



CUARTO EJERCICIO – SANIDAD Y GENÉTICA ANIMAL PRIMER SUPUESTO

PARTE A

El Laboratorio donde trabajas ha sido nombrado Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) para diversas enfermedades entre las que se encuentran algunas que pueden afectar a rumiantes como la Lengua Azul.

Llegan al laboratorio dos envíos de muestras:

- 1- Un paquete de una explotación de La Coruña con muestras procedentes del programa de vigilancia activa que contiene 10 tubos de ensayos con 5 sueros y 5 sangres debidamente conservadas.
- 2- Un paquete de una explotación de Cádiz con muestras procedentes del programa de vigilancia pasiva que contiene 10 tubos de ensayos con 5 sueros y 5 sangres debidamente conservadas. Además se recibe un vial con vísceras de un animal, más concretamente bazo.

Pregunta nº 1

1.1 Describa el Programa Nacional de Vigilancia del Virus de Lengua Azul y sus diferentes líneas de acción (1.5 puntos)

1.2 Respecto a la vacunación y movimiento de animales, ¿qué diferencias hay entre las zonas mencionadas del supuesto, (Galicia y Cádiz)? (1 punto)

Pregunta nº 2

Definición del agente etiológico del Virus de la Lengua Azul y caracterización molecular. (2.5 puntos)



Pregunta nº 3

3.1 Describa brevemente las técnicas empleadas para el diagnóstico laboratorial teniendo en cuenta la etiología del agente. (1.5 puntos)

3.2 Describa la preparación necesaria de las muestras recibidas para la realización de las técnicas de diagnóstico laboratorial. (1 punto)

3.3 Indique si se debe realizar diagnóstico diferencial de otras enfermedades con respecto a la Lengua Azul. (0.5 puntos)

Pregunta nº 4

El laboratorio se encuentra acreditado por la Norma ISO/IEC 17025:2017, Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, por alcance flexible para la categoría de ensayo denominada “Detección de Anticuerpos y Antígenos frente a patógenos de interés veterinario mediante técnicas de enzimoimmunoensayo (ELISA), dentro de las funciones como LNR”. Para ampliar las técnicas acreditadas dentro del alcance flexible, se requiere la utilización de un nuevo kit, “*ID Screen BTV Competition*”. Basándose en este supuesto, responda a las siguientes cuestiones:

4.1 Describir brevemente las diferencias conceptuales de “alcance cerrado” y “alcance flexible” de acreditación. (0.5 puntos)

4.2 Describa las etapas que sería necesario realizar previamente para la utilización de este nuevo kit en el laboratorio, y por tanto, incluirlo en la acreditación por alcance flexible. Para ello, debe tener en cuenta que: (2 puntos)

- ✓ la categoría de ensayo ya está validada previamente.
- ✓ este kit está registrado en España y se dispone de un informe de "declaración de método validado" de la empresa fabricante de este kit de diagnóstico.
- ✓ dispone de las referencias del método extraídas del Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres de la OIE, donde se establece en el apartado de serología, el ELISA de competición en el que está basado el kit “*ID Screen BTV Competition*”.



Pregunta nº 5

Una vez validado el Kit *ID Screen BTV Competition* se utiliza para el análisis de los sueros que se han recibido en el paquete 1 y 2. Los resultados que se obtuvieron por espectrofotometría se recogen en el Anexo 1 adjunto. Basándose en los datos obtenidos, responda a las siguientes cuestiones:

5.1 Calcular si el ensayo es válido o no. (0.5 puntos)

5.2 Determinar el Porcentaje de Competición de cada muestra (de S1 a S10). (1 punto)

5.3 Interprete los resultados obtenidos. (1 punto)

NOTA: En el anexo 1 dispone de los datos necesarios para la resolución de las preguntas de este apartado.

Pregunta nº 6

6.1 Para el análisis de las muestras de sangre y vísceras, ¿Qué estrategia utilizarías para la detección del Virus de la Lengua Azul y la determinación de sus serotipos? (2 puntos)

6.2 Describa las ventajas y desventajas de PCR convencional y PCR a tiempo real. (1 punto)

Pregunta nº 7

Una vez obtenido todos los resultados para las muestras recibidas, se debe emitir el Informe de Resultados. Describa los requisitos necesarios que deben contener los informes de ensayo según la Norma ISO/IEC 17025:2017 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. (1.5 puntos)



PARTE B

Para cumplir con las funciones encomendadas a los Laboratorios de Referencia, como en los casos de suministro de material de referencia o la organización de pruebas de aptitud para los laboratorios oficiales de diagnóstico, es necesario disponer de material adecuado, que muchas veces es de difícil o imposible su obtención en campo. Por ello, se quiere iniciar un proyecto de experimentación con animales con el objetivo de obtener sueros hiperinmunes frente a los distintos serotipos del Virus de Lengua Azul.

El proyecto de experimentación consistirá en inmunizar 10 ovejas de raza manchega con el agente patógeno inactivado. Para este proyecto se utilizará como inóculo una suspensión de una cepa adaptada a cultivo del virus de la Lengua azul, crecido en un cultivo de células Vero y posteriormente inactivado con Brometilemina binaria (Se dispone de su FDS).

Pregunta nº 8

8.1 Al ser un experimento donde es inoculado un virus inactivado, ¿es necesario solicitar la evaluación y posterior autorización del proyecto desde el punto de vista de Bienestar Animal? ¿Hay alguna normativa que lo ampare? Razone su respuesta. (1.5 puntos)

8.2 En cualquiera de los casos, enumere cuales serían los Órganos Encargados de la Evaluación y Autorización del proyecto propuesto. Describa brevemente la sistemática a seguir para solicitar la Autorización de nuestro proyecto con animales. (1.5 puntos)

Pregunta nº 9

El responsable del departamento de Virología solicita a la dirección del Laboratorio que sea el personal de su departamento el encargado de realizar las inoculaciones del virus inactivado y posteriores extracciones de muestras biológicas para su análisis. ¿Es necesario para este personal reunir algún requisito si tenemos en cuenta la normativa vigente en materia de Bienestar Animal? Razone su respuesta. (2 puntos)

Pregunta nº 10

10.1 Los animales son alojados en una instalación de contención biológica de tipo 2. ¿Crees que este tipo de instalación sería suficiente para manejar este virus inactivado? ¿Y si el virus no estuviera inactivado? Razone brevemente su respuesta. (1.5 puntos)

10.2 ¿Qué barreras secundarias considerarías necesarias si los animales fueran alojados en una instalación de contención biológica de tipo 3? (1.5 puntos)

Pregunta nº 11

11.1 Para la inactivación del Virus de la Lengua Azul, es necesario emplear Brometilemina binaria. Este reactivo no se vende en el mercado en la formulación química necesaria para la inactivación, por lo que se tiene que elaborar en el laboratorio a partir de una mezcla de reactivos. Tras consultar al departamento de prevención de riesgos laborales (PRL), te han facilitado una FDS de un producto homólogo del que resultaría la mezcla a preparar y cuyos pictogramas de peligrosidad son los siguientes:



Describa brevemente las medidas de PRL necesarias para la manipulación de los reactivos. (1 punto)

11.2 Describa de manera esquemática la gestión de los diferentes tipos de residuos segregados en un laboratorio (1.5 puntos)

Pregunta nº 12

Un laboratorio de la Comunidad Autónoma de Andalucía le solicita varias muestras de material de referencia para sus pruebas internas de aseguramiento de la calidad. Le solicita las siguientes muestras:

- suero de ovino negativo,
- muestras positivas frente al virus de Lengua Azul,
- muestras positivas frente al virus de Fiebre Aftosa y
- muestras positivas frente a la bacteria *Mycobacterium bovis* (no la cepa atenuada BCG).

Describa las condiciones de embalaje y etiquetado para ser transportadas por carretera. (2 puntos)



ANEXO 1 Kit ID Screen BTV Competition

❖ **Tipo de Kit:** ELISA de Competición

❖ **Términos:**

Control Positivo, (C+)

Control Negativo, (C-)

Control Límite, (CL)

Densidad Óptica, (DO)

❖ **Criterios de aceptación**

DO Control Negativo > 0.7
DO (C+) / DO (C-) < 0.3

❖ **Fórmula:**

$$\% \text{ Competición} = \frac{DO(\text{muestra})}{DO(C-)} \times 100$$

❖ **Valores del punto de corte, *cut-off***

% COMPETICION ≥ 40 → NEGATIVO
% COMPETICION < 40 → POSITIVO

A continuación se muestra un esquema de la placa con las posiciones de los Controles Positivos (C+), Controles Negativos (C-), Controles Límite (CL), las muestras del paquete 1 (Sueros S1 a S5) y del paquete 2 (Sueros S6 a S10).

Esquema de placa

	1	2
A	C+	C+
B	C-	C-
C	CL	CL
D	S1	S6
E	S2	S7
F	S3	S8
G	S4	S9
H	S5	S10



A continuación se muestran los resultados obtenidos por espectrofotometría de las muestras según el esquema mostrado anteriormente.

**Resultados
Densidades
Ópticas**

	1	2
A	0,1198	0,1241
B	1,7911	1,7813
C	0,6943	0,5974
D	0,1547	0,1203
E	2,0254	1,8812
F	0,0617	0,0753
G	0,0631	0,08
H	2,0788	0,6521

Tablas en blanco para resultados

% Competición

	1	2
A		
B		
C		
D		
E		
F		
G		
H		

**Resultado
Cualitativo**

	1	2
A		
B		
C		
D		
E		
F		
G		
H		