

TELAS DA UNIDADE 2 MÓDULO 3

UNIDADE 2

Esta é a página inicial da unidade 2, módulo 3, a qual está dividida em:

- Unidade 2 - Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)
- Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais
- Objetivos de Aprendizagem
 - Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular
 - Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica
 - Comentário Final da Unidade 2

Laboratorial e
Requisitos de
Controle de
Qualidade

▼ **Módulo 3 - Aplicação
de conhecimentos
metodológicos na
resolução de
problemas
laboratoriais**

**Objetivos de
Aprendizagem** ✓

Resolução de
situações
relacionadas ao
diagnóstico
molecular

Resolução de
situações
relacionadas a
vigilância
genômica

Comentário Final
da Unidade 2 ✓

Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais

[Objetivos](#) [Guia de navegação](#) [Glossário geral](#) [Leitura recomendada](#) [Mais ▾](#)

Unidade 2 - Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

< Página 1 / 1 >



Fonte: Mongkolkeha, ID 345478347, Adobe
Stock, 2023.

🎯 **Objetivo(s) da aprendizagem**

Aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular.

Aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de situações relacionadas a vigilância genômica.

Iniciar

Unidade 2 - Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Objetivo(s) da aprendizagem

Página 1/1



Fonte: Mongkolchon, ID 345478347, Adobe Stock, 2023.

Objetivo(s) da aprendizagem

Aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular.

Aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de situações relacionadas a vigilância genômica.

Iniciar

Conteúdo dos objetivos de aprendizagem:

[imagem]

[Fonte da imagem] Fonte: Mongkolchon, ID 345478347, Adobe Stock, 2023.

Página 1/1

Objetivo(s) da aprendizagem

- Aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular.
- Aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de situações relacionadas a vigilância genômica.

[Botão] Iniciar

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: PCR em tempo real

Página 1/8

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: PCR em tempo real – Página 1/8:

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

PCR em tempo real

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

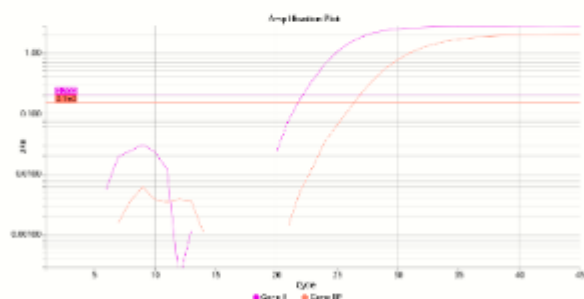
PCR em tempo real

Nesta última etapa de estudos que compõe a unidade 2, a partir de agora, você verá dentro de cada um dos temas abordados: um contexto, um problema, a análise e solução específicos.

Contexto

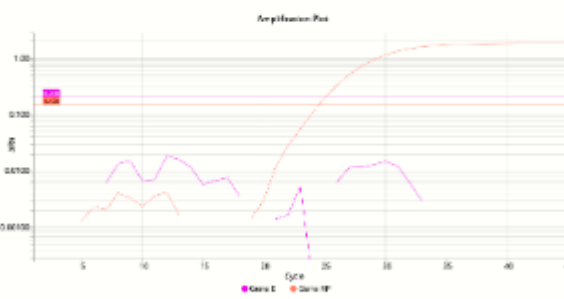
Para o diagnóstico de viroses, um laboratório utiliza [ensaios moleculares de rt-PCR duplex](#), em que um alvo é constituído por um gene viral e o outro por um gene humano, como [controle endógeno](#) da reação. Para que o resultado seja considerado válido, os critérios e instruções do fabricante deverão ser rigorosamente seguidos. Desse modo, em via de regra, deve ser observada a amplificação do gene alvo e do gene humano.

Padrão de amplificação para amostra com resultado detectável (amplificação do gene viral e do gene humano)



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Padrão de amplificação para amostra com resultado não-detectável (amplificação apenas do gene humano)



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Nesta última etapa de estudos que compõe a unidade 2, a partir de agora, você verá dentro de cada um dos temas abordados: um contexto, um problema, a análise e solução específicos.

Contexto

Para o diagnóstico de viroses, um laboratório utiliza [ensaios moleculares de rt-PCR duplex](#), em que um alvo é constituído por um gene viral e o outro por um gene humano, como [controle endógeno](#) da reação. Para que o resultado seja considerado válido, os critérios e instruções do fabricante deverão ser rigorosamente seguidos. Desse modo, em via de regra, deve ser observada a amplificação do gene alvo e do gene humano.

[Título da imagem 1] Padrão de amplificação para amostra com resultado detectável (amplificação do gene viral e do gene humano)

[Fonte da imagem 1] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

[Título da imagem 2] Padrão de amplificação para amostra com resultado não-detectável (amplificação apenas do gene humano)

[Fonte da imagem 2] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3:

Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. *In: Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)*. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: PCR em tempo real

Página 1/8 – Palavras de glossário

Glossário

Ensaio molecular de rt-PCR duplex: Ensaio de PCR em tempo real que utiliza, simultaneamente, dois alvos para detecção.

Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. *In: Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)*. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Fechar [X]

Glossário

Controle endógeno: RNA ou DNA presente isoladamente em cada amostra experimental. O controle endógeno funciona como uma referência ativa na reação de PCR, ou seja, um controle da reação.

Fonte: e-Disciplinas USP. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4355693/course/section/2085886/realtime%20pcr%20av.pdf>

Fechar [X]

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: PCR em tempo real – Página 1/8 – Palavras de glossário:

Glossário

Ensaio molecular de rt-PCR duplex: Ensaio de PCR em tempo real que utiliza, simultaneamente, dois alvos para detecção.

Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. *In: Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)*. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Controle endógeno: RNA ou DNA presente isoladamente em cada amostra experimental. O controle endógeno funciona como uma referência ativa na reação de PCR, ou seja, um controle da reação.

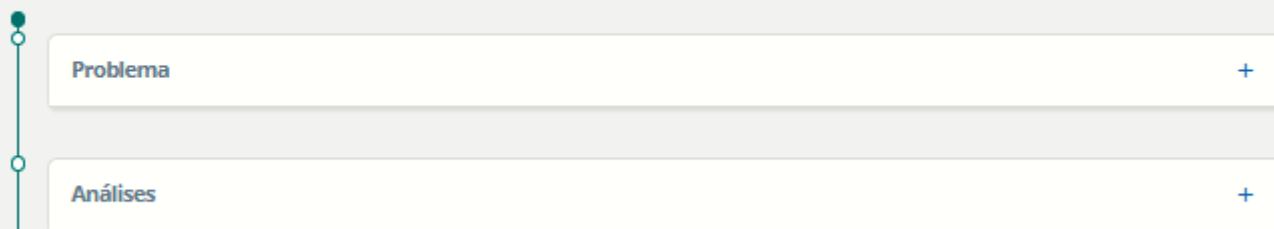
Fonte: e-Disciplinas USP. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4355693/course/section/2085886/realtime%20pcr%20av.pdf>

[Botão] Fechar [X]

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais
Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular
Subtópico: PCR em tempo real
Página 2/8

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

PCR em tempo real



Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: PCR em tempo real – Página 2/8:

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

PCR em tempo real

[Sanfona 1] Problema

[Sanfona 2] Análises

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais
Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular
Subtópico: PCR em tempo real
Página 2/8 – Sanfona 1

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: PCR em tempo real – Página 2/8 – Sanfona 1:

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

PCR em tempo real

[Sanfona 1] Problema

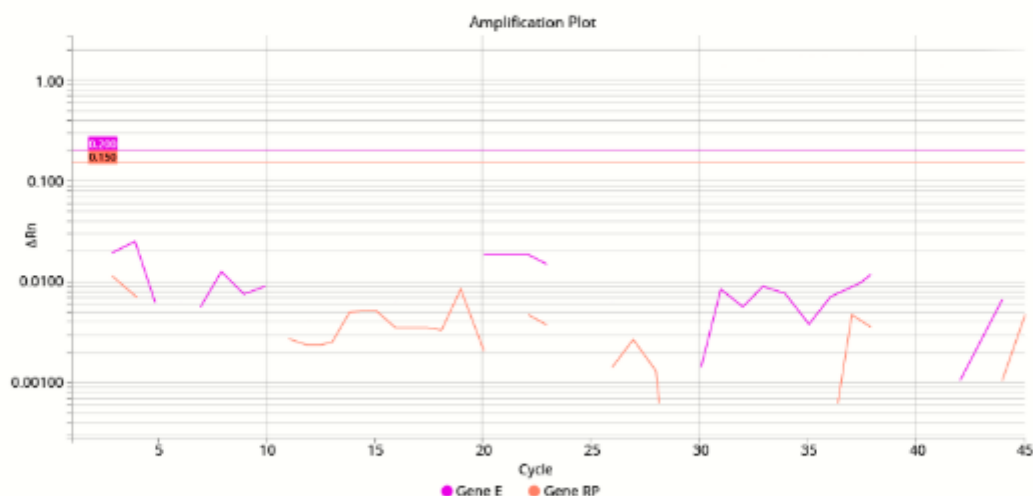
Em determinada corrida, uma amostra de RNA não apresentou amplificação de nenhum dos alvos avaliados.

[Título da imagem] Padrão de resultado para amostra sem amplificação

Problema

Em determinada corrida, uma amostra de RNA não apresentou amplificação de nenhum dos alvos avaliados.

Padrão de resultado para amostra sem amplificação



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

[Texto da imagem]

Amplification Plot

Cycle

Gene E

Gene RP

[Fonte da imagem] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: PCR em tempo real

Página 2/8 – Sanfona 2

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: PCR em tempo real – **Página 2/8 – Sanfona 2:**

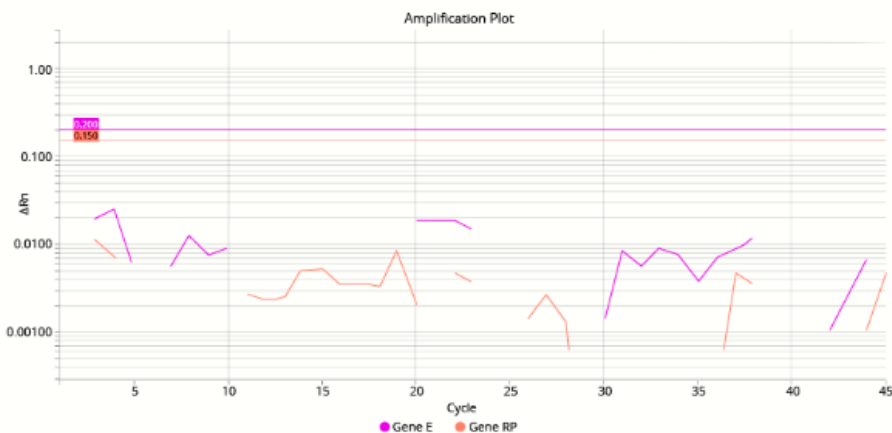
Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

PCR em tempo real

Análises

Ao avaliar o controle negativo e positivo da corrida, observou-se que ambos apresentaram resultados conforme os definidos pelo fabricante. As demais amostras avaliadas, também, apresentaram resultados dentro dos parâmetros esperados. Observaram-se que os equipamentos utilizados estavam devidamente calibrados e os kits, conforme as necessidades para aplicações em diagnóstico, estavam dentro da validade e devidamente armazenados. O RNA da amostra foi novamente extraído e submetido a uma nova reação de amplificação, mas o resultado permaneceu inalterado.

Padrão de resultado para amostra sem amplificação



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

[Sanfona 2] Análises

Ao avaliar o controle negativo e positivo da corrida, observou-se que ambos apresentaram resultados conforme os definidos pelo fabricante. As demais amostras avaliadas, também, apresentaram resultados dentro dos parâmetros esperados. Observaram-se que os equipamentos utilizados estavam devidamente calibrados e os kits, conforme as necessidades para aplicações em diagnóstico, estavam dentro da validade e devidamente armazenados. O RNA da amostra foi novamente extraído e submetido a uma nova reação de amplificação, mas o resultado permaneceu inalterado.

[Título da imagem] Padrão de resultado para amostra sem amplificação

[Texto da imagem]

Amplification Plot
Cycle
Gene E
Gene RP

[Fonte da imagem] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

PCR em tempo real

Avaliação Formativa 26

⌚ Você não concluiu esta tarefa

Tomando como base o conteúdo que você acabou de estudar, descreva uma possível solução que você daria acerca do contexto, problema e análise do tema RT-qPCR *Multiplex* para o diagnóstico de viroses.

Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

Digite sua resposta aqui

Responder



Leitura Complementar

[Multiplex PCR Troubleshooting Guide \(2022?\)](#)

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: PCR em tempo real – Página 3/8 – Avaliação formativa 26:

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

PCR em tempo real

Avaliação Formativa 26

[Mensagem] Você não concluiu esta tarefa

Tomando como base o conteúdo que você acabou de estudar, descreva uma possível solução que você daria acerca do contexto, problema e análise do tema RT-qPCR *Multiplex* para o diagnóstico de viroses.

[Comando] Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

[Campo] Digite sua resposta aqui

[Botão] Responder

Leitura Complementar

[Multiplex PCR Troubleshooting Guide \(2022?\)](#)

Comentários da Avaliação Formativa 26

Solução

Diversas causas podem ocasionar a falha no ensaio de qPCR, como problemas no desenho e síntese de *primers* e sondas, problemas no preparo do mix de reação, ciclagem inadequada, e presença de impurezas na amostra, em decorrência do método de extração utilizado.

Considerando que as demais amostras, inclusive os controles, apresentaram resultados com os parâmetros dentro do esperado, a causa da falha de amplificação pode ser atribuída a problemas no processamento da amostra. Como esta foi submetida a uma nova extração e o resultado permaneceu inalterado, é provável que o problema não tenha sido relacionado à extração do material genético, mas sim na etapa de coleta (a amostra biológica foi inadequadamente coletada) e/ou de transporte/conservação da amostra (o material genético presente degradou-se por condições inapropriadas).

Dessa forma, a decisão racional seria descartar a amostra atual e convocar imediatamente o paciente para uma nova coleta, para obter uma amostra viável para nova realização do exame.

[Mensagem] Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 26

Solução

Diversas causas podem ocasionar a falha no ensaio de qPCR, como problemas no desenho e síntese de *primers* e sondas, problemas no preparo do mix de reação, ciclagem inadequada, e presença de impurezas na amostra, em decorrência do método de extração utilizado.

Considerando que as demais amostras, inclusive os controles, apresentaram resultados com os parâmetros dentro do esperado, a causa da falha de amplificação pode ser atribuída a problemas no processamento da amostra. Como esta foi submetida a uma nova extração e o resultado permaneceu inalterado, é provável que o problema não tenha sido relacionado à extração do material genético, mas sim na etapa de coleta (a amostra biológica foi inadequadamente coletada) e/ou de transporte/conservação da amostra (o material genético presente degradou-se por condições inapropriadas). Dessa forma, a decisão racional seria descartar a amostra atual e convocar imediatamente o paciente para uma nova coleta, para obter uma amostra viável para nova realização do exame.

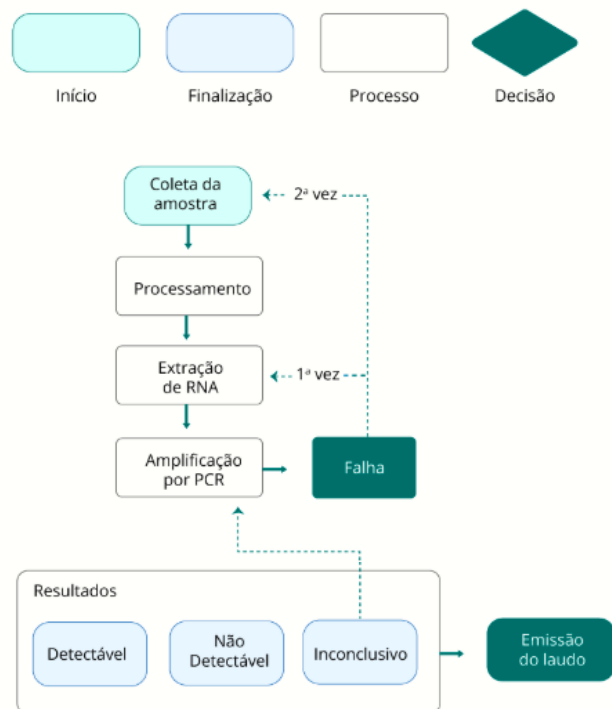
[Título da imagem] Macroetapas para RT-qPCR

[Texto da imagem]

Índice

Macroetapas para RT-qPCR

Índice



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Fonte: MULTIPLEX PCR Troubleshooting guide. Thermo Scientific. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/BID/Product-Bulletins/D11085~.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2023.

🕒 Você respondeu essa questão!

Início
Finalização
Processo
Decisão
Coleta da amostra
2ª vez
Processamento
Extração de RNA
1ª vez
Amplificação por PCR
Falha
Resultados
Detectável
Não detectável
Inconclusivo
Emissão do laudo

[Fonte da imagem] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Fonte: MULTIPLEX PCR Troubleshooting guide. Thermo Scientific. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/BID/Product-Bulletins/D11085~.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2023.

[Mensagem] Você respondeu essa questão!

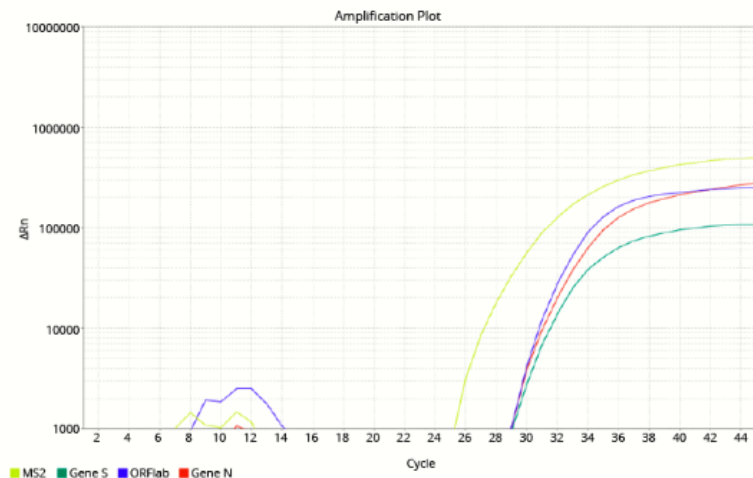
Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Contexto

Durante a pandemia de SARS-CoV-2, um ensaio de [qPCR multiplex](#) foi utilizado para diagnóstico da COVID-19 em um laboratório de referência do SUS. Este ensaio consegue detectar 3 alvos virais (Gene S, Gene N e Gene ORF1ab), além de possuir um controle endógeno (MS2). Idealmente, para um diagnóstico "detectável" para COVID-19, todos os genes virais amplificam (CT < 37), assim como o controle interno (CT < 32).

Padrão de amplificação de amostra com resultado detectável



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Contexto

Durante a pandemia de SARS-CoV-2, um ensaio de [qPCR multiplex](#) foi utilizado para diagnóstico da COVID-19 em um laboratório de referência do SUS. Este ensaio consegue detectar 3 alvos virais (Gene S, Gene N e Gene ORF1ab), além de possuir um controle endógeno (MS2). Idealmente, para um diagnóstico "detectável" para COVID-19, todos os genes virais amplificam (CT < 37), assim como o controle interno (CT < 32).

[Título da imagem] Padrão de amplificação de amostra com resultado detectável

[Texto da imagem]

Amplification Plot

Cycle

MS2

Gene S

ORF1ab

Gene N

[Fonte da imagem] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Para um diagnóstico considerado "não-detectável", somente o controle interno deve amplificar, sem amplificação de nenhum alvo viral.

Padrão de amplificação de amostra com resultado não-detectável



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Para um diagnóstico considerado "não-detectável", somente o controle interno deve amplificar, sem amplificação de nenhum alvo viral.

[Título da imagem] Padrão de amplificação de amostra com resultado não-detectável

[Texto da imagem]

Amplification Plot

Cycle

MS2

Gene S

ORFlab

Gene N

[Fonte da imagem] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: Inferência molecular por genotipagem

Página 4/8 – Palavra de glossário

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 4/8 – Palavra de glossário:

Glossário



qPCR multiplex: Técnica de PCR em tempo real que possibilita a detecção de vários alvos em uma única reação.

Fonte: BHATTACHARYA, Basudev *et al.* *Development of a new sensitive and efficient multiplex polymerase chain reaction (PCR) for identification and differentiation of different mycobacterial species. Tropical Medicine and International Health*, [S.l.], p. 150-157, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12581441/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

Fechar [X]

Glossário

qPCR multiplex: Técnica de PCR em tempo real que possibilita a detecção de vários alvos em uma única reação.

Fonte: BHATTACHARYA, Basudev *et al.* *Development of a new sensitive and efficient multiplex polymerase chain reaction (PCR) for identification and differentiation of different mycobacterial species. Tropical Medicine and International Health*, [S.l.], p. 150-157, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12581441/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

[Botão] Fechar [X]

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: Inferência molecular por genotipagem

Página 5/8

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 5/8:

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

[Sanfona 1] Problema

[Sanfona 2] Análises

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

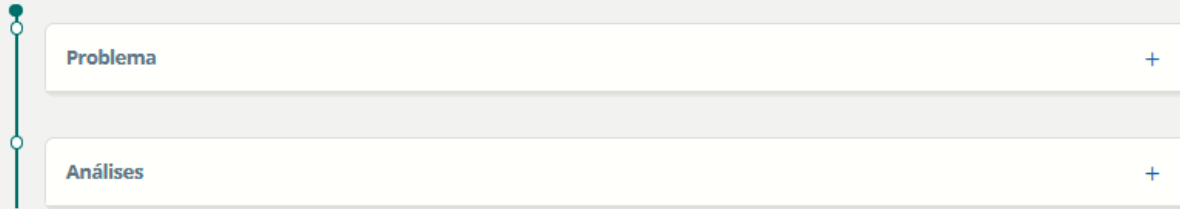


Diagrama de inferência molecular por genotipagem. O diagrama consiste em uma barra vertical à esquerda com dois pontos de conexão. À direita, há duas caixas de texto. A primeira caixa, intitulada 'Problema', contém o texto 'Problema' e um ícone de seta para cima. A segunda caixa, intitulada 'Análises', contém o texto 'Análises' e um ícone de seta para cima.

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: Inferência molecular por genotipagem

Página 5/8 – Sanfona 1

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 5/8 – Sanfona 1:

[Sanfona 1] Problema

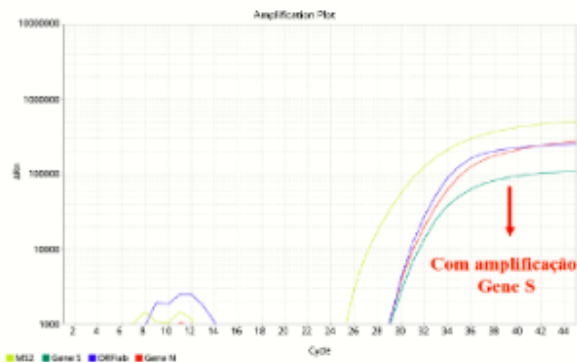
Toda a rotina do laboratório estava normal até dezembro de 2021, um mês que foi repleto de confraternizações de fim de ano, apesar das restrições sanitárias impostas. Nesse período, foi identificado um aumento crescente no número de casos detectáveis para COVID-19 e, além disso, observou-se que algumas amostras apresentaram um padrão de resultado diferente do convencional, em que o alvo de detecção para o gene S não amplificava, mesmo com a detecção dos demais alvos.

[Título da imagem 1] Perfil de amplificação padrão para amostras detectáveis

Problema

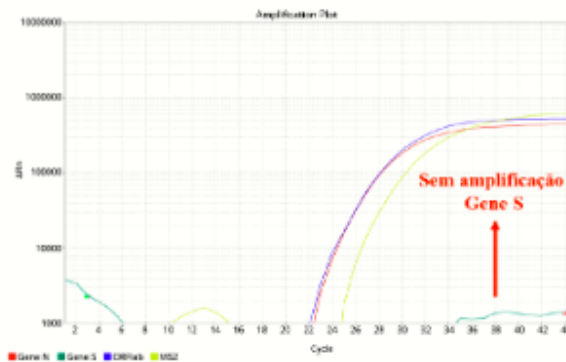
Toda a rotina do laboratório estava normal até dezembro de 2021, um mês que foi repleto de confraternizações de fim de ano, apesar das restrições sanitárias impostas. Nesse período, foi identificado um aumento crescente no número de casos detectáveis para COVID-19 e, além disso, observou-se que algumas amostras apresentaram um padrão de resultado diferente do convencional, em que o alvo de detecção para o gene S não amplificava, mesmo com a detecção dos demais alvos.

Perfil de amplificação padrão para amostras detectáveis



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Novo perfil, sem amplificação de região no Gene S



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Esse padrão se tornou cada vez mais comum ao longo da semana. Com isso, diversos questionamentos foram levantados pelos analistas do setor:

- Por que estava havendo um padrão de falha de amplificação crescente em apenas um dos alvos?
- Esta falha comprometeria a efetividade do kit utilizado para o diagnóstico?
- Como otimizar a utilização deste kit?

[Texto da imagem 1]

Com amplificação
Gene S

[Fonte da imagem 1] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

[Título da imagem 2] Novo perfil, sem amplificação de região no Gene S

[Texto da imagem 2]

Sem amplificação
Gene S

[Fonte da imagem 2] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Esse padrão se tornou cada vez mais comum ao longo da semana. Com isso, diversos questionamentos foram levantados pelos analistas do setor:

- Por que estava havendo um padrão de falha de amplificação crescente em apenas um dos alvos?
- Esta falha comprometeria a efetividade do kit utilizado para o diagnóstico?
- Como otimizar a utilização deste kit?

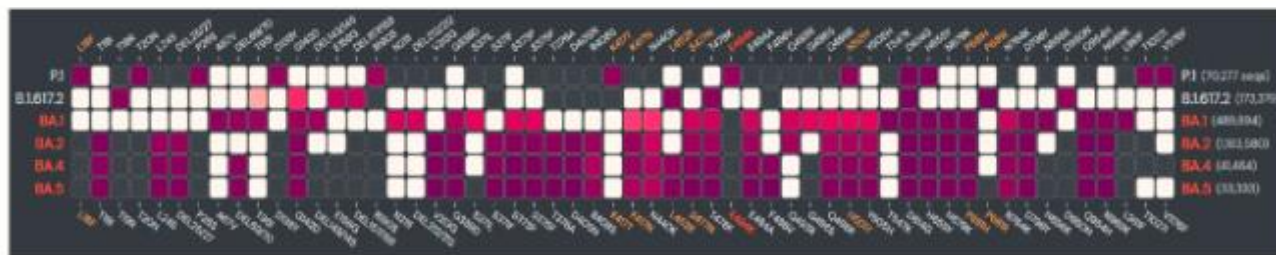
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais</p> <p>Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular</p> <p>Subtópico: Inferência molecular por genotipagem</p> <p>Página 5/8 – Sanfona 2</p>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 5/8 – Sanfona 2:</p> <p>[Sanfona 2] Análises</p> <p>Algumas amostras que apresentaram falha de amplificação para o Gene S foram repetidas em uma nova corrida e em um novo equipamento, e permaneceram com o mesmo resultado. Observaram-se que os equipamentos utilizados estavam devidamente calibrados e os kits, conforme necessário para aplicações em diagnóstico, estavam dentro da validade e devidamente armazenados.</p> <p>Ao entrarem em contato com outros laboratórios parceiros que utilizavam o mesmo kit de diagnóstico, foi informado que eles estavam encontrando o mesmo padrão de resultados.</p> <p>Então, um dos analistas comentou que o Laboratório de Vigilância Genômica da região havia entrado em contato para informar que existia uma nova variante de SARS-CoV-2 que estava sendo introduzida no Brasil e no mundo, repleta de mutações, sobretudo, na proteína Spike. Com isso, essas amostras foram enviadas como prioridade para análises por NGS.</p>

Algumas amostras que apresentaram falha de amplificação para o Gene S foram repetidas em uma nova corrida e em um novo equipamento, e permaneceram com o mesmo resultado. Observaram-se que os equipamentos utilizados estavam devidamente calibrados e os kits, conforme necessário para aplicações em diagnóstico, estavam dentro da validade e devidamente armazenados.

Ao entrarem em contato com outros laboratórios parceiros que utilizavam o mesmo kit de diagnóstico, foi informado que eles estavam encontrando o mesmo padrão de resultados.

Então, um dos analistas comentou que o Laboratório de Vigilância Genômica da região havia entrado em contato para informar que existia uma nova variante de SARS-CoV-2 que estava sendo introduzida no Brasil e no mundo, repleta de mutações, sobretudo, na proteína Spike. Com isso, essas amostras foram enviadas como prioridade para análises por NGS.

Comparativo da presença de mutações entre variantes



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023, gerada em: *Outbreak lineages covid*. [S.l.], 2023. Disponível em: <https://cov-lineages.org/>, utilizando genomas de SARS-CoV-2 depositados no banco de dados GISAID EpiCoV. Acesso em: 23 dez. 2022.

[Título da imagem] Comparativo da presença de mutações entre variantes

[Fonte da imagem] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023, gerada em: *Outbreak lineages covid*. [S.l.], 2023. Disponível em: <https://cov-lineages.org/>, utilizando genomas de SARS-CoV-2 depositados no banco de dados GISAID EpiCoV. Acesso em: 23 dez. 2022.

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais
Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular
Subtópico: Inferência molecular por genotipagem
Página 5/8 – Sanfona 2 – Palavra de glossário

Glossário

NGS: O termo em português "Sequenciamento de Nova Geração", é uma tradução adaptada do original "*Next Generation Sequencing*" ou NGS. A ideia consistia em marcar a diferença entre o método de sequenciamento de *Sanger* e esta nova abordagem, que nasceu da união de várias tecnologias disponíveis a partir da década de 1980. O NGS é um produto de convergência de tecnologias como a purificação de nucleotídeos com *beads* magnéticas, PCR em emulsão e nucleotídeos marcados com diferentes fluorescências.

Fonte: TURCHETTO-ZOLET, Andreia Carina *et al.* **Marcadores moleculares na era genômica:** metodologias e aplicações. Ribeirão Preto/SP: Sociedade Brasileira de Genética, 2017. 181 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/206114>. Acesso em: 12 jan. 2023.

Fechar [X]

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 5/8 – Sanfona 2 – Palavra de glossário:

Glossário

NGS: O termo em português "Sequenciamento de Nova Geração", é uma tradução adaptada do original "*Next Generation Sequencing*" ou NGS. A ideia consistia em marcar a diferença entre o método de sequenciamento de *Sanger* e esta nova abordagem, que nasceu da união de várias tecnologias disponíveis a partir da década de 1980. O NGS é um produto de convergência de tecnologias como a purificação de nucleotídeos com *beads* magnéticas, PCR em emulsão e nucleotídeos marcados com diferentes fluorescências.

Fonte: TURCHETTO-ZOLET, Andreia Carina *et al.* **Marcadores moleculares na era genômica:** metodologias e aplicações. Ribeirão Preto/SP: Sociedade Brasileira de Genética, 2017. 181 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/206114>. Acesso em: 12 jan. 2023.

[Botão] Fechar [X]

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais
Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular
Subtópico: Inferência molecular por genotipagem
Página 6/8 – Avaliação formativa 27

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 6/8 – Avaliação formativa 27:

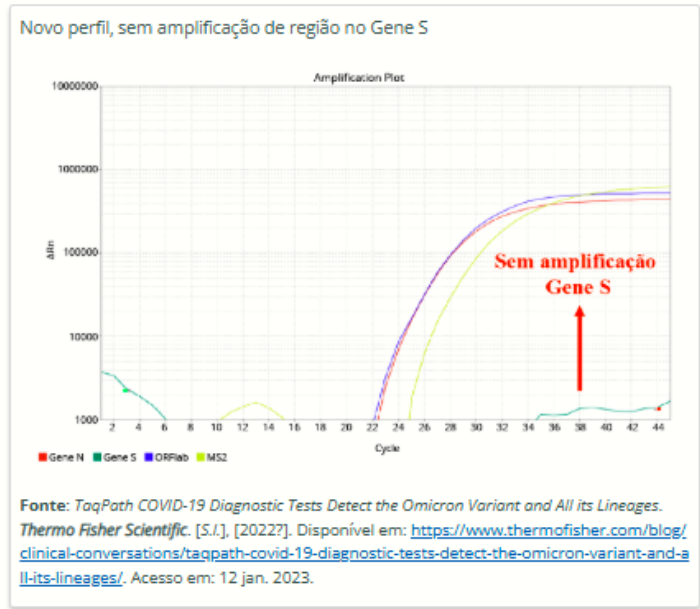
Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Avaliação Formativa 27

Você não concluiu esta tarefa

Em sua opinião, por que estava havendo um padrão de falha de amplificação crescente em apenas um dos alvos de Sars-CoV-2, como reapresentamos na figura a seguir?



Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

Digite sua resposta aqui

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Avaliação Formativa 27

[Mensagem] Você não concluiu esta tarefa

Em sua opinião, por que estava havendo um padrão de falha de amplificação crescente em apenas um dos alvos de Sars-CoV-2, como reapresentamos na figura a seguir?

[Título da imagem] Novo perfil, sem amplificação de região no Gene S

[Texto da imagem]

Sem amplificação
Gene S

[Texto da imagem] Fonte: TaqPath COVID-19 Diagnostic Tests Detect the Omicron Variant and All its Lineages. Thermo Fisher Scientific. [S.I.], [2022?]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/blog/clinical-conversations/taqpath-covid-19-diagnostic-tests-detect-the-omicron-variant-and-all-its-lineages/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

[Comando] Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

[Campo] Digite sua resposta aqui

[Botão] Responder

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: Inferência molecular por genotipagem

Página 6/8 – Avaliação formativa 27 – Feedback

☺ Você concluiu esta tarefa

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 6/8 – Avaliação formativa 27 – Feedback:

[Mensagem] Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 27

Solução

Análises por NGS confirmaram que as amostras correspondiam a uma nova variante de SARS-CoV-2, denominada VOC ÔMICRON (B.1.1.529-like). A falha de amplificação do alvo para o Gene S ocorreu, pois, essa variante possui diversas mutações na proteína spike, impedindo a ligação do primer e/ou sonda e, por conseguinte, a amplificação em análises por qPCR. O aumento dos casos ocorreu pela expansão de uma variante de maior transmissibilidade, associado a um período de baixo isolamento social.

[Título da imagem] Região dos alvos utilizados no ensaio de qPCR

[Fonte da imagem] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023, baseada em: OS TESTES de diagnóstico TaqPath COVID-19 detectam a variante Omicron e todas as suas linhagens. **Thermo Fisher Scientific**. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/blog/clinical->

Comentários da Avaliação Formativa 27

Solução

Análises por NGS confirmaram que as amostras correspondiam a uma nova variante de SARS-CoV-2, denominada VOC ÔMICRON (B.1.1.529-like). A falha de amplificação do alvo para o Gene S ocorreu, pois, essa variante possui diversas mutações na proteína *spike*, impedindo a ligação do *primer* e/ou sonda e, por conseguinte, a amplificação em análises por qPCR. O aumento dos casos ocorreu pela expansão de uma variante de maior transmissibilidade, associado a um período de baixo isolamento social.

Região dos alvos utilizados no ensaio de qPCR



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023, baseada em: OS TESTES de diagnóstico TaqPath COVID-19 detectam a variante Omicron e todas as suas linhagens. *Thermo Fisher Scientific*. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/blog/clinical-conversations/taqpath-covid-19-diagnostic-tests-detect-the-omicron-variant-and-all-its-lineages/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

Fonte: FERREIRA, Vinicius. Rede Genômica Fiocruz detecta alterações inéditas na proteína Spike do Sars-CoV-2. **Fundação Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro/RJ, 2021. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/rede-genomica-fiocruz-detecta-alteracoes-ineditas-na-proteina-spike-do-sars-cov-2>. Acesso em: 9 jan. 2023.

🕒 Você respondeu essa questão!

[conversations/taqpath-covid-19-diagnostic-tests-detect-the-omicron-variant-and-all-its-lineages/](https://portal.fiocruz.br/noticia/rede-genomica-fiocruz-detecta-alteracoes-ineditas-na-proteina-spike-do-sars-cov-2). Acesso em: 12 jan. 2023.

Fonte: FERREIRA, Vinicius. Rede Genômica Fiocruz detecta alterações inéditas na proteína Spike do Sars-CoV-2. **Fundação Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro/RJ, 2021. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/rede-genomica-fiocruz-detecta-alteracoes-ineditas-na-proteina-spike-do-sars-cov-2>. Acesso em: 9 jan. 2023.

[Mensagem] Você respondeu essa questão!

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais
Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular
Subtópico: Inferência molecular por genotipagem
Página 7/8 – Avaliação formativa 28

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Avaliação Formativa 28

⌚ Você não concluiu esta tarefa

Em sua opinião, esta falha na detecção da região do gene S, comprometeria a efetividade do kit utilizado para qPCR *multiplex*, capaz de detectar 3 alvos virais de Sars-CoV-2 (Gene S, Gene N e Gene ORF1ab), para o diagnóstico? Justifique sua resposta.

Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

Digite sua resposta aqui

Responder

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 7/8 – Avaliação formativa 28:

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Avaliação Formativa 28

[Mensagem] Você não concluiu esta tarefa

Em sua opinião, esta falha na detecção da região do gene S, comprometeria a efetividade do kit utilizado para qPCR *multiplex*, capaz de detectar 3 alvos virais de Sars-CoV-2 (Gene S, Gene N e Gene ORF1ab), para o diagnóstico? Justifique sua resposta.

[Comando] Digite sua resposta:
Max. 500 caracteres (0 usados)

[Campo] Digite sua resposta aqui

[Botão] Responder

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: Inferência molecular por genotipagem

Página 7/8 – Avaliação formativa 28 – Feedback

☺ Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 28

Solução

A utilização de ensaios com múltiplos-alvos permite que o ensaio forneça resultados com maior precisão, mesmo no caso em que um dos alvos seja afetado por alguma eventual mutação, como ocorreu com o surgimento da [VOC ÔMICRON](#) e, anteriormente, com o surgimento da [VOC ALFA](#).

Como os demais alvos virais do kit estavam localizados em regiões conservadas (conforme relatado na avaliação de sequências no banco de dados público GISAID), não houve mudança no padrão de amplificação para os demais alvos. Com isso, a empresa fabricante do kit, após as devidas avaliações, manifestou-se informando que a precisão geral dos ensaios segue inalterada.

Fonte: FERREIRA, Vinicius. Rede Genômica Fiocruz detecta alterações inéditas na proteína Spike do Sars-CoV-2. **Fundação Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro/RJ, 2021. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/rede-genomica-fiocruz-detecta-alteracoes-ineditas-na-proteina-spike-do-sars-cov-2>. Acesso em: 9 jan. 2023.

☺ Você respondeu essa questão!

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – **Página 7/8 – Avaliação formativa 28 – Feedback:**

[Mensagem] Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 28

Solução

A utilização de ensaios com múltiplos-alvos permite que o ensaio forneça resultados com maior precisão, mesmo no caso em que um dos alvos seja afetado por alguma eventual mutação, como ocorreu com o surgimento da VOC ÔMICRON e, anteriormente, com o surgimento da VOC ALFA.

Como os demais alvos virais do kit estavam localizados em regiões conservadas (conforme relatado na avaliação de sequências no banco de dados público GISAID), não houve mudança no padrão de amplificação para os demais alvos. Com isso, a empresa fabricante do kit, após as devidas avaliações, manifestou-se informando que a precisão geral dos ensaios segue inalterada.

Fonte: FERREIRA, Vinicius. Rede Genômica Fiocruz detecta alterações inéditas na proteína Spike do Sars-CoV-2. **Fundação Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro/RJ, 2021. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/rede-genomica-fiocruz-detecta-alteracoes-ineditas-na-proteina-spike-do-sars-cov-2>. Acesso em: 9 jan. 2023.

[Mensagem] Você respondeu essa questão!

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: Inferência molecular por genotipagem

Página 8/8 – Avaliação formativa 29

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Avaliação Formativa 29

ⓘ Você não concluiu esta tarefa

Como otimizar a utilização deste kit de detecção de 3 alvos virais de Sars-CoV-2?

Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

Digite sua resposta aqui

Responder



Leitura Complementar

[Testes de diagnóstico TaqPath COVID-19 \(2021\)](#)

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – **Página 8/8 – Avaliação formativa 29:**

Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Inferência molecular por genotipagem

Avaliação Formativa 29

[Mensagem] Você não concluiu esta tarefa

Como otimizar a utilização deste kit de detecção de 3 alvos virais de Sars-CoV-2?

[Comando] Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

[Campo] Digite sua resposta aqui

[Botão] Responder

Leitura Complementar

[Testes de diagnóstico TaqPath COVID-19 \(2021\)](#)

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular

Subtópico: Inferência molecular por genotipagem

Página 8/8 – Avaliação formativa 29 – Feedback

☑ Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 29

Solução

Considerando que o ensaio de qPCR utilizado consegue diferenciar as variantes de SARS-CoV-2, distinguindo a VOC ÔMICRON (variante em expansão, com falha de amplificação do gene S), da VOC Delta (variante em circulação da época, com amplificação do gene S), este pode ser utilizado como um ensaio duplo de diagnóstico e genotipagem molecular. Dessa forma, é possível identificar a variante no momento do diagnóstico, diminuindo ainda mais o tempo de retorno e os gastos com insumos de biologia molecular. Além disso, o teste pode ser utilizado como uma ferramenta para a triagem de amostras prioritárias para o NGS. A utilização desta estratégia metodológica com a avaliação seletiva do alvo do gene S ficou conhecida a partir de então como SGTF (S-gene Target Failure), sendo efetivamente utilizado para assistência no monitoramento genômico de VOCs.

Fonte: VANONI, Simone et al. SARS-CoV-2 variants of concern surveillance including Omicron using RT-PCR-based genotyping offers comparable performance to whole genome sequencing. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, [S.l.], v. 12, 3 nov. 2022. Frontiers Media SA. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2022.960065/full>. Acesso em: 09 fev. 2023.

☑ Você respondeu essa questão!

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 8/8 – Avaliação formativa 29 – Feedback:

[Mensagem] Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 29

Solução

Considerando que o ensaio de qPCR utilizado consegue diferenciar as variantes de SARS-CoV-2, distinguindo a VOC ÔMICRON (variante em expansão, com falha de amplificação do gene S), da VOC Delta (variante em circulação da época, com amplificação do gene S), este pode ser utilizado como um ensaio duplo de diagnóstico e genotipagem molecular.

Dessa forma, é possível identificar a variante no momento do diagnóstico, diminuindo ainda mais o tempo de retorno e os gastos com insumos de biologia molecular. Além disso, o teste pode ser utilizado como uma ferramenta para a triagem de amostras prioritárias para o NGS.

A utilização desta estratégia metodológica com a avaliação seletiva do alvo do gene S ficou conhecida a partir de então como SGTF (S-gene Target Failure), sendo efetivamente utilizado para assistência no monitoramento genômico de VOCs.

Fonte: VANONI, Simone et al. SARS-CoV-2 variants of concern surveillance including Omicron using RT-PCR-based genotyping offers comparable performance to whole genome sequencing. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.l.], v. 12, 3 nov. 2022. Frontiers Media SA. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2022.960065/full>. Acesso em: 09 fev. 2023.

	<p>[Mensagem] Você respondeu essa questão!</p>
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais</p> <p>Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular</p> <p>Subtópico: Inferência molecular por genotipagem</p> <p>Página 8/8 – Avaliação formativa 29 – Feedback – Palavra de glossário</p> <div><div>Glossário</div><div><div>×</div><div><p>SGTF (S-gene Target Failure): Em português, falha no alvo do gene S, especificamente na proteína <i>Spike</i> do vírus SARS-CoV-2. Essas falhas são mutações nessa região que codifica a proteína <i>Spike</i>.</p><div>Fechar [X]</div></div></div></div>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas ao diagnóstico molecular – Subtópico: Inferência molecular por genotipagem – Página 8/8 – Avaliação formativa 29 – Feedback – Palavra de glossário:</p> <p>Glossário</p> <p>SGTF (S-gene Target Failure): Em português, falha no alvo do gene S, especificamente na proteína <i>Spike</i> do vírus SARS-CoV-2. Essas falhas são mutações nessa região que codifica a proteína <i>Spike</i>.</p> <p>[Botão] Fechar [X]</p>
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais</p> <p>Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS</p> <p>Página 1/6</p>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 1/6:</p> <p>Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Preparo da amostra para sequenciamento NGS</p> <p>Contexto</p>

Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Contexto

Após a triagem pela vigilância genômica, foi organizada uma bateria de 40 amostras (incluindo um controle negativo) para a realização de uma corrida de sequenciamento NGS para SARS-CoV-2. Foi selecionado um protocolo padronizado baseado na amplificação de um painel de alvos genômicos, separados em dois conjuntos de *primers* (chamados de *pools*), que juntos cobrem a totalidade do genoma viral.

Cada amostra foi testada separadamente com cada *pool* gerando um total de 80 reações de amplificação. Conforme o protocolo, as reações foram posteriormente juntadas, de forma ordenada, durante a construção das bibliotecas genômicas e indexação, e posteriormente quantificadas, desnaturadas e diluídas para a realização do sequenciamento NGS, seguindo instruções do fabricante.

Problema

Solução

Conclusão

Após a triagem pela vigilância genômica, foi organizada uma bateria de 40 amostras (incluindo um controle negativo) para a realização de uma corrida de sequenciamento NGS para SARS-CoV-2. Foi selecionado um protocolo padronizado baseado na amplificação de um painel de alvos genômicos, separados em dois conjuntos de primers (chamados de pools), que juntos cobrem a totalidade do genoma viral.

Cada amostra foi testada separadamente com cada pool gerando um total de 80 reações de amplificação. Conforme o protocolo, as reações foram posteriormente juntadas, de forma ordenada, durante a construção das bibliotecas genômicas e indexação, e posteriormente quantificadas, desnaturadas e diluídas para a realização do sequenciamento NGS, seguindo instruções do fabricante.

[Sanfona 1] Problema
[Sanfona 2] Solução
[Sanfona 3] Conclusão

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Página 1/6 – Sanfona 1

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 1/6 – Sanfona 1:

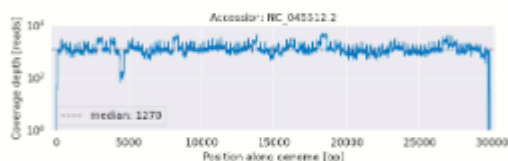
[Sanfona 1] Problema

Somente uma proporção do genoma pôde ser sequenciada e suas mutações confirmadas. Na inspeção visual das bibliotecas sequenciadas, notou-se que todas as amostras analisadas apresentaram falhas de cobertura de sequenciamento e cujos segmentos genômicos eram

Problema

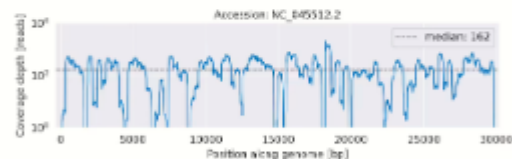
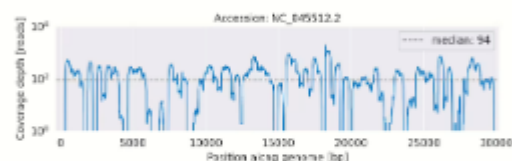
Somente uma proporção do genoma pôde ser sequenciada e suas mutações confirmadas. Na inspeção visual das bibliotecas sequenciadas, notou-se que todas as amostras analisadas apresentaram falhas de cobertura de sequenciamento e cujos segmentos genômicos eram coincidentes. O diagrama a seguir ilustra o nível de profundidade ao longo do genoma viral, apresentando um nítido padrão de picos alternados (em forma de zig-zag), o que ocasionou a baixa cobertura genômica.

Padrão esperado ou referência de resultado



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Padrões típicos encontrado para as amostras desta corrida



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

coincidentes. O diagrama a seguir ilustra o nível de profundidade ao longo do genoma viral, apresentando um nítido padrão de picos alternados (em forma de zig-zag), o que ocasionou a baixa cobertura genômica.

[Título da imagem 1] Padrão esperado ou referência de resultado

[Fonte da imagem 1] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

[Título da imagem 2] Padrões típicos encontrado para as amostras desta corrida

[Fonte da imagem 2] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Página 1/6 – Sanfona 2

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 1/6 – Sanfona 2:

Solução

Percebe-se que o padrão alternado de profundidade coincide com a posição genômica esperada para um dos *pools* somente. Avaliando-se mais detalhadamente ambos os *pools*, percebe-se que todos os segmentos esperados para o *Pool* 1 (ímpar) foram identificados, ao passo que os correspondentes para o *Pool* 2 (par) não foram mapeados.

Inspecionou-se o material amplificado específico, tanto para o *Pool* 1 como para o *Pool* 2, e após análises de controle de qualidade por eletroforese, constatou-se somente para as reações com o *Pool* 1 a presença de material genético dentro da faixa de tamanho esperada para os alvos amplificados (bandas), ao passo que não houve a detecção de qualquer material genético correspondente às reações com o *Pool* 2.

[Sanfona 2] Solução

Percebe-se que o padrão alternado de profundidade coincide com a posição genômica esperada para um dos *pools* somente. Avaliando-se mais detalhadamente ambos os *pools*, percebe-se que todos os segmentos esperados para o *Pool* 1 (ímpar) foram identificados, ao passo que os correspondentes para o *Pool* 2 (par) não foram mapeados.

Inspecionou-se o material amplificado específico, tanto para o *Pool* 1 como para o *Pool* 2, e após análises de controle de qualidade por eletroforese, constatou-se somente para as reações com o *Pool* 1 a presença de material genético dentro da faixa de tamanho esperada para os alvos amplificados (bandas), ao passo que não houve a detecção de qualquer material genético correspondente às reações com o *Pool* 2.

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Página 1/6 – Sanfona 3

Conclusão

Não houve reação de amplificação para amostras testadas com o *Pool* 2, provavelmente em função de problemas de preparo dos reagentes (*mastermix*) ou na realização da [termociclagem](#), degradação dos insumos do *Pool* 2, que comprometeu sua viabilidade. Como todas as amostras testadas com o *Pool* 2 foram afetadas, não se pode atribuir o problema a um conjunto de amostras específicas, até razão do sequenciamento ter produzido resultados objetivos para as regiões correspondentes ao *Pool* 1.

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 1/6 – Sanfona 3:

[Sanfona 2] Conclusão

Não houve reação de amplificação para amostras testadas com o *Pool* 2, provavelmente em função de problemas de preparo dos reagentes (*mastermix*) ou na realização da [termociclagem](#), degradação dos insumos do *Pool* 2, que comprometeu sua viabilidade. Como todas as amostras testadas com o *Pool* 2 foram afetadas, não se pode atribuir o problema a um conjunto de amostras específicas, até razão do sequenciamento ter produzido

	resultados objetivos para as regiões correspondentes ao Pool 1.
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais</p> <p>Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS</p> <p>Página 1/6 – Sanfona 3 – Palavra de glossário</p> <div><div>Glossário</div><div><p>Termociclagem: Reação de amplificação por PCR que acontece no equipamento termociclador.</p><p>Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. <i>In: Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)</i>. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.</p></div><div>Fechar [X]</div></div>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 1/6 – Sanfona 3 – Palavra de glossário:</p> <p>Glossário</p> <p>Termociclagem: Reação de amplificação por PCR que acontece no equipamento termociclador.</p> <p>Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. <i>In: Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)</i>. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.</p> <p>[Botão] Fechar [X]</p>
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais</p> <p>Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS</p> <p>Página 2/6</p>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 2/6:</p> <p>Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Preparo da amostra para sequenciamento NGS</p> <p>Contexto</p>

Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Contexto

Um laboratório de Vigilância Genômica de SARS-CoV-2 realiza corridas de sequenciamento na plataforma *Illumina* periodicamente, seguindo o fluxo de:

- Triagem de amostras;
- Conversão à cDNA e amplificação do material genético;
- Preparo da biblioteca para sequenciamento;
- Adição ao sequenciador e;
- Análise dos dados gerados.

Problema

Um dia, uma corrida de NGS de rotina foi finalizada, mas não resultou na geração de dados. O [bioinformata](#) responsável pela análise dos dados começou a investigar a causa do problema e, como nenhuma das 240 amostras (devidamente triadas e com elevada qualidade) apresentaram resultado, descartou-se que o problema poderia estar associado às amostras utilizadas. Então, o bioinformata levantou dois questionamentos:

1. O que ocasionou a falta de geração de dados da corrida?
2. Como gerar os dados da corrida?

Um laboratório de Vigilância Genômica de SARS-CoV-2 realiza corridas de sequenciamento na plataforma *Illumina* periodicamente, seguindo o fluxo de:

- Triagem de amostras;
- Conversão à cDNA e amplificação do material genético;
- Preparo da biblioteca para sequenciamento;
- Adição ao sequenciador e;
- Análise dos dados gerados.

Problema

Um dia, uma corrida de NGS de rotina foi finalizada, mas não resultou na geração de dados. O [bioinformata](#) responsável pela análise dos dados começou a investigar a causa do problema e, como nenhuma das 240 amostras (devidamente triadas e com elevada qualidade) apresentaram resultado, descartou-se que o problema poderia estar associado às amostras utilizadas. Então, o bioinformata levantou dois questionamentos:

1. O que ocasionou a falta de geração de dados da corrida?
2. Como gerar os dados da corrida?

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Página 2/6 – Palavra de glossário

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 2/6 – Palavra de glossário:

Glossário

<div data-bbox="331 38 1220 443"> <div>Glossário</div> <div> <p>Bioinformata: Profissional da área de bioinformática que une conhecimentos de biologia e informática.</p> <p>Fonte: DEZORDI, Filipe. Bioinformata: 6 dicas para trabalhar com bioinformática. Varsomics, [S.l.], 2022. Disponível em: https://blog.varsomics.com/bioinformata-profissao/. Acesso em: 12 jan. 2023.</p> </div> <div>Fechar [X]</div> </div>	<p>Bioinformata: Profissional da área de bioinformática que une conhecimentos de biologia e informática.</p> <p>Fonte: DEZORDI, Filipe. Bioinformata: 6 dicas para trabalhar com bioinformática. Varsomics, [S.l.], 2022. Disponível em: https://blog.varsomics.com/bioinformata-profissao/. Acesso em: 12 jan. 2023.</p> <p>[Botão] Fechar [X]</p>
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais</p> <p>Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS</p> <p>Página 3/6 – Avaliação formativa 30</p>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – Página 3/6 – Avaliação formativa 30:</p> <p>Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Preparo da amostra para sequenciamento NGS</p> <p>Avaliação Formativa 30</p> <p>[Mensagem] Você não concluiu esta tarefa</p> <p>O sequenciamento de nova geração produz uma enorme quantidade de dados referentes aos fragmentos do material genético que foram sequenciados, o que faz com que computadores sejam necessários para auxiliar no processo de análise. Considerando o relato ocorrido com a bioinformata a respeito do preparo da amostra para sequenciamento NGS, em que uma corrida de NGS de rotina foi finalizada, mas não resultou na geração de dados, avalie o que ocasionou a falta de geração de dados da corrida? Qual seria uma solução viável para gerar os dados?</p>

Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Avaliação Formativa 30

⌚ Você não concluiu esta tarefa

O sequenciamento de nova geração produz uma enorme quantidade de dados referentes aos fragmentos do material genético que foram sequenciados, o que faz com que computadores sejam necessários para auxiliar no processo de análise. Considerando o relato ocorrido com a bioinformata a respeito do preparo da amostra para sequenciamento NGS, em que uma corrida de NGS de rotina foi finalizada, mas não resultou na geração de dados, avalie o que ocasionou a falta de geração de dados da corrida? Qual seria uma solução viável para gerar os dados?

Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

Digite sua resposta aqui

Responder



Leitura Complementar

[TURCHETTO-ZOLET et al. \(2017\)\(Páginas 35 A 38\)](#)

[Comando] Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

[Campo] Digite sua resposta aqui

[Botão] Responder

Leitura Complementar

[TURCHETTO-ZOLET et al. \(2017\)\(Páginas 35 A 38\)](#)

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS

Página 3/6 – Avaliação formativa 30 – Feedback

🕒 Você concluiu esta tarefa

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Preparo da amostra para sequenciamento NGS – **Página 3/6 – Avaliação formativa 30 – Feedback:**

[Mensagem] Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 30

Solução

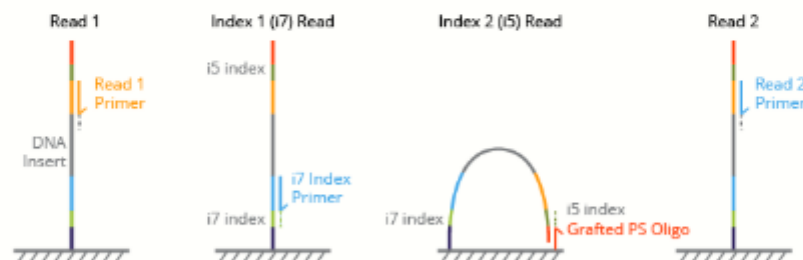
A ausência completa de geração de dados de sequenciamento de um grande quantitativo de amostras está relacionada com problemas ao reconhecimento de *indexes* pelo sequenciador, que consistem em sequências identificadoras de cada amostra. Como o equipamento não foi capaz de identificar cada amostra na biblioteca, não foi capaz de gerar os dados contendo as *reads* do sequenciamento.

Conclusão

Constatou-se que 2 situações podem ter ocorrido:

1 - O analista responsável pela construção da biblioteca genômica não adicionou os indexadores corretos nas amostras.

Esquema do funcionamento de adaptadores e indexes



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023, baseada em: INDEXED Sequencing: on Illumina Systems. In: **Illumina**. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <https://support-docs.illumina.com/SHARE/IndexedSeq/indexed-sequencing.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2023.

Comentários da Avaliação Formativa 30

Solução

A ausência completa de geração de dados de sequenciamento de um grande quantitativo de amostras está relacionada com problemas ao reconhecimento de *indexes* pelo sequenciador, que consistem em sequências identificadoras de cada amostra. Como o equipamento não foi capaz de identificar cada amostra na biblioteca, não foi capaz de gerar os dados contendo as *reads* do sequenciamento.

Conclusão

Constatou-se que 2 situações podem ter ocorrido:

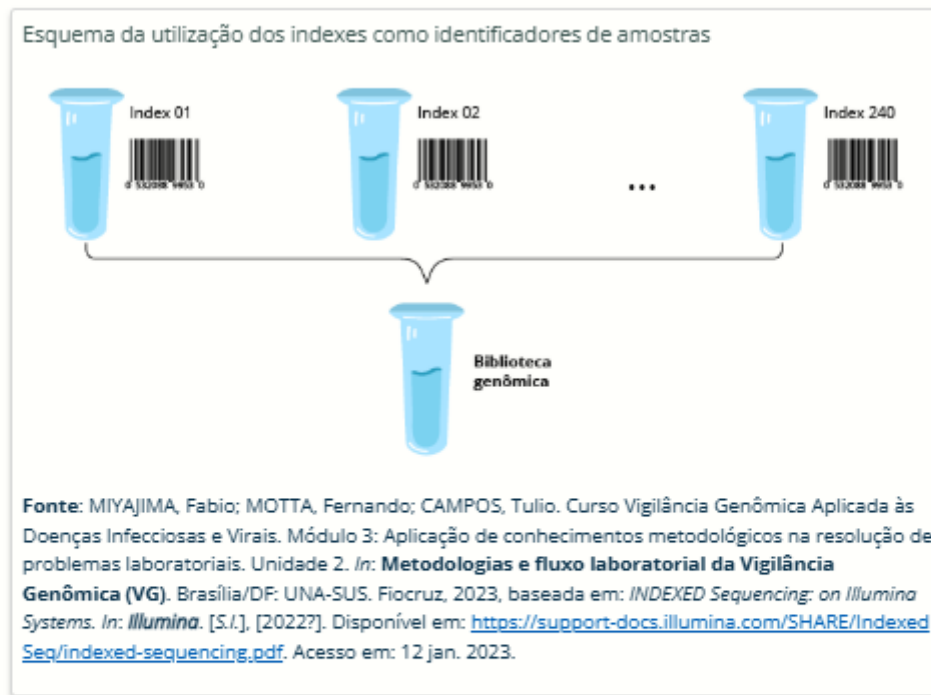
1 - O analista responsável pela construção da biblioteca genômica não adicionou os indexadores corretos nas amostras.

[Título da imagem] Esquema do funcionamento de adaptadores e indexes

[Fonte da imagem] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023, baseada em: INDEXED Sequencing: on Illumina Systems. In: **Illumina**. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <https://support-docs.illumina.com/SHARE/IndexedSeq/indexed-sequencing.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2023.

2 - O analista responsável não indicou ao sequenciador as sequências dos indexadores.

2 - O analista responsável não indicou ao sequenciador as sequências dos indexadores.



Caso tenha ocorrido a primeira situação, nada pode ser feito e o sequenciamento das amostras deve ser repetido, para que na repetição possa ser adicionado os indexadores durante o processo. Caso a segunda situação tenha ocorrido, a solução é mais simples, devendo apenas ser adicionado as sequências de *indexes* no sequenciador, para que os dados possam ser então gerados.

Fonte: ILLUMINA index sequencing – where is my sample? In: Enseqlopedia. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <http://enseqlopedia.com/2018/01/illumina-index-sequencing-sample/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

🕒 Você respondeu essa questão!

[Título da imagem] Esquema da utilização dos indexes como identificadores de amostras

[Fonte da imagem] Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023, baseada em: INDEXED Sequencing: on Illumina Systems. In: Illumina. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <https://support-docs.illumina.com/SHARE/IndexedSeq/indexed-sequencing.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2023.

Caso tenha ocorrido a primeira situação, nada pode ser feito e o sequenciamento das amostras deve ser repetido, para que na repetição possa ser adicionado os indexadores durante o processo. Caso a segunda situação tenha ocorrido, a solução é mais simples, devendo apenas ser adicionado as sequências de indexes no sequenciador, para que os dados possam ser então gerados.

Fonte: ILLUMINA index sequencing – where is my sample? In: Enseqlopedia. [S.l.], [2022?]. Disponível em: <http://enseqlopedia.com/2018/01/illumina-index-sequencing-sample/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

[Mensagem] Você respondeu essa questão!

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais
Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica
Subtópico: Bioinformática e Análise de Dados Gerados

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico:

Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Bioinformática e Análise de Dados Gerados

Contexto

Durante a pandemia do SARS-CoV-2, no contexto da vigilância genômica, um laboratório de vigilância genômica de um determinado estado ficou responsável por fazer o sequenciamento genético e identificação de linhagens/variantes dos vírus circulantes a partir de amostras encaminhadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) do estado, após diagnóstico positivo de SARS-CoV-2. Um critério importante para o envio de amostras é que o RNA extraído possua uma boa qualidade (definida por valor CT < 27).

A rotina do laboratório consiste no recebimento de amostras, preparação das bibliotecas para sequenciamento, verificação da qualidade dos dados brutos gerados e identificação das linhagens/variantes. Periodicamente, relatórios a respeito das linhagens identificadas são enviados para a Secretaria de Saúde do referido estado para que os gestores públicos possam avaliar e tomar decisões. Além disso, os genomas considerados completos e de excelente qualidade (cobertura > 95% e profundidade média > 100) são depositados na plataforma GISAID para disponibilização à comunidade científica.

A bioinformata Maria era a responsável pela análise dos dados. No departamento de Bioinformática do centro de vigilância genômica, Maria estabeleceu um processo de automação do sistema de análise dos dados, a partir do qual foi criado um contêiner de software para automatizar todas as etapas analíticas. A premissa de Maria considerava que os dados sequenciados eram criteriosa e cuidadosamente selecionados, já que o LACEN e o centro de pesquisa haviam otimizado todos os processos - da coleta à seleção de amostras e da preparação das bibliotecas ao sequenciamento genômico e envio do relatório de linhagens/variantes para as autoridades e submissão ao GISAID.

Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Bioinformática e Análise de Dados Gerados

Contexto

Durante a pandemia do SARS-CoV-2, no contexto da vigilância genômica, um laboratório de vigilância genômica de um determinado estado ficou responsável por fazer o sequenciamento genético e identificação de linhagens/variantes dos vírus circulantes a partir de amostras encaminhadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) do estado, após diagnóstico positivo de SARS-CoV-2. Um critério importante para o envio de amostras é que o RNA extraído possua uma boa qualidade (definida por valor CT < 27).

A rotina do laboratório consiste no recebimento de amostras, preparação das bibliotecas para sequenciamento, verificação da qualidade dos dados brutos gerados e identificação das linhagens/variantes. Periodicamente, relatórios a respeito das linhagens identificadas são enviados para a Secretaria de Saúde do referido estado para que os gestores públicos possam avaliar e tomar decisões. Além disso, os genomas considerados completos e de excelente qualidade (cobertura > 95% e profundidade média > 100) são depositados na plataforma GISAID para disponibilização à comunidade científica.

A bioinformata Maria era a responsável pela análise dos dados. No departamento de Bioinformática do centro de

	<p>vigilância genômica, Maria estabeleceu um processo de automação do sistema de análise dos dados, a partir do qual foi criado um contêiner de software para automatizar todas as etapas analíticas. A premissa de Maria considerava que os dados sequenciados eram criteriosa e cuidadosamente selecionados, já que o LACEN e o centro de pesquisa haviam otimizado todos os processos – da coleta à seleção de amostras e da preparação das bibliotecas ao sequenciamento genômico e envio do relatório de linhagens/variantes para as autoridades e submissão ao GISAID.</p>
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica Subtópico: Bioinformática e Análise de Dados Gerados Página 5/6</p> <p>Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Bioinformática e Análise de Dados Gerados</p> <p>Problema</p> <p>Tudo corria bem, até que foi identificado um "problema" inesperado. Certo dia, uma nova remessa de amostras foi enviada para o centro de pesquisa, que então submeteu ao sequenciamento e à análise dos genomas. Na ocasião, as linhagens/variantes predominantes no estado eram as sublinhagens BA.1 e BA.2 da Ômicron. Porém, ao final do processamento dos dados, foi verificado que as linhagens de todas as amostras haviam sido classificadas como "Desconhecidas".</p> <p>Ou seja, após sequenciamento, montagem e classificação dos genomas, não havia sido identificada nenhuma linhagem conhecida ou descrita. Seria o caso de uma nova linhagem circulante? Logo, acendeu-se o alerta de que algo novo poderia estar acontecendo e, imediatamente, toda a equipe envolvida foi acionada para investigar o caso. A Secretaria de Saúde foi informada sobre a questão. O relatório que seria enviado naquele dia ficou retido até que a investigação finalizasse.</p>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Bioinformática e Análise de Dados Gerados – Página 5/6:</p> <p>Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Bioinformática e Análise de Dados Gerados</p> <p>Problema</p> <p>Tudo corria bem, até que foi identificado um "problema" inesperado. Certo dia, uma nova remessa de amostras foi enviada para o centro de pesquisa, que então submeteu ao sequenciamento e à análise dos genomas. Na ocasião, as linhagens/variantes predominantes no estado eram as sublinhagens BA.1 e BA.2 da Ômicron. Porém, ao final do processamento dos dados, foi verificado que as linhagens de todas as amostras haviam sido classificadas como "Desconhecidas".</p> <p>Ou seja, após sequenciamento, montagem e classificação dos genomas, não havia sido identificada nenhuma</p>

	<p>linhagem conhecida ou descrita. Seria o caso de uma nova linhagem circulante? Logo, acendeu-se o alerta de que algo novo poderia estar acontecendo e, imediatamente, toda a equipe envolvida foi acionada para investigar o caso. A Secretaria de Saúde foi informada sobre a questão. O relatório que seria enviado naquele dia ficou retido até que a investigação finalizasse.</p>
<p>Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica Subtópico: Bioinformática e Análise de Dados Gerados Página 6/6 – Avaliação formativa 31</p>	<p>Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Bioinformática e Análise de Dados Gerados – Página 6/6 – Avaliação formativa 31:</p> <p>Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica</p> <p>Bioinformática e Análise de Dados Gerados</p> <p>Avaliação Formativa 31</p> <p>[Mensagem] Você não concluiu esta tarefa</p> <p>Em uma rotina de sequenciamento e análise de genomas de um Centro de vigilância genômica de referência, foram identificados padrões de mutações até então desconhecidas no genoma do SARS-CoV-2 de amostras prospectivas vindas do LACEN.</p> <p>No cenário atual, as linhagens dominantes são BA.1 e BA.2 (ambas da variante Ômicron), contudo as amostras identificadas possuem padrões discordantes de ambas. Os resultados obtidos levantam a possibilidade da</p>

Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Bioinformática e Análise de Dados Gerados

Avaliação Formativa 31

ⓘ Você não concluiu esta tarefa

Em uma rotina de sequenciamento e análise de genomas de um Centro de vigilância genômica de referência, foram identificados padrões de mutações até então desconhecidas no genoma do SARS-CoV-2 de amostras prospectivas vindas do LACEN.

No cenário atual, as linhagens dominantes são BA.1 e BA.2 (ambas da variante Ômicron), contudo as amostras identificadas possuem padrões discordantes de ambas. Os resultados obtidos levantam a possibilidade da identificação de uma nova linhagem filogenética, até então desconhecida. Para sanar essa suspeita, toda a equipe responsável pela triagem e processamento da amostra foi acionada para investigar o caso e o relatório a ser enviado foi retido até a conclusão das suspeitas.

Considerando a situação descrita acima descreva quais ações devem ser tomadas pela equipe responsável pela triagem, processamento e análise das amostras, a fim de resolver a situação.

Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

Digite sua resposta aqui

Responder

Leitura Complementar
[DINIZ \(2017\)](#)

Leitura Complementar
[BIOINFORMATICS \(2022\)](#)

identificação de uma nova linhagem filogenética, até então desconhecida. Para sanar essa suspeita, toda a equipe responsável pela triagem e processamento da amostra foi acionada para investigar o caso e o relatório a ser enviado foi retido até a conclusão das suspeitas.

Considerando a situação descrita acima descreva quais ações devem ser tomadas pela equipe responsável pela triagem, processamento e análise das amostras, a fim de resolver a situação.

[Comando] Digite sua resposta:

Max. 500 caracteres (0 usados)

[Campo] Digite sua resposta aqui

[Botão] Responder

Leitura Complementar

[DINIZ \(2017\)](#)

Leitura Complementar

[BIOINFORMATICS \(2022\)](#)

Módulo 3 - Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais

Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica

Subtópico: Bioinformática e Análise de Dados Gerados

Página 6/6 – Avaliação formativa 31 – Feedback

☑ Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 31

Solução

Aproveitando o caso de Maria apresentado agora, pode-se observar que, imediatamente, o coordenador do Centro de vigilância genômica deve buscar informações junto ao LACEN e à equipe para verificar se algo poderia ter ocorrido durante a manipulação da amostra ou para investigar se houve alguma possível falha no preparo da biblioteca ou no sequenciamento propriamente dito. As informações devem ser repassadas ao coordenador, certificando de que todas as etapas foram satisfatoriamente cumpridas até o processo de preparo das bibliotecas localmente, investigando, assim, se algo aconteceu durante a análise dos genomas, E, acionando os envolvidos para colaborarem com o processo de investigação de cada passo da análise dos dados. Analisando a postura de Maria identificamos os seguintes passos:

Passo 1

Primeiro, Maria verificou a qualidade dos dados de sequenciamento. Para isso, ela observou o relatório de dados gerado pela ferramenta Fastp.

Conteúdo do Tópico: Resolução de situações relacionadas a vigilância genômica – Subtópico: Bioinformática e Análise de Dados Gerados – Página 6/6 – Avaliação formativa 31 – Feedback:

[Mensagem] Você concluiu esta tarefa

Comentários da Avaliação Formativa 31

Solução

Aproveitando o caso de Maria apresentado agora, pode-se observar que, imediatamente, o coordenador do Centro de vigilância genômica deve buscar informações junto ao LACEN e à equipe para verificar se algo poderia ter ocorrido durante a manipulação da amostra ou para investigar se houve alguma possível falha no preparo da biblioteca ou no sequenciamento propriamente dito. As informações devem ser repassadas ao coordenador, certificando de que todas as etapas foram satisfatoriamente cumpridas até o processo de preparo das bibliotecas localmente, investigando, assim, se algo aconteceu durante a análise dos genomas, E, acionando os envolvidos para colaborarem com o processo de investigação de cada passo da análise dos dados. Analisando a postura de Maria identificamos os seguintes passos:

Passo 1

Primeiro, Maria verificou a qualidade dos dados de sequenciamento. Para isso, ela observou o relatório de dados gerado pela ferramenta Fastp.

Relatório de qualidade da ferramenta FastP

fastp report

Summary	
General	
fastp version:	0.20.1 (https://github.com/openscience/fastp)
sequencing:	paired end (150 cycles + 150 cycles)
mean length before filtering:	150bp, 150 bp
mean length after filtering:	149bp, 149bp
duplication rate:	3.531216%
insert size peak:	0
Before filtering	
total reads:	218.266000 K
total bases:	32.739900 M
Q20 bases:	31.213383 M (95.337441%)
Q30 bases:	29.576549 M (90.337933)
GC content:	37.963580%
After filtering	
total reads:	218.266000 K
total bases:	32.731137 M
Q20 bases:	31.209541 M (95.351228%)
Q30 bases:	29.574246 M (90.355083)
GC content:	37.963206%
Filtering result	
reads passed filters:	218.266000 k (100.000000%)
reads with low quality:	0 (0.000000%)
reads with too many N:	0 (0.000000%)
reads too short:	0 (0.000000%)

Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. *In: Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)*. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

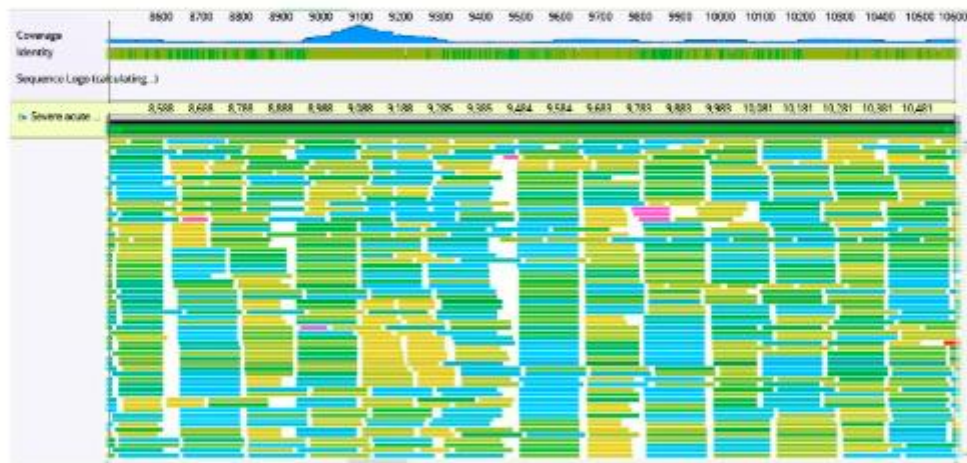
[Título da imagem 1] Relatório de qualidade da ferramenta FastP

[Fonte da imagem 1] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. *In: Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)*. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Passo 2

Em seguida, ela verificou os dados de alinhamento dos genomas, verificou que as coberturas estavam > 95%, e as profundidades > 100x para todas as amostras, o que atesta uma qualidade adequada. Também abriu o arquivo BAM de alinhamento na ferramenta Geneious para visualizá-lo.

Imagem arquivo BAM



Fonte: MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Passo 2

Em seguida, ela verificou os dados de alinhamento dos genomas, verificou que as coberturas estavam > 95%, e as profundidades > 100x para todas as amostras, o que atesta uma qualidade adequada. Também abriu o arquivo BAM de alinhamento na ferramenta Geneious para visualizá-lo.

[Título da imagem 2] Imagem arquivo BAM

[Fonte da imagem 2] **Fonte:** MIYAJIMA, Fabio; MOTTA, Fernando; CAMPOS, Tulio. Curso Vigilância Genômica Aplicada às Doenças Infecciosas e Virais. Módulo 3: Aplicação de conhecimentos metodológicos na resolução de problemas laboratoriais. Unidade 2. In: **Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG)**. Brasília/DF: UNA-SUS. Fiocruz, 2023.

Passo 3

Depois, Maria verificou as sequências de consenso. Ela observou que algumas mutações que determinavam a linhagem Ômicron estavam presentes no consenso. Então, alinhou as sequências consenso que haviam dado problema com outras previamente conhecidas, principalmente com as sublinhagens BA.1 e BA.2 da Ômicron — que estavam em circulação na ocasião. Maria verificou que as sequências geradas no sequenciamento eram muito similares às BA.1 e BA.2 em circulação. Como, ainda, todas eram classificadas como "Desconhecidas" pelo classificador de linhagens Pangolin?

Passo 4

Passo 3

Depois, Maria verificou as sequências de consenso. Ela observou que algumas mutações que determinavam a linhagem Ômicron estavam presentes no consenso. Então, alinhou as sequências consenso que haviam dado problema com outras previamente conhecidas, principalmente com as sublinhagens BA.1 e BA.2 da Ômicron — que estavam em circulação na ocasião. Maria verificou que as sequências geradas no sequenciamento eram muito similares às BA.1 e BA.2 em circulação. Como, ainda, todas eram classificadas como "Desconhecidas" pelo classificador de linhagens Pangolin?

Passo 4

Assim, Maria suspeitou que poderia haver um problema no classificador de linhagens Pangolin. Dessa forma, ela buscou analisar sequências antigas, que já haviam sido classificadas e publicadas como BA.1 e BA.2. Bingo! O Pangolin, também classificou essas sequências como "Desconhecidas". Ou seja, Maria descobriu que havia algum problema na ferramenta de classificação de linhagens Pangolin.

Maria então foi buscar informações com desenvolvedores e usuários do Pangolin, por meio de um fórum na web. Ela descobriu que havia um problema na atualização da base de dados de linhagens do software, cujo efeito era esse erro.

De fato, a base de dados local havia sido atualizada recentemente. Ela confirmou que outros enfrentavam o mesmo problema, o que confirmou sua hipótese. Poucas horas depois, a base de dados corrigida foi disponibilizada pelos desenvolvedores, e a informação foi publicada nas redes sociais. Maria atualizou a base de dados do Pangolin do seu local de trabalho e reclassificou as amostras problemáticas.

Não houve surpresas em relação a novas linhagens, já que todas foram classificadas como BA.1 ou BA.2, correspondendo com a situação atual no Estado naquele momento. O relatório foi então enviado à Secretaria de Saúde e o mistério foi resolvido. Além disso, Maria estabeleceu que as atualizações de todos os softwares no fluxo de trabalho deveriam ser rigorosamente avaliadas antes de serem utilizadas na rotina de análise de vigilância genômica.

Fonte: DINIZ, W. J. S.; CANDURI, F. REVIEW-ARTICLE *Bioinformatics: an overview and its applications*. *Genet Mol Res*, [S.l.], ano 1, v. 16, 2017. Disponível em: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28301675/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

🎉 Você respondeu essa questão!

Assim, Maria suspeitou que poderia haver um problema no classificador de linhagens Pangolin. Dessa forma, ela buscou analisar sequências antigas, que já haviam sido classificadas e publicadas como BA.1 e BA.2. Bingo! O Pangolin, também classificou essas sequências como "Desconhecidas". Ou seja, Maria descobriu que havia algum problema na ferramenta de classificação de linhagens Pangolin.

Maria então foi buscar informações com desenvolvedores e usuários do Pangolin, por meio de um fórum na web. Ela descobriu que havia um problema na atualização da base de dados de linhagens do software, cujo efeito era esse erro.

De fato, a base de dados local havia sido atualizada recentemente. Ela confirmou que outros enfrentavam o mesmo problema, o que confirmou sua hipótese. Poucas horas depois, a base de dados corrigida foi disponibilizada pelos desenvolvedores, e a informação foi publicada nas redes sociais. Maria atualizou a base de dados do Pangolin do seu local de trabalho e reclassificou as amostras problemáticas.

Não houve surpresas em relação a novas linhagens, já que todas foram classificadas como BA.1 ou BA.2, correspondendo com a situação atual no Estado naquele momento. O relatório foi então enviado à Secretaria de Saúde e o mistério foi resolvido. Além disso, Maria estabeleceu que as atualizações de todos os softwares no fluxo de trabalho deveriam ser rigorosamente avaliadas antes de serem utilizadas na rotina de análise de vigilância genômica.

Fonte: DINIZ, W. J. S.; CANDURI, F. REVIEW-ARTICLE *Bioinformatics: an overview and its applications*. *Genet Mol Res*, [S.l.], ano 1, v. 16, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28301675/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

	[Mensagem] Você respondeu essa questão!
Unidade 2 - Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG) Comentário Final da Unidade 2	Conteúdo do comentário: Unidade 2 - Metodologias e fluxo laboratorial da Vigilância Genômica (VG) Comentário Final da Unidade 2 Página 1/1 Comentário dos Autores No módulo 1 desta unidade, você aprendeu a respeito das aplicações das metodologias para a realização da vigilância genômica (VG). Esperamos que ao fim dessa etapa você tenha aprendido a importância da fase pré-analítica laboratorial para a vigilância genômica, entendendo os cuidados e métodos assertivos para coleta, identificação e processamento de cada tipo de amostra clínica, uma vez que foram ressaltadas as boas práticas para trabalho em biossegurança com esse tipo de material biológico. Você aprendeu também várias abordagens de diagnóstico laboratorial e que todos os métodos têm suas vantagens e limitações, sendo, muitas vezes, necessária a competência técnica para avaliar a metodologia mais aplicável conforme o objetivo do fluxo laboratorial, da urgência de resultados e da capacidade laboratorial instalada. Ainda no módulo 1, viu as principais estratégias de vigilância genômica, como o Sequenciamento de Nova

📄 Comentário dos Autores

No módulo 1 desta unidade, você aprendeu a respeito das aplicações das metodologias para a realização da vigilância genômica (VG). Esperamos que ao fim dessa etapa você tenha aprendido a importância da fase pré-analítica laboratorial para a vigilância genômica, entendendo os cuidados e métodos assertivos para coleta, identificação e processamento de cada tipo de amostra clínica, uma vez que foram ressaltadas as boas práticas para trabalho em biossegurança com esse tipo de material biológico.

Você aprendeu também várias abordagens de diagnóstico laboratorial e que todos os métodos têm suas vantagens e limitações, sendo, muitas vezes, necessária a competência técnica para avaliar a metodologia mais aplicável conforme o objetivo do fluxo laboratorial, da urgência de resultados e da capacidade laboratorial instalada.

Ainda no módulo 1, viu as principais estratégias de vigilância genômica, como o Sequenciamento de Nova Geração (NGS) e as etapas posteriores ao sequenciamento, imprescindíveis para o processamento e análise dos dados produzidos e requer conhecimento integrado da área biomédica e computacional.

Depois de aprender a respeito das aplicações das metodologias para a realização da vigilância genômica (VG), você avançou no módulo 2 para as etapas e o fluxo laboratorial da VG. Além dos cuidados de biossegurança e da manipulação das amostras na fase pré-analítica que você aprendeu, foi apresentado todo o fluxo de trabalho e os controles de qualidade necessários à realização da vigilância. Todas essas fases do fluxo são avaliadas com requisitos de controle de qualidade criteriosos que foram detalhados.

Lembre-se que sem esses controles, o processo todo pode ser invalidado. Aprofundamos as estratégias e os fluxos de trabalho necessários para atendimento às demandas de saúde pública. A pandemia de COVID-19 nos ensinou que precisamos estar preparados para cumprir esse trabalho em qualquer emergência sanitária enfrentada.

Já no módulo 3, você aprendeu como solucionar situações relacionadas ao diagnóstico molecular e à vigilância genômica. Foram apresentados contextos laboratoriais reais e tomadas de decisões resolutivas.

Com esse módulo prático, que objetivou aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de problemas, encerramos a base teórica deste recurso educacional e apresentamos para a próxima etapa questões que abrangem todo o conteúdo ofertado, almejando a fixação dos assuntos cuidadosamente oferecidos.

Parabéns por sua chegada firme até aqui!

Geração (NGS) e as etapas posteriores ao sequenciamento, imprescindíveis para o processamento e análise dos dados produzidos e requer conhecimento integrado da área biomédica e computacional.

Depois de aprender a respeito das aplicações das metodologias para a realização da vigilância genômica (VG), você avançou no módulo 2 para as etapas e o fluxo laboratorial da VG. Além dos cuidados de biossegurança e da manipulação das amostras na fase pré-analítica que você aprendeu, foi apresentado todo o fluxo de trabalho e os controles de qualidade necessários à realização da vigilância. Todas essas fases do fluxo são avaliadas com requisitos de controle de qualidade criteriosos que foram detalhados.

Lembre-se que sem esses controles, o processo todo pode ser invalidado. Aprofundamos as estratégias e os fluxos de trabalho necessários para atendimento às demandas de saúde pública. A pandemia de COVID-19 nos ensinou que precisamos estar preparados para cumprir esse trabalho em qualquer emergência sanitária enfrentada.

Já no módulo 3, você aprendeu como solucionar situações relacionadas ao diagnóstico molecular e à vigilância genômica. Foram apresentados contextos laboratoriais reais e tomadas de decisões resolutivas.

Com esse módulo prático, que objetivou aplicar conhecimentos metodológicos na resolução de problemas, encerramos a base teórica deste recurso educacional e apresentamos para a próxima etapa questões que abrangem todo o conteúdo ofertado, almejando a fixação dos assuntos cuidadosamente oferecidos.

	Parabéns por sua chegada firme até aqui!