



SUPUESTO PRÁCTICO

Programa específico de Laboratorios de Sanidad e Higiene Vegetal

Supuesto nº1

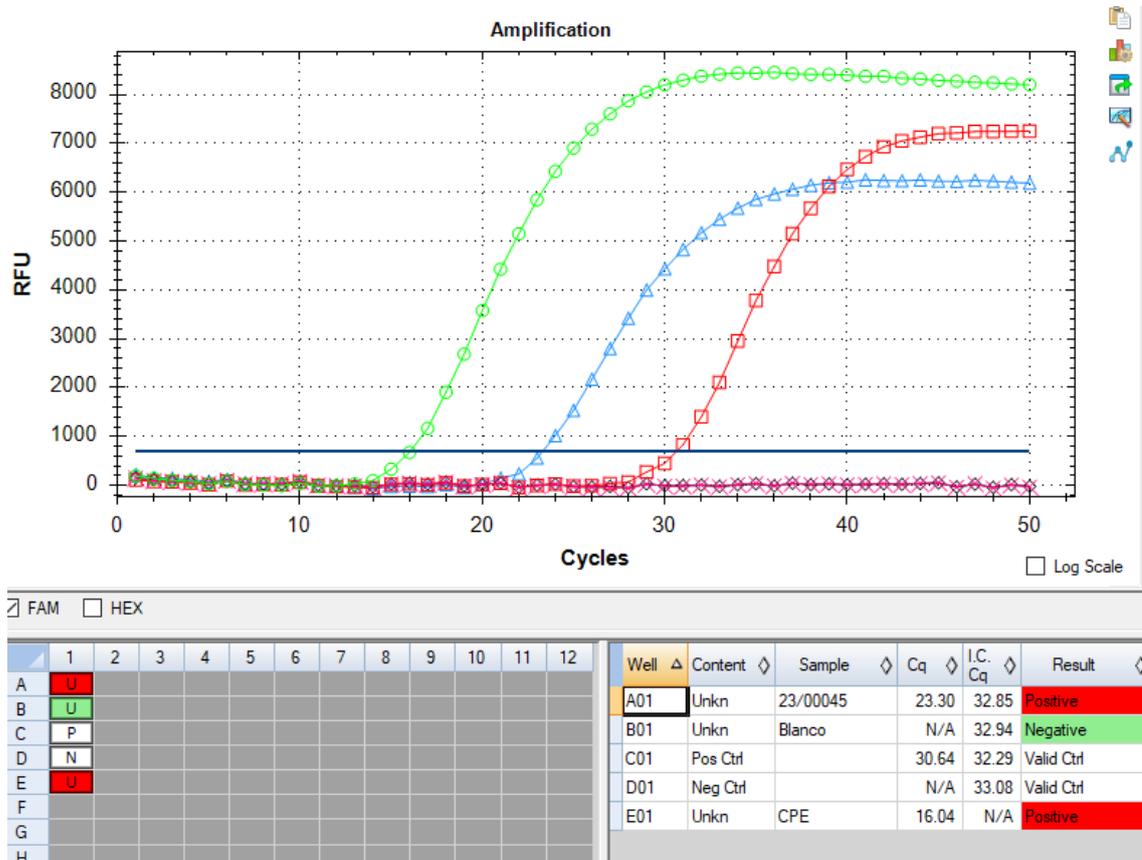
Un laboratorio que realiza el análisis de muestras de controles oficiales dentro del Programa de Control oficial de la producción primaria agrícola y del uso de productos fitosanitarios, está acreditado por la UNE-EN ISO/IEC 17025 para varios ensayos de detección de los principales patógenos alimenticios. Entre el alcance se encuentra la detección de *Salmonella* spp. en productos vegetales según ISO 6579-1 "Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la detección, enumeración y serotipado de *Salmonella*. Parte 1: Detección de *Salmonella* spp."

- Dentro del Programa de Control oficial de la producción primaria agrícola le llega una muestra de semillas germinadas, listo para el consumo.
- Para recortar los tiempos de análisis y poder emitir un resultado negativo más rápido, se plantea acreditar otro método alternativo para la detección de *Salmonella* spp. basado en PCR en tiempo real. Existe un kit comercial para este fin y que incluye todos los reactivos para llevar a cabo la extracción de ADN y la PCR en tiempo real. El kit ha sido validado según ISO 16140-2, en base a la ISO 6579-1 para la detección de *Salmonella* spp. en todo tipo de alimentos, tal como lo especifica el certificado emitido por AFNOR. Sin embargo, el laboratorio decide reducir costes y en vez de usar el kit comercial, se adquieren todos los reactivos necesarios para la extracción de ADN y la PCR en tiempo real mediante otros proveedores, que no disponen de un certificado de validación del método.

Preguntas:

- 1. ¿Qué criterio tiene que cumplir la muestra de semillas germinadas para *Salmonella* spp. y en qué normativa se establece este criterio? Según esta normativa, ¿qué otros microorganismos hay que analizar en esta muestra de semillas germinadas listas para el consumo? (2 puntos)**
- 2. Nombra los pasos a seguir de la ISO 6579-1 para la detección de *Salmonella* spp. Describa brevemente la finalidad de cada paso. (3 puntos)**
- 3. Para la acreditación del método alternativo, ¿se requiere una validación del método alternativo por parte del laboratorio o una verificación de implementación sería suficiente? Justifique la decisión. ¿Qué parámetros del método se tendrán que evaluar? (3 puntos)**
- 4. Para garantizar la validez de los resultados, el laboratorio participa en un ensayo de intercomparación.**
 - a) Describa brevemente en qué consiste un ensayo de intercomparación y qué tipos de ensayos de intercomparación existen. (2 puntos)**
 - b) ¿Qué otros controles debería llevar a cabo el laboratorio para garantizar la validez de los resultados del ensayo de detección de *Salmonella* spp. mediante PCR en tiempo real? (2 puntos)**

c) La siguiente figura demuestra los resultados del análisis de las muestras del ensayo intercomparativo mediante PCR en tiempo real. ¿Qué muestras dieron un resultado positivo? Interprete la gráfica más en detalle. (3 puntos)



5. El laboratorio decide llevar a cabo el aislamiento de las cepas de *Salmonella* spp. de las muestras positivas para llevar a cabo la secuenciación del genoma completo. **Describe brevemente la técnica de la secuenciación masiva de ácidos nucleicos mediante el flujo de trabajo y aplicaciones de la secuenciación de genomas completos en el laboratorio de sanidad e higiene vegetal** (3 puntos).

6. ¿Qué tipo de residuos se generan en un laboratorio de sanidad e higiene vegetal? (2 puntos)