

BIOLOGOS

REVISTA
DEL COLEGIO
OFICIAL DE
BIÓLOGOS DE LA
COMUNIDAD
DE MADRID



2004/TRIMESTRE II/NÚM. 4



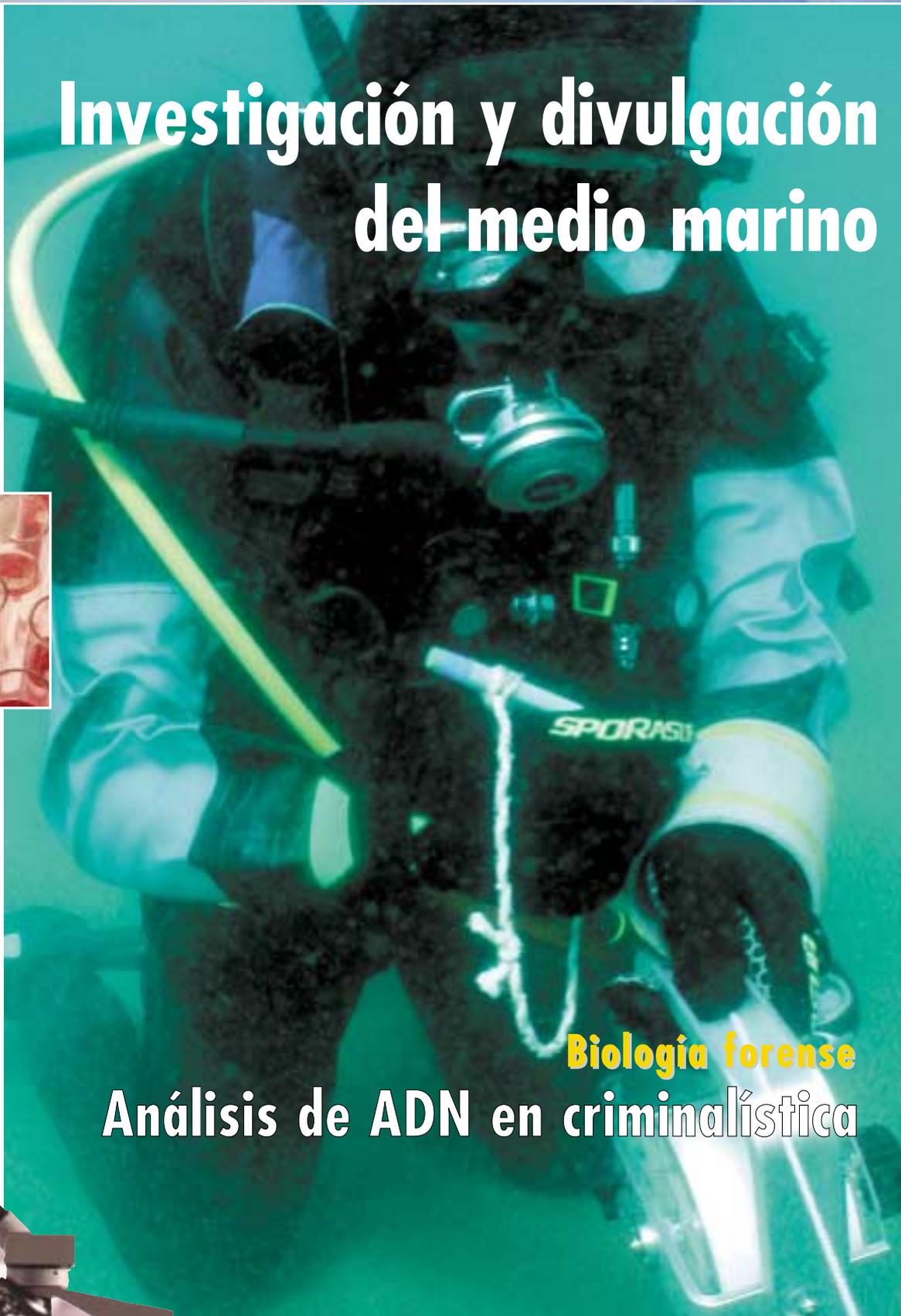
Entrevista
**A D. José Frutos
García García**

Director del Servicio de
Sanidad Ambiental del Instituto
de Salud Pública de la
Comunidad de Madrid. Pág. 17



Biología forense
**Análisis de ADN
en criminalística (III)**
(Continuación)

En biología forense, la degradación
de las muestras y su escasez constitu-
yen un reto. Pág. 20



Investigación y divulgación del medio marino

Biología forense Análisis de ADN en criminalística

Colegio Oficial de Biólogos
de la Comunidad de Madrid

iberSaf
EDITORES

Biotecnología El secreto está en los genes

Permitirá un pronóstico bastante seguro del enfermo y pautar el tratamiento más eficaz. Pág. 11



Diprolab

Productos de laboratorio



Oportunidad única
en instrumentación.

Primeras marcas:

- bioquímica,
- hematología,
- coagulación,
- iones, etc.



Compra, venta y alquiler.

Reactivos
(adaptaciones a todos
los equipos).



Asistencia técnica
y mantenimiento.

Edita:
Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid

Director:
José Manuel Cejudo Ruiz

Responsable de comunicación:
Rubén Álvarez Llovera

Consejo Editorial:
Emilio Pascual Domínguez
Ángel Fernández Ipar

Editor:
José Luis Pardo

Coordinador de redacción:
Luis Muñoz Alonso

Realización:
Ibersaf Editores

Impresión:
Grupo Industrial de Artes Gráficas Ibersaf Industrial, S. L.

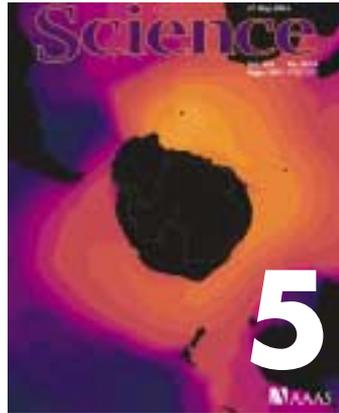
Depósito legal:
M-18322-2002

Distribuye:
Safel Distribución, S. L.

Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid
c/Jordán, n.º 8 - esc. int., 5.º
28010 - Madrid
Tel.: 91 447 63 75

En Internet

www.cobcm.net



Editorial

4

El viento como vehículo de dispersión a larga distancia en el hemisferio sur

5

Un equipo formado por investigadores del Jardín Botánico de Madrid y la Universidad Complutense de Madrid ha demostrado que la conectividad por viento es más importante que la distancia geográfica en la dispersión de la flora. Por primera vez, un trabajo realizado por un equipo íntegramente español ocupa la portada de la prestigiosa revista Science.

El biólogo como especialista sanitario

8

La nueva normativa permitirá a muchos profesionales obtener el título de especialista.



Biotecnología

11

El secreto está en los genes

Definiéndola como la utilización de seres vivos para la obtención de bienes o servicios para la humanidad, la biotecnología ha estado presente desde hace mucho tiempo, por ejemplo en la agricultura, mediante la identificación de características de las plantas que las hacían más resistentes a plagas o más nutritivas.

Técnico de campo subacuático

14

Para los técnicos de campo subacuático, el buceo es una herramienta de trabajo fundamental; sin embargo, buena parte de su tiempo transcurre tierra adentro, entre laboratorios.



Entrevista

17

D. José Frutos García García

Jefe del Servicio de Sanidad Ambiental del Instituto de Salud Pública de la Consejería de Sanidad y Consumo de la Comunidad de Madrid.

Análisis de ADN en criminalística (II) (Continuación)

20

La escasez de las muestras y su mal estado de conservación constituyen un reto que sólo se puede superar modificando los protocolos habitualmente utilizados en el análisis genético molecular.

Noticias

30

Otras noticias

31

Cursos

33

Carta del Decano

La última revisión de los planes de estudios para la licenciatura de Biología en los años noventa tuvo consecuencias que muchos calificaríamos de negativas en su conjunto.

Al comienzo de las negociaciones en aquel entonces, se intentó imponer un modelo a cuatro años que por agravio comparativo dejaba a los licenciados en Biología en clara desventaja frente a otros titulados universitarios que competían directamente por puestos en el mercado de trabajo que por su flexibilidad podrían ser ocupados por cualquier titulado superior en Ciencias de la Salud o Medio Ambiente.

El proceso final de la negociación, que produjo auténticas convulsiones y continuas manifestaciones en el profesorado, alumnos y recién licenciados, se saldó con un acuerdo con el Ministerio de Educación, en el que cada facultad de Biología, ya fuera arraigada o recién creada, establecía su propio plan de estudios a cuatro o cinco años según le convenía.

Pero, en aquellos años, donde la "titulitis" aún desempeñaba un papel excesivamente importante en el currículum vitae de cualquier ciudadano español, el daño al licenciado en Ciencias Biológicas ya se había hecho al expresar escrito sobre el papel que nuestra licenciatura no requería tantos años de formación, mientras que el resto de las licenciaturas se mantenían a cinco años. Y el daño en años posteriores se hizo notar en casos individuales, donde un licenciado en Biología parecía no tener el mismo prestigio que otros licenciados o ingenieros, y en el conjunto del Estado español, donde la Biología quedaba relegada a un plano inferior respecto a otras ciencias y tecnologías, con sus negativas consecuencias en cuanto a desarrollo para el país.

Estamos en este momento en un nuevo proceso de revisión de planes de estudios de todas las carreras universitarias para supuestamente integrar los títulos universitarios españoles en el contexto europeo. Esta vez no podemos volver a equivocarnos por agravio comparativo respecto a otras titulaciones, primero porque se podría perjudicar una vez más a los licenciados en Biología en cuanto a prestigio se refiere, y segundo porque es necesario volver a reflexionar sobre el futuro de la biología en nuestro país.

En cuanto al nuevo plan de estudios se refiere, parece necesario un enfoque más profesional que académico (técnico o científico pero más profesional), y parece igualmente conveniente una participación más activa de los profesionales de la biología que están más en contacto con las necesidades actuales del mercado laboral, a ser posible a través del Colegio, en este nuevo plan, ayudando a aquellos que toman las decisiones a tener una visión más cercana al mundo real en el que nos desenvolvemos, evitando partidismos y colaborando para que el licenciado en Biología sea tan o más competitivo que otros titulados similares, con posibilidades de desarrollo profesional para sí mismo y para la sociedad en la que se desenvuelve. Una vez más, aquellos que deben definir el futuro de la licenciatura en Biología tienen un gran reto por delante.

José Manuel Cejudo Ruiz
*Decano del Colegio Oficial de Biólogos
de la Comunidad de Madrid*



El viento como vehículo de dispersión a larga distancia en el hemisferio sur

Primera portada 100% española en *Science*

Introducción

Los mecanismos de dispersión desempeñan un papel determinante en la distribución de los seres vivos. La dispersión a larga distancia, definida como un transporte pasivo debido al viento, las tormentas, aguas continentales, etc., fue propuesta ya en 1845 por Hooker en su "The Botany of the Antarctic Voyage, Vol. 1: Flora Antártica" y se utiliza con frecuencia para explicar las similitudes bióticas existentes entre masas continentales separadas por grandes distancias. No obstante, algunos autores han cuestionado que realmente exista una dispersión a larga distancia, ya que su demostración experimental es realmente difícil.

Cuando se comparan las faunas y floras de dos lugares del mundo se puede encontrar tanto que comparten especies

comunes, como que se diferencian por la existencia de especies propias, que no viven en ningún otro lugar. En el caso del hemisferio sur, la presencia de una misma especie en dos lugares diferentes y separados por una enorme barrera física como es el mar se ha intentado explicar de formas diferentes.

Una de ellas plantea que la fragmentación del antiguo supercontinente Gondwana en los últimos 200 millones de años aisló especies que posteriormente evolucionaron de forma independiente. Según esta propuesta, las floras de dos lugares se parecerán más cuanto más reciente haya sido su separación geológica.

Otra hipótesis propone que el viento actúa como vehículo de dispersión de semillas, esporas o fragmentos de plantas y los lleva a nuevos lugares que pueden ser así colonizados.

Jesús Muñoz

Real Jardín Botánico de Madrid.
Director del estudio.
Contacto:
jmunoz@ma-rjb.csic.es

Ángel M. Felicísimo

Escuela Politécnica,
Universidad de Extremadura

Francisco Cabezas

Real Jardín Botánico de Madrid

Ana R. Burgaz

Departamento de Biología Vegetal I,
Universidad Complutense

Isabel Martínez

Ciencias Experimentales y Tecnología,
Universidad Rey Juan Carlos



Hasta ahora estas hipótesis no habían podido ser sometidas a verificación o refutación, una de las bases del método científico. Por este motivo, las discusiones hasta el presente estaban basadas más en convicciones o suposiciones que en datos reales.

El planteamiento del trabajo

En el trabajo publicado en *Science* se ha sometido a comprobación la hipótesis de que existe una relación entre el régimen de vientos y la similitud florística (número de especies compartidas) de un conjunto de lugares en el hemisferio sur. Se eligieron 27 localidades que incluyen tanto zonas continentales (Tierra del Fuego, por ejemplo) como islas oceánicas de origen volcánico que

nunca han estado unidas a ninguna otra tierra emergida. Los grupos estudiados fueron musgos, hepáticas (plantas muy parecidas a los musgos), líquenes y helechos (1851 especies).

Para calcular la conectividad por viento entre dos áreas fueron utilizados los datos obtenidos por un satélite lanzado en 1999 y llamado *QuikSCAT*. Este satélite porta un instrumento (escaterómetro) que mide la velocidad y la dirección del viento sobre los océanos.

Calcular la conectividad por viento entre dos lugares es equivalente a estimar el coste o resistencia que supone ir de un lugar a otro con el viento como vehículo de transporte. La estimación de estos valores de coste se ha realizado por primera vez por este

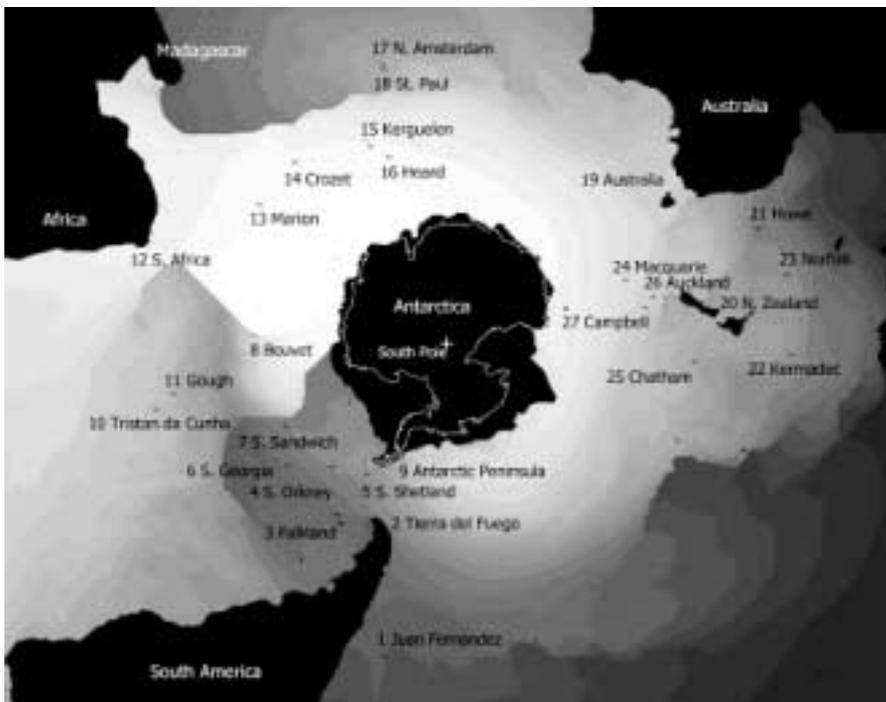


Fig. 1: Mapa del área de estudio con las 27 localidades estudiadas. Los tonos grises representan la conectividad del viento desde la Isla Bouvet (loc. 8) para el período comprendido del 1 al 10 de febrero de 2002. La conectividad es mayor en las zonas oscuras y menor en las claras. La conectividad por viento es el inverso de la resistencia a la dispersión entre dos puntos utilizando el viento como vehículo, y fue estimado a partir de datos obtenidos por el escaterómetro SeaWinds. Ya que el SeaWinds solamente registra las propiedades del viento sobre la superficie del océano, aparecen en negro (debido a la ausencia de datos) las masas continentales y la superficie oceánica cubierta de hielo, así como las áreas con conectividad nula.



equipo español, siendo uno de los aspectos más importantes de este estudio, ya que tiene múltiples aplicaciones prácticas, tales como prever la dispersión de patógenos y plagas.

Los valores altos de conectividad aparecen cuando una fuerte corriente de vientos lleva más o menos directa y rápidamente del origen al destino. En cambio, si no hay viento, o éste sopla en otra dirección, la conectividad será baja.

Si la hipótesis inicial era correcta se esperaba que los lugares con mayores valores de conectividad por viento tuvieran floras más similares.

En todo trabajo científico es deseable comparar la hipótesis que se propone con otra alternativa, que niega o anula el planteamiento inicial. En este estudio se han utilizado las distancias geográficas entre las localidades como hipótesis alternativa. Si el viento tiene una influencia sensible en la dispersión de las plantas, la similitud florística estará más relacionada con la conectividad por viento que con la simple distancia geográfica. Es decir, existirán lugares cercanos geográficamente pero poco conectados por viento entre sí, por lo que la similitud florística será baja y, al contrario, lugares muy lejanos pero con floras muy similares porque existen "camino" de viento que los unen.

Los resultados

En síntesis, los análisis mostraron que la similitud florística está estrechamente relacionada con la conectividad por viento en los grupos biológicos estudiados. Se constataron los patrones de dispersión esperados si la hipótesis era correcta: lugares conectados por viento que tenían floras parecidas independientemente de la distancia que los separara, y lugares muy próximos pero con pocas especies en común porque no hay viento que los conecte.

En la comparación con la distancia geográfica, se mostró que ésta no es capaz de explicar adecuadamente la similitud florística, al contrario que la conectividad por viento que, a nivel estadístico, es extremadamente significativa. También se deduce del estudio que la intervención de otros posibles agentes dinámicos o históricos es poco importante ya que, si lo fuera, hubiera enmascarado los efectos del viento.

Como conclusión, el estudio publicado en *Science* es una prueba sólida de que el viento es el principal vehículo y condicionante de la dispersión de ciertos grupos biológicos en el hemisferio sur, hipótesis propuesta antes por otros investigadores pero nunca sometida a verificación experimental.

El biólogo como especialista sanitario

La formación que tiene un biólogo a lo largo de su carrera en la rama sanitaria no le relaciona con otras licenciaturas del sector, sino que su formación multidisciplinar y su forma de pensar le hacen suficientemente capaz para desarrollar y realizar múltiples trabajos dentro de la sanidad. Todo ello conlleva que la demanda de biólogos en este campo vaya creciendo y generando su presencia en la sanidad pública en situaciones peculiares (desde voluntarios y becarios hasta jefes de servicio, todos ellos realizando funciones asistenciales). Esto se debe a que la demanda es superior a la que ofrecen las vías de acceso reguladas (BIR) o formación sanitaria especializada. Por ello, el biólogo ha tenido que luchar día tras día con otras profesiones ya establecidas para ocupar un sitio que por su capacidad laboral le corresponde.

La formación sanitaria especializada se realiza en centros y unidades docentes especialmente acreditadas al efecto en función de los requisitos docentes establecidos por los ministerios de Educación, Cultura y Deporte, y Sanidad y Consumo. Estos centros y unidades pueden ser, bien hospitales públicos, bien hospitales privados con la misma adjudicación que los públicos, o bien hospitales privados que exigen conformidad previa.

El título de especialista es un título oficial expedido por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte necesario para ocupar puestos de trabajo con la denominación de especialista y que requiere la superación de una formación mediante un sistema de residencia en unidades docentes acreditadas para ello. Esto es así sólo para médicos y farmacéuticos. Para el resto de licenciados que accedemos a este tipo de formación se nos ha negado el título oficial durante años, lo cual ha llegado a generar casos extraños en los hospitales públicos, donde se encuentran biólogos ocupando plaza de especialista sin tener derecho a ello por tener la plaza denominada de especialista y biólogos que,

habiendo realizado el BIR, se les ha negado la plaza de especialista, teniéndola que ocupar como técnico titulado superior. Por todo ello, los biólogos junto con los químicos hemos tenido que recorrer una larga carrera de obstáculos para que el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte nos reconociese el título oficial.

Breve resumen histórico

- La Presidencia de Gobierno, en el BOE de 4 de enero de 1985, publica la Orden, de 27 de diciembre de 1984, por lo que se convoca la provisión de plazas para iniciar programas de formación de especialistas en el año 1985 para médicos, farmacéuticos, biólogos y químicos. Por primera vez en la historia de este país aparecen los BIR, aunque sólo se ofertan las especialidades de Bioquímica Clínica e Inmunología y tan sólo 10 plazas de las 136 ofertadas ese año.
- Hasta 1987 la formación de un especialista en servicios centrales era de tres años excepto la Inmunología (cuatro años). A partir de ese año, todas duran cuatro años.
- Aparición de las plazas en Microbiología en el año 1988.
- Las de Análisis Clínicos en el año 1990.
- En la Comunidad de Madrid se ofertan 12 en el año 1992.
- El número de plazas máximo que hemos conseguido ha sido de 31 en los años 1991 y 2001 en todas las comunidades.
- En la última convocatoria, es decir, las plazas ofertadas para biólogos en el año 2004 son 25 de las

234 totales (3 Análisis Clínicos, 7 Bioquímica Clínica, 11 Inmunología y 4 Microbiología y Parasitología). De ellas, 8 corresponden a nuestra comunidad.

Como observaréis, aunque han duplicado las ofertas de plazas desde su origen, en realidad son poquísimas en comparación con la cantidad total de plazas ofertadas. También resulta chocante la cantidad tan baja de plazas en Microbiología y Parasitología, teniendo en cuenta que son asignaturas fuertes en nuestra licenciatura en varias ramas. Por supuesto, el grueso de la oferta se la llevan los títulos "legales" de los licenciados en Medicina (título regulado en 1982) y Farmacia (título regulado en 1984). Ambas licenciaturas nos llevan muchos años oficiales de ventaja, por lo que no debemos perder el tiempo y normalizar nuestra situación lo antes posible.

Han pasado muchos años y hemos corrido ya varias carreras de obstáculos y, por fin, el día 15 de noviembre de 2002, en el BOE núm. 274, aparece publicado el Real Decreto 1163/2002 de 8 de noviembre por el que se crean y regulan las especialidades sanitarias para químicos, biólogos y bioquímicos. A los biólogos se nos conceden las especialidades de Análisis Clínicos, Bioquímica Clínica, Inmunología, Microbiología y Parasitología y Radiofarmacia. De momento a los químicos se les niega la especialidad en inmunología, aunque el Real Decreto 365/2004, de 5 de marzo, les regula el acceso al título de químico especialista en inmunología a quienes cumplan los requisitos que se establecen en la disposición transitoria segunda del Real Decreto 1163/2002 (personas que lleven unos años trabajando en la especialidad en organismos públicos o concertados).

El Real Decreto dispone de cuatro vías transitorias para la obtención del título. En la primera entran todas aquellas personas que han realizado o están realizando el BIR y superen con éxito su formación. La obtención del título de especialista es por vía directa, pero las demás vías transitorias hay que desarrollarlas y tienen que pasar a través de las comisiones nacionales. Por todo ello casi un año después de la publicación del Real Decreto se empiezan a formar las Comisiones Nacionales para químicos, biólogos y bioquímicos (una por especialidad). Se crean como órganos consultivos de los ministerios implicados y actuarán como órganos

colegiados. Los miembros de estas comisiones serán renovados o ratificados por los organismos o entidades que los propusieron a los cuatro años de su designación, mientras que los representantes de los residentes se renovarán cada dos años.

Las Comisiones están formadas por 12 miembros, excepto la de inmunología, entre los que se elegirá un presidente y un secretario. La comisión de inmunología sólo tenía 10 miembros, pero al aparecer el Real Decreto 365/2004 por el que se crea el título de Farmacéutico Especialista en Inmunología, se amplía en 5 miembros más, que serán todos farmacéuticos, quedando la Comisión formada por 15 personas: 10 biólogos y 5 farmacéuticos.

Los miembros de estas comisiones serán nombrados por: 3 a propuesta del secretario de Estado de Educación y Universidades, 3 por el subsecretario de Sanidad y Consumo, 2 propuestos por entidades y asociaciones científicas constituidas legalmente con carácter estatal, 2 propuestos por los residentes y 2 propuestos por los Consejos Generales de las Colegios Oficiales de Químicos y Biólogos. El orden de miembros en la Comisión de Inmunología es, para los biólogos, 3, 3, 1, 2, 1, y para los farmacéuticos, 1, 1, 1, 1 y 1.

Las comisiones nacionales tienen en su mano funciones tan importantes como:

- Proponer programas de formación de cada especialidad para informe y aprobación del Ministerio de Sanidad y Consumo, y de Educación, Cultura y Deportes, respectivamente.
- Informar los requisitos generales para la acreditación de las unidades docentes de cada especialidad.
- Informar de la oferta anual de plazas de formación de la especialidad y titulación para incluir en las convocatorias públicas.
- Determinar, de acuerdo con la legislación vigente, la calificación final del período de formación.
- Proponer al ministerio correspondiente la concesión del título de especialista de acuerdo con la

evaluación de los períodos de residencia; informar, a petición de la Secretaría de Estado de Educación y Universidades, sobre los cambios de especialidad de acuerdo con la evaluación de los períodos de residencia.

- Informar, a petición de la Secretaría de Estado de Educación y Universidades, sobre los cambios de especialización en casos excepcionales de petición fundada.
- Realizar las funciones que prevé el R. D. en relación con las peticiones de título de especialista, de acuerdo con las disposiciones transitorias.
- Informar sobre los proyectos de disposiciones de carácter general.
- Colaborar, mediante informes, propuestas o asistencias técnicas, con los ministerios correspondientes u otros organismos e instituciones en el desarrollo de la formación especializada en el ámbito sanitario y proponer a los ministerios correspondientes las auditorías de los centros y unidades de formación.

El día 13 de febrero de 2003, en el BOE n.º 38 sale publicada la OR.D.EN PRE/274/2004 por la que se regulan las vías transitorias de acceso a los títulos de químico, biólogo y bioquímico especialista. Estas vías permiten a muchos de los profesionales que actualmente se encuentran ejerciendo en un puesto de trabajo en sanidad y que cumplen las condiciones requeridas en las disposiciones transitorias del R. D. 1163, obtener el título de especialista. Será misión de las comisiones nacionales examinar las solicitudes y proponer la concesión de los títulos o el destino de la solicitud.

Las disposiciones transitorias del R. D. 1163 hacen referencia a los siguientes casos:

- En primer lugar, licenciados en Biología, Bioquímica o Química que hayan concluido su formación por el sistema residencial con la evaluación positiva y consten inscritos en el registro nacional de especialistas en formación, habiendo obtenido plaza mediante convocatoria nacional de prueba selectiva.
- En segundo lugar, licenciados en Biología, Bioquímica o Química que mediante nombramiento



administrativo o contrato laboral hayan tenido desarrollo, a instituciones sanitarias de instituciones sanitarias del sistema nacional de salud o concertadas, sitios de trabajo que requieran los conocimientos previstos al programa formativo de la especialidad, durante un período no inferior a la duración de el período formativo.

- En tercer lugar, los licenciados en Biología, Bioquímica o Química que, mediante certificación expedida por el colegio oficial, acrediten el ejercicio de las actividades propias de la especialidad durante un período superior al 150 por ciento del programa formativo de la especialidad.
- Finalmente, en cuarto lugar, licenciados en Biología, Bioquímica o Química que formen parte a los cuerpos docentes de catedráticos o profesores titulados, con un ejercicio docente no inferior a la duración del programa formativo de la especialidad correspondiente.

De esta manera el Real Decreto 1163 y las disposiciones que lo desarrollan permiten normalizar la situación de muchos biólogos en la sanidad, pero no de todos, pues este Real Decreto no contempla a otros muchos biólogos que están ejerciendo funciones asistenciales en otras especialidades como son Genética y Reproducción Asistida, ya que las mismas no existen; tampoco contempla a los biólogos que sí están en otras especialidades reconocidas como Medicina Preventiva; no contempla tampoco la situación de becarios ni personal investigador que están realizando Clínica. A pesar de que este Real Decreto permitirá normalizar la situación de muchos biólogos en la sanidad, no podemos dormirnos en los laureles y tendremos que seguir venciendo muchos obstáculos para que de verdad se nos integre de una vez y para siempre en la SANIDAD.



El secreto está en los genes

Debemos entender la biotecnología bajo un enfoque multidisciplinario, considerándola como una ciencia que integra a su vez otras ciencias como la genética, bioquímica, biología, virología, agronomía, ingeniería, química, medicina y veterinaria.

Definiéndola como la utilización de seres vivos en la obtención de bienes o servicios para la humanidad, la biotecnología ha estado presente desde hace mucho tiempo, por ejemplo en la agricultura, mediante la identificación de características de las plantas que las hacían más resistentes a plagas o más nutritivas, ya se estaban seleccionando genes. Su aplicación en la industria alimentaria trajo como consecuencia la producción de vino o cerveza.

La biotecnología moderna permite aislar una característica contenida en uno o varios genes y transferirla a otro organismo mediante la ingeniería genética. Integra una amplitud de técnicas basadas en la investigación en biología molecular y celular (DNA recombinante, anticuerpos monoclonales, nuevos métodos de cultivo de células y tejidos), y son empleadas en el logro de avances espectaculares dentro de la industria energética, agrícola, farmacéutica, química, medio ambiente, etc. Esta aplicación comercial de organismos vivos o sus productos, basada en la manipulación de moléculas de DNA, ha generado un enorme atractivo comercial, además de científico, produciéndose como consecuencia un crecimiento importante en el número de nuevas empresas o compañías que invierten o reorientan sus recursos hacia la biotecnología.

El número de empresas en España dedicadas totalmente a la biotecnología se ha duplicado en los últimos tres años llegando a alcanzar las 71 empresas.

El volumen de negocio está cercano a los 2.700 millones de euros y las empresas de biotecnología en España son altamente competitivas en los diferentes sectores en los que operan, especialmente en Sanidad Humana y Animal.

Uno de los factores limitantes para el desarrollo de la biotecnología en España está determinado por el número de empresas que opera en el sector que, aunque siendo del orden de 300 empresas, representa un escaso 10% respecto a su número en Reino Unido o Alemania.

Sobre la base de su campo de aplicación, la biotecnología puede clasificarse en cinco sectores de actividad que se interrelacionan entre sí: Biotecnología en Salud Humana, Biotecnología Animal, Biotecnología Industrial, Biotecnología Agroalimentaria y Biotecnología Ambiental.



Eduardo Gaspar
Álvarez

Colegiado n.º: 2089-M



Existe una creciente demanda de moléculas con fines terapéuticos y las perspectivas terapéuticas de la biotecnología son realmente muy prometedoras. Las tecnologías de DNA ofrecen enormes posibilidades en el uso industrial de microorganismos con aplicaciones que van desde la producción de vacunas recombinantes, factores de coagulación para hemofilia, anticuerpos monoclonales específicamente dirigidos contra una proteína, insulina, hormona del crecimiento, interferón o interleucina usados contra el cáncer o el factor estimulante de colonias para el trasplante de médula ósea, son tan sólo algunos ejemplos significativos.

Conocer la secuenciación completa del microorganismo causante de una enfermedad infecciosa posibilitará enormemente la elección de antígenos para generar la protección inmune. En la actualidad se está ensayando el diseño de vacunas de ADN (secuencias de ácidos nucleicos que van a ser transcritas y expresadas en las células del organismo vacunado).

Aunque la inversión en I+D dentro del sector privado va creciendo paulatinamente, todavía dos de cada tres euros invertidos provienen de fondos públicos, ya sean procedentes de la

Unión Europea, del Plan Nacional de I+D o de las Comunidades Autónomas y los últimos números del INI revelan que la inversión total española en I+D supone el 1,03% del PIB, lejos todavía del 1,8 en la UE. El sector que recibe mayor porcentaje de ayudas públicas es el relacionado con la agricultura y afines, representando alrededor del 60% del total de ayudas en biotecnología.

Se estima que cada euro de inversión en biotecnología por parte del sector público estimula la inversión privada de dos euros.

El número limitado de biotecnológicas en España viene determinado por el bajo peso de inversión de capital riesgo en biotecnología, alrededor de un 0,8%, bastante por debajo de la media de la UE.

En otro orden de cosas y según los expertos bursátiles internacionales, los fondos especializados en biotecnología superan en los primeros meses del 2004 una rentabilidad media del 10%, llegando al 20% los que mejor se comportan. Aunque es un mercado muy especulativo, en ocasiones los precios de las acciones biotecnológicas se mueven por rumores de posibles desarrollos de fármacos, en el primer trimestre del 2004

	2000	2001	% 01/00	2002	% 02/01
Salud humana	70.885.356	96.996.324	36,8	137.318.848	41,6
Sanidad animal	195.012	171.913	-6,7	244.025	42
Agroalimentario	8.569.564	9.198.686	7,3	10.411.021	13,2
Medio ambiente	729.340	545.105	-25,2	639.099	17,2
Otros	1.217.554	2.103.690	73	3.262.939	55
Total	81.596.826	109.015.718	33,6	151.875.932	39,3

Inversión privada en I+D en empresas dedicadas a la biotecnología por sectores de actividad



Técnico de campo subacuático

Investigación y divulgación del medio marino

Luz Murube

ZOEA, S. A.

Los estudios de impacto ambiental, los programas de vigilancia y seguimiento ambiental, las cartografías bionómicas y las producciones de documentales en entorno marino exigen la participación de submarinistas con formación en Ciencias Naturales, preferiblemente licenciados en Biología.

Estos proyectos son multidisciplinarios y suelen estar promovidos por empresas o instituciones de cierta envergadura y en los que cada participante debe cumplir su tarea para alcanzar un resultado final satisfactorio. Habitualmente movilizan a profesionales de diferentes campos con los que el biólogo marino debe trabajar de forma coordinada.

Para los técnicos de Campo Subacuático el buceo es una herramienta de trabajo fundamental, sin embargo buena parte de su tiempo transcurre tierra adentro, entre el laboratorio y el despacho. Si tiene experiencia en el uso de técnicas y tecnologías de muestreo, y cuenta además con una sólida formación en ecología marina, alcanzará más fácilmente buenos resultados en su trabajo diario, redactando adecuados informes e invirtiendo más energía en otras facetas del estudio.

Estos trabajos implican habitualmente inmersiones para llevar a buen término las tareas previstas. Cualquier indecisión o torpeza en lo relativo a la técnica de buceo conducirá a pérdidas de tiempo y dinero, retrasos en los plazos previstos y hará inútil o improductiva la sesión submarina. También debe desarrollar habilidad para localizar información previa útil de la

zona y plantear una cuidada planificación de la campaña de campo y del trabajo de gabinete para cumplir en tiempo y forma los objetivos del proyecto.

Cualquiera que haya realizado trabajo de campo sabe lo importante que es salir de casa bien pertrechado. Cuando este trabajo de campo es submarino, la preparación debe ser aún más minuciosa. Para trabajar conviene sumergirse con el equipo de buceo que se use habitualmente y que quede como un guante, así se moverá más a gusto con el resto del material que frecuentemente se lleve encima. Es muy importante tener control absoluto de la flotabilidad, colocarse el lastre adecuado a cada situación y colgar estratégicamente el material de las anillas del chaleco hidrostático para mantener las manos libres.

Muchas veces el trabajo de campo exige realizar varias inmersiones en un día, sumergirse cuando las condiciones ambientales son adversas o bucear bajo las grasientas aguas de un puerto. No siempre el buceo científico se trata de filmar playas de coral en el Caribe, sin embargo el tipo de persona que se dedica a esta profesión suele encontrar grandes satisfacciones cuando aporta su trabajo a proyectos de investigación sobre el medio marino o a estudios de protección ambiental.

El manejo de instrumentos de medida y muestreo aporta información imprescindible para caracterizar un determinado territorio. Por ello, es muy importante conocer y dominar su manejo. Por ejemplo, el correntímetro multiparamétrico, que almacena datos de variables oceanográficas como la temperatura, dirección y fuerza de la corriente, salinidad, etc., debe colocarse siguiendo escrupulosamente las





indicaciones técnicas del fabricante y dejarlo bajo el agua durante varias semanas. Errores en la instalación se traducirán en un montón de gráficas con valores inservibles que retrasará el proyecto.

El trabajo a bordo incluye frecuentemente el procesado inicial de las muestras, como en el caso de la imagen, en la que una bióloga está observando bajo la lupa binocular las características *in vivo* de los invertebrados de una muestra de arena. A menudo, a las jornadas de trabajo de campo le siguen largas horas de bata blanca para realizar los análisis de las muestras.

El tratamiento inicial de las muestras y la documentación gráfica del trabajo de campo son cruciales para obtener buenos resultados, ya que la gran mayoría de los organismos pierden sus características y aspecto natural al ser extraídos del agua.

La redacción de los informes técnicos es la culminación del trabajo de campo. Los datos deben presentarse de manera clara y concisa. La metodología empleada será descrita sin ambigüedades y deberá permitir extraer conclusiones útiles para el proyecto. La presentación y pulcritud final del informe es bien valorada por el cliente.

En España la mayoría de los buceadores científicos se han formado trabajando como meritorios en los proyectos universitarios, ya que existen pocos centros en los que se enseñen estas disciplinas. Otra forma de adquirir conocimientos y soltura como técnico de campo subacuático es colaborando como voluntario activo en alguna organización no gubernamental que trabaje en temas marinos. Si se tiene suerte, se trabajará mucho, pero, claro, sin cobrar.

Es difícil incorporarse a las empresas privadas si no se tiene experiencia acreditada, por lo que el biólogo que quiere aprender este tipo de trabajo normalmente se ve en la necesidad de dedicar unos años a trabajar sin remuneración en una universidad o en una ONG.

Los trabajos más habituales para los que se requieren biólogos marinos con título de buceo y conocimientos de buceo científico son: realización de muestreos submarinos, ya sea de sedimento, agua u organismos, para su posterior análisis en el laboratorio; inventarios bionómicos; seguimiento de arrecifes artificiales, emisarios sumergidos y otras estructuras litorales; documentación fotográfica y videográfica, ya sea para informes técnicos o para documentales; desarrollo de cartografía temática para localizar e identificar comunidades biológicas; censos para análisis poblacional; instalación de instrumentos de medida; análisis de emplazamientos para actividades como parques eólicos, zonas de hundimiento de barcos e instalaciones de acuicultura.

La mayoría de los proyectos en los que se contratan buceadores científicos suelen estar promovidos por empresas privadas y por las distintas administraciones. Sus fines pueden ser comerciales, de desarrollo, o puramente de investigación.

En España se está exigiendo en muchos casos el título de Buceador Profesional de 2.º Restringida, requisito inapropiado si tenemos en cuenta el tipo de destrezas que debe dominar un buceador científico. La formación que recibe un buzo profesional va orientada a la resolución de problemas mecánicos, aprendiendo a utilizar soldadores, sierras y otras herramientas, mientras que un buceador científico debe tener formación en ciencias naturales marinas y conocer otro tipo de instrumentación como el uso de botellas Niskin, draga Van Veen, dragas de muestreos de fondo Shipek, manga de plancton, bomba de muestreo, termómetros, pHmetros y oxímetros portátiles, ictiómetros, corer, tamices, cuadrículas de muestreo, etc., que son equipos y materiales de uso común en estudios ambientales.



La Universidad de Alcalá, consciente de la necesidad de formar técnicos de campo subacuáticos, ha puesto en marcha el curso de Buceo Científico para enseñar técnicas y protocolos de muestreo, meto-

dología de conservación de muestras, manejo de instrumentación y redacción de informes científicos. Su primera convocatoria dará comienzo el 4 de octubre.

MATERIALES HABITUALMENTE UTILIZADOS EN LOS TRABAJOS DE CAMPO SUBMARINOS

- > Sistemas de posicionamiento: tipo GPS Diferencial.
- > Sistemas de comunicación radiofónica.
- > Ecosondas.
- > Dragas.
- > Correntímetro.
- > Torpedos propulsores.
- > Boyas, cuadrantes, carretes, envases, recipientes, pizarras y lupas.
- > Embarcaciones y material de buceo.
- > Material de muestreo: botellas tipo NISKIN, draga Van Veen, draga de muestreo de fondos Shipek, manga de Plancton, bolsas de recogida de muestras, bomba de muestreo, termómetros, contenedores isotérmicos, pHmetros y oxímetros portátiles (para determinación *in situ*), ictiómetros, arcón frigorífico, material fungible para recogida y examen de las muestras a bordo y laboratorio portátil.
- > Material de fotografía y vídeo: cámaras fotográficas sumergibles tipo NIKONOS, objetivos submarinos: 35 mm, 28 mm y 15 mm, flashes submarinos, cámaras fotográficas terrestres, carcasa para cámara fotográfica, cámara de vídeo, focos para iluminación subacuática, carcasa submarina para cámara de vídeo.



TRABAJOS DE BUCEO CIENTÍFICO

- > Muestreos submarinos.
- > Seguimiento de ecosistemas.
- > Inventarios o estudios bionómicos.
- > Análisis de emplazamientos para actividades.
- > Seguimiento de arrecifes artificiales y otras estructuras.
- > Documentación fotográfica y videográfica.
- > Grabación de brutos para documentales.
- > Desarrollo de cartografía temática.
- > Análisis de poblaciones.
- > Instalación de instrumentos de medida.
- > Proyectos de restauración.
- > Proyectos de Evaluación de Impacto Ambiental.

DIRECCIONES DE INTERÉS

- > ADENA: Tel. 91 308 23 09; www.wwf.es.
- > AITYR (Asociación Ibérica de Tiburones y Rayas): Apartado de correos 7052. 28080 Madrid; aytyr@aytyr.com.
- > CRAM (Fundación para la Conservación y Recuperación de Animales Marinos): C/Casmi Ral, 239; 08330 Premiá de Mar, Barcelona. Tel. 93 752 45 61.
- > GRAMPUS (Colectivo para el Estudio y Conservación del Medio Marino): grampus@sistelnet.es.
- > GREENPEACE: Tel. 91 444 14 00; www.greenpeace.es.
- > SECEM (Sociedad Española para el Estudio y Conservación de los Mamíferos); grampus@sistelnet.es.
- > UNIVERSIDAD DE ALCALÁ, Departamento de Biología Animal: juan.junoy@uah.es.
- > ZOEAL, Difusión e Investigación del Medio Marino: www.zoea.com; madrid@zoea.com. Tel. 91 739 82 97.

José Frutos García García



**DIRECTOR DEL SERVICIO DE
SANIDAD AMBIENTAL
DEL INSTITUTO DE
SALUD PÚBLICA DE LA
COMUNIDAD DE MADRID**

José Frutos García García es técnico de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Actualmente dirige el servicio de Sanidad Ambiental del Instituto de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Terminada la carrera amplió sus estudios en diferentes materias y es máster en Gestión Rural, en Función del Medio Ambiente (Consejo de Europa) y en Salud Pública (Centro Universitario Salud Pública-UAM). Becario del CSIC, trabajó durante años en la línea de investigación de Ecodesarrollo. En la Comunidad de Madrid ha dirigido diferentes programas sobre seguridad química y riesgos ambientales para la salud.

Ha publicado diferentes libros y monografías, destacando los referidos a salud y medio ambiente, toxicología y seguridad química (Comunidad de Madrid), plagas urbanas (Interamericana) y riesgos ambientales y laborales (Instituto de Higiene y Seguridad en el Trabajo).

¿Qué aspectos de salud pública se trabajan en el Servicio de Sanidad Ambiental?

El ámbito de trabajo se desarrolla en numerosos aspectos de distinta naturaleza con implicación en la salud pública, como es la calidad del agua, no sólo en lo que se refiere al agua potable, sino que es extensivo a todo tipo de aguas recreativas como pueden ser piscinas, parques acuáticos y zonas de baño naturales que se localizan en nuestra Comunidad. Además, desarrollamos nuestra actividad en el control y prevención de riesgos biológicos, como son enfermedades zoonositarias que afectan a la salud pública, entre las que se encuentran la brucelosis, hidatidosis y triquinosis, de la cual recientemente hubo un brote en nuestra Comunidad. Asimismo actuamos en el control de plagas urbanas, tan molestas sobre todo cuando se aproxima la época estival. Destaca nuestro papel en la prevención de la legionelosis, para evitar posibles brotes con gran repercusión para la población, como ocurrió en Alcalá de Henares. Por otra parte, también tenemos competencia ante posibles riesgos químicos para la salud y en situaciones de alerta que se deriven.

Además, tenemos implantado un programa de vigilancia de riesgos ambientales que comprende la vigilancia de la contaminación atmosférica y su efecto en salud, el control diario de los niveles de polen y, más recientemente, con el desarrollo de la telefonía móvil, la vigilancia de campos electromagnéticos. Por último, para completar este abanico tan variado de actividades que desarrollamos, durante el año pasado se ha iniciado una nueva área de trabajo con doble vertiente ambiental y de salud, que es la evaluación del impacto ambiental en salud.

¿Considera que las actuaciones en salud desde la Administración están próximas a la realidad ciudadana y responden a las demandas existentes?

Efectivamente, no sólo están próximas a las necesidades ciudadanas, sino que están a su servicio. La implantación que se viene realizando del Sistema de Vigilancia de Riesgos Ambientales, por ejemplo, y su consolidación atiende a la necesidad que tenía la población de recibir información de la calidad del ambiente en que viven y supone el desarrollo de la

información sobre las posibles afecciones que sufren un gran número de ciudadanos como son las alergias al polen, alteraciones de la salud dependientes de los niveles de ozono o situaciones críticas como la ola de calor. Así, la respuesta ante la contaminación biológica por polen se ha orientado a ofrecer información diaria de los niveles de polen en nuestra Comunidad a través de una red de captadores. Las personas interesadas pueden consultar esta información actualizada a diario en nuestra página web (madrid.org) o telefónicamente durante las 24 horas del día y conocer así el grado de exposición o de riesgo posible según su patología (alergia, asma...).

A la vista de lo anteriormente expuesto por Vd., ¿puede pensarse que actualmente, con los servicios que se desarrollan en su departamento, ya están atendidos los problemas actuales en salud pública y medio ambiente?

Indudablemente no es así. Durante todos los años que he trabajado en sanidad ambiental he podido comprobar que van surgiendo nuevos problemas emergentes cada año; imagino que como ocurre en otros sectores, y se presentan nuevas situaciones, bien por el grado de desarrollo que alcanza la sociedad, o en algunos casos incluso por motivos o costumbres sociales, como hoy en día ocurre con el tema de los tatuajes y *piercings*, impensable en el pasado y que en estos momentos requiere de un control y regularización con una norma específica que evite riesgos para la salud de la población implicada, o el caso de los balnearios urbanos (*spas*) que proliferan en nuestras ciudades.

La Comunidad de Madrid fue pionera en la regulación de criterios higiénico-sanitarios para la prevención de legionelosis con una resolución aprobada en junio de 1997 que afectaba únicamente a la localidad de Alcalá de Henares y, posteriormente, con la Orden 1187/1998, a la Comunidad de Madrid. En estos momentos va a cumplirse un año de la aprobación del nuevo real decreto que establece los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis, el actual R. D. 865/2003. ¿Qué valoración realiza sobre la aplicación actual de esta norma por parte de los responsables con instalaciones afectadas? ¿Opina que las directrices que establecen pueden aplicar-



se fácilmente y suponen una eficacia absoluta en el control de la legionelosis?

Quizá al principio de su aprobación los responsables de las instalaciones podían sentirse algo desorientados con algunos aspectos que se planteaban, pero a casi un año vista, la impresión que me merece es que las personas implicadas conocen con claridad aquellos requisitos que deben obligatoriamente cumplir y, sobre todo, lo más importante: son conscientes de la importancia que supone para la salud pública un brote de legionella.

En cuanto a la eficacia de las medidas de actuación que recoge el vigente R. D. 865/2003, se trata de reducir al máximo la probabilidad de que se desarrolle la legionella en las instalaciones de riesgo (torres, agua sanitaria...) y se comprueba su efectividad por los servicios de inspección de salud pública, ya que somos conscientes de que existe presencia de legionella, pero sin llegar a originar un riesgo para la salud pública. Lógicamente, no estamos a salvo de que pueda darse en algún momento una situación de alerta ya que pueden existir instalaciones donde sus responsables no hayan adoptado todas las medidas requeridas y, por otra parte, porque no existe un método infalible, ni podemos conseguir erradicar la bacteria, aunque sí actuar en la prevención, identificación y control de posibles puntos de riesgo.

Hace ya algunos años publicó sendos libros sobre control de plagas y seguridad química, que fueron pioneros en su momento. ¿Ha evolucionado el enfoque actual de los riesgos químicos?

Como ocurre en cualquier campo profesional, la visión que había hace diez años no es la misma que la actual. Se ha avanzado desde la óptica de aplicación directa y selectiva sobre el agente causal (plaga) y un uso predominante de productos químicos de todo tipo (herbicidas, insecticidas, raticidas) a un nuevo enfoque que pretende identificar los puntos de riesgo en origen y las causas que lo favo-

recen, y a partir de ese diagnóstico, interiorizar las actuaciones de una forma integrada aportando diferentes medidas preventivas y correctoras que no sólo consisten en la utilización indiscriminada de productos químicos, suponiendo esto un avance muy significativo.

¿Qué posibilidades ve dentro de la Administración para el colectivo de biólogos, donde actualmente algunos ocupan puestos de cierta relevancia en el sector público? ¿Se incrementa su presencia en la Comunidad de Madrid?

Los biólogos son profesionales con una formación multidisciplinar que, al igual que en otros sectores profesionales, deben tener también cabida en la Administración, y efectivamente, en diferentes organismos del sector público nos encontramos con un número importante de biólogos que ocupan cargos de responsabilidad.

No obstante estamos acostumbrados a denunciar desde el COBCM múltiples plazas convocadas para otros profesionales sanitarios, plazas para las cuales el biólogo se encuentra perfectamente capacitado. Recientemente el COBCM ha colaborado en el Proyecto de Calidad de Hospitales de la Comunidad de Madrid. ¿Es posible que la propia Administración desconozca el empuje que los biólogos están propiciando al desarrollo en materia de salud y medio ambiente en los comienzos de este siglo?

Por supuesto que no, la Administración en general cada vez es más sensible a la incorporación de profesionales de diferentes perfiles a sus equipos de trabajo, y esta tendencia es difícil de soslayar. A veces, no obstante, los cambios son lentos porque hay que actualizar las convocatorias y modernizar las leyes, pero hoy en día soy consciente del grado de integración y desarrollo técnico del biólogo en diferentes campos de la empresa privada y la función pública.



Análisis de ADN en criminalística (II) (Continuación)

Lourdes Prieto y
Marta Montesinos

Comisaría General
de Policía Científica.
Laboratorio de ADN

En biología forense, la degradación de las muestras y su escasez constituyen un reto que hay que superar mediante modificaciones en los protocolos habitualmente utilizados en el análisis genético-molecular

1.4. Tipaje de las muestras

Una vez obtenidos los fragmentos de ADN tras la PCR, ¿cómo pueden separarse unos de otros y purificar para poder trabajar con ellos individualmente? Existen hoy en día múltiples técnicas para analizar fragmentos de PCR pero elegiremos una u otra fundamentalmente dependiendo del tipo de polimorfismo que queramos estudiar. En líneas generales podemos distinguir:

- Técnicas que nos separen los fragmentos de ADN según peso molecular: se usan principalmente para analizar polimorfismos de longitud, pues sólo con detectar el tamaño de las moléculas de ADN amplificadas de cada muestra podremos diferenciar unas de otras. Las más habituales son la electroforesis convencional con distintos tipos de geles y de sistemas de detección y la electroforesis capilar y variantes de la misma. Estas técnicas las describiremos más detenidamente en apartados posteriores.
- Técnicas que separen los fragmentos de ADN según su secuencia de nucleótidos: se usan para analizar polimorfismos de secuencia, pues en este caso interesa conocer parcial o totalmente el orden de nucleótidos de los fragmentos amplificados para poder diferenciarlos. Las más habituales son la hibridación con sondas de ADN conocido (con infinidad de variantes) y la secuen-

ciación completa del fragmento ADN, que a su vez implica una separación electroforética.

1.4.1. Electroforesis convencional

El uso de unas técnicas no implica la exclusión de las otras, pues en numerosos casos se ha utilizado una combinación de ambos tipos para revelar los polimorfismos de ADN.

Los polimorfismos de longitud dan lugar a alelos que difieren en su tamaño. Una vez que hemos extraído, cuantificado y amplificado una región polimórfica en longitud, nos interesa separar los fragmentos de ADN obtenidos para poder identificarlos mediante comparación con otros fragmentos de tamaño previamente conocido. Los fragmentos de ácidos nucleicos de diferente tamaño pueden separarse mediante electroforesis a través de un medio semisólido, como son los geles de agarosa o de poliacrilamida.

La técnica se basa en que el ADN está cargado negativamente y, al someterlo a una diferencia de potencial, se moverá hacia el ánodo a través del gel una distancia proporcional a su tamaño, alcanzando mayor distancia las moléculas de menor peso. Además del tamaño, la movilidad de una molécula de ácido nucleico depende de la porosidad del gel, de la conformación del propio ácido nucleico, de la corriente aplicada al gel, del tampón utilizado en la formación del gel y del utilizado para el paso de corriente durante el proceso, de la composición de bases de la molécula y



de la temperatura a la que transcurre la electroforesis (temperatura de migración). El tamaño del gel también es un parámetro a tener en cuenta pues, como norma general, cuanto más largo sea, más capacidad de separación tendrá y por ello los geles más grandes son los que se suelen utilizar para separar moléculas que difieran sólo en un par de bases (ej.: secuenciación).

Debido a la variabilidad de las condiciones de un experimento a otro, es necesario introducir patrones de tamaño conocido en cada gel para poder determinar el tamaño del ADN problema. Para los polimorfismos de longitud se suelen procesar en paralelo las llamadas escaleras alélicas (*ladders*), que son mezclas artificiales de productos amplificados procedentes de distintos individuos polimórficos entre sí con el fin de obtener la mayoría de los alelos de un locus juntos.

Como hemos apuntado anteriormente, el soporte en el cual se realiza la electroforesis puede ser de dos tipos según el grado de resolución requerido en la separación:

- En geles de agarosa: Convencionalmente se han descrito como geles que se pueden usar para separar fragmentos de 100-6.000 pares de bases pero no son muy resolutivos, es decir, no sirven para separar fragmentos que difieran en unas cuantas pares de bases entre sí. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que un pequeño gel de agarosa (10 cm de longitud y 1 mm de espesor) puede tener un poder de resolución suficiente para separar STRs del tipo tetranucleótidos (White y Kusakawa, 1997). Para poder ver los fragmentos de ADN separados en este tipo de geles suele utilizarse la tinción con bromuro de etidio y posterior observación del gel bajo la luz UV. Se trata de una sustancia que se intercala entre las bases nitrogenadas del ADN y produce fluorescencia bajo este tipo de luz.
- En geles de poliacrilamida (PAGE): se usan para separar fragmentos de menos de 500 pb que difieran poco en tamaño los unos de los otros. El gel se prepara mediante la polimerización de la acrilamida y la bisacrilamida (o piperacina) para formar poliacrilamida; las propiedades físicas y el tamaño de

poro del gel se controlan mediante la proporción de poliacrilamida en el gel y su grado de entrecruzamiento. Se trata de geles mucho más resolutivos y su poder de resolución depende, sobre todo, de la concentración de poliacrilamida. Estos geles pueden visualizarse con bromuro de etidio bajo la luz ultravioleta, mediante tinción convencional con nitrato de plata (Bassam y cols., 1991) o mediante marcaje fluorescente (Mansfield y cols., 1993). Para visualizar el marcaje se suelen utilizar sistemas automatizados como el ABI 377 (Perkin Elmer, USA), que examina el gel durante la electroforesis con un láser. Si la PCR que hemos desarrollado es un multiplex de varios loci amplificados a la vez con la tinción de plata, necesariamente los loci amplificados han de tener rangos de tamaño diferentes entre sí para poder discriminarlos en un único gel. Si por el contrario el marcaje es fluorescente esta condición no es necesaria, pues podemos marcar con fluorocromos de diferente color los loci que tengan el mismo rango de tamaño para poder diferenciarlos. Por este motivo, la detección fluorescente permite el desarrollo de reacciones multiplex de mayor número de loci que la detección con plata, ya que en la primera podemos diferenciar los fragmentos por tamaño y color de marcaje y con la segunda sólo diferenciaremos por tamaño.

1.4.2. Electroforesis capilar

La electroforesis capilar se ha desarrollado rápidamente como técnica analítica aplicada a un amplio rango de áreas (Li, 1992) por su alta eficacia en la separación, sus posibilidades de automatización y su compatibilidad con pequeñas cantidades de muestra. Esta técnica se basa en los fundamentos de la cromatografía y se desarrolla en un finísimo capilar que rellenaremos de un polímero a través del cual se moverán los fragmentos de ADN al aplicarle una diferencia de potencial. La gran ventaja del uso de capilares radica en que permiten una efectiva disipación del calor y por ello se pueden aplicar elevados voltajes en la electroforesis (200-500 V/cm), que se traducen en un tiempo de separación de los fragmentos de ADN mucho más corto y en un elevado poder de resolución.





Hoy en día existen en el mercado varios equipos de electroforesis capilar fluorescentes que se pueden utilizar tanto para analizar fragmentos de ADN de diferentes tamaños como para secuenciar.

A diferencia de la electroforesis convencional, las muestras se procesan de una en una y por ello es imprescindible cargar junto con cada muestra un patrón interno que consiste en varios fragmentos de ADN de tamaño conocido. De esta manera podremos controlar las pequeñas diferencias que se producen en las condiciones de una migración a otra. El análisis por muestra suele ser de 20-30 minutos, dependiendo del tamaño de los fragmentos a separar, lo cual es una desventaja con respecto a los geles convencionales en donde se procesaban varias muestras en 2-3 horas, pero la gran ventaja es que al tratarse de sistemas automatizados, los equipos pueden trabajar solos incluso durante la noche. Además, ya se han desarrollado equipos que procesan varias muestras a la vez, hasta 96 muestras. Esta técnica se denomina "Capillary Array Electrophoresis" (CAE) y consiste en migrar múltiples capilares en paralelo.

1.4.3. Electroforesis capilar en microchip

Esta técnica es una electroforesis capilar "en miniatura", pues los capilares son mucho más cortos que en la EC convencional, y por ello los tiempos de migración son más cortos. Con esta tecnología se han analizado tanto fragmentos de restricción (Jacobson y Ramsey, 1996) como STRs (Schmalzing y cols., 1997; Schmalzing y cols., 1999), e incluso se ha desarrollado un sistema integrado de PCR y EC en microchip (Woolley y cols., 1996). También se están desarrollando sistemas CAE en microchips, se trata de un mecanismo de 96 capilares construidos de forma radial y que se ha utilizado para separar fragmentos de restricción en un tiempo de menos de 120 segundos para todas las muestras (Shi y cols., 1999).

1.4.4. Espectrometría de Masas MALDI-TOF

Este sistema es el más rápido de todos pues el tamaño de un fragmento de ADN puede obtenerse en fracciones de segundo. El mayor problema que esta técnica presentaba para el análisis de ADN era la fragmentación y la baja ionización de los fragmentos de ADN

largos. Hoy en día se ha demostrado que utilizando una química apropiada y rediseñando los *primers* de la PCR para que se acerquen más a la zona polimórfica en sí, se pueden detectar alelos STR (Becker y cols., 1997; Butler y cols., 1998; Ross y Belgrader, 1997; Taranenko y cols., 1998).

1.4.5. Técnicas de hibridación de ácidos nucleicos

Por hibridación de ácidos nucleicos se entiende el proceso por el cual dos cadenas de ADN, de ARN, o una de ADN y otra de ARN, sencillas y de diferente origen, se unen mediante la formación de puentes de hidrógeno entre las bases citosina y guanina o adenina y timina (o adenina y uracilo en su caso). La molécula de cadena doble así formada se denomina híbrido. Para que tenga lugar la hibridación entre dos cadenas de ácidos nucleicos es necesario que exista secuencia de bases complementarias entre ambas cadenas. Cuanto mayor sea la proporción de bases complementarias y la longitud de las secuencias complementarias, mayor será la estabilidad del híbrido formado. Todas las técnicas de hibridación se basan en el apareamiento del ácido nucleico a estudiar (por ejemplo un polimorfismo de secuencia) con otra molécula de ADN conocida llamada sonda¹. Para la detección de la hibridación, la sonda ha de estar marcada, bien con un isótopo radiactivo (generalmente con ³²P), o bien de forma no radiactiva (generalmente con biotina o digoxigenina).

En el campo del análisis forense las técnicas de hibridación se han utilizado y se utilizan actualmente a dos niveles:

- a) Sin realizar PCR: ya vimos en el apartado de cuantificación de este trabajo cómo se utilizaba el slot-blot para detectar la presencia de ADN humano en las muestras y para cuantificarlo antes de proceder a su amplificación. Además de esta técnica, hasta no hace mucho tiempo, se solía realizar el análisis de los polimorfismos de ADN del tipo VNTRs mediante SLPs (*single locus probes*) o mediante MLPs

¹ Una *sonda* es un fragmento de ADN de cadena simple sintetizado en el laboratorio, de secuencia conocida y que está marcado con radioactividad, quimioluminiscencia o con reactivos enzimáticos de color.



(*multi locus probes*) como describió Jefreys en la década de los 80 (Jefreys y cols., 1985). Estas técnicas consisten en tratar el ADN extraído de las muestras con una enzima de restricción para producir diferentes fragmentos y someter a éstos a una electroforesis en gel de agarosa para separarlos. Posteriormente, los fragmentos separados en el gel se transfieren a una membrana de nylon mediante *southern blotting* (Southern, 1975), se desnaturalizan y se hibridan con una o varias sondas específicas marcadas. El mayor inconveniente de esta técnica es la necesidad de gran cantidad de ADN en las muestras de partida para poder realizarla, por lo que se ha ido abandonando a medida que se han desarrollado y mejorado las PCRs multiplex.

- b) Tras realizar PCR: la hibridación con sondas se ha utilizado fundamentalmente sin realizar una electroforesis previa, por lo que la mayoría de los polimorfismos así más estudiados son polimorfismos de secuencia. La forma de realizar las hibridaciones extendida consiste en el uso de sondas específicas para cada alelo inmovilizadas en una membrana, técnica denominada *dot blot* (Saiki y cols., 1989). Tras la PCR, el ADN amplificado en solución se desnaturaliza y se pone en contacto con las sondas inmovilizadas. Donde se produzca el reconocimiento por complementariedad de bases se producirá la hibridación, que es visualizada mediante diferentes técnicas de detección (reacciones colorimétricas, radiactividad, etc.).

Hoy en día existen en el mercado kits comerciales para uso forense que proporcionan las sondas y la mayor parte de los reactivos necesarios para detectar bien la presencia de ADN humano en nuestras muestras, como ya vimos en el apartado de cuantificación, o bien para detectar ciertos polimorfismos de secuencia (DQA1 y Polymarker).

1.4.6. Biochips

Actualmente se está desarrollando una técnica especial de hibridación llamada secuenciación por hibridación o chip de hibridación (Brown y Botstein, 1999). Se basa en sintetizar distintas sondas de

oligonucleótidos (del orden de cientos) para unirlos en disposiciones ordenadas (*arrays*) a una fina pastilla de nylon o vidrio. Este chip se pone en contacto con el ADN amplificado y marcado fluorescentemente durante la PCR de modo que el patrón y cantidad de fluorescencia suministra información sobre la secuencia de ADN en cuestión. La última generación de este enfoque es la combinación de técnicas fotolitográficas (como la de los chips de silicio para ordenadores) con síntesis química en fase sólida, con lo cual se logran chips con ordenaciones de decenas e incluso centenares y miles de oligos distintos, que pueden usarse para identificar secuencias marcadas fluorescentemente en cuestión de pocos minutos, por medio de un microscopio confocal de fluorescencia totalmente automatizado, que registra los datos.

A modo de estudio piloto sobre sus posibilidades, la empresa Affimetrix ha logrado secuenciar por este método las 16 Kb del ADN mitocondrial humano, con un dispositivo formado por 135.000 oligonucleótidos. Con la tecnología actual se puede llegar a sintetizar en un día 400.000 oligos de 20 bases cada uno, dispuestos en un chip de 1,6 cm², pero el objetivo final es lograr un chip con los cuatro millones de sondas necesarias para secuenciar todo el genoma humano en una sola hibridación. Como es de esperar, en el campo forense las cosas se complican. En nuestras muestras es imprescindible realizar PCR debido a la escasez de ADN de partida, por lo que el reto es desarrollar sistemas PCR multiplex de elevado número de marcadores. Aunque dispongamos de técnicas de detección rápidas capaces de diferenciar multitud de regiones del ADN simultáneamente como el chip de hibridación, de nada nos sirve si no somos capaces de amplificar esas regiones también simultáneamente. No obstante, en la actualidad, algunos laboratorios están realizando un gran esfuerzo por poner a punto estas técnicas con el fin de utilizarlas de rutina este campo, pues hasta ahora, uno de los principales problemas en la analítica genético molecular forense es el tiempo que se tarda en realizar los estudios.

1.4.7. Secuenciación automática

Dado un fragmento determinado, al secuenciarlo se pretende conocer la disposición u orden en que se encuentran los nucleótidos que lo componen. La mayoría de las técnicas utilizadas en la



actualidad en ciencia forense se basan en el denominado método de la inhibición de la terminación o método de Sanger (Sanger, 1977) por *cycle-sequencing*, especialmente útil para secuenciar muestras muy poco concentradas. La técnica consiste en realizar una PCR convencional del fragmento de ADN que se pretende secuenciar y posteriormente someterlo a una nueva replicación, esta vez añadiendo a la reacción un único cebador específico que proporcione el grupo OH (3') libre para permitir el comienzo del crecimiento de la cadena y desoxinucleótidos modificados (normalmente dideoxinucleótidos o ddNTPs que carecen del grupo 3'-OH) y marcados con colores (fluorocromos), además de los reactivos habituales en este tipo de reacciones (enzima polimerasa, desoxinucleótidos normales, tampón adecuado y cloruro magnésico).

Con ello se consigue que en el momento en que se incorpora un dideoxinucleótido marcado (ddNTP*) durante la replicación, la cadena nueva no puede seguir aumentando su longitud, ya que la enzima polimerasa es incapaz de unir un nuevo nucleótido al extremo del ddNTP*, al carecer éste del grupo hidroxilo en 3' necesario para la unión. El cebador utilizado puede ser uno de los ya usados en la primera amplificación o uno nuevo que hibride en alguna zona con el fragmento amplificado, pero siempre situado a unas 20-30 bases de distancia de la secuencia que se quiere leer. Así, se generan hebras de cadena simple que posteriormente podemos separar.

Actualmente, para poder distinguir los diversos productos basándose en el último nucleótido incorporado (el ddNTP que impide que la cadena siga elongándose), se utilizan cuatro fluorocromos diferentes según se trate de ddATP (verde), ddCTP (azul), ddGTP (amarillo), en negro en la figura n.º 7) o ddTTP (rojo). De esta manera se puede realizar la reacción de secuenciación en un único soporte (tubo Eppendorf). Cuando estos procesos de replicación se repiten un número muy elevado de veces en cada tubo, por puro azar estadístico, nos vamos a encontrar con que se han formado copias de la cadena de ADN de todas las longitudes posibles, variando unas a otras en sólo un nucleótido. Por ejemplo, como puede observarse en la figura n.º 7, la cadena que tiene 13 nucleótidos acaba en ddCTP, la que posee 14 acaba en ddGTP, la que posee

15 acaba en ddTTP y la que tiene 16 nucleótidos acaba en ddATP.

En consecuencia, podemos separar los diversos fragmentos basándonos en su diferente peso molecular –que depende directamente del número de nucleótidos–, sometiéndolos a una diferencia de potencial en un proceso electroforético en condiciones especiales (geles de secuenciación desnaturizantes o en un capilar), con lo que obtenemos un perfil típico tras un análisis adecuado, similar al esquematizado en la figura n.º 4.

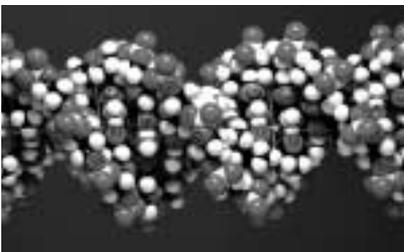
La manera de interpretar el resultado es comenzar por asignar la letra del nucleótido correspondiente al fragmento de ADN más anódico (el más largo), que en nuestro ejemplo (número 17) es una A; seguimos localizando cuál es el fragmento que es inmediatamente más corto después del número 17, que en este caso es otra A (número 16); continuando en este orden el número 15 es una T, el 14 una G, y así sucesivamente... de tal modo que se puede llegar a "leer" o asignar secuencias de 200-400 pares de bases, dependiendo de diversas circunstancias, principalmente, la longitud del gel o del capilar.

Estas técnicas de secuenciación automática facilitan enormemente el trabajo (Hoopgood y cols., 1992), al presentar dos grandes ventajas:

- 1) Permiten la reducción del 75% de las operaciones manuales en el laboratorio, y con ello minimizan la posibilidad de error.
- 2) Los datos son recogidos ("leídos") directamente por el aparato secuenciador, quedando almacenados y estando disponibles para ser estudiados por medio del *software* del que dispone el aparato, disminuyendo las probabilidades de error al introducir datos manualmente.

Los dos principales métodos de secuenciación automática utilizan diferentes estrategias para marcar el ADN y consisten en:

1. Secuenciación automática con *primers* marcados fluorescentemente en 5'. Es de uso menos extendido pues las reacciones de secuenciación se siguen preparando en cuatro tubos diferentes, aunque la electroforesis se puede realizar en una sola calle.
2. Secuenciación automática con terminadores marcados fluorescentemente: es la técnica de rutina para





secuenciar productos de no más de 500 pb. Su uso es más extendido porque permite llevar a cabo las cuatro reacciones de secuenciación en un solo tubo, en el que se añaden los cuatro ddNTPs marcados fluorescentemente.

1.4.8. Minisequenciación fluorescente en fase sólida

La utilidad de este método consiste en la detección de cambios en la secuencia de ADN que suponen la sustitución de una sola base o pequeñas inserciones o deleciones. Hoy en día puede aplicarse al estudio de muestras de índole forense para analizar polimorfismos tipo SNP y como herramienta de *screening* para diferenciar mitotipos antes de secuenciar completamente el D-loop mitocondrial (Tully y cols., 1996; Morley y cols., 1999).

La técnica comprende dos fases, una de amplificación y otra de secuenciación. En la segunda fase se elige un *primer* que hibride con el molde justo una base antes de donde se encuentra el polimorfismo. Se elonga dicho *primer* en presencia de taq polimerasa y dideoxinucléotidos marcados con fluorescencia, de tal manera que sólo se incorpore una única base, la complementaria al poli-

morfismo. La lectura se realiza en un secuenciador automático capaz de diferenciar el tipo de nucleótido incorporado según el color de la fluorescencia emitida.

El método permite la identificación de sustituciones de nucleótidos en muestras de individuos homo y heterocigotos. Un individuo homocigoto generará un solo tipo de señal correspondiente al nucleótido presente, mientras que un individuo heterocigoto producirá dos tipos de señales correspondientes a los dos nucleótidos presentes en su ADN.

Las grandes ventajas de esta nueva tecnología son:

- (i) La posibilidad de desarrollar reacciones multiplex tanto en la fase de amplificación como en la fase de secuenciación, utilizando en esta última fase *primers* de diferente longitud (por ejemplo, con colas de poli-T en su extremo 5') que originen productos de diferente tamaño susceptibles de ser separados mediante electroforesis.
- (ii) La posibilidad de tipar fragmentos de ADN muy degradados mediante la elección de *primers* que amplifiquen una pequeña región que contenga el sitio polimórfico.

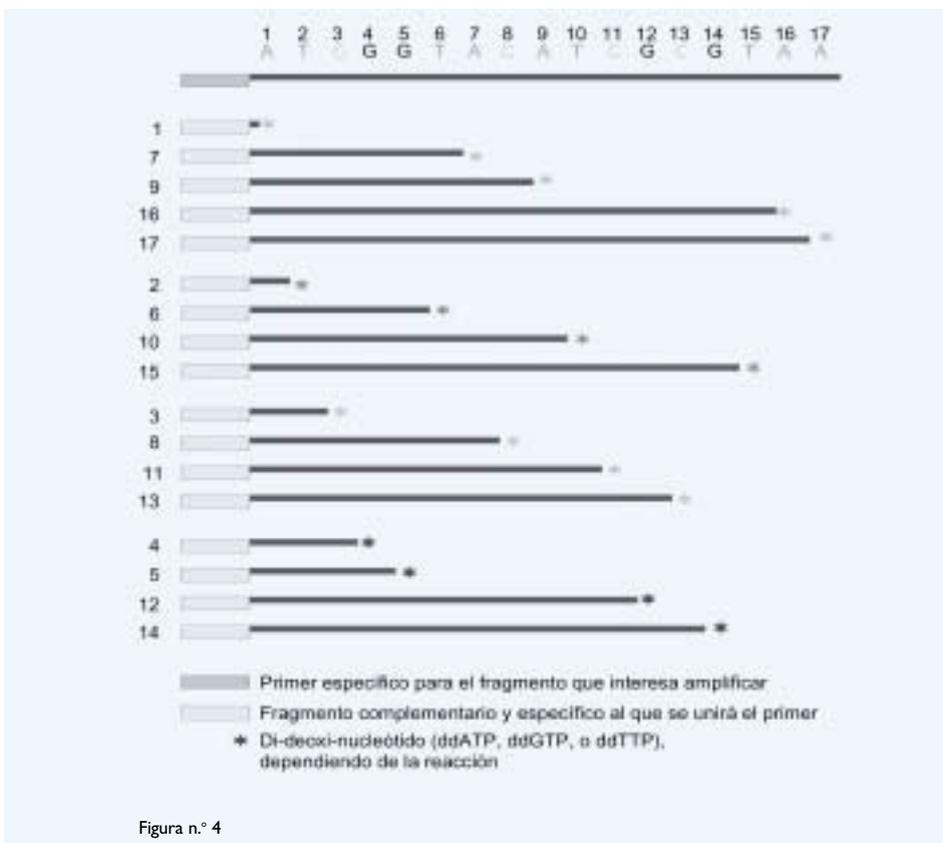


Figura n.º 4

2. PRÁCTICA FORENSE

En este apartado cabe resumir brevemente el esquema de actuación en cuanto a elección de los polimorfismos a estudiar según las características de cada muestra y las cuestiones planteadas respecto a la misma.

Como norma general diremos que siempre que sea posible se realizará el análisis de polimorfismos de ADN nuclear, pues son los que más información nos darán en cuanto a la identidad de la muestra. La decisión de seleccionar una región u otra del ADN genómico está basada, en parte, en los resultados previos existentes que demuestren la eficacia de la amplificación de tales moldes (Rogan y cols., 1990). Después de una extracción de ADN en muestras que se encuentran en muy mal estado de conservación, se obtienen fragmentos de sólo 100-200 pares de bases debido a su estado de degradación, con el agravante de que muchas veces estas muestras van acompañadas de ADN bacteriano (Hagelberg y cols., 1991a y 1991b; Jeffreys y cols., 1992; Bowcock y cols., 1994; Gill y cols., 1994). Por el contrario las muestras de tejido fresco proporcionan fragmentos de ADN de más de 10.000 pares de bases.

Los polimorfismos nucleares más discriminativos son los del tipo minisatélite, pero presentan el problema de que se requiere una alta calidad en el ADN que va a ser estudiado debido a su gran tamaño. Como hemos apuntado, en muestras forenses lo habitual es encontrarnos con ADN degradado y resultará de gran dificultad el análisis de este tipo de marcadores. Por ello se recurre al estudio de polimorfismos del tipo microsatélite que si bien son menos informativos que los anteriores, con el estudio de una batería de los mismos se consigue un poder de discriminación más que aceptable para identificar muestras problema.

No está descartado que en el futuro los polimorfismos elegidos sean los del tipo SNPs, pues pueden ser tipados en ADN degradado mediante la elección de *primers* que amplifiquen una pequeña región que contenga el sitio polimórfico. Sin embargo, ya hemos visto que son menos polimórficos que los STRs, por lo que sería necesario el análisis de un gran número de ellos para alcanzar un poder de discriminación válido para diferenciar muestras. Con el desarrollo de las nuevas tecnologías del tipo bio-

chip, este futuro está cada vez más cercano. Pero existen situaciones en las que es recomendable el análisis de otros tipos de polimorfismos, como son los polimorfismos de ADN mitocondrial y polimorfismos ligados al cromosoma Y:

a) ADN mitocondrial: La aplicación de técnicas de secuenciación para estudiar los polimorfismos del ADNmt encuentra precisamente su justificación en los siguientes supuestos:

- 1) Cuando existe una gran degradación de las muestras enviadas al laboratorio por las malas condiciones de conservación en que permanecieron hasta que fueron halladas o por la antigüedad que tienen. En este caso el ADN mitocondrial se encontrará en mejor estado que el nuclear debido a su mayor número de copias por célula y de no obtener resultados concluyentes en el análisis del ADN nuclear de este tipo de muestras, podemos pasar a obtener resultados positivos en el análisis de su ADN mitocondrial. Tal es el caso de restos óseos y dientes antiguos o sometidos a condiciones extremas.
- 2) Cuando la cantidad de muestra de que se dispone es mínima (pelos sin bulbo, heces). Un pelo con bulbo caduco o un fragmento de pelo contendrán una cantidad de ADN nuclear tan escasa que en principio los análisis de estas muestras mediante ADN nuclear resultará negativo. Por ello, de rutina este tipo de muestras se procesan directamente mediante analítica mitocondrial (Wilson y cols., 1995; Hopwood y cols., 1996).
- 3) En la identificación de restos biológicos y el establecimiento de una relación familiar cuando no se dispone de los progenitores y no queda más remedio que realizar una comparación con familiares más lejanos (Gill y cols., 1994). Si se trata de familiares vía materna tendrán exactamente el mismo ADN mitocondrial aunque se trate de familiares lejanos. Un estudio de ADN nuclear en estos casos sería poco informativo, ya que cuanto más alejada sea su rela-



ción familiar, menos alelos compartirán.

- 4) Cuando existe un sospechoso en un hecho delictivo pero no se dispone de muestra indubitada del mismo, se puede recurrir al estudio del ADN mitocondrial de un familiar relacionado matrilinialmente para excluirlo.
- b) Cromosoma Y: existen varios casos especiales en los cuales el análisis de los polimorfismos Y pueden ser de gran utilidad:
 - b.1) Casos de paternidad:
 - b.1.1. Casos de paternidad en los que no se dispone de material biológico de la madre: dado que los polimorfismos del cromosoma Y sólo se heredan vía paterna, nos es indiferente disponer de muestra biológica de la madre para realizar este tipo de estudios. Nos bastará con disponer de la muestra del padre y compararla con la del presunto hijo para comprobar si ambas presentan idénticos polimorfismos Y.
 - b.1.2. Casos de paternidad en los que no existe presunto padre (Pena y cols., 1994): otros parientes del hijo putativo como los hijos de tíos paternos pueden ser analizados mediante marcadores del cromosoma Y. Si los cromosomas Ys de esos familiares no son idénticos al del hijo en cuestión, estaremos ante una exclusión, aunque también es posible que la "no-paternidad" ocurriera en la generación previa (es decir, que el padre ausente no fuera en realidad hermano por parte de padre de los tíos paternos del hijo putativo).
 - b.2) Casos de mezclas:
 - b.2.1. Agresiones sexuales en las que el semen del sospechoso se encuentra mezclado con células de la víctima: cuando no es posible realizar una extracción diferencial de ADN, el estudio del cromosoma Y permite analizar el haplotipo del agresor de forma sencilla. Los polimorfismos del cromosoma Y permi-

ten una detección más sensible de la presencia de ADN de un individuo masculino, aún cuando éste se encuentre inmerso en una gran cantidad de ADN femenino. La explicación de todo esto la encontramos en que la alineación de los *primers* es un proceso complejo durante los primeros ciclos de la PCR, ya que los *primers* tienen que "escanear" el ADN genómico para encontrar los sitios de unión específicos (Ruano y cols., 1991). El producto amplificado durante estos primeros ciclos es el molde preferido para las síntesis posteriores. Si la secuencia diana deseada se encuentra presente en escasa cantidad respecto al total de ADN, la frecuencia de "colisión" entre los *primers* y los sitios de unión se ve enormemente reducida. En muestras con mezclas esto puede dar lugar a una amplificación fallida de los alelos que se encuentran en menor cantidad durante los primeros ciclos.

Debido a que la mayoría de los delitos sexuales se componen de un agresor varón y una víctima femenina, es interesante usar *primers* específicos del cromosoma Y para detectar pequeñas cantidades del ADN masculino que puede encontrarse inmerso en el mayoritario ADN femenino. Además, el uso de polimorfismos de ADN del cromosoma Y nos permite incluir o excluir a un sospechoso cómodamente.

Como conclusión diremos que en muestras que contengan una mezcla de escaso ADN de varón y abundante ADN de mujer (más de una proporción de 1:2000) los polimorfismos STR específicos del cromosoma Y se tipan sin problemas (mejor que un STR autosómico), porque no existe competición por parte del ADN femenino en el anillamiento de los *primers* (Prinz y cols., 1997).

- b.2.2. Delitos sexuales en los que el agresor es un individuo azoospermico: los individuos azoospermicos tienen ausen-

cia de espermatozoides en el eyaculado debido a defectos congénitos, o a la práctica de vasectomía, o bien debido a factores ambientales (Sigman, 1992). Los espermatozoides son la mayor fuente de ADN en las muestras de semen, por lo que un individuo azoospermico tiene mucho menos ADN seminal para el análisis. La cantidad de ADN/ml en el eyaculado de un individuo espermico es aproximadamente de 450 µgr en los espermatozoides y de 30 µgr. en los leucocitos y células epiteliales (Davidsodhn, 1991). Por ello, en un individuo azoospermico, el contenido de ADN es aproximadamente de sólo el 6,3% del contenido en un individuo espermico. Por las mismas razones que en el caso anterior, es posible la detección de ADN de las células epiteliales y los leucocitos en eyaculados de individuos vasectomizados aunque se encuentre mezclado con ADN de la víctima, pues los *primers* no compiten en la fase de anillamiento.

b.2.3. Agresiones sexuales múltiples: el uso de los microsatélites del cromosoma Y en estos casos permite determinar el número mínimo de agresores, aunque el haplotipo individual de cada uno no puede llegar a deducirse.

b.2.4. Otros tipos de mezclas: en mezclas de sangre-sangre, o de sangre-saliva, o de sangre-pelos donde no se puede aplicar lisis diferencial, el cromosoma Y es una herramienta de trabajo que puede aportarnos valiosa información.

b.3) Como herramienta de *screening*:

b.3.1. En casos de agresión sexual: los polimorfismos Y pueden servirnos para relacionar rápidamente estos casos (bases de datos) y excluir sospechosos de manera rápida antes de profundizar en loci autosómicos.

b.3.2. En grandes catástrofes: cuando en una catástrofe se

producen gran número de cadáveres puede ser interesante clasificarlos según sus polimorfismos Y para poder discriminar qué cadáveres tendremos que cotejar con cada familia antes de realizar los estudios de ADN nuclear autosómico. Esto resulta muy útil cuando los individuos vivos de cotejo con las víctimas son los hermanos de éstas, por ejemplo.

3. BIBLIOGRAFÍA

- Bassam y cols., (1991). "Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrilamide gels". *Anal. Biochem.* 196: 80-83.
- Becker CH, Li J, Shaler TA, Hunter JM, Lin H, Monforte JA, (1997). "Genetic analysis of short tandem repeat loci by time-of-flight mass spectrometry". *Proceedings from the Seventh International Symposium on Human Identification (Promega 1996)*, pp.: 158-162.
- Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL. (1994). "High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites". *Nature* 368, pp.: 455-457.
- Brown PO, Botstein D, (1999). "Exploring the new world of the genome with DNA microarrays". *Nature Genetics* 21: 33-37.
- Butler JM, Li J, Shaler TA, Monforte JA, Becker CH, (1998). "Reliable genotyping of short tandem repeat loci without an allelic ladder using time-of-flight mass spectrometry". *Int. J. Leg. Med* 112: 45-49.
- Davidsohn I. "Examination of semen". In: Henry JB, editor. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*, 18th ed. Philadelphia: Saunders, 1991: 498-503.
- Eckert KA, Kunkel TA, (1991). "DNA polimerasa fidelity and the polymerase chain reaction". *PCR* 1: 17-24.
- Gill P, Ivanov PL, Kimpton C, Piercy R, Benson N, Tully G, Evett Y, Hagelberg E, Sullivan K, (1994). "Identification of the remains of Romanov family by DNA analysis". *Nature Genetics* 6, pp : 130-135.
- Hagelberg E, Gray IC, Jeffreys AJ, (1991a). "Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis". *Nature* 352 : 427-429.
- Hagelberg E, Bell LS, Allen T, Boyde A, Jones S, Clegg JB. (1991b), "Analysis of ancient bone DNA: techniques and applications". *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 333: 399-407.
- Hopgood R, Sullivan K, Gill P, (1992). "Strategies for automated sequencing of human mitochondrial DNA directly from PCR products". *Biotechniques* 13: 82- 92.71.

- Hopwood AJ, Mannucci A, Sullivan KM, (1996). "DNA typing from human faeces". *Int. J. Leg. Med.* 108: 237-243.
- Jacobson SC, Ramsey JM, (1996). "Integrated microdevice for DNA restriction fragment analysis". *Anal. Chem.* 68: 4081-4086.
- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL, (1985). "Hypervariable minisatellite regions in human DNA". *Nature* 314: 67-73.
- Jeffreys AJ, Allen MJ, Hagelberg E, Sonnberg A, (1992). "Identification of skeletal remains of Josef Mengele by DNA analysis". *Forensic Science Int.* 56, pp.: 65-76.
- Kwok S., Higuchi R, (1989). "Avoiding false positives with PCR". *Nature* 339: 237-238.
- Li SFY. *Capillary electrophoresis: Principles, Practice, and Applications.* Elsevier: New York, 1992: pp: 1-586.
- Mansfield y cols., (1993). "Alternative labeling techniques for automated fluorescence based analysis of PCR products". *BioTechniques* 15: 274-279.
- Morley JM, Bark JE, Evans CE, Perry JG, Hewitt CA, Tully G, (1999). "Validation of mitochondrial DNA minisequencing for forensic casework". *Int. J. Legal Medicine* 112: 241-248.
- Mullis KB, Faloona F, Scharf SJ, Saiki RK, Horn GT, Erlich HA, (1986). "Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction". *Cold Spring Harbor. Sym. Quant. Biol.* 51: 263-27.
- Mullis KB, Faloona F, (1987). "Synthesis of DNA in vitro polymerase catalyzed chain reaction". *Meth. Enzymol.* 155: 335-350.
- Pääbo S, (1990). "Amplifying ancient DNA". In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds.) *PCR Protocols: A guide of methods and amplifications.* San Diego: Academic Press, pp. 159-166.
- Pena y cols. "Paternity testing in the DNA era". *Trends Genet.* (1994) 10: 204-209.
- Prinz M, Boll K, Baum H, Shaler B, (1997). "Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples". *Forensic Sci. Int.* 85: 209-218.
- Rogan P, Salvo J, Tooley P, (1990). "Use of universal PCR primers amplify 28S ribosomal DNA from taxonomically diverse organisms". *Proceedings of the 4th International Congress of Systematic and Evolutionary Biology, vol. 2.* College Park, Md: University of Maryland, p. 393.
- Ross PL, Belgrader P, (1997). "Analysis of short tandem repeat polymorphism in human DNA by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry". *Anal. Chem.* 69: 3966-3972.
- Ruano G, Brash DE, Kidd KK, (1991). "PCR: the first few cycles". *Amplifications*, 7: 1-4.
- Saiki RK, Scharft F, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N, (1985). "Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia". *Science* 230 : 1350-1354.
- Saiki RK, Walsh PS, Levenson Ch, Erlich HA, (1989). "Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes". *Proc of Natl Academy of Sci USA* 86: 6230-6234.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR, (1977). "DNA sequencing with chain terminating inhibitors". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5463-5467.
- Schmalzing D, Kounty L, Adourian A, Belgrader P, Matsudaira P, Ehrlich D, (1997). "DNA typing in thirty seconds with a microfabricated device". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 10273-10278.
- Schmalzing D, Kounty L, Chisholm D, Adourian A, Matsudaira P, Ehrlich D, (1999). "Two-color multiplexed analysis of eight short tandem repeat loci with an electrophoresis microdevice". *Anal. Biochem.* 270: 148-152.
- Shi Y, Simpson PC, Scherer JR, Wexler D, Skibola C, Smith MT, Mathies RA, (1999). "Radial capillary array electrophoresis microplate and scanner for high-performance nucleic acid analysis". *Anal. Chem.* 71: 5354-5361.
- Sigman MH. "Azoospermia". In: Walsh PC, Retick AB, Stamey TA, Vaughan ED, editors. *Campbell's urology, 6 th ed.* Philadelphia: Saunders, 1992; 676.
- Southern E, (1975) "Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis". *J. Mol Biol.* 95: 503-508.
- Taranenko NI, Golovlev VV, Allman SL, Taranenko NV, Chen CH, Hong J, Chang LY, (1998). "Matrix-assisted laser desorption / ionization for short tandem repeat loci". *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 12: 413-418.
- Tully G, Sullivan KM, Nixon P, Stones RE, Gill P, (1996). "Rapid detection of mitochondrial sequence polymorphisms using multiplex solid-phase fluorescent minisequencing". *Genomics* 34: 107-113.
- Waye JS, Presley LA, Budowle B, Shutler GG, Fourny RM, (1989). "A simple and sensitive method for quantifying human genomic DNA in forensic specimen extracts". *BioTechniques, Vol. 7:* 852-855.
- White HW y Kusukawa N, (1997). "Agarose-based system for separation of short tandem repeat loci". *Biotechniques* 22 (5): 976-980.
- Wilson MR, Polansky D, Butler J, DiZinnio JA, Replogle J, Budowle B, (1995). "Extraction, PCR amplification and sequencing of mitochondrial DNA from human hair shafts". *BioTechniques* 18: 662-669.
- Woolley AT, Hadley D, Landre P, deMello AJ, Mathies RA, Northrup MA, (1996). "Functional integration of PCR amplification and capillary electrophoresis in a microfabricated DNA analysis device". *Anal. Chem.* 68: 4081-4086.

COMISIÓN SECTORIAL DE SALUD

GRUPO DE TRABAJO RIESGOS AMBIENTALES

El grupo de trabajo de Riesgos Ambientales y Laborales se creó en abril de 2001 como respuesta a las inquietudes profesionales de biólogos relacionados profesionalmente con la prevención de los riesgos ambientales y laborales.

Las actividades realizadas en este grupo de trabajo consideramos que han sido bastante importantes, sobre todo las tres jornadas que se han realizado en las tres principales universidades públicas madrileñas bajo el título "El biólogo y la prevención de riesgos", cuyo objetivo fue mostrar la prevención como una importante salida profesional del biólogo, debido a la formación previa y específica que éste posee.

Así, el 9 de octubre tuvo lugar la tercera jornada sobre prevención de riesgos en el edificio de Biología de la facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid, organizada por el grupo de trabajo de Riesgos Ambientales y Laborales de la Comisión de Salud del COBCM.

Como ponentes intervinieron Isabel Martínez, técnica de Prevención del Servicio de Prevención de la UAM; M. Ángeles Sánchez Sánchez, del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM); Fidel Grande Rama, de GRESPO, y Juan Jiménez Pinillos, de ATIPMA.

El evento fue presentado por Javier Benayas del Álamo, vicerrector del Campus y Calidad Ambiental de la UAM, y por Ángel Fernández Ipar, vocal de la Junta de Gobierno del COBCM, y clausurado por Pedro Miguel Gascón, vicedecano del Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid.

Se dio una visión general de la prevención de riesgos laborales y se trataron varios temas como los riesgos físicos, químicos y biológicos, los laboratorios de bioseguridad, las funciones de los servicios de prevención ajenos y la importancia de pertenecer a asociaciones profesionales, destacando que podría constituir esta especialización una salida profesional relevante debida a la formación previa del biólogo. Asistieron estudiantes y profesionales de distintos sectores.

Como ya se ha indicado, este grupo gestionó también la realización de dos jornadas similares de información en la Universidad Complutense de Madrid, el día 2 de julio, y en la Universidad de Alcalá de Henares, el 8 mayo de 2003.

Actualmente, los miembros del grupo de trabajo de Riesgos Ambientales y Laborales estamos preparando un curso de Agentes Biológicos para el próximo otoño, que son los menos conocidos y donde el biólogo como profesional tiene mucho que decir; y tenemos otros desarrollos, con más contenido, tanto desde un punto de vista curricular como desde la perspectiva profesional, de los que esperamos poder daros pronto una información más detallada.

Tras la primera aproximación dada por los miembros del grupo en las jornadas de los días 2 de julio de 2002, 8 de mayo de 2003, y 9 de octubre de 2003, se pretende formar al biólogo para identificar, medir, evaluar los riesgos de los agentes químicos, físicos y por supuesto, biológicos, y de esta manera abrirle un nuevo campo de trabajo.

Animamos a todos aquellos que estéis interesados, a poneros en contacto con el COBCM telefónicamente en el 91 447 63 75, por FAX en el 91 445 88 38 o a través de la dirección de correo electrónico cobcm@cobcm.net.

ÁNGELES S. S. Y NOEMÍ G. J.

CURSO DE GESTIÓN Y AUDITORÍA INTEGRADAS DE CALIDAD Y MEDIO AMBIENTE

El Servicio de Certificación de la Cámara de Comercio e Industria de Madrid y el Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid inician una colaboración en materia de organización e impartición de formación especializada, que tendrá su primer exponente en este curso, centrado en una de las temáticas más demandadas actualmente y con una vertiente eminentemente práctica.

Para ello han optado por la realización de la actividad formativa en un ambiente de inmersión, en una escuela albergue especialmente dotada para este fin.

Contenido del curso

El temario previsto para este curso es el siguiente:

- Sistemas de gestión
- ISO 9001. Contenido y requisitos
- Casos prácticos de gestión de calidad
- La auditoría de calidad. Tipos. Realización de auditorías. El informe. Seguimiento
- Casos prácticos y simulación de un caso real
- Los sistemas de gestión medioambiental
- La auditoría ambiental
- Auditoría y verificación medioambiental
- Auditoría de prevención de riesgos laborales
- Técnicas de auditoría
- Otros sistemas de gestión. La integración de sistemas
- El esquema de normalización y acreditación

Para todos los temas se cuenta con profesorado del más alto nivel y experiencia.

La organización del curso incluye lo siguiente

- El transporte en autobús desde Valencia a la escuela albergue Les Alcusses
- Alojamiento compartido en régimen de pensión completa
- Visita a las bodegas ecológicas Fernando Francés con cata de vino y comida de degustación
- Visita al poblado ibérico de La Bastida de Les Alcusses
- Prácticas en El Teularet Centro de Formación y Ecoturismo. Certificado de acuerdo a las normas ISO 9001, ISO 14001 y al Reglamento EMAS
- Visita y cena en Xàtiva, conociendo El Castillo y centro histórico de la ciudad
- Diplomas de asistencia expedidos por el Servicio de Certificación de la Cámara de Comercio e Industria de Madrid y el Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid

Duración del curso

5 días, 40 horas

Fechas

del 20 al 24 de septiembre

Precio

1.500 € (IVA incluido)

Para más información dirigirse al COBCM

C/ Jordán, 8 es. int. 5º

28010 Madrid. Tel.: 914 476 375

Fax: 914 468 838. Email: cobcm@cobcm.net

Website: www.cobcm.net

Segunda Olimpiada de Biología de la Comunidad de Madrid

Las Olimpiadas de Biología de la Comunidad de Madrid, organizadas por el COBCM con el patrocinio de la Dirección General de Centros Docentes de la Consejería de Educación y la colaboración de la Facultad de Biología de la Universidad Complutense (UCM), tienen por objetivo fomentar entre el alumnado de Enseñanza Secundaria y Bachillerato el interés por la Biología y por las innovaciones que día a día se producen en esta disciplina científica.

El pasado 29 de mayo tuvo lugar en la Facultad de Biología de la UCM la Segunda Olimpiada de Biología, con un total de sesenta centros docentes inscritos y más de trescientos cincuenta alumnos participantes, repartidos entre la categoría A, de participación individual para alumnos de 2.º de Bachillerato y la categoría B, de participación por equipos de tres alumnos para 4.º de ESO. Las pruebas consistieron en cincuenta preguntas tipo test para Bachillerato y veinticinco para ESO, y éstos además contaron con diez preguntas de respuesta corta. El esfuerzo, entusiasmo y nivel académico mostrado por los participantes fue digno de reseñar.

Los ganadores de la categoría A fueron:

- Primer premio: Sara Sacristán Horcajada, del Colegio Enriqueta Aymer.
- Segundo premio: Miguel Ángel Acosta Benito, del Colegio Jesús-María.
- Segundo premio: Miguel González Ximénez de Embún, del I.E.S. San Isidoro de Sevilla.

En esta segunda edición de las Olimpiadas se concedieron dos segundos premios, puesto que dos alumnos obtuvieron la misma puntuación, con el mismo número de aciertos y errores.

Los ganadores de la categoría B fueron:

- Primer premio: M.ª Dolores Hermida Cabrera, Daniel Pastor Altaba y Helena Sánchez Otobalea, del I.E.S. Jorge Manrique.
- Segundo premio: María Torres Raboso, Sergio Segundo García y Raúl González Villalba, del I.E.S. José Hierro.
- Tercer premio: María Sánchez Lizcano y Montserrat Montero Fernández, del Colegio Villa de Móstoles.

La entrega de premios tuvo lugar el viernes 18 de junio en el Salón de Actos de la Facultad de Biología de la UCM, con la presencia del Ilmo. Sr. D. José Manuel Cejudo Ruiz, decano del COBCM, del Ilmo. Sr. D. Julio Alonso Fernández, vicedecano de Alumnos de la Facultad de Biología de la UCM, y D. José M.ª Serrano Adanero, jefe del Servicio de Educación Secundaria Obligatoria y Bachillerato de la Dirección General de Centros Docentes, quienes elogiaron la iniciativa puesta en marcha por el colegio, la buena acogida que ha tenido entre los centros docentes y los resultados obtenidos por los ganadores y el resto de los alumnos participantes.

Los centros ganadores recibieron una placa conmemorativa, y los alumnos premiados un diploma y el importe del premio en metálico. Al finalizar el acto se sirvió a los asistentes un cóctel.

Agradecemos el interés mostrado por los centros, profesores y alumnos participantes, e invitamos al resto de los centros a que se unan a este evento en próximas convocatorias. Las Olimpiadas constituyen una actividad educativa, científica y motivadora para los protagonistas de las mismas: los alumnos.

Participación del COBCM en el VII CONAMA

La participación del Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid en el VII CONAMA, Cumbre del Desarrollo Sostenible, en la que se ha venido trabajando ya desde principios de este año, se ha formalizado mediante la firma, el pasado 15 de junio de 2004, de un convenio de colaboración entre el COBCM y la Fundación CONAMA.

El COBCM participará en el VII CONAMA en calidad de organizador, a través de representantes institucionales en los comités técnicos de mesas redondas, jornadas técnicas y grupos de trabajo.

El COBCM coordinará los grupos de trabajo "Nuevas perspectivas para la conservación de la biodiversidad del patrimonio natural" y "Red natura y medidas compensatorias".

Los colegiados del COBCM, como miembros de una de las entidades que colaboran en la organización del congreso, pueden beneficiarse de la cuota de inscripción reducida (390 euros).

Entrevista con el gerente del Summa 112

El pasado tres de agosto, la coordinadora del grupo de trabajo del Imsalud se entrevistó con el gerente del Servicio de Urgencia Médica de Madrid (Summa 112), Dr. Pedro Martínez Tenorio, para conocer con mayor profundidad el plan integral de urgencias y emergencias que se va a desarrollar en la Comunidad de Madrid con el fin de descolapsar las urgencias hospitalarias.

Este plan, que tendrá vigencia hasta el año 2007, va a generar dentro de nuestra Comunidad alrededor de setecientos nuevos contratos entre personal interino y eventual, que no sólo reforzaron los servicios de urgencia, sino que también irán destinados a la atención primaria, donde se van a crear, entre otras cosas, laboratorios de análisis clínicos. En estos laboratorios, todos los análisis urgentes serán realizados por un técnico de laboratorio (química seca), y los resultados serán interpretados por el médico de guardia. Estos mini laboratorios dependerán, en caso necesario, de atención especializada.



Noticias del Colegio

ACTIVIDADES REALIZADAS POR EL GRUPO DE TRABAJO DE SEGURIDAD E HIGIENE ALIMENTARIA DURANTE EL AÑO 2004

Durante el presente año, y desde su constitución, el Grupo de Trabajo de Seguridad e Higiene Alimentaria se ha reunido en tres ocasiones con aquellos colegiados interesados que pudieron asistir para darle un enfoque como grupo de trabajo. Animamos desde aquí a todos aquellos biólogos que ejerzan su labor dentro de este campo o que tengan inquietud por estos temas para que se acerquen a las reuniones que regularmente se convocan, con el fin de aportar ideas, opiniones, puntos de vista, y para compartir las dudas o resolver los problemas que se nos plantean en nuestros quehaceres diarios.

Asimismo, este Grupo de Trabajo ha sido representado por su coordinador en distintos foros de opinión a los que ha sido invitado a participar el Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid. Así pues, ha participado en:

- Jornadas sobre Trazabilidad y Seguridad Alimentaria, organizadas por el Grupo Alimenta, que tuvieron

lugar los pasados días 27 y 28 de marzo, en las que se trataron diversos aspectos sobre un tema de candente actualidad como es la trazabilidad alimentaria. A estas jornadas acudieron profesionales veterinarios, químicos y farmacéuticos.

- Jornada sobre Situación y Perspectiva de la Seguridad Alimentaria en España y Europa, organizada el pasado 21 de mayo por la certificadora Tüv Nord Cert, empresa dedicada al asesoramiento, implantación y certificación de sistemas de calidad. En esta jornada se habló sobre la situación actual de los sistemas de seguridad alimentaria existentes, con especial énfasis sobre la IFS (International Food Standard) y Eurepgap. Asistieron profesionales procedentes de distintos sectores.

Tenemos previsto organizar cursos relacionados con la seguridad e higiene alimentaria, de los que os iremos informando.



CURSOS ORGANIZADOS POR EL COBCM

CURSO DE FORMACIÓN DE PERSONAL QUE REALIZA OPERACIONES DE MANTENIMIENTO HIGIÉNICO-SANITARIO EN INSTALACIONES DE RIESGO DE LEGIONELOSIS

Curso autorizado por la Dirección General de Salud Pública de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. El curso consta de 37 horas lectivas y está dividido en dos partes, claramente diferenciadas, que cubren los aspectos higiénico-sanitarios para el control y prevención de la legionelosis, y los aspectos técnicos de funcionamiento y conservación de instalaciones de riesgo.

Fechas: comienzo según demanda de alumnos.

Organizado por: COBCM y AMICYF.

Información: en la secretaría del COBCM.

Lugar: Madrid.

CURSO DE CAPACITACIÓN PARA LA DIRECCIÓN TÉCNICA DE EMPRESAS DE DESINFECCIÓN

Actualmente, la Administración está requiriendo a las empresas de desinfección la contratación de directores técnicos, que han de ser titulados superiores que estén en posesión del correspondiente curso autorizado por la Comunidad de Madrid. Esta situación está generando una importante demanda, por parte de las empresas asociadas a AMED, de titulados que hayan realizado el citado curso.

Fechas: finales de septiembre o principios de octubre de 2004.

Organizado por: Asociación Madrileña de Empresas de Desinfección (AMED), en colaboración con el COBCM.

Información: en la secretaría del COBCM.

Lugar: Madrid.

CURSOS DE FORMACIÓN OCUPACIONAL DIRIGIDOS A DEMANDANTES DE EMPLEO

Títulos y fechas:

- “Fundamentos de marketing sanitario”. Septiembre-octubre 2004.
- “Formación y capacitación para la realización de operaciones de mantenimiento higiénico-sanitario en instalaciones de riesgo de legionelosis de la Comunidad de Madrid”. Septiembre-octubre 2004.

Organizado por: COBCM, a través de la Unión Interprofesional de la Comunidad de Madrid, con la financiación del Fondo Social Europeo y el Servicio Regional de Empleo.

Dirigido a: demandantes de empleo inscritos en las Oficinas del INEM de la Comunidad de Madrid.

Información: en la secretaría del COBCM.

Lugar: Madrid.

La realización de estos cursos, totalmente gratuitos para los alumnos, está pendiente de la firma del convenio de colaboración entre la Unión Interprofesional y el Servicio Regional de Empleo de la Comunidad de Madrid.

AGENTES BIOLÓGICOS DE INTERÉS EN HIGIENE INDUSTRIAL

Fechas: del 18 al 27 de octubre de 2004.

Organizado por: COBCM.

Información: en la secretaría del COBCM.

Lugar: Madrid.



Servicios del COBCM

Administración

Compulsa de documentos
Visado de proyectos
Asesoría jurídica
Tarifas de honorarios profesionales

Empleo

Bolsa de empleo
Directorio de biólogos
Directorio de empresas
Directorio de Administraciones Públicas
Formación continua

Comunicación

Boletín informativo
Revista del Colegio

Ofimática

Biblioteca
Edición de documentos
Internet

Participación

Comisiones sectoriales
y grupos de trabajo
Organización de jornadas
y seminarios

BIR 2004

FORMACIÓN SANITARIA ESPECIALIZADA PARA **Biólogos**

¡¡ Excelentes Resultados !!

En la última **CONVOCATORIA 2003-04**
13 plazas de las 25 ofertadas, obtenidas
por alumnos de **CASH FLOW**
y además en las convocatorias
2002, 2001, 1999, 1996 y 1995 el →

Nº 1

CLASES PRESENCIALES

- Grupo 1º. comienzo: 26 de abril de 2004
- Grupo 2º. comienzo: 9 de septiembre de 2004
Duración: 7 meses (224 horas lectivas)

A los alumnos asistentes a las clases se les entrega Gratuitamente: TEORÍA, TEST, RESÚMENES, EXÁMENES y SIMULACROS etc..

PUBLICACIONES

PARA PREPARAR EL BIR *por tu cuenta*

- 6 volúmenes de TEORÍA y TEST
- 5 volúmenes de TEST y EXAMENES

ENVIOS A PROVINCIAS
por correo contra reembolso

OPOSICIONES

Ministerio de Ciencia y Tecnología

PRÓXIMAS CONVOCATORIAS 2004

- **AYUDANTES de Investigación (OPIS)**
↓ 52 plazas* - Nivel C
- **AUXILIARES de Investigación (OPIS)**
↓ 26 plazas* - Nivel D
- **T.E. GRADO MEDIO de Investigación**
↓ 56 plazas* - Nivel B

(*) Oferta de Empleo Público 2004
Clases Presenciales - Temarios

COMUNIDAD DE MADRID

- **Técnico Medioambiental**
Nivel B

Infórmate

CENTRO SUPERIOR DE ESTUDIOS **CASH FLOW**

C/ Montesa, 20 – 28006 MADRID

Tfno: 91 309 36 46

www.cashflow-oposiciones.com

más información en nuestra página web

cobcm.net



SI ESTO TE DUELE, LLAMA AL MÉDICO

Llama al 902 250 902
o entra en www.msf.es y hazte socio.



Con una simple llamada puedes contribuir a mejorar la precaria situación en la que viven millones de refugiados y desplazados internos en todo el mundo. Hazte socio de Médicos Sin Fronteras y con tus aportaciones podremos ayudar a los que se han visto obligados a dejar sus tierras y sus casas a causa de conflictos armados o de intereses políticos y económicos. Por ejemplo, con 10 euros al mes podremos enviar un kit de cloración para que 3.000 personas tengan agua potable. Hazte socio. Tu compromiso es la mejor ayuda.