

TERCEIRO EXERCICIO DO PROCESO SELECTIVO PARA CUBRIR DÚAS PRAZAS DA CATEGORÍA PROFESIONAL DE TÉCNICO/A ESPECIALISTA DE INVESTIGACIÓN, ESPECIALIDADE BIOLOXÍA (ACUICULTURA), GRUPO III, POLA QUENDA DE ACCESO LIBRE, VACANTES NO CADRO DE PERSONAL LABORAL.

SUPOSTO PRÁCTICO

Unha granxa de cultivo de troita arco iris en Galicia, que traballa con tres “hatcheries” distintas de Europa, sufriu nos últimos anos brotes recorrentes da enfermidade da auga fría que afecta a peixes de diferente talla e que pode ocasionar perdas entre o 15 e o 35% da produción. Tras a introdución do último lote de ovos importados observáronse elevadas mortalidades nos alevíns obtidos, con perdas que alcanzaron até o 75% do lote. Os peixes mostraban como signos característicos oscurecemento corporal, abdome distendido e prominente, natación en espiral, exoftalmia, palidez branquial e, en ocasións, hemorraxias en ventre e base das aletas. Algúns destes signos son habituais en peixes afectados de necrose pancreática infecciosa causada polo virus IPN. O piscicultor ponse en contacto co laboratorio para solicitar un diagnóstico e posible tratamento.

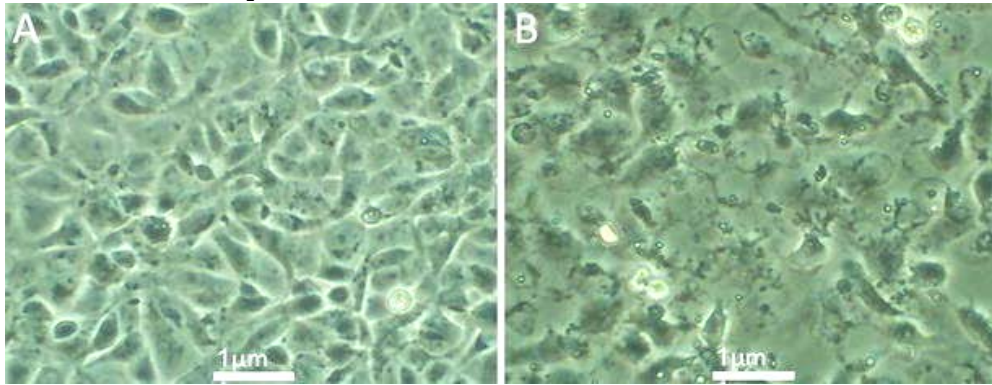
1. Que mostras debería enviar o piscicultor para a análise con fins diagnósticos?:
 - a. Sangue recollida en xiringa transportada en condicións refrixeradas.
 - b. Peixes enteiros e/ou órganos apropiados transportados en condicións refrixeradas.
 - c. Pel, encéfalo e intestino, transportados en condicións non refrixeradas.
2. Como deben ser manipuladas as mostras biolóxicas?:
 - a. Sen luvas.
 - b. Como material non infeccioso.
 - c. Como material potencialmente infeccioso.
3. Na imaxe que se mostra a continuación obsérvanse un dos exemplares de troita arco iris enviados para o diagnóstico e que presenta erosións na pel e úlceras con pigmentación amarela, alteracións que son características de:



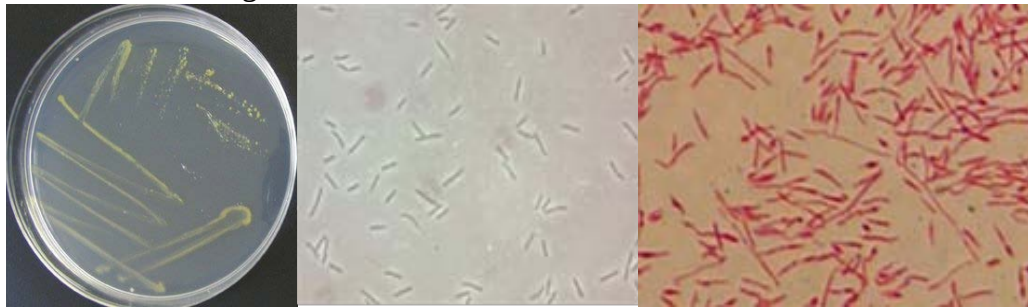
- a. A síndrome do alevín da troita causada por *Streptococcus parauberis*.
 - b. A necrose pancreática infecciosa causada polo virus d necrose pancrétaica infecciosa (IPNV).
 - c. A enfermidade da auga fría causada por *Flavobacterium psychrophilum*.
4. Na necropsia, que órganos seleccionaría para realizar a análise bacteriolóxica?:
 - a. Ril anterior e bazo.
 - b. Intestino e sangue.
 - c. Ril posterior, encéfalo e fígado.
5. Na necropsia, que órganos seleccionaría para realizar a análise virolóxica?:
 - a. Ril anterior, bazo e encéfalo.
 - b. Ril posterior, intestino e sangue.
 - c. Encéfalo, pel e branquias.

6. O medio de cultivo preparado para o cultivo das liñas celulares de peixes foi suplementado con L-glutamina (4 mM) e 2-mercaptoetanol (40 μ M). Expresa a concentración da L-glutamina en g/ml (Peso molecular da L-glutamina=146,14 g/mol):
- 584,56.
 - $5,84 \times 10^5$.
 - 5,84.
7. Para preparar o medio de cultivo da pregunta anterior, partimos dunha disolución de 2-mercaptoetanol do 90% de pureza e cunha densidade de 1,2 g/l. Cantos ml desta disolución temos que utilizar para preparar 2ml do medio de cultivo celular? (Peso molecular do 2-mercaptoetanol =78,13 g/mol):
- $5,79 \times 10^{-3}$.
 - $5,21 \times 10^{-3}$.
 - $5,21 \times 10^{-6}$.
8. Para evitar a contaminación fúnxica aos medios de cultivo para as liñas celulares de peixes engadíuselles:
- Penicilina (100 IU ml⁻¹).
 - Micostatina (50 IU ml⁻¹).
 - Xentamicina (50 μ g ml⁻¹).
9. Se durante o mantemento dos cultivos celulares a cor do medio cambia de vermello a amarelo, pode indicar que:
- O medio acidificouse e é necesario realizar un axuste do pH, por exemplo, cunha solución de bicarbonato estéril.
 - O medio fíxose máis alcalino e é necesario axustar o pH, por exemplo, cunha solución de bicarbonato estéril.
 - As células do cultivo alcanzaron o seu desenvolvemento óptimo e é o momento de inocular o virus.
10. Para iniciar o procesado das mostras de órganos e/ou tecidos para o illamento viral, debemos:
- Homoxenizalos nunha solución tampón utilizando un morteiro conservado a -20°C ou un homoxenizador de pas.
 - Homoxenizalos nunha disolución de proteasas, mantendo a mostra a temperatura ambiente.
 - Homoxenizalos nunha disolución de lipasas, a temperatura inferior a 20°C.
11. As liñas celulares recomendadas pola OIE para a detección e illamento do virus da necrosis pancreática infecciosa (IPNV) son:
- Liñas celulares derivadas do tronco caudal de “brown bullhead” (BB).
 - Liñas celulares derivadas de embrión de salmón real (CHSE-214) e das gónadas de troita arco iris (RTG-2).
 - Liñas celulares de ril del salmón atlántico (ASK).
12. Tras a realización dun estudio de sensibilidade ao cloroformo para a caracterización do virus IPN, obsérvase resistencia ao tratamento. Estes resultados indican que:
- O virus é envolto.
 - O virus é non envolto.
 - O virus é filamentoso.
13. Entre os métodos directos de caracterización viral **NON** se atopan:
- O illamento en liñas celulares.
 - Microscopia electrónica.
 - Ensaio inmunoenzimático.
14. Para o cultivo do axente causal da enfermidade da auga fría, *Flavobacterium psychrophylum* é necesario:
- Utilizar medios de cultivo selectivo-diferenciais como o TCBS (Azul de bromotimol/sales biliares citrato/sacarosa) ou o VAM (ampicilina e sorbitol).
 - Utilizar un medio de cultivo xeral como o Agar de Soia Trypticaseína (TSA) enriquecido en NaCl.
 - Utilizar medios de cultivo especiais como Agar TYES (triptona, extracto de lévedo e sales), Agar AOA (Agar Anacker y Ordal).

15. Tras a inoculación das mostras de tecido dos peixes enfermos nos cultivos celulares obsérvanse as seguintes imaxes ao microscopio:



- a. Células de cultivo non alteradas (A) e células con efecto citopático (B).
 - b. Células de cultivo non alteradas (B) e células con efecto citopático (A).
 - c. Células de cultivo non alteradas (A) e células control non inoculadas (B).
16. Para a observación dos cultivos celulares anteriores é recomendable utilizar:
- a. Microscopio óptico invertido.
 - b. Microscopio óptico convencional.
 - c. Microscopio de campo escuro.
17. Tras a incubación dos cultivos bacterianos e a observación dos cultivos en placa e o exame microscópico obéñense os seguintes resultados:



- a. Bacteria con morfoloxía bacilar e Gram positiva.
 - b. Bacteria con morfoloxía filamentosa e Gram positiva.
 - c. Bacteria con morfoloxía filamentosa e Gram negativa.
18. Qué sistema multiproba comercial sería de utilidade para a caracterización da bacteria da pregunta anterior:
- a. API 20E.
 - b. API ZYM.
 - c. VITEK.
19. Co fin de determinar o número de bacterias viables que temos no cultivo inicial, requírese facer un banco de dilucións. Para iso, cóntase con 5 tubos que conteñen soro fisiolóxico estéril: o primeiro 9 ml, o segundo 9,9 ml, o terceiro 9 ml, o cuarto 9 ml e o quinto 9 ml. Mediante unha pipeta estéril tómake 1 ml de cultivo e deposítase no primeiro tubo. Axítase até conseguir unha suspensión homoxénea. Seguidamente tómake outra pipeta estéril e deste primeiro tubo transfírense 0,1 ml ao segundo tubo, axítase e repítese a operación transferindo 1ml do segundo tubo ao terceiro tubo, do terceiro ao cuarto e do cuarto ao quinto consecutivamente (tomando sempre pipetas estériles e axitando en cada caso). Cal será a dilución do quinto tubo?:
- a. 10^{-4} .
 - b. 10^{-5} .
 - c. 10^{-6} .
20. Para a identificación bacteriana mediante a reacción en cadea da polimerasa (PCR). Cales son os tres pasos fundamentais?. Indicar cal é a súa orde correcta:
- a. Desnaturalización-Hibridación-Extensión.
 - b. Hibridación- Desnaturalización- Extensión.
 - c. Hibridación- Extensión-Dixestión.

21. Cando se realiza unha PCR en tempo real para identificar o axente causal (bacteriano ou vírico) nunha mostra de tecido de peixe, cal é a vantaxe de utilizar un control negativo?:
- Permítenos descartar que a mostra estea contaminada.
 - Permítenos asegurarnos de que o noso resultado non é un falso positivo como consecuencia dunha contaminación no noso laboratorio.
 - Non se usa nunca un control negativo porque a PCR ten unha altísima especificidade debido ao aparellamento perfecto da secuencia do primeiro coa secuencia diana.
22. Se vaise a utilizar un kit de ELISA, baseado na detección dun antíxeno viral, para o diagnóstico da necrose pancreática infecciosa causada polo virus IPN. Cal dos seguintes pasos **NON** terá que ser realizado:
- Illamento do ADN vírico.
 - Detección de sinal mediante espectrofotometría ou detección de quimioluminiscencia.
 - Adición de anticorpo primario.
23. Se ao cuantificar a concentración de proteínas do homoxenado do tecido do peixe, mediante espectrofotometría polo método de Bradford, a absorbancia detectada excede á absorbancia máxima obtida coa serie de estándares utilizada para construír a curva de calibrado. Que debemos facer?:
- Repetir o ensaio utilizando unha cantidade menor de reactivo de Bradford.
 - Diluir a nosa mostra e repetir a análise.
 - Nada sempre que a curva de calibrado saíse ben e podamos extrapolar o valor de absorbancia.
24. No ensaio de inmunoabsorción encimática (ELISA) realizado para diagnosticar a enfermidade bacteriana nos tecidos dos peixes usamos:
- Anticorpos específicos unidos covalentemente a encimas (peroxidasa, fosfatasa alcalina, ...).
 - Antíxenos específicos unidos covalentemente a encimas (peroxidasa, fosfatasa alcalina, ...).
 - Partículas magnéticas ou de látex como soporte dos antíxenos específicos.
25. Na separación electroforética de proteínas bacterianas ou virais a velocidade de migración destas é función de todos os parámetros que se citan, **excepto un**:
- Da forza iónica e pH do tampón.
 - Punto isoeléctrico das proteínas.
 - Do diámetro dos electrodos.
26. A OIE presenta un protocolo para o illamento do virus IPN mentres que para a súa identificación recomenda o uso de diversas técnicas. Cal das que se mencionan a continuación **NON** está recomendada?:
- Técnicas de inmunofluorescencia (ELISA, inmunodot-blot).
 - Técnicas de seroneutralización e técnicas de PCR.
 - Técnicas baseadas en sistemas multiproba comerciais como o VITEK.
27. Cal das seguintes respostas é correcta?:



- A imaxe mostra o resultado dun E-test realizado para a determinación da concentración mínima inhibitoria (CMI) dun antibiótico.
- A imaxe mostra o resultado dun E-test realizado para a determinación da concentración mínima bactericida (CMB) dun antibiótico.
- A imaxe mostra o resultado dunha proba de hemólise vista con luz invertida.

28. Tras realizar un ensaio de dilución en caldo para determinar cal é o fármaco de elección para o tratamento da patoloxía observamos un valor de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de: 4 mg/l para a oxitetraciclina, 0,5 mg/l para ciprofloxacino e 1 mg/l para amoxicilina. En base a estes resultados cal sería o fármaco de elección:
- Oxitetraciclina.
 - Ciprofloxacino.
 - Amoxicilina.

29. En base aos resultados de CMI da pregunta anterior e tendo en conta que a concentración mínima bactericida (CMB) da Oxitetraciclina é CMB=128 mg/l e do Ciprofloxacino é CMB = 1,0 mg/l. Cal dos fármacos ten actividade bactericida?:
- Oxitetraciclina.
 - Ciprofloxacino.
 - Os dous antimicrobianos só teñen actividade bacteriostática.
30. Que nivel de seguridade biolóxica debe de ter o laboratorio onde se realizan as análises bacteriolóxicas e víricas dos peixes infectados deste caso clínico?:
- Nivel de seguridade 1.
 - Nivel de seguridade 2.
 - Nivel de seguridade 3.
31. Para a eliminación dos residuos biolóxicos sólidos xerados neste suposto práctico debemos:
- Tiralos á papeleira en bolsa negra pechada.
 - Introducilos nun colector para material infeccioso e proceder á esterilización en autoclave ou incineración.
 - Tratalos cun antiséptico e xestionarlos como residuos urbanos.
32. Na imaxe que se presenta a continuación móstranse os resultados (+ o -) das distintas probas do sistema multiproba comercial API 20E, cal é o perfil numérico asociado á mostra?:

API 20E

CE 07223 G

REF : _____

Origine / Source / Herkunft /
Origen / Orígem / Προέλευση /
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

Imprimé en France / Printed in France

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :

- 221311122.
 - 361711415.
 - 361741455.
33. Ao finalizar a análise dunha mostra bacteriana patóxena de peixes co sistema multiproba comercial API 20E obtense un perfil numérico que nos permite:
- Identificar a especie bacteriana e coñecer a calidade da determinación.
 - Identificar a especie bacteriana exclusivamente.
 - Saber se a bacteria en cuestión é Gram positiva ou Gram negativa.
34. Se queremos esterilizar un laboratorio que se contaminou ao romper un tubo de ensaio que contiña unha disolución con organismos patóxenos, utilizaríamos:
- Óxido de etileno.
 - Calor húmida.
 - Calor seco.
35. En caso de derrame accidental de H₂SO₄ concentrado, é recomendable:
- Botarlle auga para diluílo.
 - Absorbelo con serraduras.
 - Absorbelo con area.

36. Selecciona a opción que relaciona correctamente cada un dos seguintes pictogramas co seu significado segundo o regulamento CLP (Regulamento CE nº 1272/2008 sobre clasificación, etiquetaxe e envasado de sustancias e mesturas):



- a. 1: Gas inflamable, 2: Contén gas a presión, perigo de explosión en caso de quecemento, 3: Tóxico en caso de inhalación, 4: Pode agravar un incendio: comburente, 5: Perigo de explosión en caso de quecemento.
- b. 1: Perigo de incendio en caso de quecemento, 2: Contén gas a presión, perigo de explosión en caso de quecemento, 3: Tóxico en caso de inhalación, 4: Pode agravar un incendio: comburente, 5: Perigo para o medio ambiente.
- c. 1: Perigo de incendio en caso de quecemento, 2: Contén gas a presión, perigo de explosión en caso de quecemento, 3: Pode provocar cancro, 4: Pode agravar un incendio: comburente, 5: Perigo para o medio ambiente.

Preguntas de reserva

37. Cantos gramos dunha disolución de Xentamicina de concentración 0,5 mM e densidade 1,2 g/l, son necesarios para preparar 200 ml dun medio de cultivo celular a 0,05 g/l neste antibiótico? (Peso molecular da Xentamicina=477,6 g/mol):

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

38. O medio de cultivo selectivo máis adecuado para o illamento de *Vibrio* spp a partir dunha mostra clínica é:

- a. O agar XLD.
- b. O agar sangue.
- c. O agar TCBS.