



SUPUESTO PRÁCTICO nº1

ESPECIALIDAD SANIDAD ANIMAL Y GENÉTICA

En el Programa Nacional de Vigilancia de la Enfermedad de Fiebre del Nilo Occidental (FNO) o West Nile, las autoridades competentes han establecido el Parque Nacional de Doñana como zona de actuación prioritaria. En una explotación de equino y dentro del marco de la vigilancia pasiva, han sido detectados varios animales con sintomatología sospechosa y compatible con dicha enfermedad.

Los servicios veterinarios oficiales deciden proceder a la toma de muestras de dichos caballos para ser enviadas al laboratorio para confirmar o descartar la sospecha de la enfermedad.

Pregunta nº 1:

Antes de realizar la toma de muestras, el veterinario oficial se ha puesto en contacto con el laboratorio para saber qué tipo de muestras debe enviar y cómo deben ser transportadas. Describa los pasos a seguir.

Pregunta nº 2:

¿Qué tipos de análisis/técnicas se deben efectuar para realizar el diagnóstico completo de la enfermedad? Describa la finalidad de cada uno de ellos.

Pregunta nº 3:

Durante la realización de los ensayos, se debe usar un reactivo químico que presenta las siguientes indicaciones en el envase y en su ficha de seguridad (FDS). Indique su significado y la forma de manipularlo.

- a) Pictograma



- b) En la Ficha de seguridad (FDS) aparecen las letras **H300** y **P280**.
Describa el significado de lo resaltado en negrilla (letra mayúscula y primer número).



Pregunta nº 4:

En las muestras de suero recibidas, el laboratorio realiza un enzoinmunoanálisis (ELISA).

- a. Dado que los sueros que han sido tomados dentro del programa de vigilancia pasiva y se solicita la confirmación de la enfermedad, ¿Qué tipo de ELISA debería ser empleado?
- b. Para realizar dicho análisis se emplean 3 placas en las que además de las muestras de suero recibidas, también son analizados los controles del kit y sueros de referencia suministrados por el Laboratorio Nacional de Referencia de la OIE para la enfermedad de la FNO/ West Nile. Las muestras se distribuyen según el esquema descrito en el Anexo I.

Basándose en los resultados obtenidos, ¿Qué conclusiones se pueden extraer a partir de estos datos? Comente los resultados obtenidos en cada placa (*placa nº 1, nº 2 y nº 3*) y el resultado para las 8 muestras de suero analizadas.

Pregunta nº 5:

Si al analizar los resultados obtenidos en el punto anterior, en alguno de los sueros se obtuviera un resultado negativo, ¿considera que debe realizarse algún análisis adicional? Justifique la respuesta.

Pregunta nº6:

Las técnicas analíticas empleadas en el laboratorio han sido validadas y están acreditadas conforme a la norma UNE-EN ISO/IEC 17025.

Describe qué actividades debe realizar el laboratorio para asegurar la validez de la calidad de los resultados.



ANEXO I

Esquema de la distribución de las muestras:

Distribución de los sueros en la placa para el ensayo de ELISA.

- Controles positivo y negativo del kit
- Sueros a analizar: M-1 a M-18
- Material de referencia: MR-1(positivo), MR-2 (positivo), MR-3 (negativo)

	1	2	3	4
A	Control pos. kit	Control pos. kit	M-1	
B	Control neg. kit	Control neg. kit	M-2	
C			M-3	
D	MR -1 positivo		M-4	
E	MR - 2 positivo		M-5	
F	MR - 3 negativo		M-6	
G			M-7	
H			M-8	

Resultados obtenidos

Los resultados se obtienen midiendo la densidad óptica (D.O.) de los pocillos de cada placa a 450nm.

- Los criterios de validación de la placa son:
 - Valores de D.O del Control negativo $> 0,8$
 - Valores de D.O del Control positivo $< 0,3$
- El cálculo del Porcentaje de inhibición (PI) se realiza:
 - $\% \text{ Inhibición} = 100 - [(muestra/C \text{ neg}) * 100]$
- La interpretación de los resultados del ensayo es:
 - Una muestra es POSITIVA, si el Porcentaje de Inhibición (PI) $\geq 40\%$
 - Una muestra es NEGATIVA, si el Porcentaje de Inhibición (PI) $< 30\%$
 - Una muestra es DUDOSA, si el Porcentaje de Inhibición (PI) es entre 30% y 40%



Placa nº1

Placa nº1	valores D.O a 450nm			Placa nº1	Porcentaje de Inhibición			
	1	2	3		1	2	3	4
A	0,310	0,315	0,982	A	85	85	53	
B	2,094	2,104	0,704	B	0	0	66	
C			0,844	C			60	
D	0,482		0,707	D	77		66	
E	0,259		1,695	E	88		19	
F	1,789		0,284	F	15		86	
G			1,557	G			26	
H			0,437	H			79	

Placa nº 2

Placa nº2	valores D.O a 450nm			Placa nº2	Porcentaje de Inhibición			
	1	2	3		1	2	3	4
A	0,128	0,119	0,996	A	94	94	54	
B	2,186	2,144	0,744	B	-1	1	66	
C			0,907	C			58	
D	0,364		0,751	D	83		65	
E	1,719		1,706	E	18		21	
F	1,646		0,321	F	22		85	
G			1,574	G			27	
H			0,478	H			78	

Placa nº 3

Placa nº 3	valores D.O a 450nm			Placa nº 3	Porcentaje de Inhibición			
	1	2	3		1	2	3	4
A	0,129	0,116	0,931	A	94	94	56	
B	2,094	2,104	0,68	B	0	0	68	
C			0,834	C			60	
D	0,399		0,645	D	82		69	
E	0,237		1,709	E	89		19	
F	1,649		0,238	F	24		89	
G			1,517	G			28	
H			0,435	H			79	