

TERCER EJERCICIO DEL PROCESO SELECTIVO PARA CUBRIR DOS PLAZAS DE LA CATEGORÍA PROFESIONAL DE TÉCNICO/A ESPECIALISTA DE INVESTIGACIÓN, ESPECIALIDAD BIOLOGÍA (ACUICULTURA), GRUPO III, POR EL TURNO DE ACCESO LIBRE, VACANTES EN EL CUADRO DE PERSONAL LABORAL.

SUPUESTO PRÁCTICO

Una granja de cultivo de trucha arco iris en Galicia, que trabaja con tres “hatcheries” distintas de Europa, ha sufrido en los últimos años brotes recurrentes de la enfermedad del agua fría que afecta a peces de diferente talla y que pueden ocasionar pérdidas entre el 15 y el 35% de la producción. Tras la introducción del último lote de huevos importados se observaron elevadas mortalidades en los alevines obtenidos, con pérdidas que alcanzaron hasta el 75% del lote. Los peces mostraban como signos característicos oscurecimiento corporal, abdomen distendido y prominente, natación en espiral, exoftalmia, palidez branquial y, en ocasiones, hemorragias en vientre y base de las aletas. Algunos de estos signos son habituales en peces afectados de necrosis pancreática infecciosa causada por el virus IPN. El piscicultor se pone en contacto con el laboratorio para solicitar un diagnóstico y posible tratamiento.

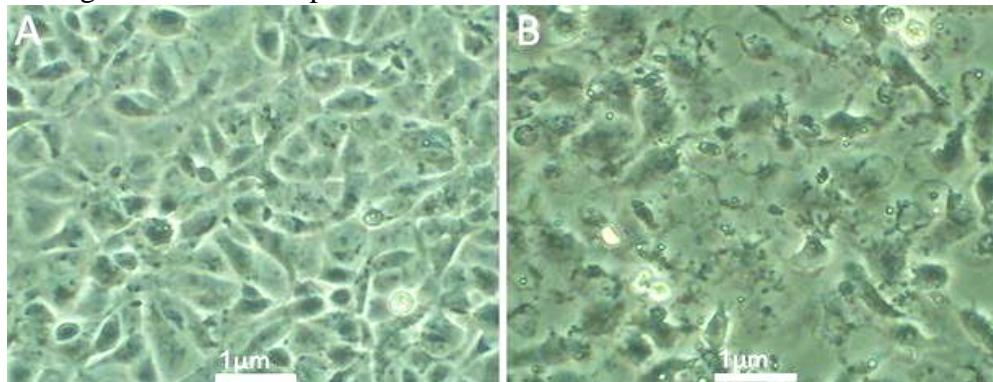
1. ¿Qué muestras debería enviar el piscicultor para el análisis con fines diagnósticos?:
 - a. Sangre recogida en jeringuilla transportada en condiciones refrigeradas.
 - b. Peces enteros y/o órganos apropiados transportados en condiciones refrigeradas.
 - c. Piel, encéfalo e intestino, transportados en condiciones no refrigeradas.
2. ¿Cómo deben ser manipuladas las muestras biológicas?:
 - a. Sin guantes.
 - b. Como material no infeccioso.
 - c. Como material potencialmente infeccioso.
3. En la imagen que se muestra a continuación se observan uno de los ejemplares de trucha arco iris enviados para el diagnóstico y que presenta erosiones en la piel y úlceras con pigmentación amarilla, alteraciones que son características de:



- a. El síndrome del alevín de la trucha causada por *Streptococcus parauberis*.
- b. La necrosis pancreática infecciosa causada por el virus de la necrosis pancréatica infecciosa (IPNV).
- c. La enfermedad del agua fría causada por *Flavobacterium psychrophilum*.
4. En la necropsia, ¿qué órganos seleccionaría para realizar el análisis bacteriológico?:
 - a. Riñón anterior y bazo.
 - b. Intestino y sangre.
 - c. Riñón posterior, encéfalo e hígado.
5. En la necropsia, ¿qué órganos seleccionaría para realizar el análisis virológico?:
 - a. Riñón anterior, bazo y encéfalo.
 - b. Riñón posterior, intestino y sangre.
 - c. Encéfalo, piel y branquias.

6. El medio de cultivo preparado para el cultivo de las líneas celulares de peces ha sido suplementado con L-glutamina (4 mM) y 2-mercaptopetanol (40 µM). Expresa la concentración de la L-glutamina en g/ml (Peso molecular de la L-glutamina=146,14 g/mol):
- 584,56.
 - $5,84 \times 10^5$.
 - 5,84.
7. Para preparar el medio de cultivo de la pregunta anterior, hemos partido de una disolución de 2-mercaptopetanol del 90% de pureza y con una densidad de 1,2 g/l. ¿Cuántos ml de esta disolución tenemos que utilizar para preparar 2ml del medio de cultivo celular? (Peso molecular del 2-mercaptopetanol =78,13 g/mol):
- $5,79 \times 10^{-3}$.
 - $5,21 \times 10^{-3}$.
 - $5,21 \times 10^{-6}$.
8. Para evitar la contaminación fúngica a los medios de cultivo para las líneas celulares de peces se les añadió:
- Penicilina (100 IU ml⁻¹).
 - Micostatina (50 IU ml⁻¹).
 - Gentamicina (50 µg ml⁻¹).
9. Si durante el mantenimiento de los cultivos celulares el color del medio cambia de rojo a amarillo, puede indicar que:
- El medio se acidificó y es necesario realizar un ajuste del pH, por ejemplo, con una solución de bicarbonato estéril.
 - El medio se hizo más alcalino y es necesario ajustar el pH, por ejemplo, con una solución de bicarbonato estéril.
 - Las células del cultivo alcanzaron su desarrollo óptimo y es el momento de inocular el virus.
10. Para iniciar el procesamiento de las muestras de órganos y/o tejidos para el aislamiento viral, debemos:
- Homogenizarlos en una solución tampón utilizando un mortero conservado a -20°C o un homogeneizador de palas.
 - Homogenizarlos en una disolución de proteasas, manteniendo la muestra a temperatura ambiente.
 - Homogenizarlos en una disolución de lipasas, a temperatura inferior a 20°C.
11. Las líneas celulares recomendadas por la OIE para la detección y aislamiento del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) son:
- Líneas celulares derivadas del tronco caudal de “brown bullhead” (BB).
 - Líneas celulares derivadas de embrión de salmón real (CHSE-214) y de las góndolas de trucha arco iris (RTG-2).
 - Las líneas celulares del riñón del salmón atlántico (ASK).
12. Tras la realización de un estudio de sensibilidad al cloroformo para la caracterización del virus IPN, se observa resistencia al tratamiento. Estos resultados indican que:
- El virus es envuelto.
 - El virus es no envuelto.
 - El virus es filamento.
13. Entre los métodos directos de caracterización viral **NO** se encuentran:
- El aislamiento en líneas celulares.
 - Microscopía electrónica.
 - Ensayo inmunoenzimático.
14. Para el cultivo del agente causal de la enfermedad del agua fría, *Flavobacterium psychrophylum* es necesario:
- Utilizar medios de cultivo selectivo-diferenciales como el TCBS (Azul de bromotimol/sales biliares citrato/sacarosa) o el VAM (ampicilina y sorbitol).
 - Utilizar un medio de cultivo general como el Agar de Soja Trypticaseína (TSA) enriquecido en NaCl.
 - Utilizar medios de cultivo especiales como Agar TYES (triptona, extracto de levadura y sales), Agar AOA (Agar Anacker y Ordal).

15. Tras la inoculación de las muestras de tejido de los peces enfermos en los cultivos celulares se observan las siguientes imágenes al microscopio:



- a. Células de cultivo no alteradas (A) y células con efecto citopático (B).
- b. Células de cultivo no alteradas (B) y células con efecto citopático (A).
- c. Células de cultivo no alteradas (A) y células control no inoculadas (B).

16. Para la observación de los cultivos celulares anteriores es recomendable utilizar:

- a. Microscopio óptico invertido.
- b. Microscopio óptico convencional.
- c. Microscopio de campo oscuro.

17. Tras la incubación de los cultivos bacterianos y la observación de los cultivos en placa y el examen microscópico se obtienen los siguientes resultados:



- a. Bacteria con morfología bacilar y Gram positiva.
- b. Bacteria con morfología filamentosa y Gram positiva.
- c. Bacteria con morfología filamentosa y Gram negativa.

18. Qué sistema multiprueba comercial sería de utilidad para la caracterización de la bacteria de la pregunta anterior:

- a. API 20E.
- b. API ZYM.
- c. VITEK.

19. Con el fin de determinar el número de bacterias viables que tenemos en el cultivo inicial, se requiere hacer un banco de diluciones. Para ello, se cuenta con 5 tubos que contienen suero fisiológico estéril: el primero 9 ml, el segundo 9,9 ml, el tercero 9 ml, el cuarto 9 ml y el quinto 9 ml. Mediante una pipeta estéril se toma 1 ml de cultivo y se deposita en el primer tubo. Se agita hasta conseguir una suspensión homogénea. Seguidamente se toma otra pipeta estéril y de este primer tubo se transfieren 0,1 ml al segundo tubo, se agita y se repite la operación transfiriendo 1ml del segundo tubo al tercer tubo, del tercero al cuarto y del cuarto al quinto consecutivamente (tomando siempre pipetas estériles y agitando en cada caso). ¿Cuál será la dilución del quinto tubo?:

- a. 10^{-4} .
- b. 10^{-5} .
- c. 10^{-6} .

20. Para la identificación bacteriana mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ¿Cuáles son los tres pasos fundamentales?. Indicar cuál es su orden correcto:

- a. Desnaturalización-Hibridación-Extensión.
- b. Hibridación- Desnaturalización- Extensión.
- c. Hibridación- Extensión-Digestión.

21. Cuando se realiza una PCR en tiempo real para identificar el agente causal (bacteriano o vírico) en una muestra de tejido de pez, ¿cuál es la ventaja de utilizar un control negativo?:

- a. Nos permite descartar que la muestra esté contaminada.
- b. Nos permite asegurarnos de que nuestro resultado no es un falso positivo como consecuencia de una contaminación en nuestro laboratorio.
- c. No se usa nunca un control negativo porque la PCR tiene una altísima especificidad debido al apareamiento perfecto de la secuencia del primer con la secuencia diana.

22. Si se va a utilizar un kit de ELISA, basado en la detección de un antígeno viral, para el diagnóstico de la necrosis pancreática infecciosa causada por el virus IPN. ¿Cuál de los siguientes pasos **NO** tendrá que ser realizado:

- a. Aislamiento del ADN vírico.
- b. Detección de señal mediante espectrofotometría o detección de quimioluminiscencia.
- c. Adición de anticuerpo primario.

23. Si al cuantificar la concentración de proteínas del homogenado del tejido del pez, mediante espectrofotometría por el método de Bradford, la absorbancia detectada excede a la absorbancia máxima obtenida con la serie de estándares utilizada para construir la curva de calibrado. ¿Qué debemos hacer?:

- a. Repetir el ensayo utilizando una cantidad menor de reactivo de Bradford.
- b. Diluir nuestra muestra y repetir el análisis.
- c. Nada siempre que la curva de calibrado haya salido bien y podamos extrapolar el valor de absorbancia.

24. En el ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) realizado para diagnosticar la enfermedad bacteriana en los tejidos de los peces usamos:

- a. Anticuerpos específicos unidos covalentemente a enzimas (peroxidasa, fosfatasa alcalina, ...).
- b. Antígenos específicos unidos covalentemente a enzimas (peroxidasa, fosfatasa alcalina, ...).
- c. Partículas magnéticas o de látex como soporte de los antígenos específicos.

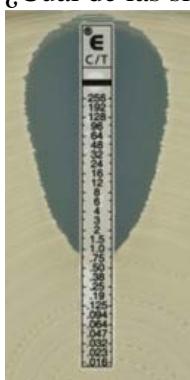
25. En la separación electroforética de proteínas bacterianas o virales la velocidad de migración de estas es función de todos los parámetros que se citan, **excepto uno**:

- a. De la fuerza iónica y pH del tampón.
- b. Punto isoeléctrico de las proteínas.
- c. Del diámetro de los electrodos.

26. La OIE presenta un protocolo para el aislamiento del virus IPN mientras que para su identificación recomienda el uso de diversas técnicas. ¿Cuál de las que se mencionan a continuación **NO** está recomendada?:

- a. Técnicas de inmunofluorescencia (ELISA, inmunodot-blot).
- b. Técnicas de seroneutralización y técnicas de PCR.
- c. Técnicas basadas en sistemas multiprueba comerciales como el VITEK.

27. ¿Cuál de las siguientes respuestas es correcta?:



- a. La imagen muestra el resultado de un E-test realizado para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un antibiótico.
- b. La imagen muestra el resultado de un E-test realizado para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) de un antibiótico.
- c. La imagen muestra el resultado de una prueba de hemólisis vista con luz invertida.

28. Tras realizar un ensayo de dilución en caldo para determinar cuál es el fármaco de elección para el tratamiento de la patología observamos un valor de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de: 4 mg/l para la oxitetraciclina, 0,5 mg/l para ciprofloxacino y 1 mg/l para amoxicilina. En base a estos resultados cuál sería el fármaco de elección:

- a. Oxitetraciclina.
- b. Ciprofloxacino.
- c. Amoxicilina.

29. En base a los resultados de CMI de la pregunta anterior y teniendo en cuenta que la concentración mínima bactericida (CMB) de la Oxitetraciclina es CMB=128 mg/l y del Ciprofloxacino es CMB = 1,0 mg/l. ¿cuál de los fármacos tiene actividad bactericida?:

 - Oxitetraciclina.
 - Ciprofloxacino.
 - Los dos antimicrobianos sólo tienen actividad bacteriostática.

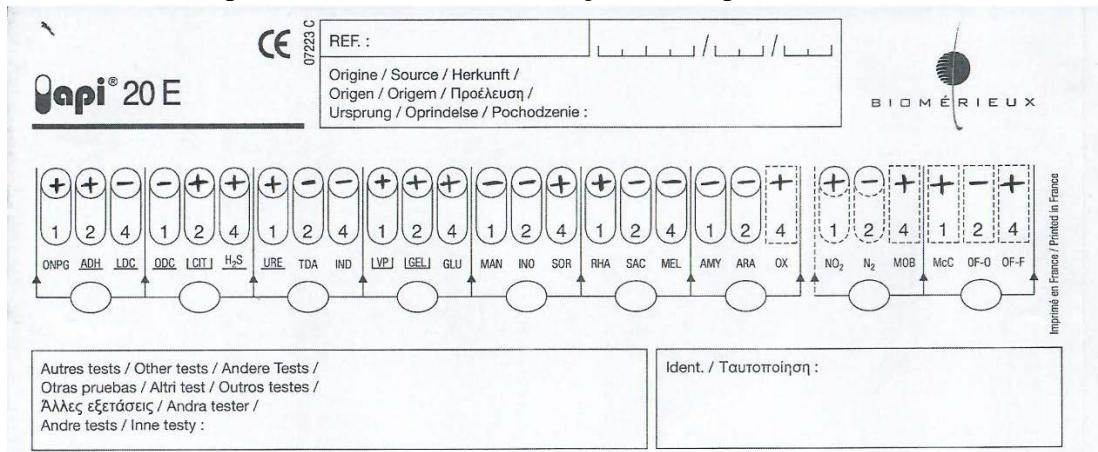
30. ¿Qué nivel de seguridad biológica debe de tener el laboratorio donde se realizan los análisis bacteriológicos y víricos de los peces infectados de este caso clínico?:

 - Nivel de seguridad 1.
 - Nivel de seguridad 2.
 - Nivel de seguridad 3.

31. Para la eliminación de los residuos biológicos sólidos generados en este supuesto práctico debemos:

- a. Tirarlos a la papelera en bolsa negra cerrada.
 - b. Introducirlos en un contenedor para material infeccioso y proceder a la esterilización en autoclave o incineración.
 - c. Tratarlos con un antiséptico y gestionarlos como residuos urbanos.

32. En la imagen que se presenta a continuación se muestran los resultados (+ o -) de las distintas pruebas del sistema multiprueta comercial API 20E, ¿cuál es el perfil numérico asociado a la muestra?:



- a. 221311122.
 - b. 361711415.
 - c. 361741455.

33. Al finalizar el análisis de una muestra bacteriana patógena de peces con el sistema multiprueba comercial API 20E se obtiene un perfil numérico que nos permite:

- a. Identificar la especie bacteriana y conocer la calidad de la determinación.
 - b. Identificar la especie bacteriana exclusivamente.
 - c. Saber si la bacteria en cuestión es Gram positiva o Gram negativa.

34. Si queremos esterilizar un laboratorio que se contaminó al romperse un tubo de ensayo que contenía una disolución con organismos patógenos, utilizaríamos:

- a. Óxido de etileno.
 - b. Calor húmedo.
 - c. Calor seco.

35. En caso de derrame accidental de H_2SO_4 concentrado, es recomendable:

- a. Echarle agua para diluirlo.
 - b. Absorberlo con serrín.
 - c. Absorberlo con arena.

36. Selecciona la opción que relaciona correctamente cada uno de los siguientes pictogramas con su significado según el reglamento CLP (Reglamento CE nº 1272/2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas):



- a. 1: Gas inflamable, 2: Contiene gas a presión, peligro de explosión en caso de calentamiento, 3: Tóxico en caso de inhalación, 4: Puede agravar un incendio: comburente, 5: Peligro de explosión en caso de calentamiento.
- b. 1: Peligro de incendio en caso de calentamiento, 2: Contiene gas a presión, peligro de explosión en caso de calentamiento, 3: Tóxico en caso de inhalación, 4: Puede agravar un incendio: comburente, 5: Peligro para el medio ambiente.
- c. 1: Peligro de incendio en caso de calentamiento, 2: Contiene gas a presión, peligro de explosión en caso de calentamiento, 3: Puede provocar cáncer, 4: Puede agravar un incendio: comburente, 5: Peligro para el medio ambiente.

Preguntas de reserva

37. ¿Cuántos gramos de una disolución de Gentamicina de concentración 0,5 mM y densidad 1,2 g/l, son necesarios para preparar 200 ml de un medio de cultivo celular a 0,05 g/l en este antibiótico? (Peso molecular de la Gentamicina=477,6 g/mol):

- a. 0,5
- b. 0,05
- c. $5,02 \times 10^{-5}$.

38. El medio de cultivo selectivo más adecuado para el aislamiento de *Vibrio* spp a partir de una muestra clínica es:

- a. El agar XLD.
- b. El agar sangre.
- c. El agar TCBS.