

BIOLOGOS

REVISTA
DEL COLEGIO
OFICIAL DE
BIÓLOGOS DE LA
COMUNIDAD
DE MADRID



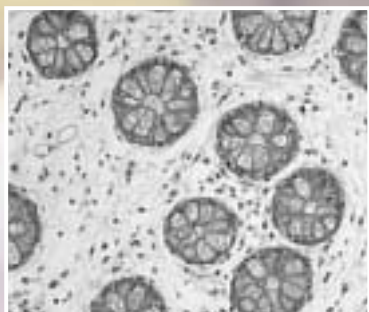
2005/TRIMESTRE I/NÚM. 7



**Sensibilidad
a los alimentos**



**Papel del Biólogo en
Medicina Preventiva**



**Analizador de imágenes
en Biomedicina**



**Francisco García Navarro,
director general del Instituto
de Salud Carlos III**

Técnicas de reproducción asistida



Todo un mundo de OPORTUNIDADES PROFESIONALES

En Aliter, ponemos a tu alcance las alternativas profesionales más específicas y actuales.

Queremos comprometernos contigo, ofreciéndote una formación de calidad, selectiva y con futuro.



MASTER EN BIOTECNOLOGÍA (IX Edición)

En colaboración con el Consejo Superior
de Investigaciones Científicas.



Todos los masters incluyen un periodo de 6 meses de prácticas en empresas.

Información e inscripciones:

C/ Maestro Ripoll, 18 (Colonia El Viso)
28006 Madrid. Telf: 91 561 48 80

aliter@aliter.org • marian_izquierdo@aliter.org • www.aliter.org

ALITER
Escuela Internacional de Negocios



SUMARIO

Edita

Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid

Director

Ángel Fernández Ipar

Consejo Editorial

Rubén Álvarez Llovera
Emilio Pascual Domínguez
Isabel Lorenzo Luque
Fernando Prados Mondéjar
Juan Esteban Jiménez Pinillos
Julia Sánchez Muñoz
Valentín Alfaya Arias

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

ISSN

1579-4350

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

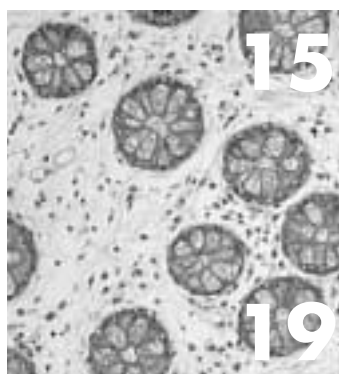
En internet

cobcm.net



El biólogo en el ámbito sanitario 4

Aunque la genética aún no se reconoce como especialidad clínica, mostramos el trabajo del biólogo en el Servicio de Genética de la Fundación Jiménez Díaz.



Sensibilidad a los alimentos 9

Conoceremos algo más las alergias producidas por alimentos, su manifestación clínica y los test de sensibilidad.

Papel del biólogo en los servicios de medicina preventiva 14

El Servicio de Medicina Preventiva del Hospital Clínico San Carlos muestra el trabajo del biólogo en la atención sanitaria especializada.



Estafilococos e infecciones nosocomiales 15

El Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III nos muestra cómo se realiza la significación clínica mediante criterios microbiológicos, de los estafilococos coagulasa negativos causantes de infecciones nosocomiales.

Analizador de imágenes en biomedicina 19

Desde el Hospital Clínico Carlos III de Madrid, conoceremos la utilidad del análisis de imagen como apoyo al diagnóstico e investigación clínica.

Noticias 25

Presente y futuro de las técnicas de reproducción asistida 27

Los biólogos de la Clínica de Medicina de la Reproducción y Ginecología FIV de Madrid adelantan los avances en las técnicas de reproducción asistida.



Entrevista 31

Isabel Lorenzo, presidenta de la Comisión Sectorial de Salud del COBCM, entrevista a Francisco Gracia Navarro, director general del Instituto de Salud Carlos III.

C. Ramos Corrales
(Biólogo)
C. Ayuso García
(Médico)
Jefes de Servicio

M. J. Trujillo Tiebas (1)
M. García Hoyos (2)
D. Cantalapiedra (2)
R. Riveiro (2)
E. Vallespin (2)
D. Diego (2)
J. Gallego Merlo (3)
A. Giménez Pardo (3)
C. Villaverde (3)
Genética Molecular
Humana

M. Rodríguez de Alba (1)
A. Bustamante (2)
C. Gacituaga (3)
F. Infantes (3)
R. Cardero (3)
T. Barrero (4)
I. Lorda-Sánchez (5)
Citogenética Humana

(1) Biólogo adjunto
(2) Biólogo becario
predoctoral
(3) Técnico de laboratorio
(4) Auxiliar
(5) Médico adjunto

El biólogo en el ámbito sanitario

Un enfoque multidisciplinario en el servicio de genética



La actividad clínica del Servicio de Genética de la Fundación Jiménez Díaz, creado por el profesor Andrés Sánchez Cascos en 1962, consiste en una consulta de diagnóstico y un laboratorio de diagnóstico molecular y citogenético. Además, se realizan tareas de investigación y docencia, manteniendo la idea del Dr. Carlos Jiménez Díaz, fundador del hospital. El departamento está constituido por un conjunto multidisciplinario de profesionales en activo y en formación, donde los biólogos, a diferencia de otros centros, tienen una labor independiente y complementaria del conjunto de los profesionales que lo componen. El Servicio se compone de tres grandes áreas: Genética Clínica, Citogenética y Genética Molecular.

La labor asistencial del departamento se realiza conjuntamente por médicos, biólogos y técnicos de laboratorio. Los médicos realizan la evaluación clínica de los pacientes y les transmiten los resultados de las pruebas realizadas. Dichas pruebas diagnósticas se realizan por biólogos que cotejan los resultados y diseñan nuevas estrategias de estudio para optimizar las técnicas existentes. Los biólogos también se ocupan de la gestión de laboratorio y labores docentes. Los técnicos realizan una labor de soporte técnico dentro del laboratorio, sin la cual el trabajo del biólogo no sería muchas veces posible. Las pruebas diagnósticas suponen un conocimiento de las patologías objeto de estudio, tanto en su base biológica como





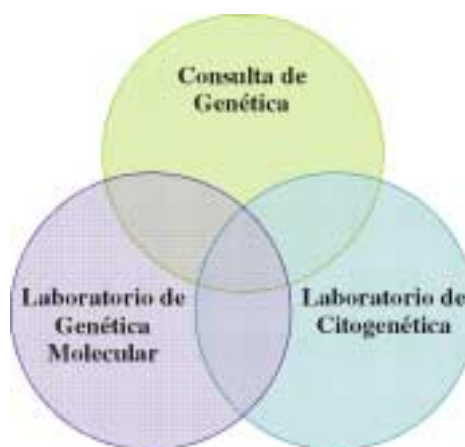
en su base médica. Por ello, dentro del ámbito hospitalario, el biólogo puede asumir ciertas funciones que en principio podrían suponerse exclusivas del colectivo médico. Así, un biólogo especialista en determinadas patologías genéticas está en condiciones de realizar la consulta con dichos pacientes, informarles de los resultados, así como establecer el consejo genético para dicha enfermedad. La genética es hoy por hoy una "especialidad" sanitaria no reconocida como tal. La formación del personal que trabaja en este campo ha pasado generalmente por una serie de años participando en proyectos de investigación relacionados con el área de la genética humana a la vez que participaban en los diagnósticos clínicos, pues la principal misión en este período era poner en marcha nuevas técnicas para su posterior uso diagnóstico. En estos años de formación (generalmente de 4 a 6) los conocimientos y experiencia adquirida son equiparables a la obtenida por otros facultativos mediante la "vía residente".

A pesar de que la especialidad de Genética no está reconocida, los departamentos de genética participan del sistema de rotación de residentes en formación de diversas áreas (análisis clínicos, bioquímica clínica, neurología, etc.). Todos ellos reciben en nuestro departamento formación básica tanto en genética clínica, en citogenética como en genética molecular. También se forma a técnicos de laboratorio (con períodos de rotación de 3 a 6 meses) y asistentes voluntarios recién licenciados que así lo solicitan. Nuestra labor docente también llega a otros estamentos de la enseñanza como son los profesores de instituto.

Una parte fundamental de nuestro Departamento de Genética es la investigación. Los proyectos están subvencionados en su gran mayoría por el Ministerio de Sanidad, y son aplicados al conocimiento de las patologías genéticas humanas y generalmente encaminados al establecimiento de métodos diagnósticos para enfermedades de causa recientemente conocida o mejora de métodos diagnósticos ya establecidos. De estos proyectos se elaboran tesis doctorales que avalarán la formación en Genética Humana del biólogo. Existe, además, una colaboración estrecha en la investigación y diagnós-

tico de los pacientes con otros departamentos dentro del hospital (neurología, ginecología, reproducción asistida) y fuera de él. Los resultados obtenidos de los trabajos de investigación son igualmente divulgados en congresos y revistas científicas de carácter tanto nacional como internacional.

La característica fundamental del Servicio de Genética de la Fundación Jiménez Díaz es que es un servicio integral. Aquellos pacientes que acuden a la Consulta son valorados por los genetistas clínicos, quienes establecerán el tipo de estudio a realizar. A algunos de estos pacientes se les realizará únicamente un estudio molecular o citogenético, mientras que en algunos casos se llega a un diagnóstico gracias a la interacción de los distintos componentes. Un ejemplo que ilustraría lo dicho es el estudio del Síndrome de Prader-Willi, estos pacientes son identificados clínicamente en la consulta y en algunos de ellos sólo un estudio conjunto molecular y citogenético permite establecer la causa genética de la enfermedad.



Servicio de Genética de la FJD (Servicio integral).

Citogenética Humana

Desde 1962 existe la sección de Citogenética Humana. Inicialmente los estudios citogenéticos se realizaban únicamente en sangre o en restos abortivos. Estos estudios permitían establecer la causa de ciertos retrasos mentales, problemas de esterilidad, causa del aborto en el feto, etc.

Posteriormente, el establecimiento de las técnicas obstétricas necesarias para la obtención de muestras de tejido fetal permitió la realización de diagnósticos prenatales que suponen actualmente la mayor carga asistencial en los laboratorios de citogenética.

Hasta el momento, se han realizado más de 14.000 diagnósticos en sangre periférica,

más de 10.000 en líquido amniótico y más de 3.000 en vellosidad corial, y alrededor de 1.000 en cultivo de fibroblastos (piel y restos abortivos).

Las técnicas utilizadas para el estudio citogenético en los distintos tejidos y los diagnósticos que se realizan se encuentran recogidos en las tablas I y II:

TABLA I

Técnicas citogenéticas

- ✓ Cultivo celular para la obtención de metafases y posterior estudio de los cromosomas.
- ✓ Técnicas de bandeo cromosómico para la identificación de cromosomas y de variaciones polimórficas (GTG, CBG, bandas Q, bandas NOR, bandas R).
- ✓ FISH (Hibridación in situ fluorescente) para el diagnóstico de síndromes de microdelección, anomalías cromosómicas numéricas y reestructuraciones cromosómicas.
- ✓ CGH.

TABLA II

Estudios que se realizan

- ✓ Vellosidad corial: Diagnóstico prenatal mediante cultivo a corto y largo plazo de anomalías cromosómicas numéricas y estructurales y enfermedades genéticas (sección de genética molecular). Estudio de mosaicos cromosómicos confinados a placenta.
- ✓ Líquido amniótico: Diagnóstico prenatal de las anomalías cromosómicas más frecuentes mediante FISH en líquido sin cultivar y diagnóstico de anomalías cromosómicas numéricas y estructurales en cultivo.
- ✓ Sangre de cordón fetal: Diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas numéricas y estructurales.
- ✓ Sangre periférica: Diagnóstico de anomalías cromosómicas numéricas y estructurales. Diagnóstico mediante FISH de síndromes de microdelección, así como identificación de cromosomas extranumerarios. Estudio de alteraciones cromosómicas en Retinosis Pigmentaria.



Este modelo de trabajo y departamento, así como el análisis genealógico, permite el consejo genético mediante:

- Diagnóstico prenatal.
- Diagnóstico del origen de cromosomas extranumerarios y de translocaciones cromosómicas y estudio del efecto en la descendencia.
- Diagnóstico de enfermedades debidas a una microdelección cromosómica y análisis de la posible recurrencia en la descendencia.

Genética molecular humana

Desde 1988 existe la sección de Genética Molecular Humana, la cual hasta el momento ha realizado más de 16.000 diagnósticos.

En este laboratorio se realizan tanto diagnóstico presintomático y sintomático de los pacientes, así como diagnóstico prenatal de estas enfermedades.

La recepción de las muestras a estudio pueden tener dos procedencias:

1. Los pacientes pasan previamente por la consulta donde son evaluados clínicamente y donde se recogen datos que permiten elaborar un árbol genealógico detallado del que se obtiene el patrón de herencia de la enfermedad y los familiares a riesgo. Esta información determina en gran medida el tipo de estudio que se va a realizar en el laboratorio.

Los resultados obtenidos en el estudio genético molecular permiten ofrecer a los pacientes que llegan a nuestro departamento un consejo genético individualizado.

2. Las muestras biológicas vienen remitidas de otros centros de distintos lugares de la geografía española acompañadas de un pequeño informe clínico del paciente donde se indica el tipo de estudio concreto que se solicita.

Las técnicas utilizadas para el estudio genético tanto directo como indirecto y las enfermedades que actualmente se diagnostican se pueden ver en las tablas III y IV.

TABLA III

Técnicas moleculares

- ✓ Extracción de ADN/ARN de distintos tejidos (sangre, células bucales, biopsia de piel, líquido amniótico, biopsia de corion, sangre fetal, restos abortivos y ADN fetal en sangre materna).
- ✓ Southern Blot.
- ✓ Reacción en cadena de la polimerasa (PCR-simplex, PCR-multiplex; QF-PCR; PCR a tiempo real).
- ✓ Técnicas de *screening* (SSCP).
- ✓ Digestión enzimática.
- ✓ Secuenciación automática.
- ✓ Test de metilación del ADN.
- ✓ Análisis de polimorfismos para construcción de haplotipos y análisis de ligamiento (RFLP, STR, VNTR, SNP).

TABLA IV

Enfermedades objeto de estudio

- ✓ **Enfermedades sistémicas:** fibrosis quística, fiebre mediterránea familiar, hemocromatosis.
- ✓ **Enfermedades neuromusculares:** distrofia de Duchenne/Becker, distrofia miotónica tipo I, corea Huntington, ataxias hereditarias, dentatorubro, enfermedad de Machado-Joseph, distonía, Charcot-Marie-Tooth, parálisis hereditaria con susceptibilidad a la presión, enfermedad de Kennedy, epilepsia mioclónica de Lafora.
- ✓ **Retraso mental:** síndrome de X-Frágil, síndrome de Prader-Willi; síndrome de Angelma.
- ✓ **Displasias óseas:** acondroplasia, hipocondroplasia; displasias tanatofóricas; síndrome de Apert, síndrome de Muenke, síndrome de Sattan.
- ✓ **Estudio de trombofilia:** déficit en Factor V, déficit de Protrombina, mutaciones de la metilen-tetra-hidro-folato-reductasa.
- ✓ **Enfermedades oftalmológicas:** retinosis pigmentaria, retinosquiasis, enfermedad de Norrie, coroideremia, enfermedad de Stargardt, amaurosis congénita de Leber, anoftalmia, holoprosencefalia tipo II.
- ✓ **Alteraciones reproductivas:** microdeleciones del cromosoma Y, gen SRY para valoración de disgenesias gonadales, estudio en parejas con abortos de repetición.
- ✓ **Sorderas:** enfermedad de Usher, sordera de herencia mitocondrial (MTRNR1), sordera recesiva (Gen:GJB2).





Marta Martín-Roldán
Bióloga,
analista clínico
Laboratorio Martín
Roldán

Sensibilidad a los alimentos



Los anticuerpos del tipo inmunoglobulina G (IgG) son moléculas de defensa del organismo con función de reconocimiento de células extrañas, de que normalmente deberían ir dirigidas contra supuestos agresores externos o células anómalas. Por otro lado, el organismo dispone de un sistema inmunológico específico de la mucosa intestinal (GALT) que entre otras tiene la función de reconocer los alimentos absorbidos como nutrientes necesarios, y no como agresores extraños, para no reaccionar contra ellos cuando son absorbidos por las vellosidades intestinales. Sin embargo, se ha comprobado que un alto porcentaje de la población (20-35%) presenta niveles detectables de este tipo de anticuerpos frente a algunos alimentos, se dice entonces que esta persona se ha sensibilizado inmunológicamente a este alimento, ya que, como ocurre con las alergias y las enfermedades autoinmunes, a veces estos mecanismos fallan pudiendo dirigirse el ataque inmunológico contra el antígeno equivocado.

Al parecer, la masticación inadecuada y digestiones incompletas podrían llevar a la absorción intestinal de grandes moléculas de alimentos semidigeridos, que parecen relacionarse con el desencadenamiento de este tipo de reacción; sin embargo, también parece haber un componente genético en este tipo de reacciones hacia determinados alimentos.

Los anticuerpos tipo IgG, al reconocer a un antígeno específico, actúan como señal de ataque del organismo hacia este antígeno extraño al individuo, que identifica como tal y, como es lógico, éste va acompañada de una serie de reacciones agresivas (liberación de integrinas, citocinas...) para defenderse del supuesto atacante o antígeno extraño. Como contrapartida, además de eliminar al supuesto "agresor", varias de

estas reacciones y moléculas liberadas en la reacción inmunológica pueden provocar considerables daños o alteraciones en los tejidos en que se liberan.

En las personas que presentan sensibilización a uno o varios alimentos, estas reacciones de defensa se provocan frente a alguna proteína del alimento, que debiera ser inocuo, pero que en estos individuos no sólo no podrá cumplir adecuadamente con su función nutricional, sino que, además, como se ha comentado, su presencia provoca una serie de reacciones más o menos agresivas e inflamatorias, que si bien pueden ser no muy fuertes en intensidad, comparada con una reacción anafiláctica, u otras manifestaciones de alergia típica (mediada por IgE) sí pueden tender a la cronicidad en el caso de estímulo continuo de la reacción (ingestión frecuente del alimento frente al que se presenta sensibilización).

Esta manifestación tenue y constante de la reacción hace difícil la identificación del alimento que la provoca, a diferencia de las reacciones de alergia típicas, mediadas por IgE, donde los síntomas se producen de manera casi inmediata a la ingestión y con una sintomatología generalmente muy intensa.

La presencia de este tipo de reacción, al igual que en la alergia típica, puede manifestarse a través de diferentes síntomas en función de los tejidos que se afecten: cutáneos, neurológicos, gastrointestinales, vías respiratorias... También parece haber una tendencia a inflamación inespecífica generalizada, que



puede traducirse en aumento de volumen y peso.

Incluso recientemente, parece haberse descrito el mecanismo por el cual la ocupación de los receptores de integrinas (moléculas inmunológicas) en la superficie celular podría bloquear la unión de otras moléculas necesarias para el metabolismo celular (tirosina-quinasa), impidiendo así la entrada en la célula y metabolización de los nutrientes para la producción energética. Así, éstos serán almacenados en forma de grasa y mientras el organismo demandará mas nutrientes, ya que los ingeridos no aportaron la energía necesaria.

La retirada de la dieta de los alimentos diana de estas reacciones puede, por tanto, detener estas agresiones y daños colaterales, mejorando notablemente o del todo la sintomatología que producen.

La única contraindicación que tiene esta medida sería en el caso de eliminar alimentos que puedan ser fuente importante de determinados nutrientes esenciales, como



podría ser el caso de los lácteos, cereales, huevo... Por ello, un análisis positivo a uno o varios de estos alimentos deberá ser remitido a un nutricionista para que éste ponga una dieta sustitutiva equilibrada y sin carencias nutricionales.

TEST DE SENSIBILIDAD A LOS ALIMENTOS



Desde el año 1997 disponemos en nuestro laboratorio de la tecnología adecuada (pioneros en España) para la detección de aquellos alimentos que puedan ser perjudiciales. Se trata de un análisis de sangre (suero) que detecta los anticuerpos específicos (IgG) para 93 alimentos frecuentes de nuestra dieta.

Nuestro laboratorio ha querido ser de los primeros en ofrecer el Test de sensibilidad a alimentos en Madrid, evitando así la exportación de muestras, a la vez que se agiliza la obtención de resultados garantizando la calidad de los mismos a unos precios lógicamente mas asequibles. Así, desde hace ya más de cuatro años realizamos esta técnica, estando en disposición de entregar los resultados en un plazo de 5 a 10 días.

Hemos optado por este test, entre los diferentes que hay en el mercado, incluido el Alcat, por la mayor estabilidad de la muestra utilizada (suero), ya que las muestras de sangre total se degradan de forma mucho más rápida al no realizarse la prueba en el momento.



El test de sensibilidad a los alimentos es una prueba de laboratorio, realizada por técnica ELISA, que nos permite medir en el suero del paciente los niveles de (IgG) específica frente a 93 alimentos diferentes. Los resultados positivos se expresan con cuatro grados de intensidad (de una a cuatro cruces).

Del 20 al 35% de la población sufre, en sus diferentes manifestaciones clínicas, los efectos derivados de la sensibilidad a distintos alimentos. Diversos estudios, incluida nuestra experiencia, demuestran que la supresión de la dieta de aquellos alimentos, para los que una persona presenta unos niveles de IgG específica altos, provoca una notable mejoría en un alto porcentaje de personas que presentan alguno de los siguientes síntomas:

- Trastornos digestivos:
 - Colon irritable
 - Colitis infantil
 - Ciertas enteropatías crónicas
- Eccemas y urticarias crónicas.
- Rinitis crónica.
- Aumento de peso.
- Inflamación inespecífica (sensación de hinchazón generalizada).
- Hiperactividad infantil.
- Cefaleas y migrañas.
- La reacción continuada también podría llevar a un cierto agotamiento de recursos, por lo que también puede ser efectivo en el mundo del deporte, ayudando a aumentar el rendimiento físico del deportista.

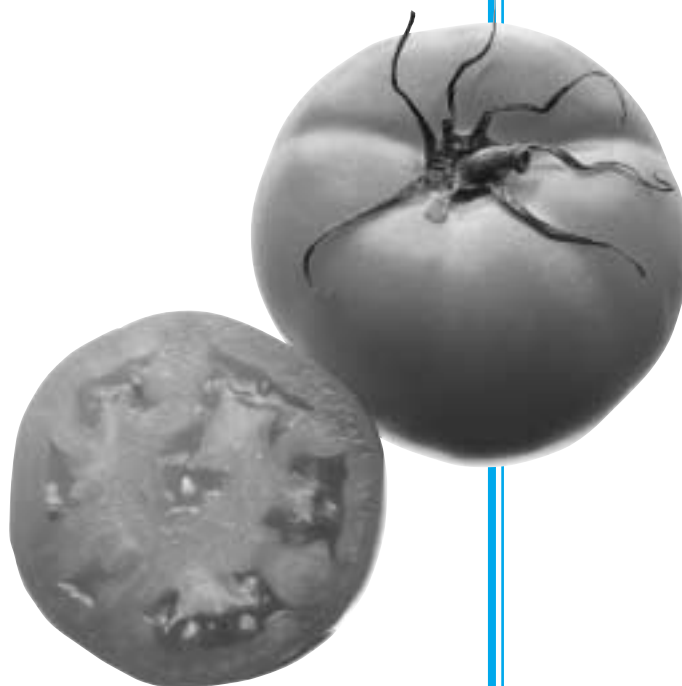
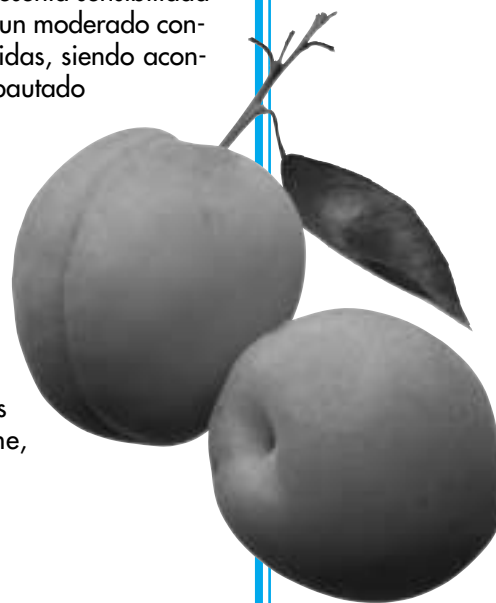
Pautas de alimentación

Atendiendo a los resultados de la prueba realizada se deben suprimir de la dieta, tanto los alimentos claramente sensibles como los de sensibilidad incierta (de una sola cruz). Transcurrido un período que oscila entre un mes y medio y dos meses se pueden reincorporar en la dieta los alimentos de reactividad dudosa, a razón de uno por semana, observando los posibles efectos sobre los síntomas que puedan depender de la ingestión de dichos alimentos, con la intención de reincorporar-

los o suprimirlos definitivamente de su alimentación habitual.

En caso de que la finalidad del estudio sea la pérdida de peso, la supresión de los alimentos a los que se presenta sensibilidad debe ir acompañada de un moderado control de las calorías ingeridas, siendo aconsejable que éste sea pautado por un especialista.

En cualquier caso, se aconseja la supervisión de un especialista en nutrición que valore los alimentos alternativos a aquellos eliminados que pudieran generar carencias nutricionales, como leche, huevos, cereales...





Cuadro 1

Manifestaciones clínicas más frecuentes que presentan las personas sensibilizadas

- 1. TRASTORNOS GASTROINTESTINALES.** Es lógico pensar que el equilibrio y buen estado del tracto gastrointestinal está en gran parte vinculado a los alimentos. Hoy se admite que algunos trastornos gastrointestinales van unidos a la sensibilidad a determinados alimentos o a componentes de los mismos.
Entre las manifestaciones clínicas más frecuentes que afectan al aparato digestivo, están:
Las digestiones pesadas, exceso de gases y, en definitiva, manifestaciones clínicas del colon irritable con una gran tendencia a la cronicidad. Estos trastornos son tan frecuentes que representan aproximadamente el 20% de los enfermos que acuden a la consulta de los digestólogos.
- 2. USO PEDIÁTRICO.** Alteraciones gastrointestinales muy similares a las recién señaladas, tienen también gran importancia en pediatría, donde son frecuentes la llamada colitis infantil y ciertas enteropatías crónicas causadas, la mayor parte de las veces, por sensibilización a la leche y derivados y en menor proporción a los huevos, frutos secos y soja.
En pediatría también resulta muy interesante en el estudio de niños hiperactivos, en los que puede relacionarse la activación permanente del sistema inmunitario con la hiperactividad generalizada. También se estudia en niños autistas, entre los cuales la incidencia de otros problemas inmuno-alimentarios, como la enfermedad celiaca, parece claramente aumentada.
Se ha relacionado la sensibilidad alimentaria (positividad de una IgG específica) con el posterior desarrollo de alergias alimentarias (positividad de la IgE), resultando éste por tanto un buen factor predictivo en el desarrollo de alergias en los primeros años de la infancia en niños de alto riesgo.
- 3. EN OTORRINO Y MEDICINA GENERAL.** Aún desconociendo los mecanismos patogénicos concretos, el test de sensibilidad a alimentos también resulta interesante para el estudio de rinitis y cefaleas. Que pueden mejorar por la eliminación de determinadas sustancias nocivas, vinculadas a la reacción antígeno-anticuerpo, que tiene lugar en la sensibilización alimentaria.
Parece ser que parte de la sensibilización a determinados alimentos puede incluso estar mediada por las vías respiratorias, por inhalación de pequeñas partículas alimentarias en el ambiente.
- 4. TENDENCIA AL SOBREPESO Y EXCESO DE VOLUMEN.** Hay personas que no comen tanto como para estar tan voluminosas como de hecho están o como para sentir sensación de hinchazón y son muy resistentes a los regímenes alimenticios adelgazantes. Un porcentaje muy considerable de estas personas mejora visiblemente si eliminan de su dieta aquellos alimentos a los que son sensibles.
- 5. EN EL MUNDO DEL DEPORTE.** Por último, estos estudios resultan verdaderamente interesantes en el mundo del deporte, ayudando a aumentar el rendimiento físico del deportista, en parte por el ahorro de recursos que supondrá la detención de una activación inmunológica constante e innecesaria.



Cuadro 2

Ejemplo de informe

MUESTRA: 4151 FECHA: 22/10/2004
 ENTIDAD:
 DOCTOR/A:
 COMENTARIO:

SENSIBILIDAD A ALIMENTOS

DETECCIÓN DE IGG ESPECÍFICA A 93 ALIMENTOS DE LA DIETA MEDITERRANEA.
 Técnica: ELISA.

RESULTADO: De los 93 alimentos analizados se obtiene reacción positiva frente a:

Análisis	Resultado	Unid.	Val. Ref.
HUEVO, LÁCTEOS Y CARNES			
LECHE DE VACA	POSITIVO(++)		
QUESO AMERICANO	POSITIVO DEBIL (+)		
QUESO FRESCO	POSITIVO(++)		
YOGUR	POSITIVO DEBIL (+)		
PESCADOS Y MARISCOS A EVITAR			
ALMEJA	POSITIVO DEBIL (+)		
HORTALIZAS, LEGUMBRES Y VERDURAS			
ACELGA	POSITIVO DEBIL (+)		
HABICHUELA	POSITIVO DEBIL (+)		
CONDIMENTOS Y OTROS ALIMENTOS A EVITAR			
CAFÉ	POSITIVO(++)		
PIMENTA	POSITIVO(++)		

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

- Los alimentos con resultado:

POSITIVO MUY FUERTE (++++) IgG > 100 U/ml
 POSITIVO FUERTE (++++) IgG entre 50 - 100 U/ml
 POSITIVO (++) IgG entre 25 - 50 U/ml

son considerados de clara SENSIBILIDAD, debiendo ser retirados de la dieta.

- Los alimentos con resultado:

POSITIVO DEBIL (+) IgG entre 12.5 - 25 U/ml

se consideran de sensibilidad dudosa (posible reacción cruzada), recomendándose su retirada al inicio de la dieta, pudiendo ser reintroducidos, tras un periodo de 2 meses, a criterio del nutricionista.

- Los alimentos de la lista adjunta que no aparecen en los resultados son negativos (IgG <12.5 U/ml), pudiendo formar parte de la dieta habitual.

NOTA:

TODA DIETA ALIMENTICIA DEBE SER PROPUESTA Y SEGUIDA POR UN ESPECIALISTA EN NUTRICIÓN QUE VALORE LOS ALIMENTOS ALTERNATIVOS QUE DEBERÁN INTRODUCIRSE PARA EVITAR CARENCIAS DE NUTRIENTES ESENCIALES, ASÍ COMO PARA EVITAR OTRAS POSIBLES INCOMPATIBILIDADES SEGÚN CADA HISTORIAL.

Fdo: Dra. Martín-Roldán, Marta

Fecha Emisión:





Papel del biólogo en los servicios de medicina preventiva

Beatriz Peláez Ros
Servicio de Medicina Preventiva
Hospital Clínico San Carlos

Las funciones que un biólogo puede desarrollar en la Atención Sanitaria Especializada se pueden agrupar en cinco grandes líneas: asistencial, docencia, investigación, administrativas e institucionales. La actividad asistencial dentro de los servicios hospitalarios integra principalmente el apoyo a los facultativos especialistas en el diagnóstico, preparación de material para los procedimientos de rutina, así como en la gestión de la calidad del servicio y de la Institución.

El Servicio de Medicina Preventiva del Hospital Clínico San Carlos contiene una unidad asistencial que es el Laboratorio de Control de la Infección. Básicamente, un biólogo participa activamente en los programas de vigilancia y control de la infección por microorganismos multirresistentes, en el control microbiológico de alimentos en comedores colectivos y en el estudio microbiológico de brotes de origen nosocomial.

La licenciatura en Biología capacita al profesional para aplicar todas las técnicas microbiológicas involucradas en la investigación y control de las infecciones de origen nosocomial, ya que está familiarizado con el funcionamiento propio de cada área de la Microbiología: Bacteriología, Micobacterias, Micología, Parasitología, Viro-

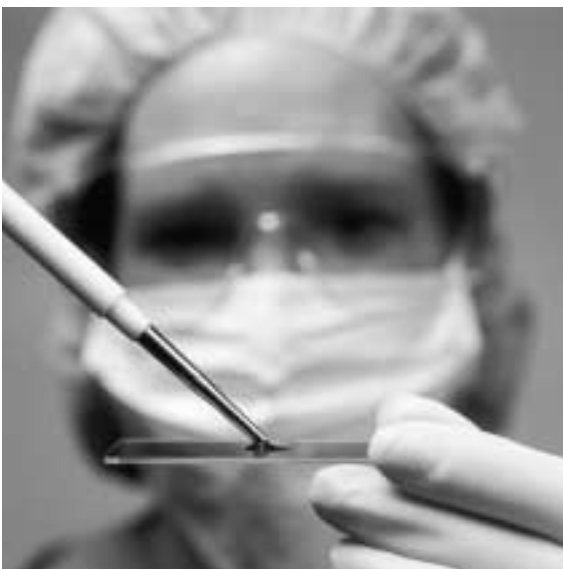
logía, aplicando también técnicas de Diagnóstico Molecular.

Pero además, puede participar en la puesta en marcha y seguimiento de programas de control microbiológico ambiental (aire, agua, superficies, etc.) que son de aplicación en la prevención de la infección hospitalaria, como por ejemplo:

- Prevención de micosis invasoras nosocomiales: análisis microbiológico del aire en bloques quirúrgicos y zonas críticas hospitalarias.
- Control de la calidad del agua: Análisis de potabilidad en la red de distribución, piscinas de rehabilitación, etc.
- Prevención de legionelosis: Análisis físico-químicos y microbiológicos para el control e investigación de *Legionella pneumophila* o *Legionella* spp. en dispositivos de riesgo.

La elaboración de protocolos y la asesoría en política de antisépticos y desinfectantes, así como en los procedimientos de esterilización hospitalarios constituye otro objetivo de gran importancia en la prevención de la infección hospitalaria.

Finalmente, la participación del Biólogo es muy activa en las líneas de investigación que en este área están dirigidas tanto a la puesta a punto de nuevas técnicas de biología molecular para los estudios de epidemiología microbiana en brotes como al estudio de la eficacia antimicrobiana de nuevos productos desinfectantes o nuevas tecnologías de esterilización.





Problemática de los estafilococos coagulasa negativos causantes de infección nosocomial

Determinación de la significación clínica de estos microorganismos mediante criterios microbiológicos

Introducción

Los estafilococos coagulasa negativos (ECN) son unos de los principales microorganismos causantes de las infecciones hospitalarias. Siendo las infecciones nosocomiales o hospitalarias aquellas que se desarrollan en pacientes hospitalizados que no las padecían, ni presumiblemente las estaban incubando en el momento de su admisión.

Aunque los ECN se encuentran entre las especies más frecuentemente aisladas en los laboratorios de microbiología clínica, el hecho de que sean organismos ubicuos y que constituyan el principal componente de la microflora normal de la piel, mucosa y glándulas de mamíferos ha dado lugar a que hayan sido considerados como saprofitos y durante años se discutiera acerca de su significación clínica. R. Ben-Ami y cols. (2003).

En las últimas décadas se han realizado considerables progresos en la clasificación de las especies estafilocócicas y en el desarrollo de los métodos de tipificación, progresos que han permitido a la comunidad médica estar más al corriente acerca de la gran variabilidad de especies de ECN y de su importancia a nivel clínico.

Actualmente, son reconocidos como importantes agentes etiológicos de una gran variedad de situaciones clínicas y la problemática que plantean de cara a los laboratorios hos-

pitalarios es distinguir si los aislados de ECN son cepas con significación clínica, es decir, cepas productoras de infección, o simplemente cepas contaminantes.

Debido a que los pacientes a los que afectan presentan una situación clínica comprometida, estos patógenos oportunistas son, en muchos casos, un grave problema. Afectan principalmente a cuatro tipos de pacientes: un primer tipo lo constituyen aquellos pacientes que presentan rotura de la barrera natural de la piel, como son los sujetos sometidos a cirugía, con lesiones traumatológicas, o aquellos que presentan patología dermatológica. Un segundo tipo está constituido por pacientes con dispositivos implantados como catéteres, prótesis, etc. El tercer tipo serían pacientes inmunocomprometidos y/o con enfermedad de base. Y el último sería el de los neonatos. La mortalidad y morbilidad derivadas de estas infecciones generan costes tanto a nivel humano como económico, por lo que es importante disponer de los medios diagnósticos y referenciales que permitan su control.

Un problema añadido asociado a los ECN se debe a la gran resistencia que presentan estos microorganismos frente a un amplio espectro de antimicrobianos, por lo que constituyen un importante reservorio de genes de resistencia dentro del medio hospitalario.

Según el informe EPINE (2001) los ECN son los que mayor número de infecciones nosoco-

Teresa Boquete,
Francisca Díaz
Centro Nacional de
Microbiología. Instituto
de Salud Carlos III

miales producen después de *E. Coli*, siendo las especies más frecuentemente aisladas en las bacteriemias. *S. epidermidis* es la especie que en el caso de las bacteriemias aparece en mayor proporción, seguida de *S. haemolyticus* y *S. hominis* que se aislaron en menor proporción.

El hecho de que los ECN sean microorganismos ubicuos que constituyen el principal componente de la microflora de la piel y mucosas da lugar a que cuando se aísla un ECN en un hemocultivo sea un problema controvertido establecer si es el agente etiológico de la infección o si es un contaminante. El criterio microbiológico generalmente aceptado con el que presumiblemente se diferencia entre verdadera infección y contaminación se basa en dos parámetros. Por un lado, la existencia de un alto número de UFC/ml que se interpretaría como un indicio de infección, siendo éste un parámetro que adquiere especial importancia en el caso de los neonatos de bajo peso a los que sólo se les realiza una extracción. Y por otro lado teniendo en cuenta que es altamente improbable, dada la gran variabilidad intrínseca de los ECN, que aislados no relacionados epidemiológicamente presenten las mismas características fenotípicas y genotípicas, se considera evidencia de infección el aislamiento de la misma cepa de ECN obtenida en diferentes hemocultivos de un mismo paciente a lo largo del tiempo. Por ello los marcadores fenotípicos y genotípicos, desde un punto de vista microbiológico, nos aportan una información valiosa para establecer la significación clínica de los ECN.

Material y métodos

Aislados

Se estudiaron 108 aislados de ECN que correspondían a 40 episodios de bacteriemia de 34 pacientes. El origen de todos los aislados fue la sangre.

Identificación bioquímica

Se realizó siguiendo el esquema de Kloos y Schleifer (1975 a, b) al que se le añadieron las pruebas bioquímicas para el estudio de la actividad desoxirribonucleasa, actividad ureasa y actividad decarboxilasa.

Fagotipia

La fagotipia se realizó utilizando los 20 fagos del juego de fagos de Dean and

William (1973) y los 12 fagos del juego autóctono de Martín de Nicolas y cols. (1990). La fagotipia se realizó de acuerdo con el método descrito por De Saxe y Notley (1978), con las modificaciones de que se realizó al RTD X 1000 y con tratamiento con calor (48 °C).

Fagotipia inversa

La técnica se realizó siguiendo el método De Saxe y Notley (1978).

Antibiotipia

A los aislados se les realizó un estudio de susceptibilidad a 14 agentes antimicrobianos usando el método de dilución en placa descrito por el NCCLS (1993).

Los antibióticos y rangos de concentraciones (en m/ml) utilizados fueron los siguientes: ácido fucídico (0,03-32), ampicilina/clavulánico (0,12-64), cefotaxima (0,12-1024), ciprofloxacina (0,06-16), clindamicina (0,06-64), cloranfenicol (0,25-64), cloxacilina (0,12-512), eritromicina (0,03-512), fosfomicina (0,12-256), gentamicina (0,06-1024), penicilina (0,03-1024), tetraciclina (0,125-64), rifampicina (0,03-1024), vancomicina (0,25-64).

Plasmidotipia

La obtención de ADN plasmídico fue realizada siguiendo el método descrito por Birnboim y Doly con algunas modificaciones. En el buffer de lisis se añadió lisostafina a una concentración final de 250 U/ml, la suspensión bacteriana en buffer de lisis es incubada a 37 °C durante 30 minutos y antes de la precipitación con etanol se realiza un tratamiento con fenol-cloroformo.

Electroforesis en campo pulsado

En la electroforesis en campo pulsado se digirió el ADN con Sma I siguiendo el proceso descrito por L. P. Yuk-Fong y cols. (1996). Para la electroforesis se utilizó un equipo de CHEF-DR II de Biorad y los distintos patrones electroforéticos obtenidos se evaluaron con el programa informático MVSP que realiza el análisis estadístico de multivariadas. Utilizando el coeficiente de Dice el programa genera una matriz a partir de la cual crea un dendograma por emparejamiento de medias no ponderadas que relaciona los diferentes patrones según los índices de similitud.

Resultados

De los 108 aislados estudiados, 89 (82,4%) fueron identificados como *S. epidermidis*, 10 (9,3%) como *S. hominis* y 9 (8,3%) como *S. haemolyticus*. Por lo que *S. epidermidis* fue la especie que con mayor frecuencia se aisló en los hemocultivos.

Una vez identificados los aislados hay que conseguir su caracterización para con los datos obtenidos poder establecer si dos cepas son idénticas o diferentes y así determinar su significación clínica desde un punto de vista microbiológico. Para conseguir este objetivo hemos aplicado técnicas tanto fenotípicas como genotípicas.

Los resultados obtenidos al realizar la técnica de la fagotipia nos demuestran que con esta técnica se obtiene un bajo porcentaje de tipabilidad, pues tan sólo 28 cepas (25,9%) resultaron sensibles a algún fago, obteniéndose 18 fagotipos distintos. Mientras que 80 cepas (74,1%) no pudieron ser caracterizadas por esta técnica.

El alto número de cepas que quedaron sin tipificar hizo que aplicáramos la técnica de la fagotipia inversa para conseguir su caracterización. Al realizar esta técnica con las cepas propagadoras de ambos juegos de fagos, de los 108 aislados se tipificaron 27 cepas (25%) obteniéndose 18 fagotipos diferentes y 81 (75%) resultaron no tipificables. Al evaluar el número de casos que se han caracterizado con las técnicas de fagotipia tenemos que con la fagotipia conseguimos caracterizar siete de los 34 casos (20,6%), y seis casos (17,6%) con la fagotipia inversa. Al valorar conjuntamente los resultados de la fagotipia y la fagotipia inversa conseguimos caracterizar 15 casos (44,1%) de los 34 estudiados.

Del estudio de sensibilidad a antimicrobianos se obtuvieron un total de 47 patrones de resistencia a antimicrobianos que caracterizaron el total de los 108 aislados estudiados.

Con el análisis plasmídico obtuvimos 29 perfiles plasmídicos que caracterizaron a 77 (71,3%) aislados, mientras que 31 (28,7%) de los aislados no pudieron caracterizarse por esta técnica por carecer de plásmidos. Los perfiles plasmídicos que se diferenciaban al menos en una banda fueron considerados como diferentes (A. Ug y Ö. Ceylan, 2003).

La electroforesis en campo pulsado nos permitió caracterizar los 108 aislados del estudio, obteniéndose 65 perfiles electroforéticos, de los

cuales 56 resultaron ser totalmente diferentes y nueve presentaron sólo ciertas diferencias con respecto a alguno de los 65 anteriores. Los patrones electroforéticos obtenidos mediante esta técnica nos permitieron confirmar los datos obtenidos con los anteriores marcadores fenotípicos y genotípicos. Por otro lado, nos permitió establecer las relaciones epidemiológicas entre los aislados de un mismo paciente en 13 casos (38,2%) en los que no pudieron ser establecidas con los resultados de los otros marcadores estudiados.

El elevado número de patrones obtenidos en los distintos marcadores fenotípicos y genotípicos estudiados indica la existencia de una gran variabilidad en los estafilococos coagulasa negativos, lo cual permite que apliquemos el criterio de que dada la gran variabilidad intrínseca de los ECN es altamente improbable que aislados no relacionados epidemiológicamente presenten las mismas características fenotípicas y genotípicas. Por tanto, se considera evidencia de infección al aislamiento de la misma cepa de ECN en diferentes hemocultivos obtenidos a lo largo del tiempo en un mismo paciente (Etienne y cols. 1990).

La valoración conjunta de los patrones obtenidos en todas las técnicas nos ha permitido establecer si varios aislados pertenecientes a un mismo paciente eran la misma cepa o diferentes cepas y con estos datos hemos podido valorar desde el punto de vista microbiológico si el ECN es el agente etiológico de la enfermedad.

Como ejemplo comentaremos el caso de un paciente varón de un año de edad diagnosticado de leucemia linfoblástica aguda que presenta cuatro episodios desde abril a julio del mismo año en los que el clínico tenía dudas acerca de si los ECN aislados tenían significación clínica. En este caso se obtuvieron diez hemocultivos en los que se aislaron ECN. En el primer episodio se aislaron dos estafilococos coagulasa negativos, en el segundo cuatro, en el tercero dos y en el cuarto otros dos. Al identificarlos todos resultaron ser *S. epidermidis*. Los resultados de la fagotipia y la fagotipia inversa no nos aportaron información útil para evaluar estos aislados, puesto que todos resultaron ser no tipables por estas técnicas. Los datos obtenidos con la antibiología y los perfiles plasmídicos indicaban que los dos aislados del primer episodio eran cepas diferentes, que las cuatro cepas del segundo episodio podían estar relaciona-



das entre sí y no tendrían relación con las del primer episodio; las dos cepas del tercer episodio también estarían relacionadas entre sí y serían distintas a las del primer y segundo episodio, y las cepas del cuarto episodio estarían relacionadas con las del segundo episodio. Esta primera impresión quedó confirmada con los resultados obtenidos por la electroforesis en campo pulsado, como se puede comprobar en la figura 1. La cepa 40 y 41 pertenecientes al primer episodio tienen distinto perfil electroforético (1 y 2 respectivamente). En el segundo episodio las cepas 44 y 45 tienen el mismo perfil electroforético (3) y las cepas 42 y 43 tienen un perfil (3a y 3b respectivamente) relacionado con el 3. En el tercer episodio las cepas 46 y 47 tienen el mismo perfil (4) y es distinto a las anteriores cepas. En el cuarto episodio las cepas 48 y 49 presentan el mismo perfil electroforético (3) que las del episodio dos.

Por lo tanto, en este paciente desde un punto de vista microbiológico podemos decir que en el segundo episodio los ECN aislados tenían significación clínica y que al ser tratados con antibióticos probablemente consiguieron atenuar la infección producidas por estos, surgiendo otros ECN en un tercer episodio que también tenían significación clínica y que consiguieron eliminar con el tratamiento antibiótico, para volver a emerger de nuevo la cepa que había producido la infección en el segundo episodio.

De los 34 casos en 30 los ECN tenían significación clínica. En los cuatro casos restantes no

se pudo establecer la significación clínica, puesto que los ECN aislados resultaron ser cepas distintas; pero como el número de hemocultivos estudiados fue reducido, no sabemos si al estudiar más hemocultivos de un mismo paciente hubiéramos encontrado alguna cepa que, al ser caracterizada, hubiera sido igual a alguna de las estudiadas.

De los 30 casos en los que los ECN

tenían significación clínica, en ocho de ellos junto con el ECN que tenía significación clínica se detectaron otros ECN que pueden ser considerados como contaminantes. Por otro lado, en cuatro de estos casos se comprobó que una cepa era el agente etiológico en uno de los episodios de la enfermedad del paciente, mientras que en otro el responsable de la infección era otra cepa distinta de la anterior.

Al comparar la evaluación hecha por el clínico con la evaluación microbiológica respecto a la significación clínica de los ECN estudiados, en 21 de los casos (61,8%) hubo un acuerdo total entre el criterio clínico y el microbiológico, en 20 casos tanto para el clínico como para el microbiólogo el ECN tenía significación clínica y en un caso no tenía dicha significación.

En cinco casos (14,7%) en los que el clínico tenía dudas acerca de la significación, los resultados microbiológicos demostraron que los ECN aislados eran los responsables de la infección.

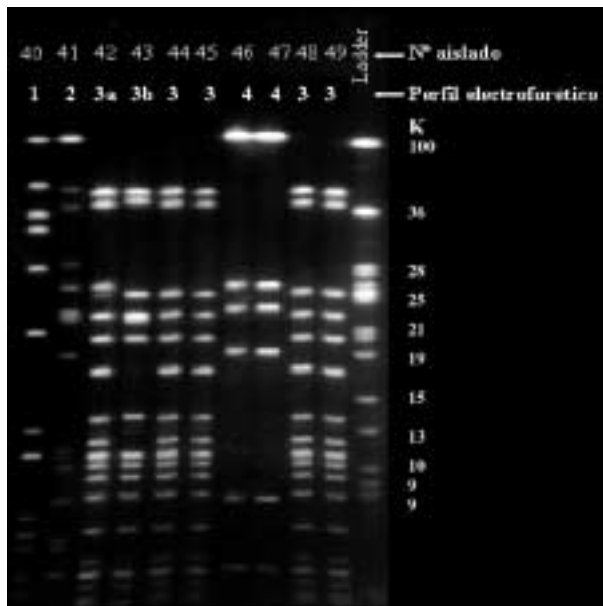
Respecto a los cinco casos restantes (14,7%) en los que la valoración del clínico fue la de significativo, los resultados microbiológicos no pudieron demostrar la significación clínica de estos coagulasa negativos y hubiera sido necesario haber estudiado más cepas de estos casos para poder determinar su significación.

Por último, queda decir que tan sólo en tres casos (8,8%) existen un desacuerdo, ya que en estos casos el clínico sobre la base del historial del paciente consideró que los ECN no tenían significación clínica pero en el estudio microbiológico se constató que sí que tenían significación.

Conclusiones

Los datos obtenidos de los marcadores microbiológicos aportan la información necesaria para determinar la significación clínica de estos patógenos oportunistas. La identificación, junto con la sensibilidad a antimicrobianos, proporciona una información que da una idea aproximada de las relaciones epidemiológicas de los ECN en las infecciones nosocomiales. Debido a la baja tipabilidad obtenida con las técnicas de fagotipia, es la electroforesis en campo pulsado la técnica que nos ha permitido establecer de forma más clara y convincente las posibles relaciones epidemiológicas y la significación clínica de los ECN implicados en las infecciones nosocomiales.

Figura 1





Analizador de imágenes en biomedicina

El analizador de imágenes es una herramienta imprescindible para estudios planimétricos, morfométricos y densitométricos partiendo de imágenes digitalizadas. Aporta objetividad, rapidez y sencillez. En la actualidad el gran desarrollo en estos equipos posibilita el diseño de sistemas expertos muy útiles como apoyo al diagnóstico clínico a la investigación biológica en casi todas sus vertientes y a la docencia.

La idea de la cuantificación en biología celular se intenta aplicar desde hace siglos en distintos campos, sirva como ejemplo el recuento de células sanguíneas. Ya en 1895, Hammarberg introdujo una tinción en sistema nervioso a fin de contar el número de neuronas en el cerebro. Hasta 1970, en biomedicina se aplicaban plantillas y métodos semicaseros para cuantificar estructuras y, como máximo, se contaba con el apoyo de planímetros para medir áreas y perímetros celulares y se hacían recuentos aleatorios de campos microscópicos mediante rejículas de dimensiones conocidas incorporadas en los oculares de los microscopios, calculando el número de partículas por unidad de superficie.

A comienzos de los ochenta, el coste de los ordenadores bajó considerablemente, se incrementó la potencia de los mismos y se desarrollaron equipos y tarjetas especializadas para el proceso de imágenes, produciéndose una eclosión de estas tecnologías a las que España se incorporó en esa década.

Los campos de desarrollo en biología son muy variados, pero se puede destacar su utilización en histología para medir y contar estructuras microscópicas, en patología cuantitativa, en estudios inmunocitoquímicos e histoquímicos, citogenética, microbiología, etc. También se han desarrollado aplicaciones en otros campos como restauración de obras de arte, estudios criminalísticos, medicina forense, topografía, industria cosmética, de automovilismo, etc.

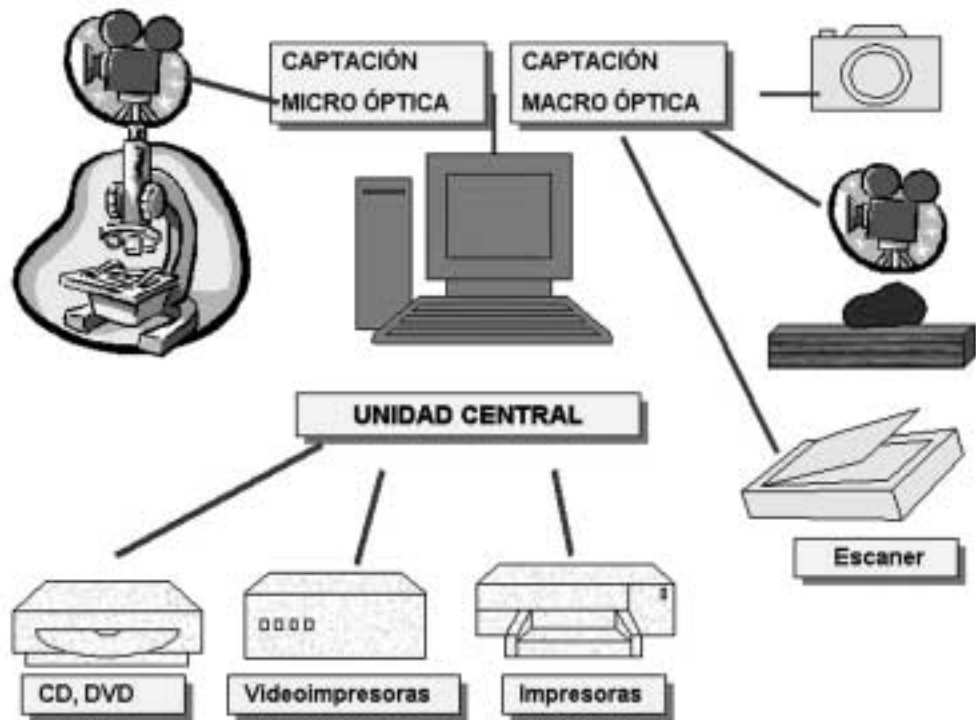
Equipo de análisis de imagen

Requiere un sistema que tenga la capacidad de conversión de analógico (o continuo, similar al ojo humano) a digital (discreto y cuantificable) y viceversa. Básicamente estaría integrado por:

- Un ordenador de control (CPU) con gran capacidad de memoria, monitor de TV de alta resolución y tarjeta digitalizadora.
- Cámaras:
 - De vídeo analógicas y digitales, en color real (RGB) y monocromas (blanco y negro).
 - Cámaras fotográficas digitales.
- Microscopios: óptico con luz transmitida y de fluorescencia, invertido, confocal, electrónico de transmisión y barrido.
- Escáner para digitalizar imágenes procedentes de radiografías, tomografías computerizadas, fotografías, etc.
- Un *software* específico y flexible que posibilite el tratamiento de imágenes y la realización de medidas morfométricas y densitométricas y que permita el diseño y programación de rutinas específicas para aplicaciones concretas. Gracias a estas rutinas se pueden realizar procesos de medida repetitivos, fundamentales en estudios microscópicos, y crear sistemas expertos que reconozcan estructuras de forma automática. Este *software* de análisis de imagen se debe complementar con hojas de cálculo, bases de datos y paquetes estadísticos, muy importantes a la hora de realizar cualquier estudio cuantitativo.
- Impresoras para salidas de datos y gráficos, videoimpresora (diapositivas y fotografías).

M^º Teresa Corcuera
Hospital Carlos III
de Madrid

Figura 1. Esquema básico de los componentes de un sistema de análisis de imagen.



- Unidades de almacenamiento: discos ópticos, removibles, CD, DVD.

En la figura 1 se muestra un esquema básico de un sistema de análisis de imagen.

La imagen y su procesamiento

Las imágenes son representaciones visuales de los objetos. Desde el punto de vista de la física cualquier imagen, proyección plana de un objeto concreto, se puede definir como una función bidimensional $f(x, y)$ dependiente de la intensidad luminosa, donde "x" e "y" representan las coordenadas espaciales de su proyección planimétrica, siendo el valor de "f" proporcional a la luminosidad de la imagen en dicho punto o píxel.

En general, para llegar a realizar medidas en imágenes macro o microscópicas hay que realizar unos procesos comunes a todas las determinaciones. El primero consiste en la obtención de imágenes digitalizadas, bien mediante captación en color o blanco y negro con cámara de vídeo analógica o una cámara digital, bien a partir de imágenes de archivo.

Las cámaras pueden estar acopladas a un microscopio óptico, electrónico o confocal.

Las imágenes se pueden captar en color real, estas imágenes están formadas por tres bandas: rojo, verde, azul (RGB), o monocromas, del blanco al negro, pasando por una gama total de 256 niveles de gris. El procesamiento se simplifica mucho cuando se puede trabajar en monocromo por dos motivos: rapidez y menor ocupación de memoria. Pero en muchos procesos de cuantificación hay que utilizar imágenes en color real.

La **digitalización** consiste en la descomposición de la imagen en una matriz de puntos o elementos denominados píxeles (*picture element*), donde cada uno tiene un valor proporcional al nivel de gris o de color.

En imágenes monocromas, la capacidad de resolución de la imagen digital está condicionada por el número de niveles de gris y por las dimensiones de la matriz (número de filas X, número de columnas). Por lo general, para almacenar el nivel de gris de cada píxel se utiliza un octeto (8 bits = 1 byte), por lo que hay 256 niveles de gris posibles. Las matrices más utilizadas son de 256 x 256, 512 x 512, 1.024 x 1.024. Así, una imagen digital monocroma de 1.024 x 1.024 ocupa un megabyte de memoria.





Estas imágenes se pueden archivar en distintos formatos: tiff, gif, jpeg, bmp, pcx, etc.

Las imágenes en color con alta resolución ocupan mucha memoria, por lo que a veces se comprimen eliminando de forma automática información que no va a ser apreciable por el ojo humano que distingue aproximadamente 5.000 colores o, más bien, tonalidades diferentes, mientras que con el analizador de imágenes se pueden distinguir 16 millones de colores diferentes.

En la **visualización y mejora** de las imágenes se aplican operadores matemáticos (puntuales, locales y globales) que modifican aspectos de la imagen inicial.

Al conjunto de funciones matemáticas que se aplica sobre un píxel o conjunto de píxeles se denomina algoritmo.

Para conocer las características de la imagen inicial se puede realizar su histograma, que a modo de gráfico expresa todos los niveles de gris o color que compone la imagen.

Para visualizarlas mejor se pueden aplicar una o varias funciones consecutivas, como escalados, normalizaciones, falso color, etc.:

Escalado. Redistribuye los valores de gris que se seleccionan de forma interactiva, por lo que se puede transformar la imagen controladamente. Se parte del estudio previo del histograma de la imagen para posteriormente aplicar esta función. El resultado final puede ser oscurecer o aclarar los objetos.

Normalización. Se utiliza para incrementar el contraste mediante expansión lineal de sus niveles de gris hasta los umbrales totales. Es una función lineal. En definitiva, consiste en que los niveles oscuros se oscurecen más y los claros se aclaran más.

Linearización. Refuerza los valores medios de gris, se utiliza para corregir errores de iluminación.

Entre estas funciones se aplican filtros, partiendo de las imágenes originales (fig. 2) o para resaltar aspectos que intere-

ren luego medir y tienen como objetivo, por un lado, ayudar posteriormente a eliminar estructuras no deseadas y, por otro lado, realzar los bordes de las estructuras que posteriormente cuantificaremos. Existe gran número de filtros:

Filtros de paso bajo. Para uniformizar zonas de la imagen. Toma una matriz definida y realiza una media de sus valores de gris. Este valor medio se asigna al píxel central en la imagen de salida. La imagen resulta como difuminada, la hace borrosa, por lo que tiene aplicaciones muy limitadas. Es válido para eliminar pequeñas variaciones cuando se van a realizar estudios de perfiles densitométricos.

Filtros de paso alto. Aumenta más la diferencia entre los elementos de la imagen y los adyacentes a bordes de las objetos que las componen. De este tipo son los filtros Sobel, Kirsch y Wallis.

Realce de contornos. El resultado es como un reenfoque de la imagen, quedando las estructuras mejor delimitadas (fig. 3).

Filtros de gradiente. Consiguen realzar los bordes de los objetos que contienen las imágenes.

Filtro laplaciano. Utiliza un operador laplaciano en diversas direcciones y matrices flexibles (fig. 4).

Delineación. Es un filtro que como su propio nombre indica realiza una auto-delineación de bordes indefinidos con ayuda de operadores matemáticos. Resulta de mucha utilidad para imágenes que

Figura 2. Imagen monocroma digitalizada de una biopsia duodenal, microcopia óptica (20 x), tinción de hematoxilina eosina.

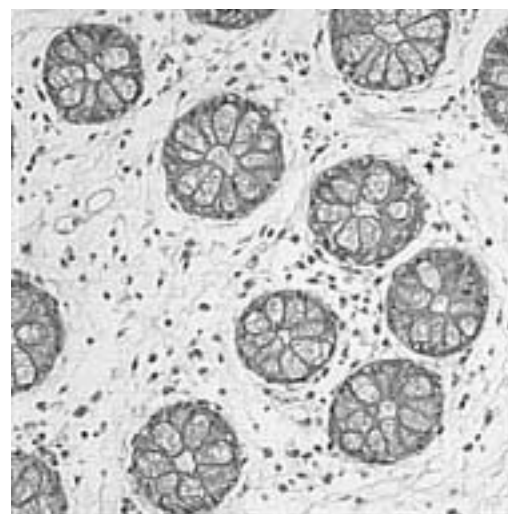
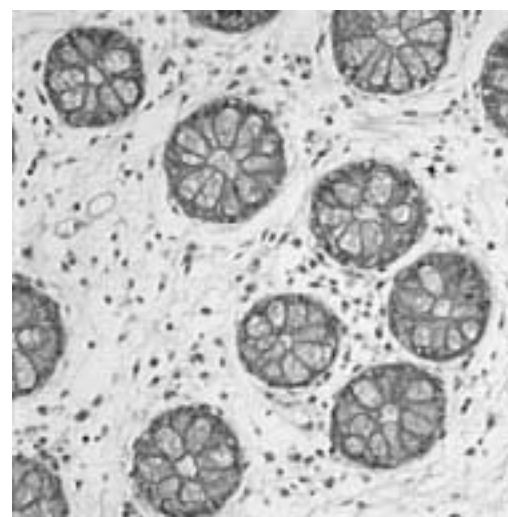


Figura 3. Aplicación de un filtro de realce de contornos a la imagen anterior.

Figura 4. Aplicación de filtro laplaciano de la imagen representada en la figura 2.

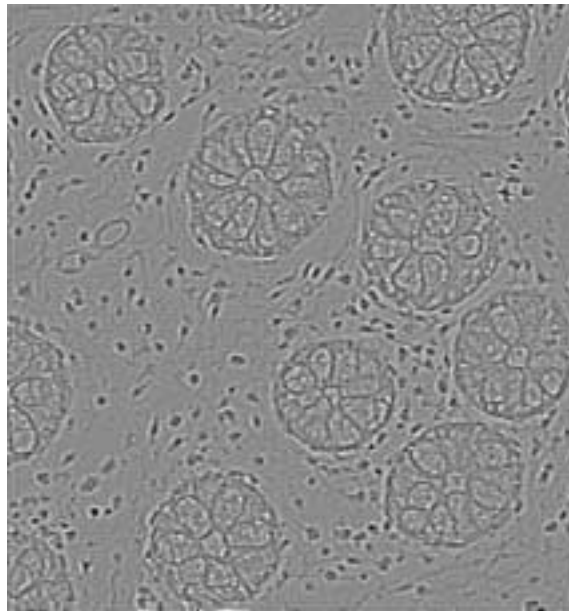


Figura 5. Aplicación de filtro seudoplástico de la imagen figura 2.



tengan un halo, como ocurre en fluorescencia, radiografías o tomografías.

Filtro seudoplástico. Se aplica para la obtención de efectos en relieve. Se utilizan en geología, en industrias de cosmética etc. (fig. 5).

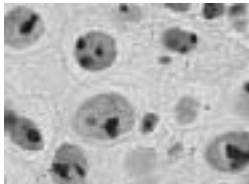


Figura 6. Imagen microscópica (100 x). tinción AgNOR.

La **segmentación** es el proceso clave previo a la cuantificación, cuyo objetivo es extraer de la imagen natural o ya mejorada, las estructuras o componentes que van a ser objeto de análisis ya sea para realizar recuentos y/o medidas (áreas, diámetros, rugosidades, densidades), basándose en niveles de gris o color eliminando el resto de los elementos que componen la imagen.

La segmentación determina el área de trabajo y es, por tanto, de mayor exactitud cuanto mejor contraste posea la imagen. En muchos procesos es necesario realizar más de una segmentación de la imagen inicial (fig. 6) para cuantificar por separado y en distintos archivos estructuras u objetos diferentes (figs. 7, 8 y 9).

Tras este paso se pueden emplear funciones de **morfología** entre las que se encuentran:

Contornos. Resulta una imagen formada por la línea que bordea los objetos sin distorsionar sus características, pudiendo pos-

teriormente realizar recuentos, medidas de área, parámetros de forma, etc.

Erosión. Se elimina la capa de píxeles más superficial de la estructura, y se repite tantas veces como se quiera. Con esta función se suprimen irregularidades y se individualizan objetos que estén muy próximos.

Dilatación. Es la inversa de la erosión. Se añade sobre los objetos una capa superficial de píxeles. Unos objetos que se encuentran próximos.

Relleno. Estructuras que presentan pequeñas oquedades. Resultan uniformes.

Criba. Elimina estructuras inferiores, iguales o superiores al tamaño que indique el usuario (figs. 10, 11 y 12).

Esqueletización. Con esta función se reduce a unos ejes principales de referencia, adelgazando estructuras hasta que se reduce a un solo píxel de grosor.

Borrado de objetos. De forma interactiva o manual se señalan las estructuras que se quieren eliminar, por ser artefactos o estructuras con los mismos niveles de grises que no se desean valorar.

Selección de objetos. Proceso interactivo de escoger objetos de la imagen. De forma interna esta función los etiqueta para permitir realizar medidas sobre ellos.

Selección de regiones. De forma interactiva, como si se tratase de marcar con un lápiz la región de interés.

Identificación de objetos. Enumera e identifica todos los objetos de la imagen binarizada de forma automática.

Procesos de medidas

Éstas pueden ser en función de los parámetros que se valoren, de varios tipos: morfométrica y/o topológicas, densitométricas, colorimétricas:



Figura 7. Segmentación del área de algunos núcleos de la imagen anterior.



Morfométricas

De tamaño

- Área: total de una imagen o relativa en porcentaje de área ocupada por los objetos respecto al total, relación entre porcentajes de objetos distintos, etc.
- Diámetro máximo y mínimo de objetos seleccionados.
- De longitud: se puede realizar de forma automática o interactiva y permite al usuario indicar sobre la imagen líneas y regiones a medir.

Bordes

- Perímetros totales de las estructuras de la imagen.
- Perímetros convexos.

De forma

- Coordenadas del centro de gravedad.
- Factores de elongación.
- Factores de forma circular.
- Factores de rugosidad.

De posición

De orientación

- Aplicables para estudios estereológicos.

Densitométricas

- Valor de gris medio y puntual.
- Densidad óptica integrada.
- Histograma de gris.

Para realizar procesos de cuantificación es necesaria la **calibración** del sistema inicialmente, para transformar los resultados en unidades reales. Para imágenes provenientes de microscopía óptica el sistema se calibra con un porta de calibración (fig. 13), calculando para cada objetivo la equivalencia de píxel a micras. Así los resultados finales se expresaran en micras: micras cuadradas si se trata de área y micras cúbicas si se trata de volúmenes. Los parámetros de calibración para cada objetivo se archivan, por lo que no es necesario calibrar en cada sesión de trabajo. En el caso de imágenes macro es necesario

incorporar una regla o algún objeto de medida conocida para poder calibrar el sistema.

En estudios microscópicos para valorar o cuantificar células, núcleos, etc., se cuantifican de 200 a 500 objetos, dependerá del coeficiente de variación. En medidas de áreas se valoran al menos 150.000 micras cuadradas si se trata de tejidos. El número de imágenes que hay que estudiar de cada muestra no es fijo, pero en términos generales para estudios celulares partiendo de imágenes captadas con microscopio óptico y objetivo 20 x, resulta al menos de 20 o 30 imágenes. Éstas se captan empezando por un punto de las muestras (tejido, extensiones celulares, etc.) y siguiendo por campos consecutivos manteniendo las variables de luminosidad. Ahora se cuenta con microscopios ópticos con platinas motorizadas que fijando coordenadas de partida van avanzando de forma automática por campos consecutivos en la dirección que se indique.

Los **ficheros** con los resultados numéricos, identificando muestra y trabajo, se pueden imprimir o archivar en el disco en el formato más apropiado. Se pueden utilizar diferentes entornos, uno de los más habituales es Windows, que facilita la posibilidad de su exportación a otros programas para el estudio analítico, su tratamiento estadístico con paquetes estadísticos.

Estos equipos tienen otras aplicaciones importantes, como su utilización como soporte iconográfico para presentación de trabajos, colecciones de imágenes.

Aplicaciones de análisis de imagen en biomedicina

Biología celular y patología

Cuantificación de ADN y estudio del ciclo celular

Partiendo de biopsias, punción aspiración con aguja fina (PAAF), y citologías, con tinción Feulgen, etc., aplicables a:

- Estudios de neoplasias: carcinomas de mama, próstata, ovario, tumores testi-



Figura 8. Segmentación en blanco y negro de núcleos celulares.



Figura 9. Contornos de núcleos y áreas correspondientes a tinción AgNOR.

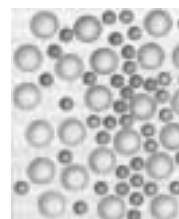


Figura 10. Captación de imagen.

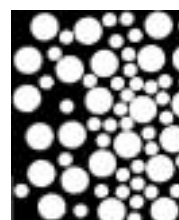


Figura 11. Segmentación de todas las estructuras definidas que contiene la imagen.

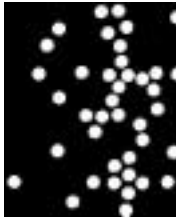


Figura 12. Criba que elimina las estructuras grandes.

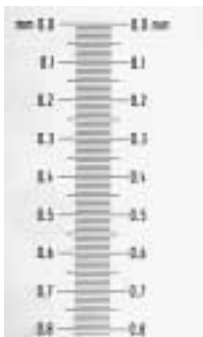


Figura 13. Regla calibrada en milímetros

culares, melanomas, procesos otorrinolaringológicos, hígado, etc.

- Lesiones premalignas de laringe, colon, cérvix, etc.
- Clasificación de lesiones de tiroides y paratiroides.
- Estudios retrospectivos de biopsias procedentes de archivos para diferentes patologías.

Inmunocitoquímica: de biopsias completas, citologías o tissue microarray

- Estudios de proliferación celular: Ki-67, MIB-1, PCNA (aplicable a próstata, colon, cérvix, hígado, mama, etcétera).
- Oncogenes: c-erb-B2, p53, Myc, pRB, etcétera.
- Fenómenos de apoptosis: bcl-2, wax, p53.
- Receptores hormonales.

Microscopia electrónica

- Clasificación de organelas (mitocondrias, núcleos, vesículas, citoplasmas y retículo endotelial).
- Diagnóstico diferencial.
- Inmunocitoquímica ultraestructural, cuantificación de marcaje con oro coloidal.

Estudios de activación celular

- Ag NOR:

Para tumores mamarios, estudios de cérvix infectados por el virus del papiloma humano, páncreas exocrino en pancreatitis crónica y adenocarcinomas ductales, adenocarcinoma colorectal, etcétera.

Sistemas expertos

- Medidas texturales de tejido.
- Screening de citologías.
- Localización automática de campos displásicos.

Análisis de geles

- Separación electroforética de proteínas.
- Secuenciación de ácidos nucleicos.
- PCR.

Genética

- Mapas cromosómicos.
- Elaboración e interpretación de cariotipos.
- Visualización y documentación de imágenes FISH.
- Enfermedades genéticas.

Reconstrucciones tridimensionales

Partiendo de imágenes seriadas.

Microbiología

- Contaje y medida de colonias bacterianas y de levaduras.
- Estudios de crecimiento.

Botánica

- Clasificación de pólenes.
- Crecimiento de plantas.

Virología

Reconocimientos y medidas de virus.

Física

Edafología

Zoología

- Tamaño de ovocitos.
- Estudio de caracterización de invertebrados

Ecología

- Estudios de plancton.
- Recuento y medida de partículas y fibras contaminantes.

Fisiología humana y animal

Tecnología de los alimentos

Teleconsulta

Generación de bases de datos de imágenes para el estudio multidisciplinario, en diferentes centros.

I CURSO SOBRE EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

El COBCM y la Universidad Complutense

El Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid y la Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid trabajan en la organización del I Curso sobre el Laboratorio de Reproducción Asistida. Se prevé que tenga carácter presencial y esté impartido por profesionales especializados en este campo. Abordará los aspectos diagnósticos y terapéuticos del tratamiento de la pareja estéril desde un punto de vista teórico y práctico. El módulo práctico se realizará en laboratorios de Madrid, Aravaca y Toledo. Su duración será de 32 horas lectivas.

Se informará más adelante de las fechas previstas, programa lectivo, etc.

NOTA DE PRENSA-PUBLICACIONES FINALES DEL CONAMA

Fundación CONAMA, 31 de mayo de 2005

El pasado 30 de mayo se presentaron las publicaciones finales del VII Congreso Nacional del Medio Ambiente en el Salón de Actos del CSIC, centradas en el desarrollo sostenible, tema principal de la pasada edición del CONAMA celebrada en noviembre del año pasado.

La presentación contó con las intervenciones de la ministra de Medio Ambiente, Cristina Narbona; el presidente del CSIC, Carlos Martínez Alonso; el Viceconsejero de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid, José Trigueros Rodrigo; el coordinador del Gobierno de Medio Ambiente y Servicios a la Ciudad del Ayuntamiento de Madrid, Ignacio López Galiacho y el presidente de la Fundación CONAMA, Gonzalo Echagüe Méndez de Vigo. Además, intervinieron Luis Guijarro, periodista ambiental y presidente de la Asociación de Periodistas de Información Ambiental (APIA), y Theo Oberhuber, coordinador general de Ecologistas en Acción.

Las publicaciones del VII CONAMA, Temas Clave del Desarrollo Sostenible en España. Aportaciones del CONAMA y Memoria del VII CONAMA,

Cumbre del Desarrollo Sostenible, recogen las conclusiones y documentos resultado de la colaboración de los más de 1.000 expertos que participaron en las jornadas del mes de noviembre. Con éstas, se pretende solucionar el problema medioambiental, apostando por una política de Desarrollo Sostenible. Tal y como dijo Carlos Martínez Alonso (CSIC), "la política medioambiental se ha ganado la opinión pública mundial", con lo que subrayó además la necesidad de continuar trabajando por la sostenibilidad.

Junta General Ordinaria del COBCM

El pasado 22 de abril tuvo lugar la Junta General Ordinaria del COBCM, en la que fueron aprobados por amplia mayoría de votos todos los puntos del orden del día. Además del acta de la sesión del pasado año, el balance económico 2004, el presupuesto 2005, la gestión de la Junta de Gobierno durante el año 2004 y las líneas generales de la gestión del año en curso, se aprobaron también las siguientes propuestas: actualización anual de las cuotas colegiales de acuerdo al IPC consolidado del año anterior, modificación del artículo 8 de los estatutos colegiales, establecimiento de una tarifa especial de visado para los certificados emitidos por la empresas del sector DDD y modificación del reglamento de actividades.

Participación del COBCM en la CEIM

El COBCM ingresó en el mes de febrero de este año en la Confederación Empresarial de Madrid CEIM-CEOE, con el principal objetivo de dar a conocer nuestra profesión y el importante papel que los biólogos podemos desempeñar en los diferentes ámbitos empresariales de nuestra comunidad.

En este corto período de tiempo, el colegio ha participado en diferentes reuniones de la CEIM, así como en su asamblea general, celebrada el pasado 25 de mayo, y ha sido publicada una entrevista a nuestro decano, Ángel Fernández Ipar, en el último número de la revista de la confederación.

Jorge Cuadros,
Lara Andrés
Clínica de Medicina de
la Reproducción
y Ginecología FIV
Madrid

Cristina Álvarez
Complejo Hospitalario
de Albacete



Cristina Álvarez

Presente y futuro de las técnicas de reproducción asistida

Los avances recientes en las técnicas de reproducción asistida hacen necesario distinguir entre las de uso clínico diario y las que están en fase experimental o de investigación. La ausencia de una clasificación hace que, tanto a nivel de profesionales de la reproducción como en la sociedad en general, haya confusión respecto de estas técnicas y de su uso actual. Por ejemplo, cuando en 1997 se anunció el nacimiento de la oveja Dolly, de inmediato se afirmó en diferentes niveles de la sociedad que ya era posible clonar seres humanos idénticos, cosa que aún se encuentra lejos de ser técnicamente posible. Por otro lado, supuestas cuestiones de tipo ético han impedido hasta la fecha el desarrollo de técnicas como la clonación terapéutica, cuya investigación debería ser autorizada de manera urgente.

En el total de técnicas aplicadas a la reproducción asistida, o relacionadas con ésta, podemos proponer la siguiente clasificación:

Técnicas rutinarias en el laboratorio de reproducción asistida

Las técnicas de aplicación rutinaria en un centro de reproducción asistida son:

Inseminación artificial intrauterina (IA)

Puede ser conyugal (IAC) o con semen de donante (IAD). Es la técnica más sencilla y la primera elección cuando no existe causa de infertilidad grave y cuando las trompas son permeables. Consiste en la colocación artificial del semen en el útero de la mujer, con el fin de conseguir una gestación. Consta de tres fases:



- Desarrollo folicular múltiple mediante administración de gonadotropinas. La mujer se somete a una estimulación hormonal suave para producir 2-3 óvulos en el ciclo.

- Recuperación de espermatozoides de buena movilidad (REM). Para una IAC, es necesario que la muestra de semen cumpla unos criterios de normalidad, de manera que la muestra preparada en el laboratorio tenga un REM superior a 10-15 millones de espermatozoides/ml. En el caso de que exista un factor masculino de infertilidad, y a elección de la pareja, se puede recurrir a un banco de semen para realizar una IAD.
- Inseminación intrauterina. Consiste en depositar el semen capacitado en la cavidad uterina, mediante una cánula conectada a una jeringa de insulina (fig. 1). La finalidad es dejar los espermatozoides cerca del lugar de ovulación, evitando las alteraciones que el ambiente "hostil" de la vagina produce sobre la concentración y movilidad espermática.

Las tasas de embarazo conseguidas con la IA están alrededor del 15-25% por intento.

Fecundación in vitro (FIV) convencional

Es la alternativa a la inseminación, cuando ésta ha fallado tras 3-4 intentos, o cuando existe un factor de infertilidad masculino y/o femenino que impide realizarla. Para el factor masculino se requiere



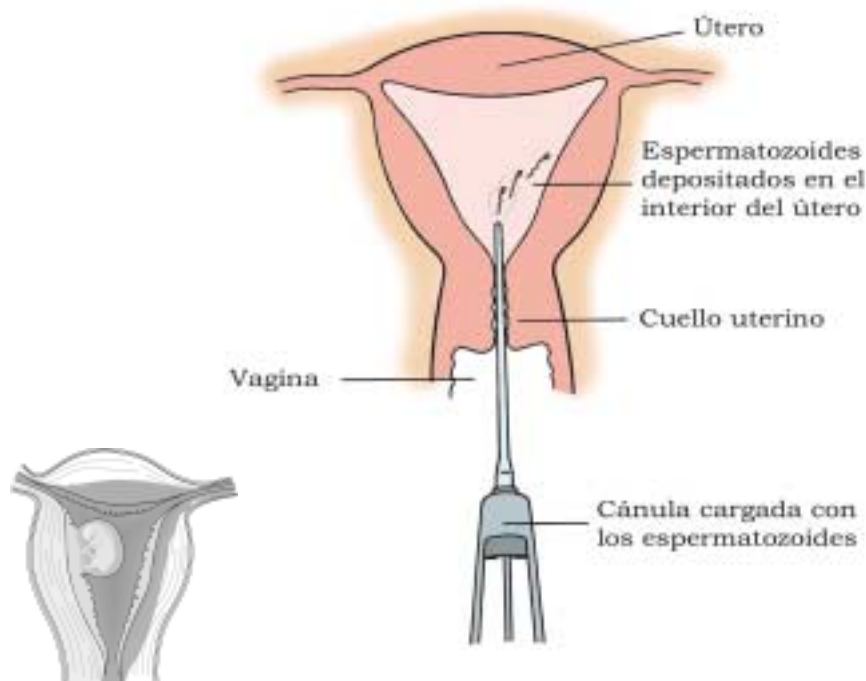


Figura 1. Inseminación Artificial.

que el REM sea de al menos 1-3 millones/ml de espermatozoides.

La FIV consta de cinco fases:

- Estimulación ovárica: mayor que la realizada para la IA, permitiendo obtener varios óvulos en un mismo ciclo. El control de la respuesta ovárica se realiza mediante ecografías del crecimiento folicular y la determinación del estradiol en sangre circulante.
- Recuperación de los oocitos: mediante punción ovárica transvaginal, con control ecográfico. Están en el líquido folicular, rodeados por las células de la granulosa. Son mantenidos en cultivo con medios específicos hasta el momento de la inseminación.
- Inseminación: se realiza colocando en la placa de cultivo entre 50.000-100.000 espermatozoides/ml, obtenidos de la muestra mejorada en el laboratorio. A las 17-19 horas de la inseminación, en el día 1, los oocitos son liberados de las células del cúmulo que los rodean, y la fecundación se reconoce por la presencia de los dos pronúcleos, masculino y femenino, y de los dos cuerpos polares, que garan-

tizan que la fecundación ha ocurrido de forma correcta (fig. 3).

- Cultivo in vitro de embriones: los oocitos fecundados se pueden mantener en cultivo en gotas individuales, para hacer un seguimiento de su desarrollo.
- Transferencia embrionaria: se realiza por vía transcervical y no requiere anestesia. Puede realizarse en día 2, alrededor de 44 horas posinseminación, cuando los embriones tienen cuatro células, o en día 3, alrededor de las setenta horas, cuando los embriones tienen ocho células. Habitualmente se transfieren dos embriones, porque la elevada tasa actual de implantación embrionaria aconseja limitar su número, para reducir así la incidencia de gestaciones múltiples. En ocasiones se transfiere un solo embrión, si se quiere evitar el embarazo gemelar en mujeres jóvenes o receptoras de óvulos, o se puede aumentar a tres, en mujeres mayores de 38 años con sus propios óvulos.

Microinyección espermática (ICSI)

Las indicaciones actuales de la ICSI son fundamentalmente casos de factor masculi-

REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Figura 2. Fecundación in vitro (FIV) e inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

no severo (REM inferior a un millón/ml), aunque también está indicada en causas inmunológicas, fallos previos de fecundación en FIV convencional, "sémenes valiosos" (pacientes oncológicos sometidos a radio o quimioterapia), imposibilidad para recoger la muestra y diagnóstico genético preimplantacional.

La diferencia fundamental con la FIV convencional es que, en la ICSI, los óvulos son decumulados 2-4 horas después de la punción ovárica, utilizando un método enzimático-mecánico, para luego introducir un espermatozoide en cada oocito mediante una microaguja (fig.2). De esta manera, tras 17-19 horas de cultivo hay que determinar en cuántos oocitos ha ocurrido la fecundación, mediante la presencia de los dos pronúcleos y los dos cuerpos polares. El resto del procedimiento es igual que en el caso de la FIV convencional. Las tasas de embarazo que se obtienen con la ICSI y la FIV son similares, al igual que la probabilidad de que ocurran malformaciones congénitas, como se ha demostrado recientemente.

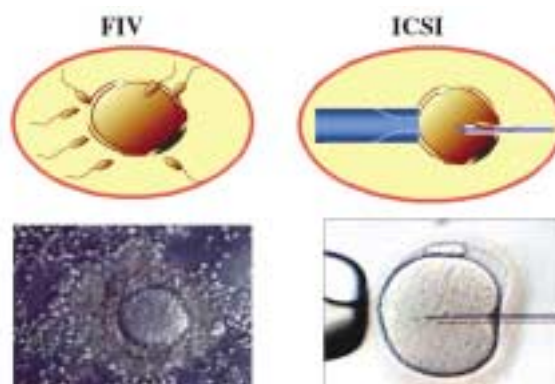
Congelación de embriones en día 2 o día 3

Es una técnica indispensable en reproducción asistida, ya que se suele conseguir más embriones de buena calidad que los que se debe transferir a la paciente, evitando el embarazo múltiple. Los protocolos de criopreservación de embriones en día 2 o día 3 están muy estandarizados y se consiguen tasas de gestación superiores al 25%.

Cultivo prolongado de embriones en medios secuenciales

En ocasiones, conviene prolongar el cultivo embrionario hasta el estadio de blastocisto.

El cultivo prolongado se indica en pacientes con fallos repetidos de implantación en FIV/ICSI, en síndrome de hiperestimulación ovárica, cuando se desea reducir el riesgo de embarazo múltiple o



en casos de diagnóstico genético preimplantacional.

Los embriones se desarrollan durante cinco o seis días (figura 4), y así se realizaría una mejor selección que la conseguida en día 2-3. Aunque esto no se demuestra en la población infértil en general, la tasa de embarazo que se consigue con el cultivo prolongado es de alrededor del 35% en las mujeres que no se quedan embarazadas en uno o dos intentos de FIV/ICSI. El medio de cultivo inicial debe ser cambiado en el día 2-3 a un medio enriquecido en aminoácidos, para sostener el desarrollo de los embriones hasta el estadio de blastocisto.

Congelación de blastocistos

Es necesaria al establecer el cultivo prolongado de embriones. Es una técnica relativamente novedosa y el protocolo es ligeramente diferente de la congelación de embriones en día 2-3.

Selección de embriones

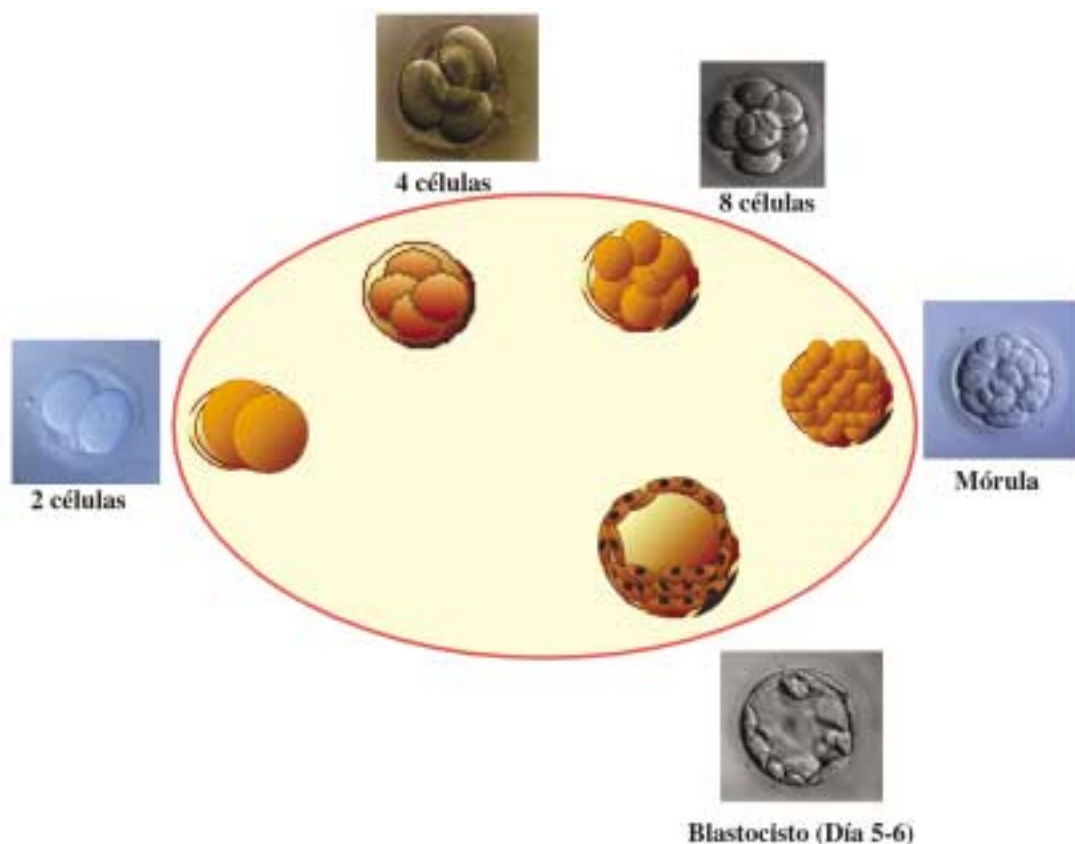
La utilización de sistemas de categorización de embriones o sistemas de puntua-

Figura 3. Fecundación normal.





Figura 4. Cultivo prolongado de los embriones.



ción para elegir los mejores embriones a transferir son procedimientos que se vienen aplicando en los últimos años para transferir cada vez menos y mejores embriones, intentando alcanzar altas tasas de embarazo, reduciendo las gestaciones múltiples.

Diagnóstico genético preimplantacional

El diagnóstico preimplantacional es una técnica de uso rutinario en centros especializados, con los que suelen colaborar las clínicas de reproducción asistida. Su utilidad es importante en casos de elevado riesgo genético, y en un futuro cercano puede ver ampliadas sus aplicaciones por su rápido progreso. Consiste en la extracción de una o dos células de un embrión del día 3 (7-8 células), cuyo núcleo es fijado. Luego, se analizan los núcleos marcando sus cromosomas con sondas fluorescentes (FISH) o se amplifica el ADN de esas blastómeras mediante PCR y se analiza para la búsqueda de las distintas mutaciones.

La biopsia no compromete el desarrollo de los embriones; y con esta técnica se puede

seleccionar y transferir sólo los embriones sanos.

Técnicas en fase experimental

Las técnicas con las que se está investigando en los laboratorios de reproducción asistida, que a corto plazo podrían tener una aplicación clínica, son:

- Congelación de oocitos: técnica recientemente autorizada en España, a nivel de estudio clínico controlado. Los oocitos soportan mal la criopreservación; sin embargo, ligeras modificaciones del protocolo han mejorado los resultados, y ya han nacido algunos niños de oocitos descongelados. Queda por demostrar que la técnica sea segura, desde el punto de vista del nacimiento de niños sanos, y que tenga un rendimiento adecuado, que permita su oferta a los pacientes.
- Maduración in vitro de oocitos: permite recuperar oocitos inmaduros de un ovario sin estimular, para luego madurarlos en el laboratorio. Requiere del diseño de medios específicos para que los



oocitos maduren correctamente y puedan ser fecundados con una probabilidad de éxito similar a la de los que maduran en el ovario.

- ELSI: inyección de espermátidas elongadas, si no hay espermatozoides maduros, pero se duda sobre una posible incidencia mayor de malformaciones congénitas.
- Transferencia de núcleos: utilizada también en la clonación y en la haploidización. Se transfiere el núcleo de un óvulo de una mujer mayor (en estadio de vesícula germinal) al citoplasma enucleado de un óvulo de una mujer joven donante. Se propone que el citoplasma joven repararía los defectos del núcleo. Requiere la maduración in vitro de oocitos. No se conocen niños nacidos mediante esta técnica.



- Transferencia de citoplasma: se aplicaría en mujeres que pueden ser jóvenes, pero que sus embriones son de mala calidad, posiblemente por un defecto en el citoplasma que podría estar relacionado con las mitocondrias. Así, un volumen pequeño de citoplasma del óvulo de una donante podría solventar el problema. Han nacido algunos niños sanos, pero su uso no está extendido.

Proyectos a medio plazo

Las técnicas que se encuentran en proceso de investigación, y que podrían tener una aplicación clínica a medio plazo son:

- ROSI: inyección de espermátidas redondas, en ausencia de espermatozoides o de espermátidas elongadas. Han nacido algunos niños con esta técnica, pero está en desuso por la incidencia de malformaciones congénitas.
- Espermatogénesis in vitro: para casos en los que la gametogénesis no se completa en el testículo. Se extraerían las células germinales mediante una biopsia testicular y se completaría la esper-

matogénesis en el laboratorio, con medios de cultivo específicos.

- Cultivo de células madre embrionarias: se aprovecharían los embriones supernumerarios de los ciclos de FIV/ICSI, para generar líneas celulares que podrían usarse para trasplantes. Persiste el problema del rechazo. La legislación española ha autorizado las experiencias controladas con embriones congelados donados para la investigación.
- Clonación terapéutica: resolvería el problema del rechazo. Podría realizarse con células somáticas y con células madre del adulto. No pretende la creación de un individuo clónico. La ley española no la permite de momento.

Ciencia ficción

Algunas de las técnicas que podrían desarrollarse a largo plazo son:

- ICSI con espermatozoides II: se han conseguido ratones vivos con esta técnica.
- Trasplantes xenogénicos: conservación de tejido gonadal en otras especies animales.
- Haploidización: se generan gametos provocando meiosis en células somáticas de adulto.
- Clonación reproductiva en animales: después de Dolly se han clonado varias especies animales, pero la eficiencia de la técnica aún es muy baja.

Como técnica muy poco probable de ser desarrollada, mencionamos:

- La clonación reproductiva en humanos: expertos en todo el mundo están de acuerdo en que, de momento, no se puede siquiera plantear llevar a cabo un intento serio de realizarla. Su baja eficiencia y las múltiples malformaciones congénitas, abortos y muerte neonatal en los animales en los que se ha intentado, hacen científica y éticamente inaceptable tal propuesta.

Francisco Gracia Navarro

Director general del Instituto de Salud Carlos III

Francisco Gracia Navarro (Córdoba, 1952) es Licenciado en Ciencias Biológicas por la Universidad de Sevilla, Doctor en Ciencias por la Universidad de Córdoba y Catedrático de Biología Celular en esta última Universidad.



Autor de casi cien artículos científicos más de 170 ponencias y comunicaciones en congresos nacionales e internacionales, está especializado en investigación en Endocrinología Molecular y Celular. Miembro del comité editorial de diversas revistas especializadas y de varias sociedades científicas nacionales e internacionales. Perteneción al Consejo Andaluz de Universidades, Presidente del Consejo de Administración de la Sociedad Parque Científico-Tecnológico de Córdoba, miembro del Consejo de Administración de la Sociedad Andaluza para el Desarrollo de la Sociedad de la Información y Vicepresidente del Consejo de Administración del Centro para la Innovación y la Transferencia de Tecnología de Andalucía. Ha desempeñado también diversos cargos de responsabilidad académica en la Universidad de Córdoba y la Junta de Andalucía.

Como órgano de apoyo científico-técnico al Sistema Nacional de Salud, ¿cuales son principales campos de actuación del Instituto de Salud Carlos III?

El Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) se creó a imagen de los grandes Institutos de la Salud de otros países, y su función cambió conforme a los cambios del propio sistema de salud, por ejemplo la transferencia a las Comunidades Autónomas de gran parte de las competencias en materia de Salud.

Actualmente el ISCIII es un centro de referencia al servicio del Sistema Nacional de Salud, fundamentalmente en enfermedades infecciosas y en epidemiología, contando con el equipo de alerta, conectado con el sistema europeo de alerta, que vigila los agentes infecciosos o posibles agentes que vengan de fuera. Además se ocupa de elementos también importantes como la salud ambiental y la salud pública

Su segunda función esencial es la de organismo público de investigación en microbiología,

epidemiología, salud pública, medicina tropical, etc. Se han ido creando en el seno del Instituto, el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CINC), que se pondrá en marcha en los próximos meses, y también en áreas nuevas que se van abriendo. Destaca el grupo de investigación en telemedicina, con importante repercusión y claro ejemplo de la integración de profesionales.

La tercera función es la financiación vía convocatoria competitiva hacia el resto de componentes del Sistema Nacional de Salud, orientada hacia los centros del sistema sanitario, a los hospitales fundamentalmente, y también a atención primaria por medio de las convocatorias de redes de investigación.

El ISCIII es un organismo original por ser el único con estas competencias en todo el ámbito nacional del estado: servicio técnico, organismo público de investigación y agente de financiación. Es un magnífico instrumento para fomentar la investigación biomédica en nuestro país, lo cual constituye el objetivo de la nueva etapa del Instituto.

¿El ISCIII va a tener algún papel en nuevas líneas de investigación actuales, como las células madre?

Un papel regulador y coordinador. Nuestra apuesta se basa en tres pilares sólidos: El Primero sería centralizar el informe ético de todos los proyectos de investigación que sobre estos temas se desarrollen en el estado. Así, lo que dependía del Centro Nacional de Medicina Regenerativa y Terapia Celular se ha trasladado al ISCIII, que recibe una Subdirección General de Investigación en Medicina Regenerativa y Terapia Celular que controla y/o coordina estas actividades.

El segundo pilar es establecer convenios con las comunidades autónomas, de tal forma que en lugar de desarrollarse en el Instituto todo el potencial de investigación, los investigadores están distribuidos por todo el estado y por tanto, en lugar de existir un gran centro nacional en terapia regenerativa, se potencien las iniciativas autonómicas. Hasta ahora se han firmado convenios con Cataluña, Comunidad Valenciana y Andalucía, cuyo alcance es la investigación básica y aplicada, en células troncales y de terapia regenerativa.

El tercer pilar pasa por la convocatoria de Fondos de Investigación Sanitaria (FIS), que previsiblemente se publicarán en el BOE en mayo. Habrá una convocatoria de proyectos de investigación, siendo una de las líneas prioritarias la

investigación en células troncales y también becas de formación postdoctoral, novedosas en convocatorias FIS, algunas de las cuales se van a focalizar en terapia celular al objeto de ir formando especialistas que luego puedan retornar a España. Mediante los FIS, se espera que los grupos de otras comunidades autónomas con las que no se ha establecido convenio, también puedan participar de esta financiación prioritaria que el gobierno quiere dar a esta línea de investigación. En ese sentido, uno de los elementos esenciales es la red de terapias celulares y medicina regenerativa del FIS, que también se va a potenciar como red en la cual se produzca una continuación de toda esa actividad de investigación.

El actual gobierno apuesta fuerte por la terapia celular, cuyo resultado final es incierto. No se puede saber si sucederá como con la terapia génica, que creó muchas expectativas y se encontró grandes dificultades técnicas, aún por superar. La terapia celular abre muchas expectativas, pero no se deben fomentar falsas esperanzas a los enfermos y sus familiares. La investigación es largo plazo y hoy día la aplicación de la terapia celular con células madre se ve lejana. Todavía queda trabajar mucho en la diferenciación celular y en como evitar efectos indeseados en el ser humano cuando se aplique la terapia. No obstante, debe apoyarse la investigación para llegar a conocer qué mecanismos controlan esos procesos biológicos de diferenciación celular. Es necesaria, y existe potencial en España de desarrollar una investigación básica y de calidad.

¿Qué papel juega el Instituto dentro de las relaciones internacionales y en especial con la Unión Europea?

La Oficina Española de Ciencia y Tecnología (SOST) en Bruselas lleva la representación de España en Europa en estos temas. En esta Oficina hay una persona del Ministerio de Sanidad y Consumo que está adscrita a una nueva subdirección que aparece en el ISCIII dentro del Área de Programas Internacionales.

Existe un problema endémico en el sistema de ciencia y tecnología, que se acentúa en nuestro Sistema Nacional de Salud: nuestros investigadores llaman poco a la puerta de Bruselas y por tanto los retornos son escasos. Puede deberse a varias razones: desconocimiento, falta de motivación, burocracia de las convocatorias de Bruselas, etc. Debe apoyarse en ese sentido porque tenemos buenos investigadores. Otra traba es el la práctica clínica que desarrollan muchos investigadores, lo cual supone una sobrecarga añadida. Aunque la dispersión del sistema sanitario no lo facilita, desde el ISCIII, en combinación con las Comunidades Autónomas, se trata de mejorar la

participación en proyectos europeos. En los próximos meses podrían presentarse las medidas complementarias en ese sentido.

La investigación actual en la UE sigue un plan de líneas de investigación prioritarias y sobre esas líneas de investigación los distintos países se presentan a una misma línea y de esta forma se reparten los fondos.

Actualmente está vigente el VI Programa Marco en el que hay una serie de medidas orientadas a las agencias financiadoras (ERA-NET). Se pretende relacionar a las agencias financiadoras de los países en determinados aspectos prioritarios. El ISCIII está participando como Fondo de Investigación Sanitaria (FIS), en cuatro o cinco líneas que la Comisión ha entendido prioritarias, como por ejemplo enfermedades raras, telemedicina y bioinformática.

El futuro VII Programa Marco trae dos nuevas perspectivas, ahora mismo en debate. Se trata de las plataformas tecnológicas que faciliten el avance en investigación aplicada, por ejemplo el ensayo de fármacos. Otra medida muy interesante y complicada sería creación de una Agencia Europea de Investigación que gestionaría los fondos de la investigación básica. En ese sentido, los grupos de investigación básica de cada país competirían de forma individual con el resto de los equipos europeos, lo cual es preocupante, pues en sistemas tan competitivos sin mecanismos o criterios de puntuación, nuestros investigadores pueden verse perjudicados. Por tanto, la investigación básica es esencial en un buen diseño de política científica en biomedicina, y me preocupa que España no vaya con buena posición a competir por esos fondos europeos.

El ISCIII, está afianzando su papel en el diseño de las políticas europeas, y cuenta con personal que se dedica básicamente a programas europeos y que está en contacto con el resto de ministerios que tienen la representación española para participar y diseñar todas las políticas europeas para que al final, los fondos europeos, que son muchos, reviertan a nuestro sistema nacional de investigación y por supuesto al sistema nacional de salud, que es un elemento importante del mismo.

El biólogo como profesional de la salud, ¿Cómo puede acceder al ISCIII?

Esta institución cuenta con muchos biólogos, que acceden a su puesto de trabajo mediante la oferta pública de empleo para investigadores ó técnicos de organismos públicos de investigación. Las plazas se convocan anualmente para áreas muy relacionadas con la Biología, con un

enfoque sanitario, por supuesto (microbiología, medicina tropical, salud pública, sanidad ambiental).

Existen becas que periódicamente convoca el ISCIII. Son becas para grupos de investigación internos que hay en este Instituto y que abarcan los mismos campos mencionados para las plazas de investigadores. Suelen ser para formación doctoral o para perfeccionamiento postdoctoral.

Por último señalar algunas convocatorias más específicas ligadas a proyectos concretos de los investigadores del Instituto, como organismo público de investigación, que están financiadas con fondos europeos o del plan nacional.

En general el biólogo es bienvenido al ISCIII y muchos biólogos ocupando cargos de responsabilidad.

La Escuela Nacional de Sanidad, como órgano de formación ¿Jugará un papel importante en relación con la Ley de Ordenación Universitaria (LOU)?

La Escuela Nacional de Sanidad (ENS) se creó con un enfoque de formación en Salud Pública dirigida a todo el sistema sanitario español, cuando era un único sistema y las universidades no habían asumido ese ámbito de formación de postgrado en salud pública. Entonces, la formación de postgrado más especializada estaba focalizada en los ministerios. Con la descentralización del sistema sanitario y la creación de Escuelas de Salud Pública en algunas Comunidades Autónomas, la Escuela Nacional de Sanidad ha ido sufriendo un desgaste. Además con la aprobación de los decretos para la formación de grado y postgrado por parte del Ministerio de Educación y Ciencia, entran en funcionamiento unos mecanismos de acreditación para la formación de postgrado.

El ISCIII quiere potenciar la Escuela y adaptarla a los requerimientos de la LOU mediante acuerdos con las universidades y crear, o bien un instituto de postgrado contemplado en la Ley, o cualquier tipo de acuerdo que permita que las maestrías que se imparten en la Escuela, tengan validez como formación de postgrado, de acuerdo con el decreto de adaptación al Espacio Europeo de Educación Superior.

Deben establecerse prioridades, puesto que la Escuela no puede abordar toda la formación de postgrado en salud. Se trabaja en un plan estratégico para establecer determinadas prioridades, fundamentalmente Salud Pública, Gestión de la Salud Pública y Epidemiología. También se apuesta por la Salud Ambiental, campo con bas-

tante recorrido por hacer, siempre junto a las universidades.

La formación de postgrado en un ámbito de competencia entre las universidades europeas plantea un gran problema: no todas podrán desarrollar postgrados en todas las áreas, porque no tendrán suficientes alumnos. El postgrado necesariamente va a ser minoritario y, por muy financiada públicamente que esté, los costes de ofrecer formación muy especializada para muy pocos alumnos puede ser insostenible. Las nuevas tecnologías pueden ayudar a ofrecer formación de postgrado de calidad que abarque todos los aspectos y que permita que estudiantes de distintas zonas del territorio nacional puedan participar.

Muchos biólogos decidieron especializarse en genética humana, ¿tienen posibilidades en esta institución de demostrar los conocimientos y su proyección en la investigación?

En el ISCIII la investigación en genética no es ahora mismo la más destacada, pero sí contamos con especialistas porque la genética está muy relacionada con la biología molecular. No obstante fundaciones como el CNIC y el CNIO es donde más posibilidades existen. El campo de acción de los biólogos que dedicados a la genética humana debería ser el hospital y su servicio de genética clínica, donde puede desarrollar perfectamente una labor, sin entrar en disputas profesionales.

Las necesidades que va a tener el Sistema Nacional de Salud de expertos en genética va a ser enorme, porque la futura medicina será personalizada, preventiva y de base molecular, para conocer las probabilidades que tiene un individuo de desarrollar una enfermedad, conociendo su genoma. Se utilizarán chips genético y se diseñará un fármaco, una farmacología, una farmacogenómica particular, para la genética clínica y en consecuencia, para el biólogo. La formación actual de los biólogos en genética, es ahora mismo mejor que la de los médicos y ahí hay mucho campo, aunque más que en el Instituto, en el Sistema Nacional de Salud.

Sin embargo una de las misiones que tiene el ISCIII es la formación de especialistas en salud que puedan revertir después a los hospitales, entonces desde ese punto de vista quizás al Instituto...

No se había planteado como una de las líneas prioritarias de actuación de la Escuela, fundamentalmente porque los especialistas en genética humana no los tenemos aquí, no son plantilla nuestra. Nosotros contamos con muy buenos profesionales en papeles más clásicos de la Salud

Pública, desde el punto de vista de gestión, de epidemiología. La formación de genetistas humanos orientados hacia la Salud Pública es una buena idea y habría que tenerla en cuenta pero no sé si para desarrollarla en la Escuela, en el propio Sistema Nacional de Salud o en la Universidad. La idea me ha gustado y la voy a tener presente para trabajarla.

¿Cree Usted que el hecho de que el cargo de Director General este ocupado por un biólogo puede suponerle al ISCIII alguna diferencia en cuanto a su gestión, organización, etc.?

Yo creo que no. Cualquier otra persona que tenga experiencia o que este relacionada con este tipo de gestión lo haría igual, pues lo único que pensamos es en llevar a buen término los proyectos que tenemos entre manos. De hecho, ya ocupaba un puesto de responsabilidad relacionado con la investigación y las nuevas tecnologías cuando recibí la llamada de Da Carmen Calvo, la Sra. Ministra de Sanidad, quien confió en mí. No obstante, creo que mi cargo ya ha sido ocupado por algún otro biólogo y espero no ser el último en ocuparlo.

¿Qué supone para Usted como biólogo el estar al frente de esta Institución en su carrera?

Es un honor y una gran responsabilidad estar al frente del más prestigioso organismo público de investigación en Ciencias de la Salud. Es un elemento esencial de mi carrera profesional, tanto como investigador en el área de la biomedicina, de la endocrinología molecular y celular, como de gestor de la investigación. Después de mis experiencias como Vicerrector de Investigación de Universidad y de responsable de Universidades e Investigación en una Comunidad Autónoma, ser el Director del segundo OPI del país, creo que es un muy buen eslabón en mi carrera profesional. Pero, además, dadas las características singulares del Organismo es una enorme responsabilidad. Los fines y objetivos del Instituto son muy importantes para el Sistema Nacional de Salud y también para el Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología, por tanto, espero que entre todos podamos hacer una buena labor.

Y para terminar ¿cual es su opinión sobre el futuro papel de los biólogos en el Sistema Nacional de Salud?

Pueden tener, en un futuro no muy lejano, un papel cada vez más importante en el Sistema Nacional de Salud, debido a su formación multidisciplinar que le facilita el ocupar múltiples posiciones en un sinfín de disciplinas (microbiología, genética, biología celular o la medicina preventiva de base molecular.



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

más información en nuestra página web

cobcm.net

Biólogos y Bioquímicos

OPOSICIONES

Ministerio de Educación y Ciencia

De los Organismos Públicos de Investigación (OPIS)

PRÓXIMAS CONVOCATORIAS 2005

Plazas libres (sin concurso de méritos)

TÉC. ESP. GRADO MEDIO: 52 PLAZAS

AYUDANTES DE INVESTIGACIÓN: 50 PLAZAS

AUXILIARES DE INVESTIGACIÓN: 34 PLAZAS

Clases presenciales: comienzo septiembre de 2005

Disponemos de Temarios, Test, Práctico,

¡NOVEDAD! 3º Ejercicio Práctico

incluye Ejercicios Solucionados

OPOSICIONES

Comunidad de Madrid

TÉC. DIPLOM. DE CONSUMO: 32 PLAZAS

(Plazas sin concurso de méritos)

Solicitudes: hasta el 31/3/05

Clases presenciales: comienzo 11 de abril de 2005

Disponemos del Temario

BIR 2005

¡¡Excelentes Resultados!!

En la última CONVOCATORIA 2004-2005

19 PLAZAS de las 33 ofertadas,

obtenidas por alumnos de CASH FLOW

y, además, en las convocatorias

2002, 2001, 1999, 1996 y 1995 el

N.º 1

CLASES PRESENCIALES

Comienzo: 4 de abril de 2005

Duración: 8 meses (256 horas lectivas)

A los alumnos asistentes a las clases

se les entregan GRATUITAMENTE

los 6 volúmenes de Teoría y Test.

Simulacros, Exámenes, Resúmenes, etc.

PUBLICACIONES

Para PREPARAR EL BIR por tu cuenta

- 6 volúmenes de TEORÍA y TEST (256 €)
- 5 volúmenes de TEST y EXÁMENES (135 €)

Todas nuestras publicaciones
SE ENVÍAN A PROVINCIAS
por correo contra reembolso

Infórmate

CENTRO SUPERIOR DE ESTUDIOS

CASH FLOW

C/ Montesa, 20 – 28006 MADRID

Tel.: 91 309 36 46

www.cashflow-oposiciones.com

¿Quieres ser el mejor?

Hay una manera
de lograrlo:
especialízate



MBA

Master en Gestión de Calidad

Master en Ingeniería y Gestión Medioambiental

Master en Ingeniería Medioambiental y Gestión del Agua

Master en Medio Ambiente, Agua y Saneamiento para Proyectos de Cooperación Internacional

Master Internacional en Desarrollo Sostenible

Master en Energías Renovables y Mercado Energético

Programa Superior en Comercio Exterior



1955-2005



eoi

Escuela de Negocios

www.eoi.es

informacion@eoi.es

902 50 5885