

**SEGUNDO EJERCICIO DEL PROCESO SELECTIVO DE LA ESCALA DE
AYUDANTES FACULTATIVOS,
ANALISTAS DE LABORATORIO DEL GOBIERNO DE ARAGÓN**

RESOLUCIÓN DE 22 DE MAYO DE 2018, DE LA DIRECTORA GENERAL DE LA FUNCIÓN PÚBLICA Y CALIDAD DE LOS SERVICIOS, POR LA QUE SE CONVOCAN PRUEBAS SELECTIVAS PARA INGRESO EN EL CUERPO EJECUTIVO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ARAGÓN, ESCALA DE AYUDANTES FACTULTATIVOS, ANALISTAS DE LABORATORIO.

SUPUESTO 1

Una cementera envía al laboratorio una muestra de caliza, carbonato de calcio. Solicitando que se le informe de la pureza de la caliza, expresada tanto en porcentaje de óxido de calcio como en porcentaje de carbonato de calcio.

El laboratorio dispone de un método de análisis de la caliza, cuyo procedimiento abreviado consiste en:

Se toman 0,25 g de la muestra analítica y se disuelve en agua con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico concentrado, obteniéndose cloruro de calcio y ácido carbónico.

Posteriormente al calcio disuelto se adiciona oxalato amónico, formándose un precipitado de oxalato cálcico y cloruro amónico.

El precipitado resultante se filtra en un crisol de placa filtrante, que se disuelve con ácido sulfúrico al 5% (m/v), que se ha preparado previamente, formándose ácido oxálico y sulfato de calcio.

El ácido oxálico libre se valora con permanganato potásico aproximadamente 0,02 M, en la reacción en medio ácido (ácido sulfúrico) se produce sulfato de manganeso, dióxido de carbono, sulfato de potasio y agua.

El permanganato potásico se ha preparado, y valorado posteriormente con oxalato sódico.

Cuestiones:

1) Preparar el ácido sulfúrico al 5% (m/v):

Calcular los μl de ácido sulfúrico concentrado (95% m/m) necesarios para preparar 0,1 litro de ácido sulfúrico al 5% (m/v) **(1,5 puntos)**.

2) Preparar permanganato potásico 0,02 M.

Calcular los gramos de permanganato potásico, que actúa como oxidante en medio ácido pasando a Mn^{+2} , necesarios para preparar una disolución de un litro de permanganato potásico 0,02 M **(1,5 puntos)**.

3) Como el permanganato potásico no es patrón primario se hace necesario su valoración con oxalato sódico en medio ácido. Se pesa en un Erlenmeyer 0,200 g de oxalato sódico desecado previamente durante 2 horas a 110°C , se disuelven con 180 ml de agua destilada y 20 ml de ácido sulfúrico 1:1, se calienta a $60-80^{\circ}\text{C}$ en placa calefactora. Se valora el permanganato potásico, adicionándolo con una bureta, hasta teñirse de rosa persistente el Erlenmeyer que contiene el oxalato sódico.

Si se consumen 29,90 ml de permanganato potásico. Calcular la molaridad del permanganato potásico valorado **(3 puntos)**.

4) Responder a las siguientes cuestiones:

- Indicar todas las reacciones moleculares ajustadas que se producen durante el procedimiento descrito de determinación del carbonato de calcio con el permanganato potásico **(1 punto)**.
- Calcular el porcentaje de carbonato de calcio que contiene la caliza y de igual forma el porcentaje expresado como óxido de calcio, en el supuesto que se consumen 40,5 ml del permanganato potásico previamente valorado, habiendo tomado 0,25 g de caliza **(3 puntos)**.

Datos:

Masas atómicas u.m.a.: C: 12,01 Na: 22,99 O: 16,00 H: 1,01
Mn: 54,94 K: 39,10 S: 32,06 Ca: 40,08

Datos ácido sulfúrico (95% m/m): $d = 1834 \text{ g/l}$

SUPUESTO 2

La determinación cuantitativa del contenido de histamina en atún se realiza mediante una extracción con ácido tricloroacético.

Se pesan 2,5 g de muestra y se lleva a un volumen final de 50 ml. La disolución resultante se analiza mediante la técnica instrumental HPLC-MS-MS. Para ello se han de preparar las siguientes disoluciones:

- a) Un litro de una disolución de formiato amónico 15 mM para preparar la fase móvil.
- b) Un litro de ácido tricloroacético 5% m/v como agente extractante.

Cuestiones:

- 1) ¿Cuántos gramos de formiato amónico son necesarios para preparar la fase móvil? **(1 punto)**
- 2) ¿Cuántos gramos de ácido tricloroacético son necesarios para preparar el agente extractante? **(1 punto)**
- 3) A partir del análisis de las disoluciones patrón se ha obtenido la siguiente recta de calibrado:
 $y (\text{área}) = 10014 x + 28,9$ (x expresado en $\mu\text{g/ml}$):
Si la respuesta obtenida es 1550:
 - a. Determina el contenido de histamina de la muestra de atún y exprésalo en mg/kg, con dos cifras significativas **(3 puntos)**.
 - b. Calcula así mismo el número de moles que contiene la muestra analizada **(1 punto)**.
- 4) Se quiere calcular la recuperación del análisis. Para ello se enriquece la muestra problema con un volumen de 250 μl de una disolución de 100 $\mu\text{g/ml}$ de histamina. La respuesta del análisis de esta muestra enriquecida ha sido 6500. Calcula la recuperación del análisis **(4 puntos)**.

Datos:

Masa molar del formiato amónico: 63 g/mol

Masa molar de la histamina: 111,15 g/mol

SUPUESTO 3

Se quiere determinar la presencia o ausencia de un determinado gen en 8 muestras de ADN. Para ello se va a realizar una PCR con un cebador (primer) específico para dicho gen.

Se dispone de los reactivos con las siguientes concentraciones stock:

Reactivo	Concentración Stock
Buffer libre Mg ²⁺	10X
Desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs)	2,5 mM
Solución MgCl ₂	50 mM
Primer Forward	10 μM
Primer Reverse	10 μM
Enzima Taq polimerasa	5 U/μl

Y las concentraciones finales en la reacción deben ser:

Reactivo	Concentración Final
Buffer libre Mg ²⁺	1X
Desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs)	100 μM
Solución MgCl ₂	2,5 mM
Primer Forward	0,2 μM
Primer Reverse	0,2 μM
Enzima Taq polimerasa	0,075 U/μl

Cuestiones:

1) Calcule las cantidades (en μl) de cada reactivo y de agua Tipo I estéril para preparar la Master-mix mínima necesaria para todas las muestras, teniendo en cuenta que:

- Además de las 8 muestras de ADN se tienen que realizar dos reacciones más (que son un control positivo y otro negativo).
- En cada reacción se añadirá 1 μl de ADN problema o 1 μl de agua Tipo I estéril en el caso del control negativo (todas las muestras de ADN están diluidas a una concentración de 10 ng/μl, preparadas para su uso).
- El volumen final de cada reacción será de 20 μl, completando hasta este volumen con Agua Tipo I estéril.
- Para evitar las posibles pérdidas de Master-mix al repartirla en los microtubos y/o por posibles pequeños errores en el pipeteo, se debe preparar un 10% más de la Master-mix necesaria.

(3 puntos)

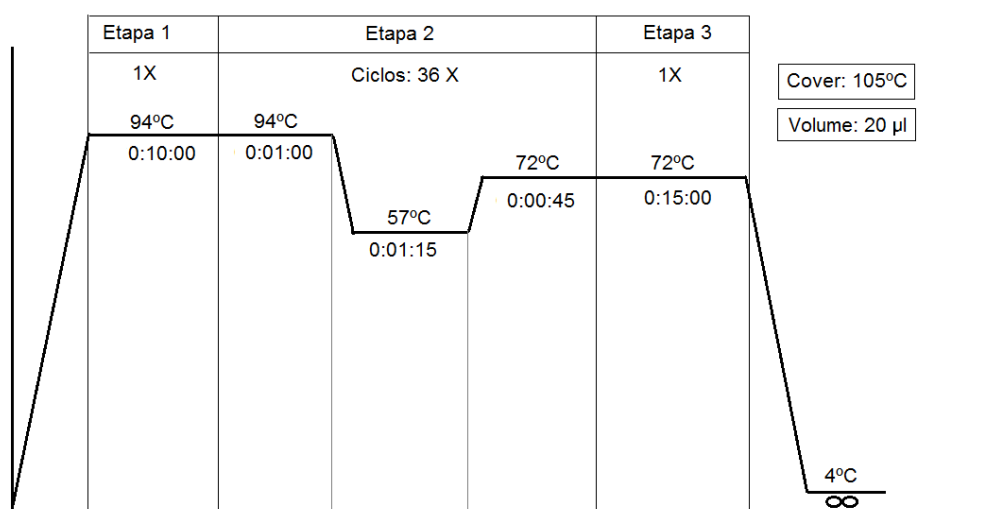
2) El programa de temperaturas y tiempos para realizar la PCR en el termociclador es el siguiente:

- 1 ciclo: 94°C - 10 minutos

- 36 ciclos: 94°C - 1 minuto
57°C - 1 minuto 15 segundos
72°C - 45 segundos

- 1 ciclo: 72°C - 15 minutos

- En el termociclador viene representado por el siguiente diagrama:



Con los datos del programa de tiempos y temperaturas indicados en el diagrama indique:

- ¿Cuál es la temperatura de hibridación (también llamada de annealing, anillamiento o de alineamiento)?
- ¿Cuál es el tiempo de elongación (también llamado de extensión) en cada ciclo de amplificación?
- ¿A qué temperatura se desnaturaliza el ADN?
- ¿A qué temperatura se produce la actividad polimerasa de la enzima Taq?

(1 punto - 0,25 cada apartado)

SUPUESTO 4

Se quiere realizar el recuento de bacterias viables de un cultivo líquido de bacterias aerobias mesófilas, del que se dispone de 50 ml en un erlenmeyer. El tipo de bacterias del cultivo pertenecen al grupo de riesgo 1.

Para ello se debe realizar una dilución decimal seriada hasta una dilución 10^{-6} , en tubos con tapón de rosca que contienen 4,5 ml de suero fisiológico estéril.

Cuestiones:

1) Con los datos anteriores, explique* la forma de realizar la dilución decimal seriada indicando: Material e instrumentación necesarios; lugar y condiciones para realizarla, y el procedimiento detallando todas las consideraciones necesarias para que el posterior recuento sea lo más exacto posible **(2,5 puntos)**.

* Explicar solo la realización de las dos primeras diluciones, (hasta la dilución 10^{-2}).

2) Una vez realizada la dilución seriada se siembran, por cada tubo de dilución, dos placas Petri de 90 mm. que contienen medio nutritivo agarizado. La siembra en placa se realiza con 100 μ l de la correspondiente dilución.

Tras incubación a 37°C durante 48 horas se realizan los recuentos de colonias en las placas con los siguientes resultados:

Dilución \rightarrow	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
Placa 1	Incontables	Incontables	1152	103	9	2
Placa 2	Incontables	Incontables	925	83	6	Ausencia

Explique la forma de realizar la siembra de una placa para hacer el recuento de colonias, indicando: Material e instrumentación necesarios, y el procedimiento. **(2,5 puntos)**

3) En vista de los resultados de la tabla, indique cuál es el recuento en ufc/ml del cultivo. **(0,5 puntos)**

4) A partir del cultivo bacteriano, del que acaba de calcular la concentración en ufc/ml, se desea preparar un inóculo cuya densidad sea del orden de 10^5 ufc/ml. Para ello se dispone de 250 ml de caldo peptonado estéril en un erlenmeyer.

Calcule el volumen de cultivo bacteriano que habrá que añadir a los 250 ml de caldo estéril para obtener la concentración de bacterias deseada. Suponer que el volumen del caldo peptonado estéril al adicionar el volumen de cultivo calculado sigue siendo de 250 ml. **(0,5 puntos)**