



Concurso Público Fiocruz 2023

Pesquisador em Saúde Pública

Prova Discursiva

PE51

Microbiologia Básica e Molecular aplicada a Bactérias e Protozoários causadores de Zoonoses

Espelho de Resposta

Pontuação de cada Questão Discursiva conforme Anexo II do Edital nº 3, de acordo com a Unidade detentora da vaga.

Espera-se que o candidato, no desenvolvimento do tema, tenha feito considerações técnicas adequadas sobre os seguintes pontos:

Questão 01

1- Exemplos de aplicações:

Reconstrução epidemiológica para inferência de redes de transmissão; estudo de fluxo gênico entre populações de diferentes hospedeiros; redesenho de antígenos aplicados ao diagnóstico e a vacinas; identificação de variantes associadas a falhas terapêuticas; identificação de variantes associadas à progressão da doença

2- Mencionar as técnicas parasitológicas usadas no isolamento do parasito. Cultivo. Extração de DNA. Análise de qualidade do DNA extraído. Construção das bibliotecas de sequenciamento. Sequenciamento do DNA por técnicas NGS.

3- Exemplos: Estudo de genomas de isolados de campo em diferentes contextos, como por exemplo, isolados obtidos de diferentes áreas endêmicas do país, ou estudos temporais em uma mesma área. Isolados associados à resistência ao tratamento quimioterápico. Isolados obtidos de pacientes ou cães com diferentes evoluções clínicas; Análises: filogenéticas/ filogenômicas; estudos de associação com diferentes formas clínicas e/ou resistência terapêutica; identificação de polimorfismos em antígenos aplicados ao diagnóstico e a vacinas, seguido de redesenho dos antígenos.

4- Racional: Incorporar os estados e municípios sem ocorrência de casos humanos ou caninos nas ações de vigilância e controle, a fim de evitar ou minimizar os problemas referentes à doença em novas áreas.

Possíveis ações práticas:

- Levantamento entomológico para verificar a ocorrência de *L. longipalpis* e/ou *L. cruzi*, em áreas sem ocorrência de LV, consideradas vulneráveis, ou seja, vizinhas a áreas com registro de casos, que possuem fluxo migratório intenso ou que fazem parte do mesmo eixo viário de municípios com casos de LV;

- Inquérito sorológico de cães em áreas receptivas (com ocorrência dos vetores acima citados);
- Em cão reativo em área receptiva, confirmar parasitológico e espécie de *Leishmania* circulando na área;
- Considerando a transmissão autóctone no cão, realizar busca ativa de cães com suspeita clínica;
- Treinar profissionais para diagnóstico precoce e tratamento;
- Desenvolver atividades de educação e saúde junto à população;
- Eutanásia ou tratamento de cães com diagnóstico positivo com milteforan.

Questão 02

- a) Definir uma sequência de inserção e como é seu mecanismo de inserção em um genoma; descrever que as sequências de inserção são capazes de corromper/interromper sequências gênicas da bactéria ao se inserir na região codificadora de proteínas de um gene ou na sua região promotora (ou do seu operon), levando assim ao surgimento de pseudogenes ou genes com alterações em sua expressão gênica, respectivamente; descrever as sequências de inserção podem também levar a rearranjos gênicos, deleções e duplicações por mecanismos de recombinação que devem ser brevemente descritos; descrever que outros mecanismos genéticos que contribuem para modulação de conteúdo gênico em bactérias que não estão sujeitas a transferência horizontal de genes como a *Y. pestis* e o complexo *M. tuberculosis* são as *frameshifts* causadas por indels (inserções e deleções) e mutações sem sentido (do inglês, *nonsense*) que levam ao truncamento gênico e formação de pseudogenes.
- b) Descrever parâmetros de qualidade normalmente avaliados por software de controle de qualidade como, por exemplo, FastQC, e como devem ser interpretados. Esses parâmetros incluem: presença de adaptadores, número total de sequências e bases [em relação ao tamanho esperado do genoma (cobertura)], qualidade da sequência por base (escala de phred), escores de qualidade por sequência, percentual de GC, nível de duplicação de sequências, conteúdo de N por base, distribuição do tamanho da leitura, sequências duplicadas, sequências super-representadas, *matching pairs* (no caso de sequenciamento *paired-end*), cobertura, dentre outros. Descrever análises para verificar contaminação com outras bactérias, pelo uso de ferramentas como Kraken, por exemplo. Percentual de leituras mapeadas contra genoma de referência e percentual do genoma de referência mapeado. Trimagem por qualidade, se necessário, com avaliação de parâmetros de qualidade antes e após a trimagem.
- c) Definir CRISPRi; descrever que CRISPRi usa um sistema de CRISPR-Cas modificado, explicando o que é a dCas (do inglês, *dead Cas*, Cas morta cataliticamente); descrever a necessidade de um RNA guia complementar à sequência promotora e/ou codificante do gene alvo que se deseja reprimir; descrever a ocorrência da ligação e bloqueio da região alvo pela dCas, reduzindo ou silenciando a expressão gênica; descrever que é possível ajustar a regulação gênica para os níveis desejados.