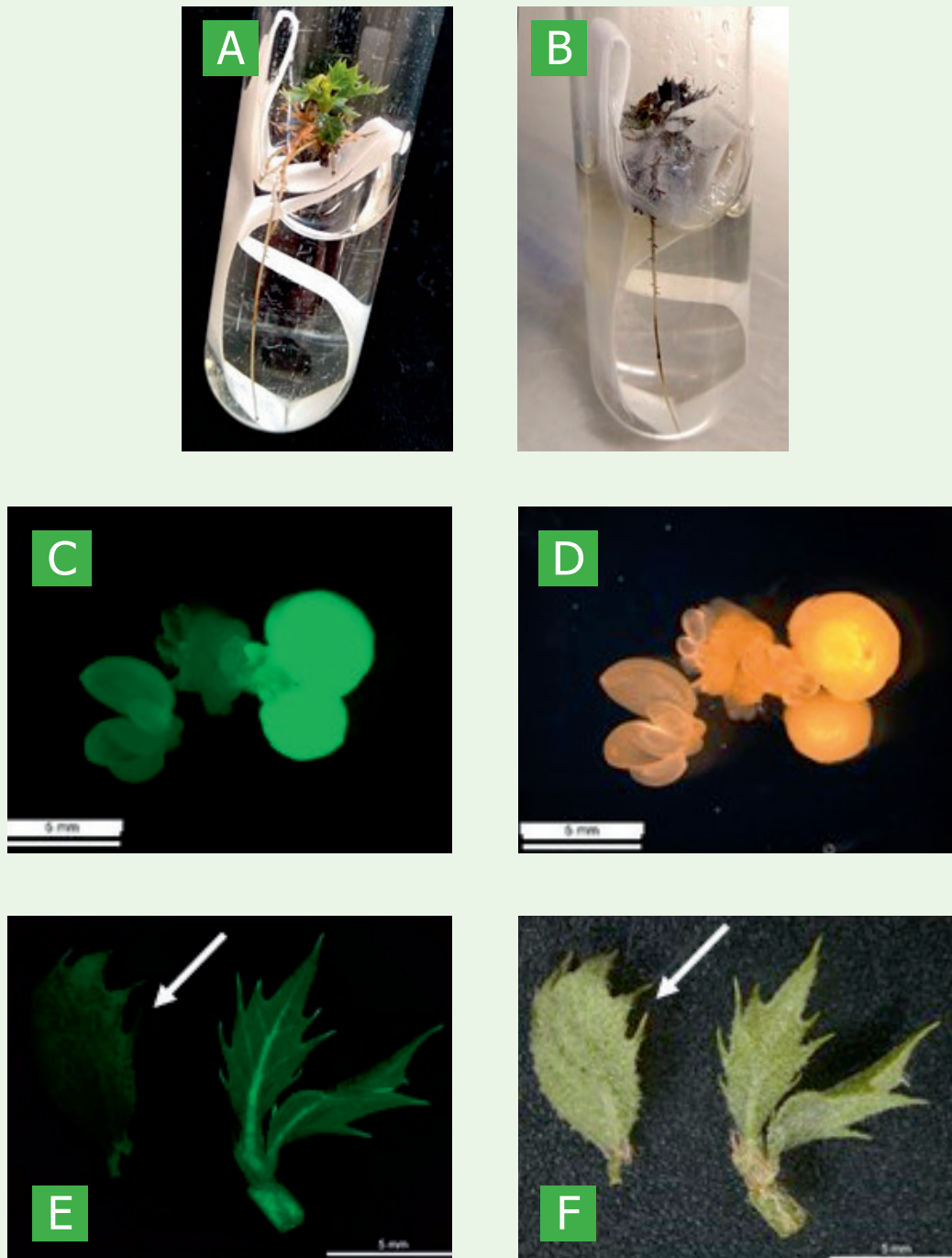


Figura 2. A. Aspecto de una planta de encina sobre puente de papel el día de la inoculación con *P. cinnamomi*. B. Aspecto de una planta de encina a los 7 días de la infección mostrando todos sus órganos necrosados. C, D. Expresión GFP en embriones somáticos transformados de encina, observados bajo luz ultravioleta (C), y los mismos embriones observados bajo luz blanca (D). E, F. Expresión GFP en hojas de una planta no transformada (flecha) y transformada de encina, observadas bajo luz ultravioleta (E), y las mismas hojas observadas bajo luz blanca (F).

y FastStart Universal SYBR Green Master (ROX, Roche Diagnostics, Suiza). El programa utilizado consiste en 40 ciclos de desnaturalización a 95°C (15 s) y anillamiento a 60°C (60 s). Para asegurar la uniformidad del producto se generaron curvas de melting al final de cada ciclo: 95°C (15 s), 55°C (15 s) y 95°C (15 s).

Para normalizar los valores de transcripción entre las líneas, se utilizaron tres genes de referencia internos, seleccionados por su estabilidad durante el desarrollo embrionario. Estos genes fueron la tubulina (*TUB*) (Porth *et al.*, 2005), la actina (*ACT*) y el factor de elongación de la polimerasa (*EF*) (Soler *et al.*, 2008). La eficiencia de las reacciones se estimó a partir de la curva estándar de cada amplicón. Los cálculos y normalizaciones se realizaron con el software EcoStudy™ v5.0.4890 (Illumina, EE.UU.). Se evaluaron 5 líneas transformadas del genotipo Q8 y 1 del genotipo Q10-16, además de sus respectivos controles sin transformar. Por cada línea se analizaron tres o cuatro replicados biológicos, y cada muestra fue evaluada por triplicado. La transcripción del gen *CsTL1* se cuantificó de forma relativa, utilizando el método comparativo Ct (Schmittgen y Livak, 2008) asignando el valor 1 a las líneas sin transformar, y comparando con ellas el nivel de expresión de las líneas supuestamente transformadas.

Regeneración de plantas transgénicas

La maduración y germinación de los ES de las diferentes líneas se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Martínez *et al.* (2017a). Para ello, se aislaron ES en estado cotiledonar (≥ 5 mm) de cultivos de 6 semanas en medio de proliferación de las líneas transgénicas y de los controles no transformados. Para promover la maduración, los ES se colocaron en placas Petri vacías, donde permanecieron por un periodo de dos meses en condiciones de baja temperatura (4°C) y semioscuridad. Transcurrido este tiempo, se procedió a la germinación de los ES mediante su cultivo en jarras de vidrio (500 mL) con 70 mL de medio mineral GD (Gresshoff y Doy, 1972) adicionado con 0,1 mg/L de 6-benziladenina (BA) y 20 μ M de tiosulfato de plata (STS), donde se mantuvieron bajo condiciones estándar de cultivo 8 semanas.

Con el objetivo de obtener plantas morfológicamente más uniformes (en términos de longitud de brote, raíz y número de hojas) para ser utilizadas en los test de evaluación de tolerancia al oomiceto, se aislaron brotes de los ES convertidos en planta y se establecieron cultivos de brotes axilares siguiendo el protocolo descrito por Martínez *et al.* (2017b). La inducción del enraizamiento adventicio de estos brotes se realizó en un medio mineral GD con los macronutrientes

reducidos un tercio (1/3 GD) y 25 mg/L de ácido indol-3-butírico (AIB). Después de 48 h en medio de enraizamiento, los brotes se transfirieron a un medio 1/3 GD sin AIB donde permanecieron 6 semanas.

Análisis de la tolerancia de las plantas a *P. cinnamomi*

El análisis de tolerancia a *P. cinnamomi* de las plantas transgénicas que sobreexpresan el gen *CsTL1* se realizó mediante un ensayo *in vitro*. El material vegetal elegido para este ensayo fueron brotes enraizados de encina de 6 semanas dotados de un buen sistema radicular y en crecimiento activo. Estas plantas se dispusieron sobre un puente de papel en tubos de vidrio (20 x 150 mm) con 16,5 mL de medio GD líquido (Figura 2A).

La infección de las plantas se realizó con la cepa UEX-1 de *P. cinnamomi* (Corcobado *et al.*, 2013) que previamente había sido reactivada con trampas de hoja de aguacate siguiendo el procedimiento descrito por Rial *et al.* (2008). Con el objetivo de favorecer la producción de esporangios, la cepa UEX-1 reactivada se dejó crecer 1 semana en medio V8 semisólido. Pasado este tiempo, se extrajeron discos de agar de 5 mm de diámetro de áreas en las que el micelio presentaba crecimiento activo. Estos discos se incubaron en jugo V8 clarificado durante 24 h a 24°C en oscuridad antes de ser sometidos a 4 lavados de 30 min con la solución de sales de Chen y Zentmyer (1970). Después del último lavado los discos de micelio se incubaron de nuevo en la misma solución salina durante 24 h a 24°C y con luz negra. Antes de realizar la inoculación de las plantas, los discos de micelio se incubaron durante 10-15 min a 4°C para provocar la esporulación simultánea de los esporangios. Después se metió uno de estos discos de micelio en cada tubo donde se encontraba la planta dispuesta sobre el puente de papel.

Para ver la progresión de la enfermedad en las plantas, a estas se les realizó un seguimiento diario durante 31 días. La tolerancia se evaluó cuantificando el número de días que las plantas son capaces de sobrevivir a la infección, referidos como el tiempo que tardan en mostrar 100% de necrosis en todos sus órganos (raíces, tallo y hojas) (Figura 2B). Para confirmar que la muerte era provocada por la infección con *P. cinnamomi*, lo que se hizo fue incubar los órganos necrosados, aislados de cada planta muerta, en medio V8 semisólido; la infección era confirmada si se observaba crecimiento del micelio a partir de los mismos. En el experimento, se evaluaron 6 plantas de 5 líneas transformadas (Q8-tau 4, Q8-tau 7, Q8-tau 14, Q8-tau 35 y Q8-tau 36) y 6 plantas del control sin transformar. El experimento se repitió 3 veces.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se ha utilizado el paquete estadístico SPSS Statistics 24 (IBM, EE.UU.). Los niveles de expresión del gen *CsTL1* y el número de días de supervivencia frente al oomiceto se analizaron usando un análisis de la varianza univariante (ANOVA I) y para comparar las medias se utilizó el test de Duncan al nivel de significación $P = 0,05$.

RESULTADOS

En experimentos preliminares, PEMs de la línea Q8 se precultivaron durante 1 día antes de ser infectadas 5 días con la cepa EHA105pK7TAU y cultivadas en medio de selección con 100 mg/L de Kan. Después de 10 semanas de cultivo, todos los explantos estaban necrosados y ningún mostró signos de nuevo crecimiento. Los resultados fueron muy distintos cuando se incrementó el tiempo de precultivo previo a la infección y la concentración de la Kan en el medio de selección fue aumentada gradualmente. Los mejores resultados se alcanzaron con PEMs precultivadas 1 ó 2 semanas antes de la infección y que se cultivaron 2 semanas en un medio de selección con 75 mg/L de Kan para después ser cultivadas 8 semanas más en medio de selección con 100 mg/L de Kan. En estas condiciones la eficiencia de transformación fue del 2% (Figura 3A).

La eficiencia de transformación también se vio afectada por el genotipo de la línea embriogénica utilizada (Figura 3B). Aplicando 1 semana de precultivo y una concentración creciente de Kan en el medio de selección se logró la transformación de 2 de las 3 líneas embriogénicas evaluadas. La eficiencia de transformación fue de 1,66% para la línea Q10-16 y del 3,33% para la línea Q8.

La eficiencia de transformación, en ambos experimentos, se evaluó en función de la expresión GFP que mostraron los explantos resistentes a la Kan (Figura 2C, D). A partir de un embrión en estado cotiledonar aislado de cada explanto Kan-resistente y GFP positivo se establecieron las posibles líneas transgénicas. Cada ES aislado se multiplica individualmente mediante embriogénesis somática en medio de selección. En total se establecieron 11 líneas, 10 a partir de la línea Q8 y 1 a partir de la línea Q10-16.

El análisis mediante PCR confirmó la presencia de los tres transgenes (*CsTL1*, *NPTII* y *GFP*) en las once líneas obtenidas, no observándose la amplificación en las líneas sin transformar utilizadas como control negativo (Figura 4). El análisis de la

expresión del gen *CsTL1* con qPCR-rt mostró que 4 de las 6 líneas sobreexpresan el gen *CsTL1*, lo que representa que el 66,67% de las líneas analizadas mostraban sobreexpresión del gen de interés (Figura 5).

Después de confirmar la sobreexpresión del gen, el siguiente paso fue la evaluación de la capacidad de regeneración a planta de los ES de las distintas líneas transgénicas obtenidas. Para ello los ES en estado cotiledonar fueron sometidos a un tratamiento de maduración y germinación. Todas las líneas evaluadas son capaces de desarrollar plantas, pero los porcentajes de conversión a planta de los ES variaron en función del genotipo y de la línea, oscilando entre el 2,8% y el 75,0% (Figura 6). Las plantas transgénicas crecieron con normalidad, sin mostrar diferencias morfológicas con respecto a las plantas control no transformadas. La expresión GFP también fue observada en las raíces, tallos y hojas de las plantas transgénicas (Figura 2E, F).

Las pruebas de tolerancia a las que fueron sometidas plantas de las cinco líneas transgénicas testadas mostraron que, después de 31 días, las plantas de la línea Q8-tau 14 sobrevivían significativamente más días a la infección con *P. cinnamomi* que el control sin transformar (Figura 7). De la misma manera, las líneas Q8-tau 4 y Q8-tau 7 también sobrevivieron más días que el control a la infección, pero en este caso las diferencias no fueron significativas. Estos resultados podrían correlacionarse con los mayores niveles de expresión del gen *CsTL1* que presentan estas tres líneas.

DISCUSIÓN

Dos son los factores limitantes para alcanzar con éxito la transformación genética de una planta. En primer lugar, es necesario disponer de un sistema eficiente de introducción del gen de interés en el ADN celular de la planta, generalmente mediante *A. tumefaciens* y en menor medida con biobalística. En segundo lugar, se necesita disponer de un sistema de regeneración *in vitro*. Con excepción de *Arabidopsis*, es necesario la participación de técnicas de cultivo *in vitro* como la embriogénesis somática o la inducción de yemas adventicias (caulogénesis). La aplicación conjunta de técnicas de embriogénesis somática y transformación genética es, posiblemente, el método más apropiado para completar y acelerar los programas de mejora genética en las especies forestales, a pesar de las limitaciones técnicas y sociales que implica la utilización de plantas modificadas genéticamente. A

diferencia de la caulogénesis, la capacidad de transformación de los embriones somáticos no depende, generalmente, de la edad de la planta de la que derivan los cultivos embriogénicos por lo que permite la transformación de material seleccionado incluso adulto, el número de escapes o quimeras es menor y la eficiencia de la transformación suele ser mayor.

Factores como el estado de desarrollo de los ES, el tiempo de precultivo del explanto diana, el tiempo de cocultivo con la bacteria o el régimen de selección de las células transformadas afectan a la eficiencia de la transformación mediada por *Agrobacterium* (Petri y Burgos, 2005). Para la transformación de encina, al igual que ocurre en otras especies del género *Quercus*, el explanto elegido como diana fueron ES en estados iniciales del desarrollo como son las PEMs, puesto que es el explanto considerado más adecuado para la transformación genética. La transformación genética solo se logró cuando las PEMs fueron precultivadas durante una o dos semanas. El precultivo previo a la infección ha sido aplicado en la transformación genética de otras Fagáceas como el alcornoque (Álvarez y Ordás, 2007) o el castaño europeo (Corredoira *et al.*, 2012). El tiempo aplicado a cada especie es variable, mientras que los ES de alcornoque necesitan ser precultivados 20 días (Álvarez y Ordás, 2007), en castaño europeo un día es suficiente para lograr la transformación (Corredoira *et al.*, 2012).

Otro factor a tener en cuenta es el régimen de aplicación del antibiótico usado para la selección. Es frecuente que el cultivo de los explantos diana en medios de selección con elevadas concentraciones de antibiótico desde el inicio del proceso afecte negativamente a la regeneración de las células transformadas (Szankowski *et al.*, 2003). Es por ello, que los explantos diana son cultivados en un medio de selección con baja concentración de antibiótico durante las primeras semanas para posteriormente ir aumentando la concentración hasta alcanzar la dosis letal (Álvarez y Ordás, 2008). Esta metodología de selección en dos pasos, con una reducción inicial de la Kan, también fue aplicada con éxito en el roble común (Vidal *et al.*, 2010) y en el caucho (Leclercq *et al.*, 2010).

El genotipo de las líneas embriogénicas es otro factor crucial en la transformación genética. En encina, al igual que ocurre en otras leñosas como el alcornoque (Álvarez y Ordás, 2007) o roble común (Vidal *et al.*, 2010) el genotipo también afecta a la eficiencia de transformación. Por este motivo, es conveniente utilizar varias líneas embriogénicas cuando se define un protocolo de transformación. Los porcentajes de transformación obtenidos en encina, aun que bajos (1,66-3,33%), son similares a los mencionados para otras especies de las Fagáceas. Por

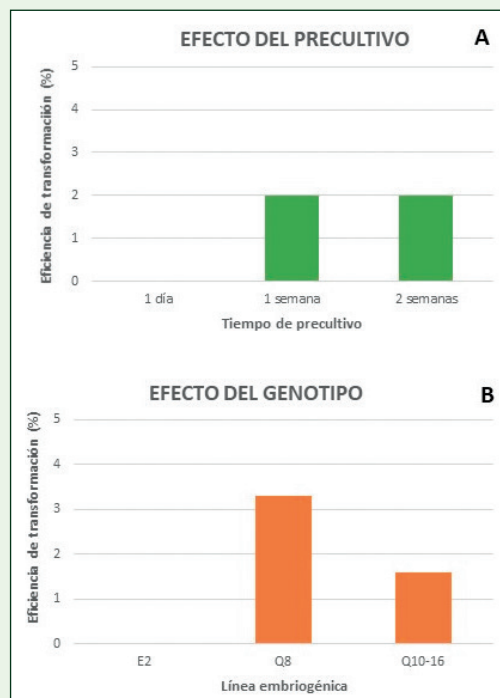


Figura 3. Efecto del precultivo (A) y del genotipo de las líneas embriogénicas (B) sobre la eficiencia de transformación de los embriones somáticos de encina transformados con la cepa EHA105p K7TAU después de 14 semanas de cultivo en medio de selección.

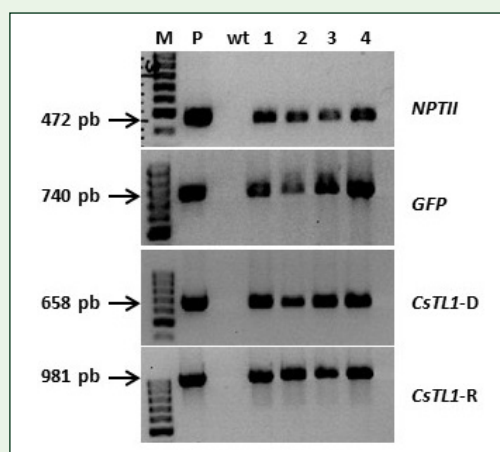


Figura 4. Confirmación de la presencia de los genes *NPTII*, *GFP* y *CsTL1* en las líneas de encina transformadas mediante PCR. M: marcador de peso molecular de 100 pb; P: plásmido (control positivo); wt: línea no transformada (control negativo); calles 1-4: líneas transformadas. El gen *CsTL1* se amplificó en los sentidos transcripcionales.

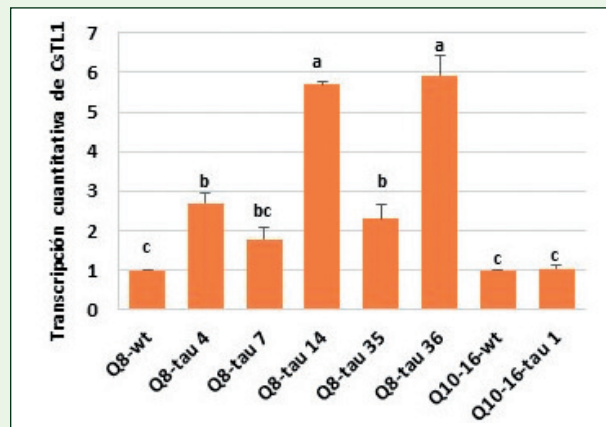


Figura 5. Análisis de la expresión del gen *CsTL1* en las líneas transgénicas derivadas de los genotipos Q8 y Q10-16. Los datos corresponden a las medias \pm error estándar de 3 repeticiones. Las semibarras verticales representan el error estándar. Las columnas con la misma letra no difieren significativamente para una $P=0,05$ (test de Duncan). wt: línea embriogénica no transformada.

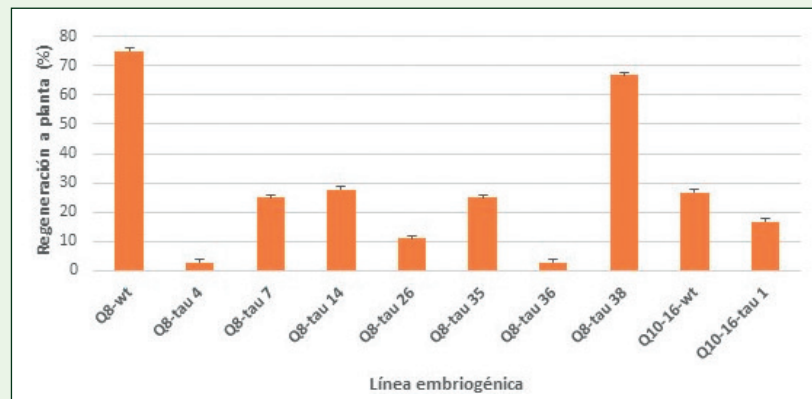


Figura 6. Porcentaje de regeneración a planta en embriones somáticos de las líneas transgénicas de encina y sus correspondientes líneas sin transformar (wt) después de ocho semanas en medio de germinación. Los datos corresponden a las medias \pm error estándar de 6 repeticiones cada una con 6 ES. Las semibarras verticales representan el error estándar.

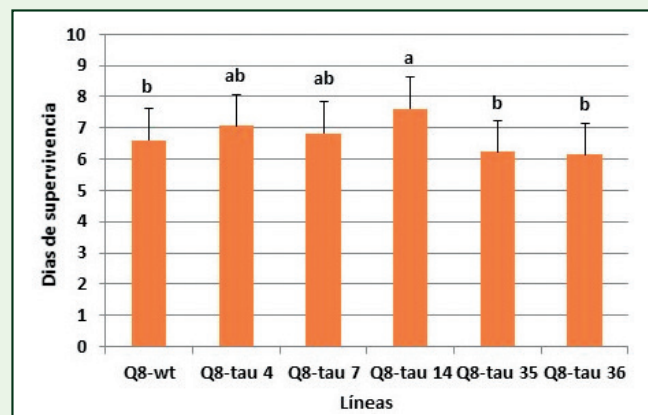


Figura 7. Días de supervivencia de las plantas transgénicas y no transgénicas infectadas con *P. cinnamomi* después de 31 días de experimento. Los valores representan medias \pm error estándar de 3 repeticiones cada una con 6 plantas. Las semibarras verticales representan el error estándar. Las columnas con la misma letra no difieren significativamente para una $P=0,05$ (test de Duncan). wt: línea embriogénica no transformada.

ejemplo, en roble común los porcentajes de transformación de los ES oscilaron entre el 2 y el 6% (Vidal *et al.*, 2010).

El uso del gen GFP como gen marcador ha facilitado en gran medida la discriminación y selección de los ES transformados de encina. Aunque existen evidencias de que este gen puede tener un efecto citotóxico (Haseloff y Amos, 1995), en el caso de la encina el efecto tóxico no fue observado a la vista de los datos obtenidos en la proliferación de los ES y en la regeneración de plantas. Estos efectos negativos tampoco se han mencionado cuando el GFP fue utilizado como gen marcador en la transformación de ES de castaño (Corredoira *et al.*, 2012) o de roble (Mallón *et al.*, 2014).

Por último, la tolerancia a *P. cinnamomi* de las plantas de encina transformadas con el gen *CsTL1* fue evaluada utilizando un ensayo *in vitro*. El testado de tolerancia *in vitro* se ha utilizado con éxito en otras especies leñosas, por ejemplo, para determinar la tolerancia a *P. cinnamomi* de portainjertos de aguacate (López *et al.*, 2007). Este tipo de ensayo puede ser una alternativa interesante a la hora de evaluar la tolerancia en una especie como la encina con bajos porcentajes de aclimatación, al proporcionar una evaluación preliminar rápida y económica de la tolerancia de las líneas transformadas, mientras no se dispone del número suficiente de plantas aclimatadas para realizar los ensayos de tolerancia en campo. En nuestro caso, los ensayos de tolerancia de las encinas transformadas mostraron que una de las líneas transgénicas mostraba un número de días de supervivencia tras la infección mayor que en el control sin transformar. Aunque preliminares, estos resultados coinciden con los mencionados en naranjo dulce donde plantas transformadas con un gen aislado en tomate, que codifica una TLP, presentan una mayor tolerancia frente a *Phytophthora citrophthora* que las plantas sin transformar (Fagoaga *et al.* 2001).

AGRADECIMIENTOS:

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación a través de los proyectos AGL2013-47400-C4-3-R, AGL2016-76143-C4-4-R y la beca predoctoral BES-2014-070572.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ali, S.; Ganai, B. A.; Kamili, A. N.; Bhat, A. A.; Mir, Z. A.; Bhat, J. A.; Tyagi, A.; Islam, S. T.; Mushtaq, M.; Yadav, P.; Rawat, S., & Grover, A. 2018. Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiol. Res.* 212: 29-37.
2. Álvarez, R. & Ordás R. J. 2008. Sensibilidad a la kanamicina y transformación genética de embriones somáticos de alcornoque (*Quercus suber L.*). *Cuad. Soc. Esp. Cienc. For.* 24: 101-106.
3. Álvarez, R., & Ordás, R. J. 2007. Improved genetic transformation protocol for cork oak (*Quercus suber L.*). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 91: 45-52.
4. Barra-Jiménez, A.; Blasco, M.; Ruíz-Galea, M.; Celestino, C.; Alegre, J.; Arrillaga, I., & Toribio, M. 2014. Cloning mature holm oak tree by somatic embryogenesis. *Trees* 28: 657-667.
5. Burgess, T. I.; Scott, J. K.; McDougall, K. L.; Stukely, M. J. C.; Crane, C.; Dunstan, W. A.; Brigg, F.; Andjic, V.; White, D.; Rudman, T.; Arentz, F.; Ota, N., & Hardy, G. E. S. J. 2017. Current and projected global distribution of *Phytophthora cinnamomi*, one of the world's worst plant pathogens. *Glob. Change Biol.* 23:1661-1674.
6. Ceasar, A. S., & Ignacimuthu, S. 2012. Genetic engineering of crop plants for fungal resistance: role of antifungal genes. *Biotechnol Lett.* 34: 995-1002.
7. Chen, D. W., & Zentmyer, G. A. 1970. Production of Sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in Axenic Culture. *Mycologia* 62: 397-402.
8. Corcobado, T.; Solla, A.; Madeira, M. A., & Moreno, G. 2013. Combined effects of soil properties and *Phytophthora cinnamomi* infections on *Quercus ilex* decline. *Plant Soil* 373: 403-413.
9. Corredoira, E.; Valladares, S.; Allona, I.; Aragoncillo, C.; Viéitez, A. M., & Ballester, A. 2012. Genetic transformation of European chestnut somatic embryos with a native thaumatin-like protein (*CsTL1*) gene isolated from *Castanea sativa* seeds. *Tree Physiol.* 32: 1389-1402.
10. Ebadzad, G., & Cravador. 2014. Quantitative RT-PCR analysis of differentially expressed genes in *Quercus suber* in response to *Phytophthora cinnamomi* infection. *Springer Plus* 3: 613.
11. Fagoaga, C.; Rodrigo, I.; Conejero, V.; Hinarejos, C.; Tuset, J. J.; Arnau, J.; Pina, J. A.; Navarro, L., & Peña, L. 2001. Increased tolerance to *Phytophthora citrophthora* in transgenic orange plants constitutively expressing a tomato pathogenesis related protein PR-5. *Mol. Breed.* 7: 175-185.
12. García-Casado, G.; Collada, C.; Allona, I.; Soto, A.; Casado, R.; Rodríguez-Cerezo, E.; Gómez, L., & Aragoncillo, C. 2000. Characterization of an apoplastic basic thaumatin-like protein from recalcitrant chestnut seeds. *Physiol. Plant.* 110: 172-180.
13. Gresshoff, P. M., & Doy, C. H. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Planta* 107: 161-170.
14. Haseloff, J., & Amos, B. 1995. GFP in plants. *Trends Genet.* 11: 328-329.
15. Jung, T.; Pérez-Sierra, A.; Durán, A.; Horta Jung, M.; Balci, Y., & Scanu B. 2018. Canker and decline diseases caused by soil- and airborne *Phytophthora* species in forests and woodlands. *Persoonia* 40: 182-220.
16. Kamoun, S.; Furzer, O.; Jones, J. D. G., *et al.* 2015. The Top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 16: 413-434.
17. Leclercq, J.; Lardet, L.; Martin, F.; Chapuset, T.; Oliver, G., & Montoro, P. 2010. The green fluorescent protein as an efficient selection marker for *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation in *Hevea brasiliensis* (Müll. Arg). *Plant Cell Rep.* 29: 513-522.
18. López, R.; Cortés, M. A.; Herbert, P. C.; Sánchez, J.; Vidales, I.; Fernández, S.; García, A., & Salgado, R. 2007. Micropropagación y pruebas de resistencia in vitro a *Phytophthora cinnamomi* de materiales de aguacate raza mexicana. *Proceedings VI World Avocado Congress. Actas VI Congreso Mundial del Aguacate 2007. Viña Del Mar, Chile*, pp: 12-16.
19. Mackintosh, C. A.; Lewis, J.; Radmer, L. E.; Shin, S.; Heinen, S. J.; Smith, L. A.; Wyckoff, M. N.; Dill-Macky, R.; Evans, C. K.; Kravchenko, S.; Baldridge, G. D.; Zeyen, R. J., & Muehlbauer, G. J. 2007. Overexpression of defense response genes in transgenic wheat enhances resistance to Fusarium head blight. *Plant Cell Rep.* 26:479-488.
20. Mallón, R.; Valladares, S.; Corredoira, E.; Viéitez, A. M., & Vidal, N. 2014. Overexpression of the chestnut *CsTL1* gene coding for a thaumatin-like protein in somatic embryos of *Quercus robur*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 116: 141-151.
21. Martínez, M. T.; Corredoira, E.; Viéitez, A. M.; Cernadas, M. J.; Montenegro, R.; Ballester, A.; Viéitez, F. J., & San José, M. C. 2017b. Micropropagation of mature *Quercus ilex* L. trees by axillary budding. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 131: 499-512.
22. Martínez, M. T.; San-José, M. C.; Arrillaga, I.; Cano, V.; Morcillo, M.; Cernadas, M. J., & Corredoira, E. 2019. Holm oak somatic embryogenesis: current status and future perspectives. *Front Plant Sci.* 10: 239.
23. Martínez, M. T.; San-José, M. C.; Viéitez, A. M.; Cernadas, M. J.; Ballester, A., & Corredoira, E. 2017a Propagation of mature *Quercus ilex* L. (holm oak) trees by somatic embryogenesis. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 131: 321-333.
24. Murashige, T., & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-97.
25. Obwald, W.; Fleischmann, F.; Rigling, D.; Coelho, A.C.; Cravador, A.; Díez, J.; Dalio, R. J.; Horta Jung, M.; Pfanz, H.; Robin, C.; Sijos, G.; Solla, A.; Cech, T.; Chambery, A.; Diamandis, S.; Hansen, E.; Jung, T.; Orlikowski, L.B.; Parke, J.; Prospero, S., & Werres S. 2014. Strategies of attack and defense in woody plant-*Phytophthora* interactions. *For. Pathol.* 44: 169-190.
26. Petri, C., & Burgos, L. 2005. Transformation of fruit trees. Useful breeding tool or continued future prospect? *Transgenic Res.* 14: 15-26.

27. Porth, I.; Koch, M.; Berenyi, M.; Burg, A., & Burg, K. 2005. Identification of adaptation-specify differences in mRNA expression of sessile and pedunculate oak based on osmotic-stress-induced genes. *Tree Physiol.* 25: 1317-1329.
28. Rial, C.; Barros, A.; Salinero, C.; Mansilla, J. P.; Pintos, C., & Cuenca, B. 2008. Variaciones en la susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi* de diferentes clones de castaño: comparación de dos métodos de inoculación. *Cuad. Soc. Esp. Cien. For.* 26.
29. Sambrook, J.; Fritsch, E. F., & Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
30. Sánchez, M. E.; Navarro, R. M.; Trapero, A. & Fernández, P. 2000. La "seca" de encinas y alcornoques: una visión histórica. *Montes.* 62: 29-40.
31. Schenk, R. U., & Hildebrandt, A. C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 50: 199-204.
32. Schmittgen, T. D., & Livak, K. J. 2008. Analyzing real-time PCR data by comparative C(T) method. *Nat. Protoc.* 3: 1101-1108.
33. Soler, M.; Serra, O.; Molinas, M.; García-Berthou, E.; Caritat, A., & Figueras, M. 2008. Seasonal variation in transcript abundance in cork tissue analysed by real time RT-PCR. *Tree Physiol.* 28: 743-751.
34. Szankowski, I.; Bribiva, K.; Fleschhut, J.; Schönherr, J.; Jacobsen, H. J., & Kiesecker, H. 2003. Transformation of apple (*Malus domestica Borkh.*) with the stilbene synthase gene from grapevine (*Vitis vinifera L.*) and a PGIP gene from kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Plant Cell Rep.* 22: 141-149.
35. Veluthakkal, R., & Dasgupta, M. G. 2010. Pathogenesis-related genes and proteins in forest tree species. *Trees* 24: 993-1006.
36. Vidal, N.; Mallón, R.; Valladares, S.; Meijomín, A. M., & Viéitez, A. M. 2010. Regeneration of transgenic plants by *Agrobacterium-mediated* transformation of somatic embryos of juvenile and mature *Quercus robur*. *Plant Cell Rep.* 29: 1411-1422.

SOLUCIONES INNOVADORAS EN LAS INSTALACIONES ELÉCTRICAS DE HOSPITALES EXISTENTES, PARA LA MEJORA DE SU SEGURIDAD DE FUNCIONAMIENTO

Xavier Novoa Conde

Ingeniero Industrial Electricidad/Electrónica por la Universidad de Vigo. MBA por la UNED.
SERGAS - Servicio de mantenimiento del Área Sanitaria de Vigo, España.

1. RESUMEN

Los hospitales modernos, cuando se diseñan, incorporan soluciones tecnológicas innovadoras y de probada fiabilidad que contribuirán a mejorar la atención al paciente.

La vida útil operativa para un hospital alcanza varios decenios. La necesidad de adecuar el edificio y sus instalaciones a las nuevas necesidades asistenciales obliga a incorporar tecnologías y soluciones inexistentes en el momento de su diseño.

En este trabajo se analizan aquellas soluciones tecnológicas más avanzadas, disponibles actualmente, para incorporar a las **instalaciones eléctricas de hospitales de cierta antigüedad** con la finalidad de mejorar su **seguridad de funcionamiento**, y con ello contribuir a dar la mejor atención posible al paciente.

La casuística de cada edificio hospitalario es única. Algunas mejoras propuestas podría ser complejas de implementar, por limitaciones físicas (falta de espacio, dificultad de accesos), y por cuestiones organizativas (afectación a servicios asistenciales, disponibilidad de personal).

2. INTRODUCCIÓN

Un requisito fundamental de las instalación eléctricas hospitalarias el dotarlos una **alta seguridad de funcionamiento**, debiendo considerarse esta una característica intrínseca del sistema eléctrico.

La alta seguridad de funcionamiento dependerá del **diseño y ejecución** inicial y reformas posteriores, y de la forma de utilización y del **mantenimiento** que se realice.

La **seguridad de funcionamiento** la entenderemos como la aptitud del sistema para funcionar correctamente a lo largo de su vida útil. Funcionar correctamente implicará:

- Inexistencia de averías (**fiabilidad** - reliability).
- Inexistencia de averías peligrosas (**seguridad** - safety).
- Permanecer operativo la mayor parte del tiempo (**disponibilidad** - availability).
- Ser rápida y fácilmente reparable (**mantenibilidad** - maintainability).

3. DESARROLLO

3.1. ASPECTOS GENERALES SOBRE LA SEGURIDAD DE FUNCIONAMIENTO

3.1.1. Disponibilidad de la Red de Distribución

Analizando de forma simple el esquema de suministro básico desde la red de distribución eléctrica de Media Tensión (Ilustración 3) se observa que el nivel de disponibilidad a las salidas no puede superar la de los suministros. Los fallos de suministro se suelen agrupar en tres categorías:

- Tensión fuera de límites.
- Fallo de fases.
- Distorsión armónica.

Según datos publicados por Red Eléctrica Española, **el tiempo de interrupción medio** de la **Red de Transporte de Alta Tensión** (220kV y 400kV) en los años 2010 a 2018 es el mostrado en la Ilustración 1.

Estamos hablando de valores medios de interrupción de menos

de un minuto al año en la Red de Transporte de Alta Tensión.

Los límites de calidad de suministro para la Red de Distribución en España están regulados por el RD 1955/2000, el cual establece su medida mediante los índices TIEPI y NIEPI. Dichos índices se calculan teniendo en cuenta únicamente las interrupciones imprevistas mayores de tres minutos, fijándose los límites en el número y duración de la interrupción de suministro que se muestran en la Ilustración 2.

Los Hospitales son alimentados de la Red de Distribución en Media Tensión, por lo cual deben estar preparados para tener hasta 7 interrupciones de suministro imprevistas al año, y de hasta 3,5 horas al año sin suministro.

Para conseguir una no-disponibilidad baja, inferior a 15 segundos, desde mediados del siglo XX se viene utiliza la configuración de la Ilustración 3: Diseño básico con suministro de emergencia en BT. En este esquema tradicional clasificamos las cargas en:

- Servicios críticos, o “salidas con tasa de disponibilidad mejorada”.
- Servicios esenciales, o “salidas preferentes de potencia”.
- Servicios no esenciales, o “salidas de potencia normales”.

Un diseño como el anterior es insuficiente para las instalaciones hospitalarias modernas, cuyos servicios críticos requieren alimentación automática “sin corte”, o a lo sumo que dichos cortes no superen los 0,15 segundos (corte muy breve conforme al vigente REBT).

Analizando las debilidades del diseño básico con al menos 2 transformadores tenemos que:

- **Fiabilidad:** los elementos críticos son:
 - **Embarrados de BT y aparamenta:** hay un único embarrado para cada uno de los tipos de servicios (críticos, esenciales y no esenciales). En caso de fallo en el embarrado de servicios críticos quedarían todos los servicios críticos sin servicio. Lo mismo pasaría con los servicios esenciales y no esenciales.
 - **Grupo electrógeno:** se acopla en BT, lo cual causará cortes durante la conexión y la desconexión. Las puestas en carga periódicas también producirán cortes de servicio. Mejorar la fiabilidad disponiendo varios grupos electrógenos (GE) no acoplados crearía problemas adicionales: necesidad de disponer de un embarrado para cada GE. Acoplar varios GE en paralelo y con balanceo de carga se descarta por su complejidad y por las perturbaciones originadas, que podrían disparar protecciones aguas abajo.
 - **Sistema de conmutación de grupo electrógeno:** El sistema convencional se basa en contactores. Quien haya vivido averías en estos elementos sabrá de la complejidad de resolución de sus averías. En instalaciones modernas se utilizan disyuntores.
 - **Conmutadores estáticos de los SAI:** van integrados en los SAI modernos, pero en caso de fallo pueden

Indisponibilidad Año	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Tiempo de interrupción medio (minutos)	3,135	0,535	0,238	2,404	0,441	0,111	0,141	0,131	0,518
Indisponibilidad	5,96E-6	1,02E-6	4,53E-7	4,57E-6	8,39E-7	2,11E-7	2,68E-7	2,49E-7	9,86E-7

Ilustración 1: Tiempo de interrupción e indisponibilidad de la Red de Transporte de Alta Tensión en España.

Indisponibilidad Año	Zona	Número de horas	Número de interrupciones
Red de Distribución Alta Tensión (de 36 kV a 132kV)	Cualquier zona	3,5	7
	Zona urbana	3,5	7
Red de Distribución Media Tensión (de 1kV a 36 kV)	Zona semiurbana	7	11
	Zona rural concentrada	11	14
	Zona rural dispersa	15	19
Red de Distribución Baja Tensión (menor o igual a 1 kV)	Zona urbana	5	10
	Zona semiurbana	9	13
	Zona rural concentrada	14	16
	Zona rural dispersa	19	22

Ilustración 2: Tiempo de interrupción e indisponibilidad de las Redes de Distribución en España.

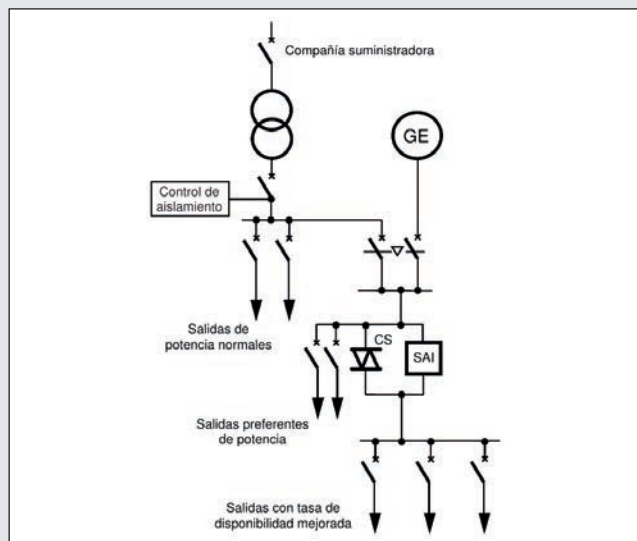


Ilustración 3: Diseño básico con suministro de emergencia en BT.

inutilizar completamente el SAI. Algunos SAI modulares actuales disponen de un único conmutador estático no desacoplable en caliente.

- **Seguridad:** El diseño básico analizando no debería presentar problemas de seguridad si diseño, dimensionado, elección de componentes y calidad de ejecución fue adecuada.
- **Disponibilidad:** El diseño básico tiene un **punto crítico muy significativo** en su disponibilidad operativa. La necesidad de **puesta en carga periódica del GE** causará en su conexión y desconexión **cortes de unos 10 seg.** Traducido a casos reales, una o dos veces al mes. Otros elementos sensibles para la disponibilidad son los **Embarrados de BT:** el diseño de los CGBT debe ser modular con interruptores en cada bastidor. Para los servicios críticos podrían disponerse 2 embarrados acoplables y con alimentaciones duplicadas hasta los cuadros finales.
- **Mantenibilidad:** Estos aspectos los analizaremos con profundidad es apartados posteriores.

3.1.2. Circuitos de distribución interior

En el estudio de la disponibilidad analizaremos los circuitos agrupándolos en categorías:

- **Lado MT:** Protección de la entrada MT. Transformador MT/BT.

- **Lado BT:** Interruptores automáticos generales: Entradas de trafos a Cuadro General de Baja Tensión (CGBT). Cabeceras de cada bastidor de los CGBT. Entradas de Grupos Electrónicos y supresión del riesgo de acoplamiento intempestivo de grupos electrógenos con la red pública. Protección contra defectos de aislamiento. Interruptores automáticos de salidas: Salvo para servicios críticos, el resto de los interruptores automáticos se abren para la conmutación entre fuentes Red-Grupo. Se cierran simultáneamente si se alimentan desde la red pública. Se cierran secuencialmente si se alimentan desde el grupo electrógeno. Sistema de conmutación de fuentes Red-Grupo controlado por el relé de detección de tensión de Red y otros elementos de protección. Sistemas de conmutación estático de fuentes Red-SAI (CS en la Ilustración 3).

3.1.3. Fuentes de suministro complementaria. Los grupos electrógenos.

Los grupos electrógenos (GE) constan de:

Un **motor diésel** equipado con: **Circuito de arranque. Circuito de gasóleo** (Depósito nodriza. Depósito principal. Bomba de trasiego). **Circuitos de lubricación y caldeo. Circuito de refrigeración.**

Un **alternador** equipado con regulador de tensión.

El punto de conexión convencional de los grupos electrógenos se hace en Baja Tensión, en los Cuadros Generales de Baja Tensión (CGBT). Sin embargo, el punto de conexión óptima

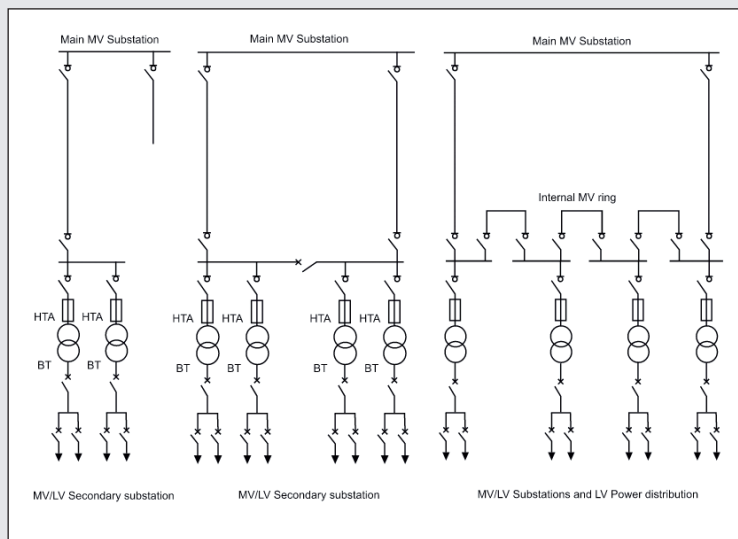


Ilustración 4: Topologías básicas de Centros de Transformación: alimentación individual, alimentación doble y anillo abierto.

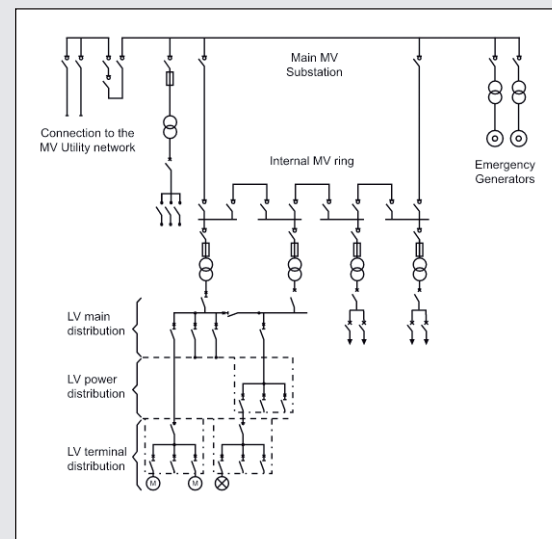


Ilustración 5: Diseño moderno de alta disponibilidad tipo anillo abierto con suministro de emergencia en MT.

sería en el lado de MT de los transformadores, ya que de esta forma podríamos disfrutar de: **Conmutación sin paso por cero:** durante arranques y paradas de puesta en carga, y en paradas después de corte de suministro. Posibilidad de **balanceo de carga** entre grupos de diferentes fabricantes. **Conexión y deslastrado automático** en BT controlado por BMS en función de potencias reales demandadas por las cargas. Filtrado por los trafos de las perturbaciones originadas por conexiones de GE y cargas.

3.1.4. Puestas a tierra

En hospitales, con centro de transformación propio, en la fase de diseño y ejecución se deberán haber tomado las decisiones oportunas para obtener tensiones de paso y contacto inferiores a las máximas fijadas por el Reglamento de Instalaciones de Alta Tensión, y para cumplir con las exigencias de puesta a tierra fijadas por el Reglamento Electrotécnico de Baja Tensión (REBT).

Para las puestas a tierra de la parte de Baja Tensión, conforme a la ICT-BT-18 del REBT, la resistencia de tierra será tal que cualquier masa no pueda dar lugar a tensiones de contacto superiores a 24V en locales o emplazamientos conductores, y a 50V en los demás casos. Si las condiciones de la instalación pueden dar lugar a tensiones de contacto superiores, se asegurará la rápida eliminación de la falta mediante dispositivos de corte adecuado a las corrientes de servicio.

El aspecto fundamental que debemos introducir en este apartado es la importancia de la **vigilancia periódica de las puestas a tierra** de la instalación. El REBT establece una **periodicidad anual** para la revisión de las puestas a tierra, a realizar en las épocas con el terreno más seco, incluyéndose medición de la resistencia de tierra y reparación de cualquier defecto.

3.1.5. Dispositivos de conmutación de fuentes

El conmutador Red - Grupo y el conmutador estático del SAI permiten transferir cargas desde la fuente que falla a la fuente de respaldo. El **Conmutador Red-Grupo**, ante fallas en la red, transfiere las cargas a los GE. El **Conmutador Estático** (CS) permite superar averías de SAI. Cuando falla el SAI, si hay red el CS transfiere la carga sobre la red manteniendo el suministro.

3.1.6. Fuentes de emergencia de corta duración (SAI)

Los sistemas críticos deben contar además con un **suministro de emergencia de corta duración** mediante uno o varios SAI para mantener el suministro durante el arranque del GE.

Los SAI alimentan las cargas críticas durante las conmutaciones entre **suministro normal** y **suministro de socorro** (GE). La autonomía estándar de los SAI supera los 7 minutos.

Fases y duración de la secuencia de conmutación entre red y grupo: Detección de fallo real de red: $<< 1$ s. Arranque de grupo, teniendo en cuenta posibles reintentos de arranque: < 10 s. Conmutación de fuentes Red-Grupo (desconexión red-conexión grupo): $<< 1$ s. Conexión de los interruptores de los servicios prioritarios: $<< 1$ s.

3.2. CRITERIOS DE FUNCIONAMIENTO DEL DISEÑO BÁSICO CONVENCIONAL

Los sistemas eléctricos como los de la Ilustración 3, con un mantenimiento adecuado, deben tener una larga vida útil, superior a los 30 años, asegurando el suministro con defectos como: Cortes de red. Tensión de red fuera de límites. Desequilibrio de fases fuera de límites.

Para la mejora de disponibilidad de cada uno de los equipos de la Ilustración 3 analizaremos un **diseño básico convencional** definido por los siguientes parámetros:

Grupo electrógenos: Cortes de red. Exigencias tarifarias. Pruebas y mantenimiento fuera de servicio.

Cuadros generales de BT (CGBT): Posición socorro. Posición red.

Fuentes de emergencia de corta duración (SAI) actúan durante: Los microcortes. La conmutación de la carga al grupo. Los ciclos de prueba de baterías.

En todos los casos se considerará y cuantificarán los tiempos de mantenimiento, la disponibilidad de todos los elementos y las posibles demoras de reparación por indisponibilidad de repuestos.

En el tiempo de **indisponibilidad por reparación y mantenimiento** tendrá una repercusión crítica los medios técnicos y humanos disponibles: Disponibilidad de repuestos para sistemas críticos "on site" y listos para su uso. Disponibilidad de otros repuestos en los proveedores habituales. Cualificación del personal para realizar las reparaciones y mantenimientos.

3.2.1. Identificación de puntos de fallo del diseño básico convencional

El análisis de la fiabilidad de la configuración del diseño básico convencional se realiza teniendo en cuenta: La información aportada por la experiencia. La tasa de fallo definida por los

fabricantes. Los estudios de fiabilidad realizados por entidades de prestigio como IEEE, CNET, etc.

Fijaremos para cada componente esencial probabilidad de avería y duración en minutos al año: Red MT. Cuadro BT. Grupo electrógeno. SAI.

A continuación se cuantifica el **peso de la no-disponibilidad** por el grado de repercusión en el funcionamiento global de cada uno de los componentes esenciales del diseño básico. Cuadro general BT: Conmutador de fuentes, Apararmenta de distribución, Elementos auxiliares y de control-mando. Grupo electrógeno: Sistema de arranque, Circuito de refrigeración, Circuito combustible (bomba gasoil), Conexión de la carga del GE, Entorno del grupo (temperatura, altitud, limpieza del aire de admisión, etc.), Elementos auxiliares de control-mando. SAI: Rectificador e inversor, Conmutador estático (bypass), Baterías, Elementos auxiliares de control-mando.

Los estudios realizados por fabricantes, mantenedores, y entidades especializadas identifican aquellos **componentes más sensibles para la mejora de la disponibilidad global**: En el cuadro BT: el conmutador de fuentes Red - Grupo. En el grupo electrógeno: el sistema de arranque. En el SAI: las baterías.

3.3. COMO MEJORAR LA DISPONIBILIDAD

Volviendo a la configuración básica de la Ilustración 3 buscamos un **objetivo de no disponibilidad muy bajo**, inferior a $1E-6$ en la salida del SAI. Para alcanzar este objetivo actuamos sobre el diseño básico, así como sobre la calidad y **fiabilidad** de los componentes: Mejorando la fiabilidad de los componente. Elección de las soluciones técnicas más fiables. Remodelando el diseño del **diseño básico convencional**: Permitiendo un funcionamiento degradado (con menor disponibilidad) en parte de la instalación (modularidad). Asegurando el funcionamiento únicamente con los componentes críticos y esenciales. Incorporando redundancia en los componentes con mayor repercusión en la fiabilidad.

3.3.1. Fiabilidad de los componentes

La fiabilidad de un sistema se puede definir como su aptitud para cumplir el objetivo previsto en las condiciones y durante el tiempo preestablecido. El parámetro más utilizado para medir la fiabilidad de un sistema es el **tiempo medio entre fallos** (en la terminología anglosajona “mean time between failure” **MTBF**).

Además de la fiabilidad valoraremos otro parámetro, el **tiempo medio para reparación** o reparabilidad (en la terminología

anglosajona “mean time to repair” **MTTR**). Los diferentes componentes mecánicos, eléctricos y electrónicos del sistema de la Ilustración 3 deben escogerse con unos niveles mínimos de calidad y fiabilidad, prestando atención a las condiciones ambientales (temperatura, humedad, vibraciones, etc.), a la accesibilidad a componentes voluminosos, pesados o críticos (grupos electrógenos, transformadores de potencia, celdas de MT-BT, interruptores generales de trafos, embarrados, etc.).

Desde el punto de vista de la **fiabilidad global de la instalación** el factor más relevante pasa a ser el tiempo medio para reparación (MTTR).

Un ejemplo ayuda a entenderlo: poco importa que un componente vital tenga un MTBF de 100 años si el tiempo de reparación (MTTR) es de 1 semana. En el caso de que el componente vital fallase a los 10 años tendríamos una caída del sistema que duraría inevitablemente 1 semana.

3.3.2. Minimización del tiempo medio de reparación

Para **aumentar la disponibilidad global** de la instalación deberemos **minimizar el MTTR** aplicando **Redundancia en componentes críticos** para el funcionamiento del sistema completo. Para los componentes críticos no redundables (interruptores, contactores, etc.): Diseño para que sean accesibles y fácilmente sustituibles o reparables. Utilizar componentes sustituibles de forma fácil y rápida. Disponer de repuestos “on-site”. Disponer de personal formado en la reparación o sustitución de los elementos críticos.

3.3.3. Calidad de los componentes

La elección entre soluciones tecnológicas y fabricantes de cada uno de los componentes tiene un papel destacado en cuanto a la fiabilidad y la mantenibilidad. Por esta razón analizaremos separadamente los requisitos de cada subsistema de la instalación.

3.3.3.1. Cuadro General Baja Tensión (CGBT)

La apararmenta tiene repercusión limitada en la disponibilidad pero no debemos descuidarla.

Elección de interruptores: Debe eliminarse los fusibles como elemento de protección principal ante cortocircuitos.

Elección de interruptores automáticos: De fabricantes de reconocido prestigio. Para corrientes mayores de 40A debe utilizarse ajustables. Para corrientes mayores de 100A debe dotarse de medidor de consumo para integrarlos en el BMS. A partir de 320A deben utilizarse extraíbles de bastidor abierto, con comunicación al SCADA por ModBus o Ethernet.

Elección de interruptores automáticos telecontrolables: El **contactor** es un mecanismo de mando muy resistente y fiable pero debe evitarse su uso por ser monoestable: en ausencia de señal de control recupera su estado de reposo. El **interruptor automático telecontrolado** (también llamado motorizado) es biestable ya que se mantiene en su estado, cerrado o abierto, cuando no hay señal de control.

Para los sistemas de alta disponibilidad deberá prescindirse totalmente de los contactores.

Las protecciones y la selectividad: Tenemos selectividad cuando ante un defecto solo se corte la salida afectada mediante el interruptor dispuesto inmediatamente aguas arriba del defecto, y solamente con este. Este comportamiento se deberá dar tanto para sobrecargas como para cortocircuitos. La selectividad mejora la continuidad de servicio y por tanto la disponibilidad.

Analizamos a continuación los componentes de los grupos electrógenos con mayor repercusión en la disponibilidad global de la instalación: **Sistema de arranque:** es el más sensible o crítico. Suele ser eléctrico con un rectificador/cargador y sus baterías. **Condiciones ambientales:** las altas temperaturas y la altitud reducen las prestaciones reales de GE respecto a sus características nominales.

Para instalaciones que requieren alta disponibilidad, como es el caso de los hospitales, deben instalarse varios grupos electrógenos en paralelo, preferiblemente en disposiciones n+1, y definir mediante el BMS la secuencia a aplicar para conexión/desconexión de los GE y cargas.

3.3.3.2. Fuentes de suministro de corta duración (SAI)

Para dimensionar una alimentación con SAI hay que tener en cuenta 4 aspectos fundamentales: Potencia utilizada en régimen permanente. Variaciones instantáneas de carga. Nivel de disponibilidad deseado. Autonomía necesaria.

Los elementos asociados a una instalación con SAI esenciales para alcanzar una alta seguridad de funcionamiento serán: La aparatada de protección, aguas arriba y aguas abajo. Cableado y sistemas de conexión. Baterías.

En cuanto a los elementos de protección asociados a la instalación de los SAI debemos prestar una especial atención al ajuste de las protecciones de sobreintensidad: Son frecuentes los picos de corriente al ponerlos en servicio. Los onduladores deben tener una potencia de cortocircuito muy reducida. Debemos asegurarnos que se cumple:

$$I_{picos\ de\ corriente} < I_{umbral\ de\ protección} < I_{cc}$$

En cuanto a las baterías: Estancas sin mantenimiento. Acceso que permita su rápida sustitución.

La tecnología de los SAI debe ser acorde a los requerimientos de las cargas a los que alimentará:

- Los **SAI “on-line”**, también denominados de “doble conversión”, se utilizan para sistemas sensibles a los microcortes, a formas de onda distorsionadas o muy sensibles a interferencias: equipos electromédicos, de telecomunicaciones, automatización industrial, instalaciones y servicios de emergencia, servidores, electrónica de red troncal, etc.
- Los **SAI “line-interactive”** se utilizan para alimentar a equipos poco sensibles a microcortes, formas de onda distorsionadas y a las interferencias no filtradas por los SAI “on-line”. Podrían utilizarse para sistemas de iluminación de emergencia, puestos de trabajo (PC), electrónica de red no troncal, sistemas de emergencia no críticos, etc.
- Los **SAI “off-line”**. En instalaciones hospitalarias debe prescindirse de su uso.

La elección de la configuración y las características de los SAI deben ser coherentes con el diseño de la instalación eléctrica y corresponder al nivel de disponibilidad requerido:

1. Los SAI “on-line” con doble conversión deben ser la primera elección.
2. Para **sistemas especialmente críticos** serán preferibles los diseños con doble SAI modular y alimentación por circuitos independientes. Las cargas de este tipo disponen fuentes de alimentación redundantes cuya conexión se hará a la salidas cada SAI. Estos diseños son comunes en Centros de Proceso de Datos (CPD) de proveedores de servicios de Internet, “data centers”, servicios bancarios, sistemas de control de tráfico aéreo, etc.
3. Con **sistemas críticos** se recomiendan diseños con SAI modular en paralelo con línea directa sin protección, utilizando conmutadores de carga entre fuentes (STS) para alimentar las cargas que no disponen de fuente redundante. Es una solución común en CPD's de pequeña y mediana dimensión como los existentes en hospitales.
4. **Resto de aplicaciones**, la solución idónea sería interponer un SAI en cada circuito a la salida de los cuadros eléctricos. Según la aplicación, corresponderá a los CGBT, a los cuadros de edificio, o a los cuadros de planta.

3.3.3.3. Sensores y actuadores

La elección de sensores y actuadores debe ser coherente con las condiciones de trabajo y la criticidad para la disponibilidad

global del sistema: **Sensores:** elección coherente al entorno ambiental de operación. **Actuadores:** deben asegurar funcionamiento ante fallos, es decir, deben conservar su estado ON u OFF (funcionamiento biestable) y permitir el funcionamiento en modo manual.

3.3.4. Tolerancia a las averías

La alta disponibilidad requiere tolerancia a averías. Si no se alcanza debemos prepararnos para convivir con las averías. Debemos establecer **medidas organizativas y operativas que nos permitan convivir con las averías** sin que afecten sustancialmente al sistema global.

Esta mejora de la tolerancia se obtiene mediante: Protocolo de actuación ante averías críticas. Protocolo de funcionamiento para “modos degradados”. Formación y entrenamiento del personal. Almacén de repuestos esenciales “*on-site*”. Utilización sistemas redundantes. Elección de esquema de conexión a tierra del neutro.

3.3.5. Sistemas redundantes

Utilizaremos la redundancia para los elementos con mayor repercusión en la no disponibilidad total del sistema. Examinemos las mejores elecciones:

- **Grupo Electrógeno (GE):** Se puede pensar que dos o más grupos electrógenos redundantes aseguran una mayor disponibilidad. Esto únicamente es cierto si cada GE tiene su propio dispositivo de acoplamiento a los embarrados.
- **Sistemas de alimentación ininterrumpida (SAI):** Su misión será alimentar la carga durante el tiempo de arranque del GE (menor de 15 segundos). Por lo tanto no tiene sentido que su autonomía supere los 10 minutos. Cada SAI deberá alimentar a un único circuito o servicio crítico.
- **Conmutador de fuentes del cuadro BT:** Generalmente es un elemento compartido. Para mejorar su disponibilidad debemos recurrir a: **Redundancia de cuadro:** Disponer dos conmutadores alimentados desde el embarrado de los GE, que alimentan cada uno una mitad de los CGBT. Permite que al menos del 50% de los CGBT dispongan de alimentación. **Redundancia del conmutador de fuentes:** Consiste en disponer de dos conmutadores en paralelo entre el embarrado de GE y el embarrado de Red-Grupo, de forma que en caso de fallo del conmutador primario se activa el funcionamiento del conmutador secundario.
- **Automatismos:** El diseño redundante consistirá en disponer de dos autómatas programables que de modo asíncrono supervisan y controlan los mismos elementos.

El primer autómata que tome una acción sobre la disponibilidad se deberá imponer al otro.

- **Captadores:** Ciertas variables pueden ser críticas para disponibilidad y seguridad. Sus captadores deberían duplicarse si no hay otras formas de validar su coherencia.
- **Alimentación de autómatas y sistemas auxiliares:** Para permitir un funcionamiento degradado se podrían disponer varias alimentaciones para sistemas de mando y control.

3.4. LOS ESQUEMAS DE CONEXIÓN A TIERRA O RÉGIMENES DE NEUTRO

Los regímenes de neutro o esquemas de conexión del neutro a tierra disponibles son: **TT** (neutro a tierra), **TN** (puesta a neutro) e **IT** (neutro aislado).

Cualquiera de estos esquemas permiten asegurar la protección de las personas contra defectos de aislamiento, pero su incidencia en la disponibilidad es muy diferente.

3.4.1. Neutro a tierra - TT

La disponibilidad depende de la correcta elección de los interruptores diferenciales (selectividad amperimétrica y cronométrica) que desconectan solo la salida con defecto. Se recomienda para las redes modificables con frecuencia y que se ven alteradas por receptores móviles o temporales, o que son explotadas por personal no especializado. En España es obligatorio si nos conectamos directamente de la red de distribución de BT.

3.4.2. Puesta al neutro - TN

En esta configuración todo defecto de aislamiento produce un cortocircuito de intensidad superior al umbral de disparo de los dispositivos de protección contra cortocircuitos. El **TN-S** está indicada para instalaciones con grandes consumos trifásicos. Debido a la separación entre el neutro (N) y el conductor de protección (CP), proporciona un CP limpio, idóneo para el buen funcionamiento de equipos electromédicos e informáticos, así como para instalaciones con riesgos especiales.

3.4.3. El neutro aislado - IT

El primer defecto de aislamiento no produce ningún riesgo para las personas: no se necesita desconectar la parte con defecto. Ante el primer fallo se convierte en un TN. La localización de averías requiere personal formado, con buen conocimiento de la instalación. En este régimen se puede hablar de “tolerancia al primer defecto”. En hospitales se

usará obligatoriamente para alimentar áreas críticas como quirófanos, salas de intervención, UCI, REA, etc.

3.5. TRANSFORMACIÓN DE RÉGIMEN DE NEUTRO TT A TNS

El uso del régimen TT en instalaciones con Centro de Transformación propio simplifica de forma significativa el diseño y las verificaciones finales de la instalación. Respecto a las diferencias de coste de ejecución, debemos tener en cuenta que el TT requiere secciones de cables menores, especialmente para el Conductor de Protección frente al TNS: menor coste en cables para el TT. Pero el TT exige instalación en cascada de protecciones de corriente diferencial residual (interruptores/relés diferenciales) desde CGBT hasta cuadro finales: menor coste en dispositivos de protección y cuadros eléctricos para el TNS.

3.5.1. El uso del TNS en Europa y en España

El TNS es de uso muy común en otros países de la Unión Europea. En España predomina el uso del TT por costumbre y por facilidad de cálculo de las instalaciones. El TNS en España lo vemos en instalaciones industriales por las debilidades del TT.

El cálculo de instalaciones TNS es más exigente, requiere: Un estudio de longitudes máximas de cables para obtener las secciones. Un ajuste de las curvas de las protecciones para garantizar el despeje del defecto ante el primer fallo. Un estudio de la selectividad para garantizar el despeje del defecto por la protección más cercana al origen de la falta.

El TT resulta considerablemente más simple en su cálculo respecto a la longitud total de cableado, aunque está limitado por las potencias totales de cada ramal. Resuelve las fallas de aislamiento con protección diferencial regulable y selectiva en cascada.

3.5.2. Ventajas del uso del TNS

En el TT el intensivo uso de fuentes de alimentación conmutadas y variadores de velocidad, con filtros a condensador conectados al conductor de protección, han ensuciado con ruido de alta frecuencia el CP de las redes de Baja Tensión de todas las instalaciones.

Estas componentes de alta frecuencia conducidas y acopladas capacitivamente se asemejan a corrientes de fuga a tierra, por lo que causan infinidad de problemas de disparo de las protecciones diferenciales. La acumulación puntual de estas corrientes de tierra por el CP son un quebradero de cabeza para los operadores de instalaciones críticas, ya que los disparos intempestivos de las protecciones causan faltas de continuidad de servicio.

La protección diferencial SI (superinmunizada) resolvió parte de este problema, pero tiene un límite en la cargabilidad y en el correcto reparto de cargas en la instalación. Además, exige la separación entre cargas monofásicas y trifásicas y realizar desdobles de la instalación.

La solución es el TNS, que exime del uso de protecciones diferenciales en cascada, relegándola a los circuitos finales donde protegerá contra los contactos directos. Esta es la razón fundamental de proponer el paso del TT al TNS, que además supondrá una reducción de costes en equipamiento al eliminar de la instalación diferenciales de alta sensibilidad encadenados.

Como contrapartida, será necesario aumentar la sección de los conductores de protección (CP), ya que deberán soportar las corrientes de cortocircuito causadas por los contactos indirectos del TNS. En general, bastará que la sección del conductor de cada ramal de la red de Baja Tensión iguale la sección del conductor de fase de ese ramal.

3.5.3. Condicionantes y estrategia para transformar el TT en TNS

Vistas las ventajas del TNS frente al TT para la seguridad de funcionamiento, analizamos las diferentes casuísticas que podemos encontrar y la estrategia que se debería seguir:

1. En instalaciones nuevas se trata exclusivamente de un problema de ingeniería del proyecto, con un cálculo más exigente en el caso del TNS. Siempre que tengamos un Centro de Transformación propio podremos escoger el TNS, salvo para los circuitos que alimenten quirófanos y salas de intervención en los que deben usarse "islas" con IT.
2. En ampliaciones importantes o en nuevos edificios alimentados desde un TT podremos crear ramales nuevos con TNS utilizando un transformador de aislamiento BT/BT con su correspondiente nueva puesta a tierra local para el neutro y el conductor de protección del TNS. La nueva puesta a tierra debe ser independiente de las tierras existentes en el TT. Los herrajes del transformador de aislamiento deben conectarse al conductor de protección del TT. Los pararrayos del edificio con TNS deben tener una conexión equipotencial entre la puesta a tierra de los pararrayos y la puesta a tierra del nuevo TNS. Los pararrayos de la parte con TT deben conectarse equipotencialmente al conductor de protección de la parte TT.
3. Si la instalación existente tiene TT, y no se trata de una ampliación de importancia, podría seguirse la siguiente estrategia para la mejora de la seguridad de funcionamiento y finalmente pasar del TT al TNS:

- a) Verificar si es posible extender el uso de la protección diferencial superinmunizada (SI) desdoblado circuitos.
- b) Levantar o actualizar el unifilar de toda la red, registrando los ajustes de las protecciones y las secciones de todos los conductores (3F + N + CP) entre todos los cuadros de protección.
- c) Reforzar la sección del conductor CP con cable adicional para igualarlo a la sección de los conductores de fase.
- d) Recalcular los ajustes de las protecciones magnetotérmicas para las secciones de cable existentes cumpliendo los requisitos del TNS. El ajuste más frecuente será una ligera reducción de la intensidad de disparo instantánea.
- e) Revisar las puestas a tierra de protección (CP), de servicio de los trafos (N), de servicio de los grupos electrógenos (N), de herrajes del CT, y de los posibles pararrayos. Si en las revisiones de las puestas a tierra se detectan defectos, como impedancias de valores elevadas o falta de independencia, deben resolverse cuanto antes con las actuaciones pertinentes.
- f) Estudiar la forma de conectar la tierra de protección (CP) y la tierra de servicio de los trafos (N). El punto idóneo de conexión sería en el interior de los Cuadros Generales de BT.
- g) Planificar la conexión del neutro N y el CP aprovechando la puesta en carga de los grupos electrógenos para minimizar el tiempo de corte y la afectación a los servicios críticos y a los esenciales.
- h) En el cable de interconexión debería instalarse temporalmente una pinza amperimétrica para registrar las corrientes que circulan durante la conexión, así como durante la recuperación del servicio.
- i) En caso de registrarse corrientes anómalas después de recuperar el servicio normal podría recuperarse el TT mientras se alimenta el centro desde los grupos electrógenos.

3.5.4. Precauciones al cambiar de TT a TNS con grandes longitudes de cable

Como hemos indicado, para implantar un esquema de conexión a tierra TNS a partir de un TT se deben recalcular todas las líneas para asegurarnos que los interruptores magnetotérmicos serán capaces de despejar los "cortocircuitos" que se produzcan en su ámbito de influencia.

En aquellos circuitos con grandes longitudes de cable, de varios cientos de metros, podría ocurrir que un cortocircuito

Cuadro eléctrico	Nº/Nombre Circuito	Características nº P x In ΔN (A)	Intensidad de disparo I _{Δn} (mA)	Tiempo de disparo t _d (ms)	Tensión de contacto U _c (V)	Resistencia de bucle R _s (Ω)	Aislamiento a tierra de conductor en activos (MΩ)
F ASC 22	FUERZA	4*125*300	240 240 240	9 8 8	0	1	999
F ASC 23	FUERZA	4*125*300	240	9	0	1	1117
CE-19	C46	4*40*300	240 210 210	20 20 21	0	1	999
F ECOG	C F 7	2-40*30	27	40	0	1	999
F HEMO	CF 15	2-40*30	24	24	0	1	999

Ilustración 6: Resultados de mediciones de verificación del estado de los circuitos de una instalación.

en la punta de la línea se amortigüe sensiblemente, debido a la mayor impedancia de la línea y a los efectos inductivos y capacitivos, de forma tal que no produzca el disparo del magnetofónico de cabecera del circuito. Este efecto indeseado también podría producirse en caso de sobrecargas temporales.

En estos casos, de no existir, debe instalarse un magnetotérmico y un diferencial en la punta de la línea. Además, en la cabecera de la línea debería instalarse un diferencial con umbral de disparo alto (300 mA o superior) calculado adecuadamente, el cual una vez implantado el TNS protegerá la línea contra contactos directos no francos.

En los circuitos de gran longitud deberá hacerse un seguimiento exhaustivo del conductor de protección CP de estos circuitos para garantizar que: tenga una sección adecuada, al menos la misma que la de los conductores de fase; no esté degradado; no tenga conexiones en malas condiciones; eliminar derivaciones o conexiones intermedias.

Para mejorar la seguridad, deberán desconectarse de los CP de los circuitos de gran longitud todas aquellas masas que no se correspondan con las masas del circuito que alimentan en su punta. Cualquier masa que se haya conectado a dicho CP que no corresponda a la carga en punta del circuito debe desconectarse, y tenderse un CP específico para dichas masas.

A modo de resumen, con el TNS el objetivo final será asegurar que cualquier defecto franco será interrumpido por el interruptor automático y si la longitud de cable es muy grande los contactos directos no francos serán eliminados por un interruptor diferencial con la regulación calculada convenientemente.

3.6. LOS SISTEMAS DE MANDO, CONTROL Y SUPERVISIÓN (SCADA-BMS-GTE)

En la actualidad es imprescindible disponer de un BMS para maximizar la disponibilidad de una instalación eléctrica

hospitalaria. Deberán tenerse en cuenta los siguientes criterios:

- **Modularidad:** cuanto más modular sea más sencillo será el mantenimiento, facilitando además la actualización e incorporación de nuevos servicios y dispositivos.
- **Sistema abierto:** deben primarse los protocolos de comunicación basados en estándares que permitirá la integración de elementos de múltiples fabricantes.
- **Elevado nivel de integración:** el uso de dispositivos con alto grado de integración simplificará la implantación y el mantenimiento.
- **División de funciones:** deben estar claramente separadas las funciones de control, supervisión, visualización y generación de informes. Capa de control (UC): la que interactúa con captadores y actuadores para ejecutar la operativa básica del proceso. Capa de supervisión (US), la que añade inteligencia al sistema para adaptar las consignas de la capa de control a las exigencias de operador o a las condiciones de funcionamiento. Capa de visualización: la tendencia actual es usar un servidor Web que permiten usar la aplicación desde prácticamente cualquier dispositivo (PC, tablets, móvil, etc.) y con cualquier sistema operativo (Windows, MacOS, android, linux, etc.). Capa de almacenamiento de datos históricos y generación de informes: el sistema de Bases de Datos deberá permitir el uso de aplicaciones ajenas para explotaciones de datos no disponibles de forma nativa.
- **Integrar las fuentes de alimentación dentro de cada unidad funcional:** un fallo en la alimentación de algún elemento del BMS debe afectar al menor número posible de dispositivos.
- **Utilización de componentes de bajo consumo:** el ahorro y la eficiencia energética es una de las funciones avanzadas que permite desarrollar un BMS, por lo que el propio BMS debe ser eficiente energéticamente.

4. CONCLUSIONES

A modo de resumen, obtendremos un sistema con disponibilidad aumentada aplicando las siguientes pautas:

Elección de componentes:

- Componentes esenciales de fabricantes de reconocido prestigio con disponibilidad de soporte técnico y repuestos.

- Repuestos “on-site” de elementos más críticos para la disponibilidad.
- Elección de dispositivos de protección y mando integrables de forma directa en el BMS.

Rediseño y adaptación:

- Desplegar un SCADA/BMS/GTE.
- Instalación de pararrayos:
 - Incorporar mejoras de las normas UNE 21186:2011 y UNE-EN 62305-1:2007.
 - Integrar contadores de descargas en el BMS.
- Puestas a tierra y equipotencialidad:
 - Mejora de la calidad de todas las puesta a tierra, especialmente de la del Conductor de Protección (si fuese posible hasta $\leq 2\Omega$).
 - Resto de puestas a tierra: reducir su impedancia y realizar las conexiones equipotenciales requeridas
- Protección contra sobretensiones transitorias y permanentes:
 - Implantar protecciones contra sobretensiones transitorias tipo 1+2 en todos los embarrados de los cuadros de BT.
 - Implantar protecciones contra sobretensiones transitorias tipo 2+3 en los cuadros de BT de servicios críticos y esenciales, y en los cuadros finales con circuitos de gran longitud.
 - Implantar detección de sobretensiones permanentes en todos los embarrados de los cuadros de BT.
 - Integrar todas las protecciones contra sobretensiones en el BMS.
- Medición de la calidad del suministro:
 - Instalar medidores de calidad de suministro en todas las fuentes (salidas de todos los trafos, salidas de todos los Grupos Electrónicos, salidas de los SAI's con potencia superior a 10kVA, y salidas de SAI's que alimenten servicios críticos).
 - Instalar analizadores de red en todos los cuadros que superen los 100A y en todos los que alimenten servicios esenciales.
 - Integrar todos los medidores de calidad de suministro y analizadores de red en el BMS.
- Implantar TNS si el régimen de conexión a tierra es un TT. Recomendaciones:

- Convertir los relés diferenciales existentes en vigilantes de corriente diferencial sin corte y conectarlos al BMS.
- Mantener interruptores diferenciales únicamente en circuitos finales.
- Eliminar el resto de interruptores diferenciales.
- Disponer vigilantes de corriente diferencial tipo B según IEC 60755 en los cuadros que alimentan servicios críticos o esenciales y conectarlos al BMS.
- Pueden mantenerse islas con TT para bombeo de agua contra incendios (PCI) convirtiendo el relé diferencial en un vigilantes de corriente diferencial con alarma, sin corte y con conexión al BMS.
- Revisión general de secciones de cable de todos los circuitos: Igualar la sección del conductor CP de protección a la de las fases. Eliminar ramales existentes en el CP tendiendo nuevos cables específicos desde los CGBT.
- Ajustar las curvas de disparo de los interruptores automáticos.
- Prestar especial atención a los circuitos con líneas de gran longitud.
- Implantación de interruptores automáticos telecontrolados y desenchufables en CGBT integrados en BMS
- Sustituir los sistemas de conmutación de fuentes basados en contactores por nuevos basados en disyuntores.
- Dotar de "bypass" los sistemas de conmutación de fuentes (GE y SAI) mediante interruptor automático telecontrolable por BMS.
- Fuentes de reserva (GE y SAI) con disposiciones redundantes y balanceo de carga.

Buenas prácticas de operación y mantenimiento:

- Personal de mantenimiento formado y entrenado en la solución de incidencias críticas.
- Plan de mantenimiento preventivo en ejecución.
- Guía de actuación (protocolo) ante las incidencias más críticas.

BIBLIOGRAFÍA

General

- Ley 24/2013, de 26 de diciembre, del Sector Eléctrico.
- Real Decreto 1955/2000, de 1 de diciembre, por el que se regulan las actividades de transporte, distribución, comercialización, suministro y procedimientos de autorización de instalaciones de energía eléctrica.
- Real Decreto 223/2008, de 15 de febrero, por el que se aprueban el Reglamento sobre condiciones técnicas y garantías de seguridad en líneas eléctricas de alta tensión y sus instrucciones técnicas complementarias.
- Real Decreto 337/2014, de 9 de mayo, por el que se aprueban el Reglamento sobre condiciones técnicas y garantías de seguridad en instalaciones eléctricas de alta tensión y sus ITC.
- Real Decreto 842/2002, de 2 de agosto, por el que se aprueba el Reglamento electrotécnico para baja tensión.
- UNE-EN 50160:2011/A1:2015 Características de la tensión suministrada por las redes generales de distribución.

Específica

- Instalaciones eléctricas para edificios sanitarios. Diseño para alta seguridad de funcionamiento, 2017, Xavier Novoa Conde, GGKEY:0WHD0JLSJHG.
- La reforma y el mantenimiento de instalaciones eléctricas en edificios sanitarios. 2017, Xavier Novoa Conde, GGKEY:F4H2B2947D8.
- Cuaderno Técnico nº 141. Las perturbaciones eléctricas en BT. Schneider Electric. 2001.
- Cuaderno Técnico nº 148. Distribución eléctrica de alta disponibilidad. Schneider Electric. 2004.
- Cuaderno Técnico nº 161. Conmutación automática de fuentes en las redes AT y BT. Schneider Electric. 2001.
- Cuaderno Técnico nº 172. Los esquemas de conexión a tierra en BT. Schneider Electric. 2003.
- Cuaderno Técnico nº 173. Los esquemas de las conexiones a tierra y su evolución. Schneider Electric. 2003.
- UNE-IEC/TR 61000-2-8:2006 IN Compatibilidad electromagnética (CEM). Parte 2-8: Entorno. Huecos de tensión e interrupciones breves en las redes eléctricas de suministro público, con inclusión de resultados de medidas estadísticas (IEC/TR 61000-2-8:2002)
- UNE 21186:2011 Protección contra el rayo. Pararrayos con dispositivo de cebado.
- UNE-EN 62305-1:2007 Protección contra el rayo. Parte 1. Principios generales
- UNE 20460-4-43-2003 Instalaciones eléctricas en edificios. Parte 4 Protección Capítulo 43- Protección contra las sobreintensidades.
- UNE-EN 50550:2012 Dispositivos de protección contra sobretensiones a frecuencia industrial para usos domésticos y análogos.
- Building Management Systems for Hospitals. InduSoft Inc. 2011.

DESARROLLO DE UN FILTRO BIOLÓGICO INNOVADOR PARA SU APLICACIÓN EN ACUICULTURA BASADO EN UN RELLENO SOSTENIBLE DE CONCHA DE MEJILLÓN

Leticia Regueiro*, Mohamed Soula*, Martiña Ferreira*, Raúl Muñoz ^, Pedro García-Encina ^, Celina Costas*, Diego Méndez*

*Área de I+D+i de ANFACO-CECOPECA.

^ Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Ambiental, Universidad de Valladolid.

RESUMEN

El aumento global de la demanda de pescado y el estancamiento de la producción pesquera han puesto el foco sobre la acuicultura, como fuente de productos de pescado y marisco. Al mismo tiempo, las empresas de piscicultura continental se encuentran con el problema de que cada vez más a menudo tienen restricciones en el acceso al agua y necesitan recircular parte de la misma para mantener el flujo necesario. Esta agua recirculada presenta principalmente problemas de acumulación de nitrógeno que impiden un normal funcionamiento de las instalaciones por lo que es necesario eliminarlo. Por otra parte, numerosas empresas de la comunidad gallega se están encontrando con el problema de qué hacer con la concha de mejillón, ya que es un residuo muy abundante. En este contexto, en este estudio se propuso una solución que permitiría abordar ambos problemas, esto es, el uso de las conchas de mejillón como relleno de biofiltros de nitrificación/desnitrificación a implementar en acuicultura, con el objetivo final de desarrollar estrategias de producción acuícola sostenible y minimizar su impacto sobre el medioambiente, evitando así la sobreexplotación de los recursos.

Los resultados a escala laboratorio, empleando como inóculo una mezcla de lodo de EDAR urbana con biomasa para acuario, mostraron resultados prometedores en la parte de nitrificación. Los datos arrojados por los reactores con relleno de conchas fueron iguales o mejores que aquellos donde se trabajó con relleno de biobolas plásticas tradicional. A esta escala, el principal problema fue que la desnitrificación no fue total y aunque esto no sea crucial para la supervivencia de los peces, el diseño del piloto intentó paliar esa problemática

planteando un sistema de desnitrificación previo al de nitrificación para mejorar esa deficiencia.

Los resultados a escala piloto mejoraron los de laboratorio, aunque la poca necesidad de cambio de conchas, ya que estas no se colmataban, implica un bajo uso del residuo para aplicar con esta finalidad de relleno de biofiltros. Como contrapartida, los buenos resultados permiten pensar en su posible aplicación en otras tipologías de producción acuícola, como la que implica uso de agua marina.

INTRODUCCIÓN

La idea de este estudio surge con el objetivo de dar solución a una problemática del sector como es la gestión de la concha de mejillón, a la vez que facilitar un uso más sostenible del agua en el sector de la acuicultura continental. Así, dentro de las múltiples ideas que se barajan para la valorización de las conchas surge el uso como material de relleno en filtros biológicos (biofiltros) que se emplean en depuración de aguas en acuicultura. De esta manera, se integraría un residuo de acuicultura dentro del sistema de depuración de una instalación como parte del sistema de recirculación (RAS) bajo el concepto de economía circular.

Estos sistemas de biofiltros de bajo coste son de especial interés en épocas en las que las necesidades de agua de la planta no se pueden ver satisfechas por problemas de suministro, lo que obliga a trabajar en recirculación, tratando para ello el

agua de salida de manera eficiente. Los filtros biológicos se utilizan para eliminar el amoníaco y/o los nitratos producidos por el metabolismo de los peces, que en condiciones de circuito cerrado se acumularían hasta alcanzar concentraciones dañinas para la supervivencia de los individuos.

DESARROLLO

El proyecto se divide en dos actividades principales:

1. Estudio de los biofiltros a escala laboratorio y comparación con rellenos comerciales.

2. Diseño, construcción y operación del biofiltro piloto.

ANFACO-CECOPECA estudió el funcionamiento del sistema de biofiltro sostenible con conchas, a escala laboratorio, analizando las diferencias respecto a un filtro control como los que se emplean en sistemas convencionales. Con los resultados obtenidos de este primer estudio, la Universidad de Valladolid realizó el diseño del equipo a escala piloto, que se implementó *in situ* en las instalaciones de una empresa de acuicultura, con el fin de estudiarlo en condiciones reales.

Los resultados de campo obtenidos de la operación a escala piloto se evaluaron, no solo desde el punto de vista ambiental, sino también económico, para tener en cuenta todos los aspectos que afecten a una potencial integración de estos sistemas de bajo coste en plantas reales de acuicultura en España.

1. Estudio de los biofiltros a escala laboratorio y comparación con rellenos comerciales

En esta primera actividad se llevó a cabo el estudio de la efectividad de la concha de mejillón respecto a materiales plásticos como relleno de biofiltros para eliminación principalmente de nitrógeno amoniacal en aguas de piscicultura sintéticas

Para ello, se hicieron pruebas de cierre de los biofiltros y de bombeo para ver la velocidad de llevado/vaciado y se realizó el seguimiento durante casi 120 días de comparación de proceso de nitrificación/desnitrificación de un equipo de conchas contra otro convencional con relleno de biobolas.

Para el desarrollo del experimento se estableció un protocolo de arranque e inoculación y se utilizó como sustrato agua sintética, empleando cloruro de amonio como fuente de nitrógeno y acetato de sodio como fuente de carbono. En cuanto al agua real se empleó agua de la empresa acuícola Grupo Tres Mares recogida previa a su balsa de decantación.

La entrada al reactor de nitrificación se inició con 25 ppm $N-NH_4^+$ y con un ratio C/N aproximado de 4. La concentración de $N-NH_4^+$ se redujo hasta 5 ppm paulatinamente para reproducir las condiciones reales de la planta. Los peces no sobrevivirían con agua en recirculación superior a 1-2 ppm de $N-NH_4^+$ dependiendo de la especie. De hecho, acorde a los valores de USEPA (1984 y 1989), los valores medios de toxicidad para 32 especies de agua dulce estaban en 2,79 ppm mientras que en agua salada para 17 especies estudiadas eran de 1,86 ppm. En lo que respecta al reactor de desnitrificación el agua de entrada fue el agua saliente del reactor de nitrificación operado con conchas. Como inóculo se seleccionó un lodo de una EDAR urbana con proceso de nitrificación-desnitrificación junto con bacterias nitrificantes de acuario.

Tal y como se puede ver en el esquema de la Figura 1 para uno de los reactores, se fabricaron tres reactores cilíndricos de volumen útil de 5L con flujo ascendente y bombas para su control.

Se montaron dos reactores de nitrificación, uno con conchas y el otro con biobolas comerciales (Figura 2) el tercero fue un reactor de desnitrificación con conchas, que se montó a la vez que los otros dos, pero se arrancó una vez los equipos de nitrificación tuvieron un estado estacionario estable.

Los reactores de nitrificación se inocularon recirculando la biomasa durante unas horas para garantizar la máxima fijación. Tras aclimatar el inóculo mediante recirculación en continuo durante 24 horas se comenzaron a alimentar los reactores en continuo con una carga de 96,15 ppm NH_4Cl/L (para tener 25 ppm de $N-NH_4^+$) y 345 ppm de acetato sódico (para tener 100 ppm de C) como fuente de carbono. Se fue variando el tiempo de residencia (TRH) para observar la eficacia de eliminación a distintos TRH y se realizaron mediciones de pH. La monitorización de la concentración de amonio, nitritos y nitratos se llevó a cabo de 2-3 veces por semana. Esto permitió hacer un seguimiento controlado de los reactores y observar la eficiencia de eliminación de nitrógeno en ambos equipos, así como la acumulación de intermedios de reacción.

Los reactores de nitrificación se operaron durante casi 120 días con concentraciones de amonio que variaron de los 25 ppm iniciales a los 5 ppm y con dos TRH distintos 1 y 0,5 días. Por su parte, el reactor de desnitrificación operó durante 70 días con la salida del reactor de nitrificación con conchas de mejillón.

Tal y como se puede ver en la Figura 3, los resultados muestran que con los filtros de biobolas se consiguió la eliminación casi del 100% a concentraciones de 15, 10 y 5 ppm y TRH 1 día. Se

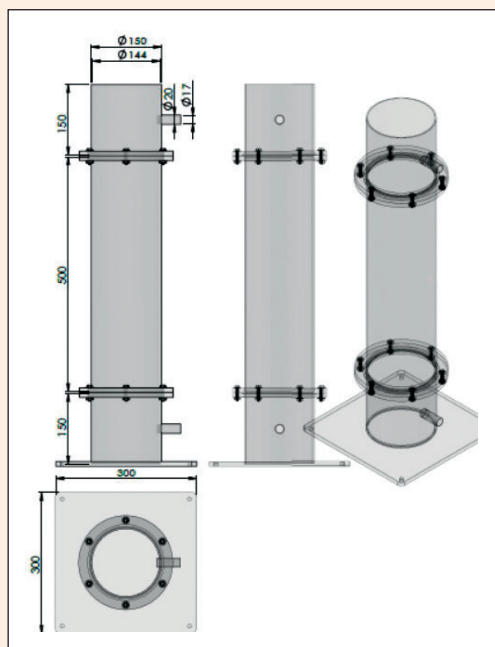


Fig. 1. Esquema de los biofiltros de laboratorio.

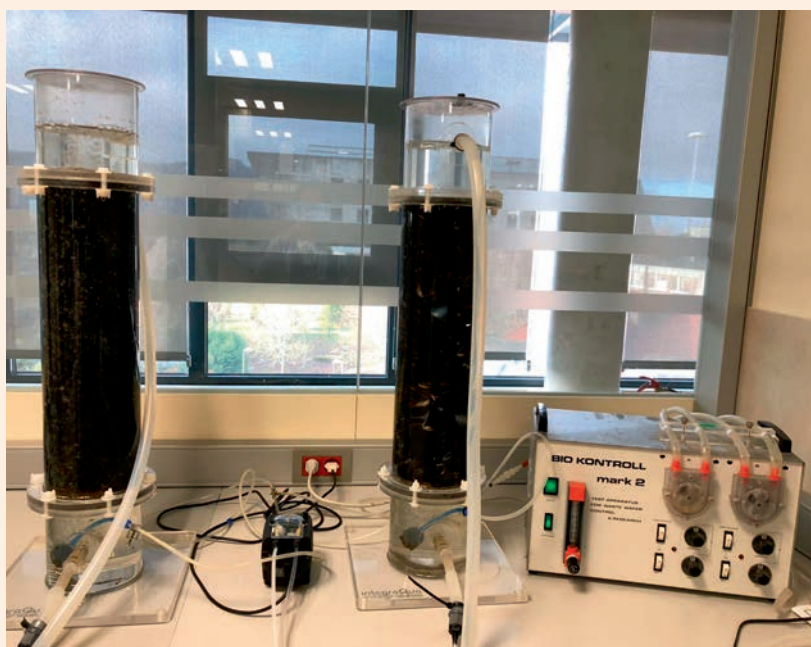


Fig. 2. Fotografía de los biofiltros de laboratorio: conchas (dcha.), biobolas (izda.).

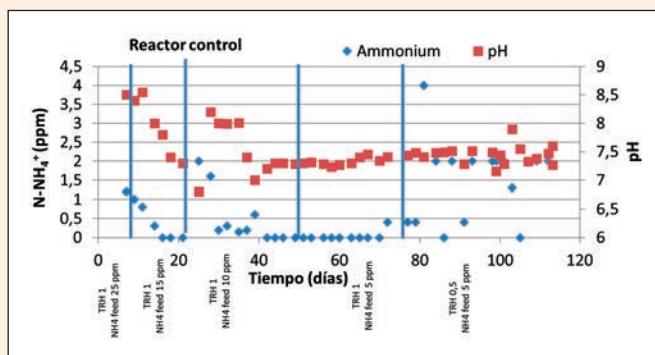


Fig. 3. Resultados de nitrificación con biofiltro de biobolas.

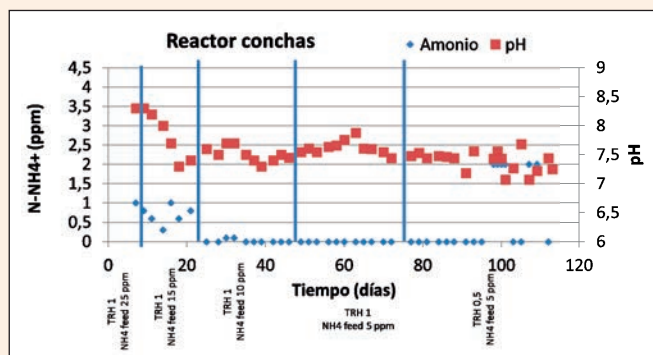


Fig. 4. Resultados de nitrificación con biofiltro de conchas de mejillón.

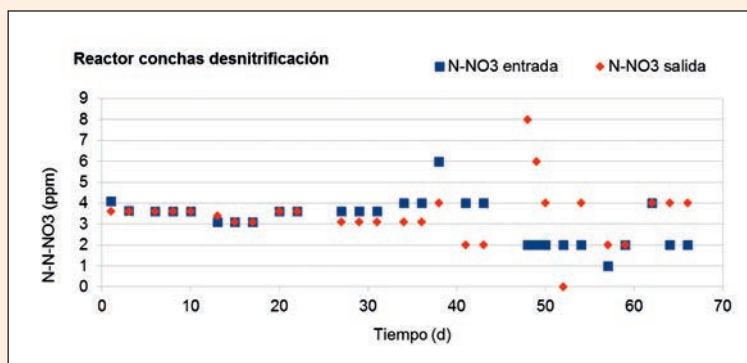


Fig. 5. Resultados de desnitrificación con biofiltro de conchas de mejillón.

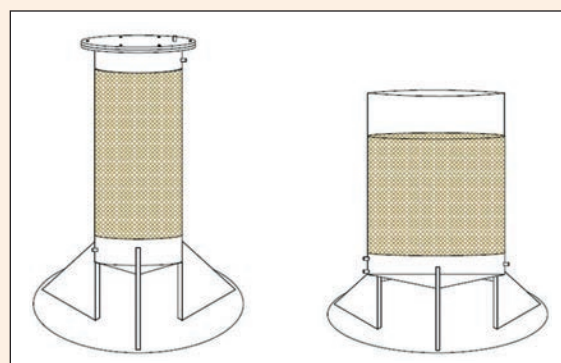


Fig. 6. Esquema 3D del sistema de desnitrificación (izquierda) y del tanque de nitrificación (derecha).



Fig. 7. Diversas fotografías del proceso de montaje del sistema piloto de desnitrificación/nitrificación en la planta de acuicultura.

registraron ciertos problemas en los últimos días por la subida del amonio sin explicación aparente puesto que ya llevaba una semana a TRH 0,5 días, por lo que la estabilidad a este TRH no se comprobó en esta etapa en laboratorio. Las bajadas puntuales de pH se compensaron con bicarbonato.

Por su parte, con los filtros de conchas (Figura 4), se consiguió una eliminación de casi del 100% a concentraciones de 10 y 5 ppm y TRH 1 día y a 5 ppm y 0,5 días de TRH, excepto en los últimos días, que se produjeron subidas del amonio. Además, en este caso, no se registraron problemas de pH.

En cuanto a la desnitrificación, se operó con un TRH de 1-1,5 d, alimentando la salida del reactor de nitrificación con conchas, pero los resultados no fueron satisfactorios (Figura 5) puesto que no se consiguió la eliminación esperada de nitrato, e incluso las medidas eran inconsistentes con entradas mayores que salidas.

Los resultados obtenidos en esta primera parte del estudio indicaron que las conchas permiten tasas de eliminación

de amonio y nitrito iguales al reactor control con biobolas. Además, en el reactor de nitrificación con conchas no fue necesario emplear buffers para el control del pH y evitar con ello la caída del mismo.

Cabe destacar que, aunque la desnitrificación no fue buena, al contrario que el amonio y el nitrito, que son tóxicos a concentraciones bajas, -el nitrito debería mantenerse por debajo de 0,5 (Klontz 1991) o incluso menor a 0,1 según algunos autores (Blanco 1994, Hochheimer 1997)-, los valores de nitrato no son especialmente tóxicos para los peces definiéndose límites de tolerancia que llegan a 400 ppm (Lawson 1995) e incluso a 800 ppm (Blanco 1994). Sin embargo, aunque para los peces no resulten tóxicos deben cumplirse los límites de vertido y debe de tratar de reducirse en la medida de lo posible.

Como no se consiguió desnitrificar, para la fase de diseño se pensó en un sistema que permitiese mejorar la tasa de desnitrificación mediante la modificación de la configuración del reactor.

2. Diseño, construcción y operación del biofiltro piloto

En esta segunda actividad se realizó el dimensionamiento de los biofiltros de desnitrificación y nitrificación de agua residual de piscifactoría, y el cálculo de la cantidad de conchas necesarias para el experimento piloto, así como un dimensionamiento de las bombas de alimentación y recirculación.

Con los datos de rendimiento de los biofiltros a escala laboratorio y los parámetros típicos de diseño de biofiltros percoladores el equipo de la Universidad de Valladolid llevó a cabo el diseño de los sistemas piloto que se presenta en la Figura 6. Una vez diseñado el sistema piloto se procedió a su construcción e implementación.

El sistema piloto se montó en la planta del Grupo Tres Mares (Figura 7) en Lires (Cee, Coruña). Los biofiltros de nitrificación y desnitrificación se rellenaron con conchas de mejillón procedentes de un cocedero de mejillón, y se inoculó el biofiltro con una mezcla de lodo de EDAR urbana con bacterias nitrificantes de acuario al igual que se había realizado en los sistemas de laboratorio, aunque, en este caso, con menos proporción de lodo de EDAR.

Los tanques de alimentación se rellenaron con agua de la planta de acuicultura con una dosis externa de acetato de amonio, lo cual permitió mantener una alimentación de 5 ppm de amonio de entrada, y con un tiempo de residencia aproximado de 1 día en un equipo de volumen útil de 300L. El sistema piloto estuvo operando en torno a 10 semanas, durante las cuales se realizaron mediciones de pH y seguimiento de la concentración de amonio, nitritos y nitratos unas 2-3 veces por semana. Además, se monitorizó la eliminación de materia orgánica en fase ya estacionaria. Los datos obtenidos del seguimiento controlado de los reactores permitieron calcular la eficiencia de eliminación de nitrógeno en ambos equipos y la acumulación de intermedios de reacción.

Los resultados de los ensayos piloto se pueden ver en la Figura 8, para las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato, así como el seguimiento del pH.

Tal y como se puede apreciar en la Figura 8, la eliminación del amonio y del nitrito fue del 100% en los últimos 20 días de operación, mientras que la concentración de nitrato se redujo en los últimos días indicando que la desnitrificación era adecuada, al contrario de lo que sucedió a escala laboratorio donde el nitrato no se eliminaba con las conchas. Por tanto, se puede decir que los biofiltros tienen una capacidad de eliminación de 5 ppm por día de nitrógeno amoniacal. Aunque este valor está lejos de los 30-40 ppm por día que se ha

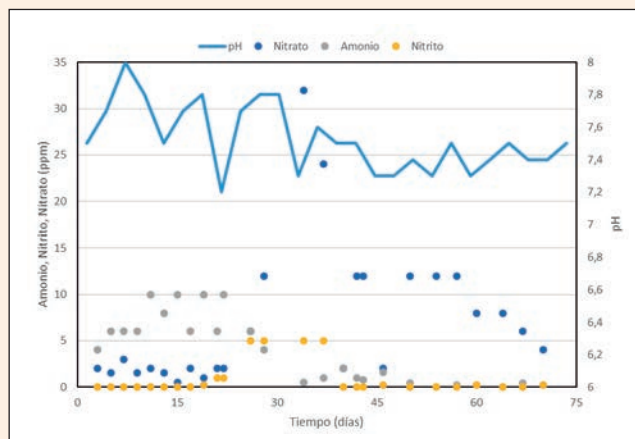


Fig. 8. Concentración de amonio, nitrito y nitrato (eje vertical primario) y pH (eje secundario) en el reactor del sistema piloto de desnitrificación/nitrificación con conchas de mejillón.

conseguido en filtros lowcost con rellenos de madera con y sin residuos de patatas (Kiani *et al.*, 2020), es porque se quiso evaluar la concentración de agua real de la planta y no maximizar la operación del equipo, que podría evaluarse más adelante. La idea era testar con efluente real con concentraciones de otros compuestos (restos de sólidos, de alimento, etc., que quedasen en el efluente de la planta) y que se ha visto no han causado ningún problema para la eliminación de nitrógeno.

El pH se mantuvo estable entre 7,8 y 7,2 la mayor parte de la operación sin necesidad de fuentes de alcalinidad externas. Por otra parte, también se hizo seguimiento de la concentración de fosfatos que fue baja, apreciándose eliminación en la fase final (resultados no mostrados).

Los análisis de Carbono Orgánico Total (TOC) en muestras de entrada y salida indicaron una eliminación de materia orgánica en torno al 45-55% (datos no mostrados).

En definitiva, los resultados muestran que el uso de concha de mejillón conllevó una mayor estabilidad en el proceso de nitrificación, tanto con 1 día de tiempo de residencia a 5, 10 y 15 ppm de $N-NH_4^+$, como con 0.5 días y 5 ppm de $N-NH_4^+$.

CONCLUSIONES

En los últimos años, el sector acuícola está apostando por el desarrollo de vías sostenibles y procesos innovadores para mantener su gran potencial de crecimiento, permitiendo al mismo tiempo mejorar la gestión medioambiental de las plantas.

En este sentido, como se ha explicado anteriormente, el objetivo principal de este trabajo de investigación fue el diseño e instalación de un biofiltro para la depuración de agua de acuicultura con relleno de material residual de la actividad acuícola, como es la concha de mejillón, para su futura implementación en un sistema de recirculación de agua, con el objetivo final de reducir el consumo de agua de este sector.

Las conclusiones principales del estudio han sido:

- Se ha comprobado una eficacia de los sistemas de relleno de conchas respecto a los rellenos de biobolas similar en eliminación de nitrógeno; los resultados indican que se produce una buena eliminación de amonio y nitrito y casi 100% de eliminación de nitrato.
- El uso de la concha evita tener problemas de pH en los biofiltros.
- El escalado mejoró los resultados respecto a la eliminación de nitrato respecto a laboratorio, pero tuvo un peor arranque, más lento que en los experimentos de laboratorio, probablemente porque se inoculó poca proporción de lodo nitrificante de EDAR, por lo que la selección del inóculo de partida parece importante para favorecer el arranque rápido del proceso.
- Se emplea muy poca cantidad de residuo ya que no se acumulan biofilms en periodos cortos y por ello no hay necesidad de reposición del relleno.

Por lo tanto, aunque en términos de uso de concha la tasa de reposición del relleno no supone un consumo importante para toda la que se genera en Galicia, la tecnología ha sido validada y su uso se podría extender a otros proyectos de tratamiento de aguas residuales de industria o incluso municipales.

Además, el trabajo ha puesto de manifiesto que no es necesario el uso de plásticos para la correcta eliminación del nitrógeno, confirmando claramente su viabilidad medioambiental. El futuro pasa ahora por la evaluación del proceso durante periodos de tiempo más prolongados y a escala industrial, para evaluar su viabilidad económica.

Los resultados del este estudio son prometedores y permiten poder pensar en mejorar los sistemas de recirculación de piscicultura, de manera que sean sostenibles y lowcost, en línea con los principios de la economía circular.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido desarrollado en el marco del proyecto BIOSHELL, coordinado por ANFACO-CECOPECA, con la colaboración del Instituto de Procesos Sostenibles de la Universidad de Valladolid, financiado por el Programa pleamar a través de la convocatoria para el fomento e impulso de la sostenibilidad pesquera y acuícola, y cofinanciado por el Fondo Europeo Marítimo y de Pesca (FEMP), con el apoyo del Ministerio para la Transición Ecológica, a través de la Fundación Biodiversidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kiani, S.; Kujala, K.; Pulkkinen, J.; Aalto, S. L.; Suurnäkki, S.; Kiuru, T.; Ronkanen, A. K. (2020). Enhanced nitrogen removal of low carbon wastewater in denitrification bioreactors by utilizing industrial waste toward circular economy. *Journal of Cleaner Production*, 119973.
2. Klontz, G. W. 1991. *Manual for Rainbow Trout Production on the Family-Owned Farm*. Nelson & Sons, Inc. Murray, Utah. 71
3. Blanco, M. C. 1994. *La Trucha, cria industrial*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
4. Hochheimer, J. N. 1997. *Water Chemistry in Recycle Systems*. In: *Proceedings of the 1997 North Central Regional Aquaculture Conference*. CES-305. Edited by LaDon Swann, Illinois-Indiana Sea Grant Program.
5. Lawson, T. 1995. *Fundamentals of Aquacultural Engineering*. Chapman & Hall. EE.UU.
6. USEPA (United States Environmental Protection Agency) 1984. *Ambient water quality criteria for ammonia-1984*. National Technical Information Service, Springfield, VA.
7. USEPA 1989. *Ambient water quality criteria for ammonia (saltwater)*. National Technical Information Service, Springfield, VA.

RIESGOS PARASITOLÓGICOS EN LA PRÁCTICA DE LA CAZA MAYOR: EL JABALÍ

Adrián Roo González, Miguel Arbones Broullón, Raúl Iglesias Blanco, Cristina Arias Fernández, Ignacio Pastor Herranz

Laboratorio de Parasitología. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología, Universidade de Vigo.

Palabras clave: Parásito, Hospedador, Epizootia, Zoonosis, Caza Mayor.

INTRODUCCIÓN

La caza en España es un recurso renovable que ha tenido en los últimos años un desarrollo ascendente en lo que se refiere al número de usuarios y cotos. Existe la Caza Mayor y la Caza Menor. La principal diferencia entre la caza mayor y la caza menor es el tamaño de los animales. La caza mayor se define como el tipo de caza que permite perseguir animales más grandes que un zorro común, mientras que la caza menor solo se practica con animales de menor tamaño que un zorro. De esta forma, se pueden clasificar las diferentes presas según pertenezcan a un tipo de caza o al otro. Los animales de caza mayor son: jabalí, ciervo ibérico, corzo, gamo, cabra hispánica, etc. y caza menor: conejo, liebre, faisán, codorniz, paloma y, por supuesto, la perdiz roja. Además del tamaño de la presa, hay otra diferencia clave entre caza mayor y menor: el coto de caza. La superficie mínima para conseguir dicha condición en el caso de la caza menor es de 250 hectáreas. En el caso de la caza mayor, la superficie mínima es de 500 hectáreas.

Para regular todo tipo de caza, existen las correspondientes federaciones. La Federación Gallega de Caza (FGC) se constituyó en Santiago de Compostela, el 25 de enero de 1985, conforme al Decreto de la Xunta de Galicia 228/1994, de 14 de julio, regulado por la Orden 28-7-1995 de la Consellería de Presidencia y Administración Pública. Actualmente además de sus propios estatutos le son de aplicación la Ley General del Deporte de Galicia y otras normas que la desarrollan.

La FGC que tiene cuatro federaciones, una en cada provincia, está en la estructura de la Real Federación Española de Caza.

El jabalí (*Sus scrofa*) es un mamífero artiodáctilo de la Familia de los Suidos. Sin duda su caza es muy anterior por parte del hombre prehistórico, pero se han encontrado indicios de domesticación con una antigüedad de 9000 años en Grecia y Anatolia, criándose en cautividad. Los habitantes de Micenas lo consumieron mucho y adornaron sus más hermosos cascos de guerra, con sus magníficas defensas. Desde entonces, y para muchas civilizaciones, ha representado una fuente de proteínas fundamental hasta hoy en día, que lo es más que nunca.

Por otra parte el jabalí en el medio natural, es un animal que presenta interacción con otras especies. En pastos subalpinos hozados por el jabalí aumenta el tamaño y contenido en nutrientes de los bulbos de plantas geófitas (Palacio *et al.*, 2013). El hozado del jabalí en suelos de prados alpinos altera las comunidades de semillas y las homogeniza (Bueno *et al.*, 2011). El uso de los pastos por el ganado y el hozado de los jabalíes afectan a las comunidades de lombrices (Bueno y Jiménez, 2014). El jabalí actúa como depredador y como dispersante de semillas. La proporción de semillas depredadas y dispersadas varía entre especies. Hay también interacciones entre jabalíes y ganado vacuno y porcino en puntos de agua, lo que puede facilitar la transmisión de *Mycobacterium bovis* (Kukielka *et al.*, 2013).

El jabalí tanto por su tamaño como por su dieta, cuenta con numerosos parásitos y enfermedades, algunas de Declaración Obligatoria (EDO) como la triquinosis. Además, al pertenecer a la misma Familia que el cerdo (*Sus scrofa domestica*) también *Sus domestica* presenta el mismo tipo de parásitos, muchos de ellos zoonóticos.

Otro elemento importante en la caza, son los perros. Los perros de caza, por su propia actividad, el ambiente en el que se desenvuelven y sobre todo por su estrecho contacto con determinadas especies cinegéticas, se exponen a una serie de enfermedades, algunas mortales, que es importante conocer y prevenir.

MATERIALES Y MÉTODOS

Por todo lo anteriormente expuesto y siguiendo nuestra línea de trabajo en epidemiología, epizootias y zoonosis, hemos realizado un estudio sobre parásitos del jabalí y de los perros de caza. Como algunos de los parásitos del jabalí, aunque eliminan huevos en heces, los adultos viven en los pulmones, además de los análisis de coprología parasitaria, realizamos disecciones de pulmones para encontrar los parásitos adultos y también vaciado de intestinos para detectar la presencia de parásitos adultos intestinales. Los lugares de muestreo fueron los cotos de caza de los municipios de O Irixo y Borborás en la Provincia de Ourense y el muestreo, durante la época de caza (15/09/2019-1/03/2020). Las muestras fecales se recogieron según la metodología habitual en envases de polietileno estériles y etiquetados. Junto con cada envase, se adjuntaba una ficha técnica para cumplimentar.

En el caso de los jabalíes, se recogieron heces encontradas en el medio externo dentro del coto de caza y, una vez abierto el animal, las heces que se encontraban en el intestino realizando a la vez, un análisis visual para detectar la presencia de parásitos adultos. Las muestras fecales de perros se recogieron, antes y después de haber acudido al coto de caza.

Los pulmones de los jabalíes se recogieron en bolsas de un solo uso y se introdujeron en un recipiente nevera para su traslado al laboratorio.

Una vez las muestras fecales en el laboratorio, se procedió a realizar la metodología siguiente:

Examen Macroscópico

Se aprecia la consistencia de las heces según la escala de heces de Bristol y se establece la presencia o ausencia de proglótidos de Cestodos, parásitos enteros, sangre, moco u otros elementos anormales.

Examen Microscópico

Por este examen podremos encontrar pequeños Helmintos adultos, sus huevos y larvas, trofozoitos y quistes de Protozoos; así como Pseudoparásitos: células muertas del organismo, células epiteliales, glóbulos rojos, objetos inertes (cristales) hongos, células vegetales, gránulos de almidón y polen, que pueden confundirse con quistes y huevos, así como fibras vegetales o pelos de plantas y animales que producen confusión con larvas de Nematodos. Especial mención merecen los Ácaros microscópicos (Ácaros del polvo, harinas...).

Examen microscópico directo

Se realizaron frotis de todas las muestras que se observaron directamente al microscopio.

Examen microscópico previa concentración

Se realizaron las dos técnicas de concentración de muestras fecales utilizadas rutinariamente en un laboratorio de diagnóstico parasitológico: la sedimentación con formalina-acetato de etilo (Método de Ritchie modificado) y la flotación con una solución Saturada de Sulfato de Zinc. Ambas técnicas permiten **concentrar las formas parasitarias presentes en la muestra fecal incrementando la probabilidad de detección.**

Se homogenizaron las heces (dos tubos por muestra) con formalina al 10% y se centrifugaron a 500 g durante 10 minutos. Se eliminó el sobrenadante y los sedimentos se emplearon para la realización de las dos técnicas.

Índices Ecoparasitológicos

Como en el caso de las muestras fecales recogidas en el medio externo, no podíamos saber a qué animal pertenecían, de todos los Índices Ecoparasitológicos solo se pudo calcular la Prevalencia de la infección global y de las infecciones para cada tipo de parásito encontrado, según la fórmula:

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ de hospedadores parasitados} * 100}{N^{\circ} \text{ total de hospedadores examinados}}$$

Una vez en el laboratorio, los pulmones de los animales seleccionados, se guardaron en cámara fría a 4°C, hasta el momento de su disección. La disección se llevó a cabo con sumo cuidado, para no romper a los parásitos adultos, abriendo los conductos y alveolos pulmonares.

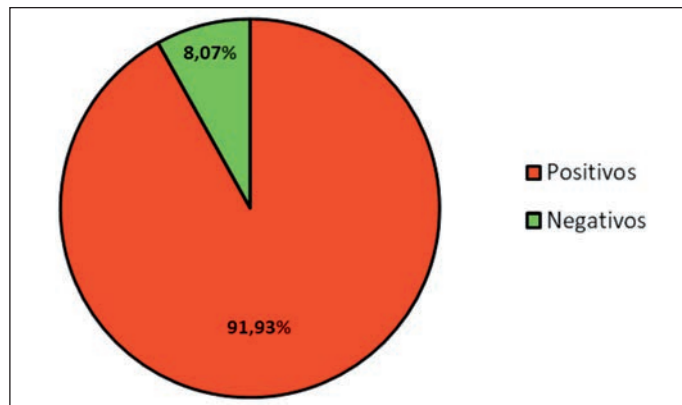


Gráfico 1: Porcentaje de ejemplares diferenciados según la presencia o ausencia de parásitos en las muestras.

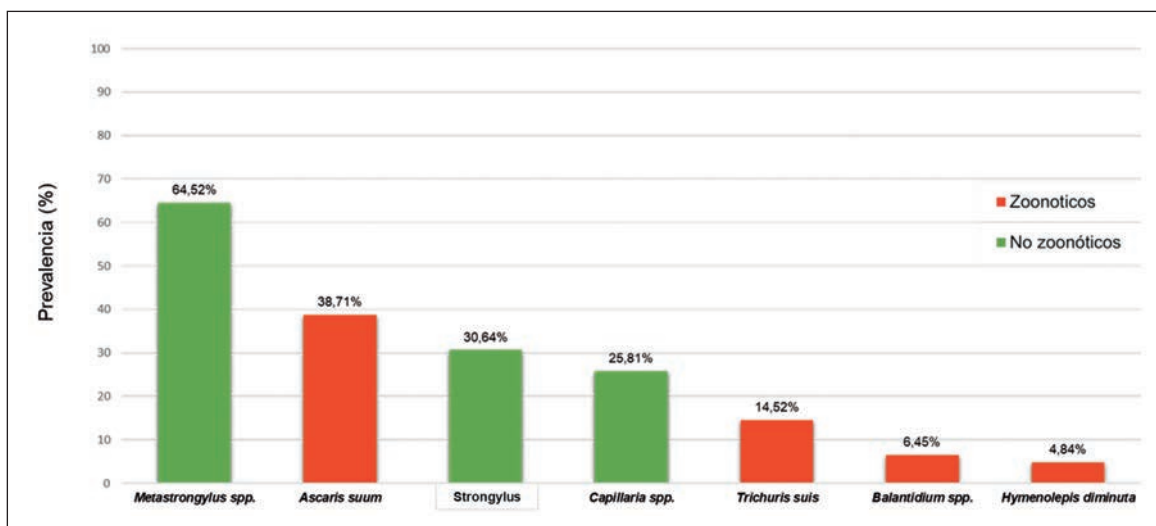


Gráfico 2: Prevalencia de las distintas especies de parásitos identificadas y diferenciadas según su potencial zoonótico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La población de jabalíes analizada se compone de 63 individuos para los que se realizaron un total de 372 repeticiones entre las dos técnicas de análisis coproparasitológico, complementadas con 24 disecciones pulmonares.

Los resultados muestran un elevado porcentaje de parasitación en la población estudiada, donde casi el 92% de las muestras fecales analizadas, tanto las recogidas en el medio externo como las del contenido intestinal, presentaron al menos, una especie de parásito y sólo resultaron negativas el 8,07% (Gráfico 1). Los valores de prevalencia por especies, se muestra en el Gráfico 2. Todos los parásitos encontrados pertenecen

a tres grandes grupos taxonómicos: Protozoos (*Balantidium spp.*), Cestodos (*Hymenolepis diminuta*) y Nematodos (*Ascaris suum*, *Trichuris suis*, *Strongylus spp.* y *Metastrongylus spp.*). Los pulmones de los jabalíes analizados que presentaban adultos de *Metastrongylus spp.*, también presentaban huevos en heces. Todas estas especies, salvo *Hymenolepis diminuta*, son parásitos de ciclo biológico directo en los cuales el suelo y las condiciones del medio juegan un papel importante en su transmisión.

Es interesante destacar la presencia de *Hymenolepis diminuta* en 3 ejemplares muestreados ya que esta es una especie parásita típica de roedores. También es importante destacar



Huevo de *Hymenolepis diminuta*.



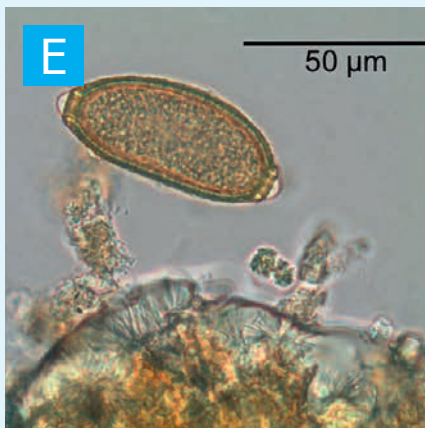
Trofozoito de *Balantidium* spp. con su característico núcleo arríonado.



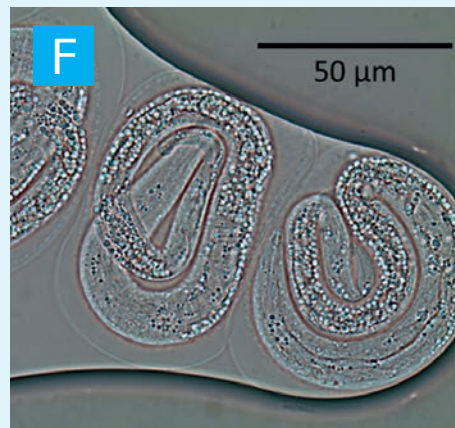
Huevos de *Trichuris suis*.



Huevo de *Ascaris suum*.



Huevo de *Capillaria* spp.



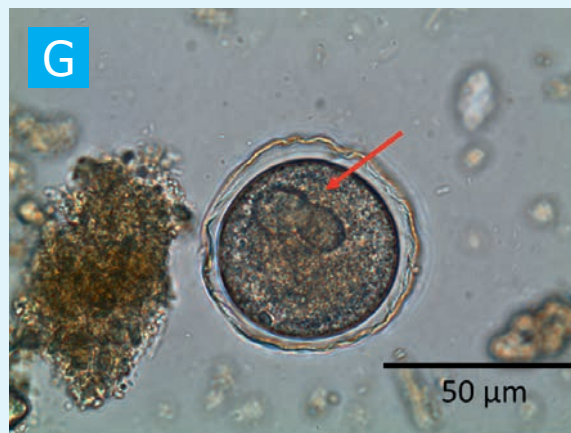
Larvas de *Metastrongylus* spp. extraídas de adultos en pulmón.



Huevo de *Metastrongylus* spp.



Ejemplar adulto de *Ascaris suum* extraído de intestino delgado.



Quiste de *Balantidium* spp.

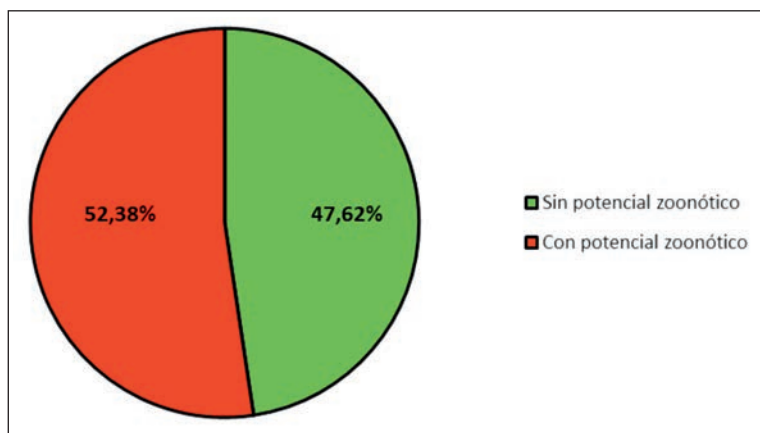


Gráfico 3: Porcentaje de muestras analizadas con al menos una especie de parásito zoonótico frente al de muestras con parásitos no zoonóticos.

que de las 7 especies encontradas, 4 (57,14%) tienen carácter zoonótico lo que supone un riesgo para la salud humana. (Leventhal et Cheadle, 2012).

En el Gráfico 3 se representa el porcentaje de muestras analizadas con al menos una especie de parásito zoonótico frente al de muestras con parásitos no zoonóticos.

En todos los trabajos revisados podemos comprobar que las prevalencias de los parásitos encontrados en jabalíes, son relativamente heterogéneas y muy diferentes dependiendo del tipo de parásito. En los parásitos que tienen una fase de desarrollo en el medio externo, suelo-hierba, son fundamentales para su supervivencia, la humedad y la

temperatura suave. Los parásitos de ciclo biológico directo son más frecuentes en este tipo de ambientes. La falta de humedad, la desecación, provoca la destrucción de las fases de vida libre del parásito. Por ello, al comparar nuestros valores de prevalencia (Gráfico 2) con los valores de otros estudios encontramos en algunos casos, resultados muy diferentes. El ejemplo más notable de estas diferencias ocurre con *Ascaris suum*, que presenta prevalencias de entre el 2-3% en zonas como Cuenca o Jaén frente al 38,71% obtenido en nuestro estudio. Sin embargo, nuestro resultado si se asemeja a los obtenidos por otros autores en otros sitios de España, 38% (Respaldiza Cardenosa, 2007), 37,25% (Fernández-Llario, 2014) y 39,45% (García Vallejo, 1999).

A su vez, las prevalencias obtenidas en otras especies como *Metastrongylus spp.* si que coincidirían con los valores medios reportados en general en España (Respaldiza Cardeñosa, 2007) (García González *et al.* 2013).

Para el ser humano estas infecciones, si son ligeras, suelen cursar de forma asintomática. Las malas condiciones de salubridad o un estado de inmunodepresión aumentan el riesgo de padecer los síntomas que varían desde afecciones digestivas como náuseas o pérdida de peso hasta complicaciones más severas con patologías graves debido por ejemplo, a la migración de las larvas por el cuerpo conocido como *larva migrans*.

En el caso de *Hymenolepis diminuta*, su presencia en suinos apenas ha sido reportada y los estudios que la identifican lo hacen con una muy baja prevalencia, como es el caso de un muestreo en jabalíes en Túnez donde no supera el 0,4% (Lahmar *et al.*, 2019). Al ser un parásito de ciclo biológico indirecto, su hallazgo nos indica que en la zona donde viven los jabalíes parasitados, hay los hospedadores intermediarios necesarios para cerrar su ciclo biológico.

En los análisis coprológicos realizados a los perros de caza, no aparecieron casos positivos.

CONCLUSIONES

La actual superpoblación de jabalíes en la Comunidad de Galicia puede derivar en un incremento de la prevalencia de parásitos presentes en el medio o albergando especies parasitarias poco comunes.

Debido a la elevada presencia que estos animales tienen en el medio rural, prácticas como la actividad cinegética pueden aumentar el riesgo de infección por enfermedades zoonóticas no solo al entrar en contacto con jabalíes infectados, sino también con su entorno, donde sus heces pueden actuar como un foco de infección.

A pesar de que las parasitosis que causan las especies identificadas no suelen suponer un riesgo grave para la salud humana, es importante conocer en qué estado se encuentra la creciente población de jabalíes.

El cumplimiento de medidas de precaución, como la higiene, en personas que estén en contacto con estos animales puede prevenir enormemente el impacto de las enfermedades infectocontagiosas.

El correcto control sanitario de los perros favorece su salud y bienestar y también contribuye a la disminución de las zoonosis.

Por último hemos de considerar que todos los parásitos son componentes ocultos de la biodiversidad.

DISPOSICIONES:

CONSELLERÍA DE MEDIO AMBIENTE, TERRITORIO Y VIVIENDA:

1. RESOLUCIÓN de 15 de mayo de 2019 de la Dirección General de Patrimonio Natural, por la que se determinan las épocas hábiles de caza, las medidas de control por daños y los regímenes especiales por especies durante la temporada 2019/2020. DOG Núm.: 102, de 31 de mayo de 2019.
2. RESOLUCIÓN de 27 de septiembre de 2019 de la Jefatura Territorial de Ourense, por la que se declara la emergencia cinegética temporal por los daños ocasionados por el jabalí en la comarca de Viana. DOG 192, de 9 de octubre de 2019.
3. RESOLUCIÓN de 27 de septiembre de 2019 de la Jefatura Territorial de Pontevedra, por la que se declara la emergencia cinegética temporal por los daños ocasionados por el jabalí en la comarca de Deza. DOG 192, de 9 de octubre de 2019.
4. RESOLUCIÓN de 27 de septiembre de 2019 de la Jefatura Territorial de A Coruña, por la que se declara la emergencia cinegética temporal por los daños ocasionados por el jabalí en las comarcas de Betanzos y Eume. DOG 192 de 9 de octubre de 2019.
5. RESOLUCIÓN de 27 de septiembre de 2019 de la Jefatura Territorial de Lugo, por la que se declara la emergencia cinegética temporal por los daños ocasionados por el jabalí en la comarca de Terra Chá. DOG 192, de 9 de octubre de 2019.
6. Ley 13/2013, de 23 de diciembre, de caza de Galicia. Presidencia de la Xunta de Galicia. DOG Núm. 4, miércoles, 8 de enero de 2014, 525-595.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecimiento a D. Manuel Roo García, Jefe responsable de la cuadrilla de Caza Mayor: Criquiñolas & Rei de copas y a todos sus integrantes sin cuya ayuda y apoyo no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aya Masudaa, Kaede Kameyamaa, Miho Gotoa, Kouichiro Narasakib, Hirotaka Kondoa, Hisashi Shibuyaa, Jun Matsumotoa (2019) *Eucoleus garfiai* (Gállego et Mas-Coma, 1975) (Nematoda: Capillariidae) infection in wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) from the Amakusa Islands, Japan
a) Department of Veterinary Medicine, College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252-0880, Japan;
b) Narasaki Animal Medical Center, 133-5 Hondomachi-Hirose, Amakusa, Kumamoto 863-0001, Japan.
2. Bueno, C. G.; Jiménez, J. J. (2014). Livestock grazing activities and wild boar rooting affect alpine earthworm communities in the Central Pyrenees (Spain). *Applied Soil Ecology*, 83, 71-78.
3. Bueno, C. G.; Reine, R.; Alados, C. L.; Gómez-García, D. (2011). Effects of large wild boar disturbances on alpine soil seed Banks. *Basic and Applied Ecology*, 12 (2): 125.
4. Fernández Llario, P. (2014). El jabalí (*Sus scrofa*, Linnaeus 1758). E.V.M. https://digital.csic.es/bitstream/10261/112581/susscr_v4pdf
5. Foata, J.; Culioli, J. L., and Marchand, B. (2005). Helminth fauna of wild boar in Corsics. *Acta Parasitologica* 56 (2): 168-170.
6. García González, A. M.; Pérez Martín, J. E.; Gamito Santos, J. A.; Calero Bernal, R.; Alcalde Alonso, M., y Frontera Carrión, E. M. (2013). Epidemiologic Study of lung Parasites (*Metastrongylus spp*) in Wild Boar (*Sus scrofa*) in Southwestern Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 49 (1): 157-162.
7. García Vallejo, Tomás B. (1999). Endoparasitosis del porcino ibérico en Extremadura (España). Epidemiología y control. Tesis Doctoral Cátedra de Parasitología; Departamento de Medicina y Sanidad Animal. UNEX. www.pcid.es/public.htm.
8. Humbert, J. F., and Henry, C. (1989). Estudios on the prevalence and the transmission on lung and stomach Nematodes of the Wild boar (*Sus scrofa*) in France. *Journal of Wildlife Diseases* 25 (3): 335-341.
9. Kukielka, E.; Barasona, J. A.; Cowie, C. E.; Drewe, J. A.; Gortazar, C.; Cotarelo, I.; Vicente, J. (2013). Spatial and temporal interactions between livestock and wildlife in South Central Spain assessed by camera traps. *Preventive Veterinary Medicine*, 112 (3-4): 213-221.
10. Kukielka, D., Rodríguez-Prieto, V.; Vicente, J.; Sánchez-Vizcaíno, J. M. (2016). Constant Hepatitis E Virus (HEV) Circulation in Wild Boar and Red Deer in Spain: An Increasing Concern Source of HEV Zoonotic Transmission. *Transboundary and Emerging Diseases*, 63 (5): E360-E368.
11. Lahmar, S., et al. (2019) *Cystic echinococcosis and other helminth infections of wild boar in northeastern and northwestern regions of Tunisia*, Parasitology. Cambridge University Press, 146 (10), pp. 1263–1274.
12. Leventhal, R., and Cheadle, R. F. (2012) *Medical Parasitology: A Self-instructional*, 6ª edición, Text. F.A. Davis Company, Philadelphia.
13. Palacio, S.; Bueno, C. G.; Azorín, J.; Maestro, M.; Gómez-García, D. (2013). Wild-boar disturbance increases nutrient and C stores of geophytes in subalpine grasslands. *American Journal of Botany*, 100 (9): 1790-1799.
14. Respaldiza Cardeñosa, E. (2007) *El jabalí, Sus scrofa (L. 1758). Consideraciones epizootológicas sobre algunas parasitosis y técnicas de diagnóstico para su control*, Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias, 15(15), pp. 139–170.
15. S. Solaymani-Mohammadi, I.; Mobedi, M.; Rezaian, J., Massoud, M.; Mohebbali, H.; Hooshyar, K. Ashrafi and M. B. Rokni (2003). Helminth parasites of the wild boar, *Sus scrofa*, in Luristan province, western Iran and their public health significance. *Journal of Helminthology* 77: 263-267.



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE ECONOMÍA,
EMPREGO E INDUSTRIA



INSTITUTO CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGIA