



FIOCRUZ

Concurso Público Fiocruz 2023

Tecnologista em Saúde Pública

Prova Objetiva e Discursiva

TE10

Diagnóstico Molecular



Prova Objetiva

01. Segundo a legislação vigente, para o registro de produtos de diagnóstico *in vitro* de Classe de Risco IV junto à ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), o dossiê técnico, quando aplicável, deve conter estudos de desempenho que contemplem a sensibilidade analítica, definida por:

- (A) capacidade de um método analítico determinar somente o analito frente a outras substâncias presentes na amostra.
- (B) percentual de resultados negativos obtidos quando o analito não está presente na amostra, reconhecendo a ausência de uma determinada doença ou condição.
- (C) qualidade de um produto referente à manutenção de suas características essenciais durante um espaço de tempo e condições previamente estabelecidas.
- (D) capacidade de um método analítico obter resultados positivos frente a resultados positivos obtidos pelo método de referência. A menor quantidade do analito que pode ser mensurada.
- (E) percentual de resultados positivos obtidos quando o analito está presente na amostra, reconhecendo a presença de uma doença ou condição.

02. Segundo a Portaria de Consolidação 5/2017 e Nota Técnica 49/2023 – Anexo IV Art. 57. Para malária, a inaptidão de candidato à doação de sangue deve ocorrer usando-se, como critério de referência, a Incidência Parasitária Anual (IPA) do Município. Nas áreas endêmicas, considera-se inapto o candidato que atenda a, pelo menos, um dos seguintes requisitos: tenha tido malária nos 12 meses que antecedem a doação; tenha apresentado sinais e sintomas de malária nos últimos 30 dias; ou tenha se deslocado, ou seja, procedente de área de alto risco (IPA maior que 49,9) há menos de 30 dias. Quanto à detecção de ácido nucleico do *Plasmodium ssp* na triagem de doadores é INCORRETO:

- (A) aumentar a possibilidade de doações de sangue no âmbito Nacional.
- (B) reduzir o período de inaptidão dos doadores.
- (C) aumentar o tempo de liberação da bolsa para transfusão.
- (D) devem ser capazes de detectar as espécies *Plasmodium vivax*, *P. falciparum* e *P. malariae*, os testes de detecção de antígenos plasmodiais e de ácidos nucleicos (NAT).
- (E) será considerado inapto definitivo o candidato que teve infecção por "*Plasmodium malariae*", independentemente da endemicidade da área.

03. A sigla RUO ("Research Use Only") é utilizada para identificar produtos de uso exclusivo em pesquisa e, portanto, não é considerado produto para diagnóstico *in vitro* (IVD) de uso comercial. No Brasil, os órgãos regulatórios vêm trabalhando ativamente para regulamentar o diagnóstico molecular. É correto afirmar que produtos:

- (A) desenvolvidos com base nas documentações de BPL (Boas Práticas de Laboratório) são considerados IVD.
- (B) desenvolvidos com base nas documentações de BPF (Boas Práticas de Fabricação) sem registro, são considerados IVD, passíveis de comercialização no mercado nacional.
- (C) desenvolvidos com base nas documentações de BPF (Boas Práticas de Fabricação) são registrados na Vigilância Sanitária (VISA) Estado/Município.
- (D) com registro indeferido, durante o processo de análise da documentação podem temporariamente ser comercializados.
- (E) com registro junto ao órgão regulador são considerados produtos passíveis de comercialização no mercado nacional.

04. A RDC 786/2023, dispõe sobre os requisitos técnico-sanitários para o funcionamento de Laboratórios Clínicos, de Laboratórios de Anatomia Patológica e de outros Serviços que executam as atividades relacionadas aos Exames de Análises Clínicas (EAC) e dá outras providências. O procedimento conduzido em associação com o exame de material biológico para avaliar a precisão do sistema analítico e se este está operando dentro dos limites de tolerância pré-definidos é denominado (a):

- (A) controle da qualidade.
- (B) controle interno da qualidade.
- (C) garantia da qualidade.
- (D) controle externo da qualidade.
- (E) gestão da qualidade.

05. Segundo a RDC nº 786/2023, Laboratório Clínico é definido por estabelecimento assistencial de saúde (EAS) que executa as atividades relacionadas aos exames de análises clínicas, compreendendo as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica. Sobre a fase analítica, é correto afirmar que:

- (A) o laboratório deve utilizar meios que não permitam a rastreabilidade de toda a fase analítica preservando, assim, a identidade do paciente.
- (B) é a fase que se inicia após a obtenção de resultados válidos das análises e finda com a emissão do laudo e providências de comunicação, para emissão de laudo e interpretação pelo médico.
- (C) é o conjunto de processos, com descrição específica, utilizado na realização das análises de acordo com determinado método.
- (D) é a fase que se inicia com a solicitação da análise, passando pela obtenção do material biológico, e finda ao se iniciar a análise propriamente dita.
- (E) é a fase que se inicia antes da obtenção dos resultados válidos das análises e finda com a emissão do laudo.

06. Em relação às Auditorias de Qualidade, conforme RDC 665/2022, é correto afirmar que:

- (A) devem ser conduzidas por pessoas comprovadamente treinadas, que tenham responsabilidade direta pelas matérias que estão sendo objeto da auditoria.
- (B) os responsáveis pelas áreas auditadas não devem ser notificados acerca de não conformidades identificadas na área auditada.
- (C) os intervalos das auditorias da qualidade devem ser obrigatoriamente semestrais.
- (D) a programação das auditorias da qualidade é realizada segundo a disponibilidade de pessoal independente sobre o serviço para sua realização.
- (E) são independentes de todo o sistema de qualidade de um fabricante, realizadas com frequência suficiente para assegurar que, tanto as atividades do sistema de qualidade, quanto seus resultados satisfaçam os procedimentos especificados em seu sistema de qualidade.

07. Organização, realização e avaliação de medições ou ensaios nos mesmos ou em itens similares por dois ou mais laboratórios, de acordo com as condições predeterminadas é denominado de:

- (A) controle da qualidade.
- (B) controle interno da qualidade.
- (C) controle externo da qualidade.
- (D) provedor de ensaio de proficiência
- (E) comparação interlaboratorial.

08. Um pesquisador necessita solicitar a síntese de novos iniciadores para o desenvolvimento de um novo ensaio diagnóstico. Baseado na sequência 5' TAC AGT TTG CGA T 3', a sequência correta de iniciador que corresponde a ordem de bases nitrogenadas do iniciador reverso a ser solicitado é:

- (A) 5' ATC GCA AAC TGT A 3'.
- (B) 3' UAC ACU UUG CGA U 5'.
- (C) 5' UAC ACU UUG CGA U 3'.
- (D) 3' ATC GCA AAC TGT A 5'.
- (E) 3' TAC AGT TTG TGA T 5'.

09. Para a prevenção do risco de contaminação dentro de um laboratório de biologia molecular é INCORRETO afirmar que:

- (A) separar as salas de pré-PCR e pós-PCR.
- (B) realizar a rotina em fluxo de trabalho unidirecional.
- (C) realizar a rotina de protocolo de limpeza.
- (D) processar amostras no PCR digital.
- (E) utilizar materiais descartáveis e de uso único.

10. Estudos de desempenho são realizados na avaliação de um produto para diagnóstico *in vitro* com base em dados disponíveis e investigações laboratoriais ou clínicas para determinação de características como: sensibilidade, especificidade, repetibilidade e reprodutibilidade. Entende-se por especificidade clínica ou diagnóstica:

- (A) os resultados de sucessivas medições de um mesmo analito em condições operacionais inalteradas.
- (B) o percentual de resultados negativos obtidos quando o analito não está presente na amostra, reconhecendo a ausência de uma determinada doença ou condição.
- (C) os resultados de sucessivas medições de um mesmo analito em condições operacionais distintas.
- (D) a capacidade de um método analítico determinar somente o analito frente a outras substâncias presentes nas amostras.
- (E) o percentual de resultados positivos obtidos quando o analito está presente na amostra, reconhecendo a presença de uma determinada doença ou condição.

11. Para assegurar que produtos não conformes com os requisitos da RDC 665/2022 previamente estabelecidos não sejam utilizados, cada fabricante deve realizar um conjunto ações, é INCORRETO afirmar que deve:

- (A) avaliar somente os materiais de fabricação.
- (B) investigar e notificar pessoas envolvidas na não conformidade.
- (C) investigar a causa raiz.
- (D) estabelecer e manter procedimentos para segregação de material.
- (E) assegurar que os produtos devolvidos sejam segregados.

12. Segundo a RDC 786/2023, a utilização de reagentes, insumos e produtos para diagnóstico *in vitro* e suas condições de preservação e armazenamento devem respeitar as recomendações de uso do fabricante. É correto afirmar que:

- (A) não é permitida a revalidação dos reagentes depois de expirada a validade.
- (B) após revalidação deve ser atualizada a data no rótulo.
- (C) a realização dos ensaios com a mistura de reagentes de lotes diferentes.
- (D) a redução do período de análise após validação pelo serviço.
- (E) armazenamento em local não discriminado na instrução de uso.

13. É de extrema importância a aplicação sistemática de políticas, procedimentos e práticas de gerenciamento às tarefas de análise, avaliação, controle e monitoramento de riscos associados a determinado produto ou processo. Sobre o gerenciamento de risco é correto afirmar que:

- (A) cada fabricante deve estabelecer e manter um processo contínuo de gerenciamento de risco que envolva a parte mais crítica do ciclo de vida de um produto para diagnóstico de uso *in vitro*.
- (B) o gerenciamento de risco não é um processo contínuo, desde a concepção do produto até sua data de validade.
- (C) o processo de gerenciamento de risco deve incluir somente a análise e o monitoramento do risco.
- (D) a gerência executiva da empresa deve designar os profissionais responsáveis, estabelecer a política para determinação dos critérios para aceitabilidade do risco, bem como determinar uma revisão periódica das atividades de gerenciamento de risco, a fim de garantir a eliminação dos riscos.
- (E) o processo contínuo de gerenciamento de risco deve incluir a análise, avaliação, controle e monitoramento do risco.

14. Segundo a RDC nº 665/2022 cada fabricante deve estabelecer e manter um processo contínuo de gerenciamento de risco para:

- I - identificar os perigos associados.
- II - estimar e avaliar os riscos envolvidos.
- III - sublevar os riscos associados.
- IV - avaliar a efetividade dos controles estabelecidos.
- V - eliminar os riscos.

É correto afirmar que:

- (A) apenas I, II e V estão corretas.
- (B) apenas I, II e IV estão corretas.
- (C) todas estão corretas.
- (D) apenas I, II, III e V estão corretas.
- (E) apenas I e V estão corretas.

15. Com relação aos documentos e registros da qualidade, é INCORRETO afirmar que:

- (A) cada fabricante deve assegurar que todos os documentos estejam atualizados e disponíveis nos locais de aplicação.
- (B) todos os documentos desnecessários ou obsoletos devem ser retirados de uso, ou protegidos do uso não intencional.
- (C) deve ser mantida a relação de documentos vigentes, de forma a identificar a situação atual dos documentos e assegurar que estejam em uso apenas documentos atuais e aprovados.
- (D) todos os documentos e registros necessários relativos a um produto devem ser mantidos por um período de tempo inferior a dois anos.
- (E) todos os documentos e registros arquivados digitalmente devem ter cópia de segurança.

16. Segundo a BPF (Boas Práticas de Fabricação) cada fabricante deve projetar, conduzir, controlar e monitorar todos os processos de produção, a fim de assegurar que o produto esteja em conformidade com suas especificações. Quanto às instalações da empresa fabricante de produtos para diagnóstico *in vitro*, as áreas devem ser adequadamente projetadas é INCORRETO:

- (A) manter as condições ambientais adequadas às operações de produção, de forma a prevenir a contaminação ou outros efeitos adversos sobre o produto.
- (B) propiciar o desempenho de todas as operações.
- (C) permitir no processo produtivo a redução de etapas de produção.
- (D) prevenir trocas ou contaminação dos componentes, materiais de fabricação.
- (E) prevenir a troca de produtos acabados, produtos intermediários e assegurar o correto manuseio desses materiais.

17. De acordo com o impacto na qualidade do produto final, cada fabricante deve estabelecer e manter critérios para avaliação de fornecedores. Dentre os critérios que devem ser atendidos por fornecedores e fabricantes é INCORRETO:

- (A) estabelecer critérios para avaliação de fornecedores conforme sua capacidade em atender os requisitos previamente estabelecidos.
- (B) aprovar digitalmente fornecedor de matéria prima não avaliado.
- (C) manter os registros das avaliações de fornecedores, bem como seus resultados.
- (D) documentar o acordo entre fornecedor e fabricante sobre a notificação de qualquer alteração no produto adquirido.
- (E) revisar e aprovar os documentos de compra antes de sua liberação.

18. Quanto aos critérios de classificação de risco dos agentes biológicos, destacam-se a infectividade, a patogenicidade e a virulência dos agentes biológicos, bem como a disponibilidade de medidas terapêuticas e profiláticas eficazes, modo de transmissão, estabilidade do agente, origem do material potencialmente patogênico, dose infectante, manipulação e eliminação do agente patogênico. Sobre os agentes infecciosos HIV, HBV, HCV e *Plasmodium ssp* é correto afirmar que:

- (A) todos os agentes pertencem a classe de risco 3.
- (B) os agentes HIV e o *Plasmodium ssp* pertencem as classes de risco 3 e 4, respectivamente.
- (C) os agentes *Plasmodium ssp* e HIV pertencem as classes de risco 2 e 3, respectivamente.
- (D) os agentes HCV e o *Plasmodium ssp* pertencem as classes de risco 2, HIV e HBV pertencem as classes de risco 3.
- (E) os agentes HCV e HIV pertencem as classes de risco 2 e 4, respectivamente.

19. Para fins de regularização junto a ANVISA, os produtos para diagnóstico de uso *in vitro* são enquadrados em 4 classes de risco (Classe I, II, III e IV). São pertencentes à Classe IV os produtos de alto risco ao indivíduo e a saúde pública incluindo os reagentes e dispositivos com a finalidade de detectar a presença de ou a exposição a agente transmissível pelo sangue como por exemplo, o HIV. A classificação de risco dos produtos para diagnóstico *in vitro* é baseada nos seguintes critérios, EXCETO:

- (A) indicação de uso especificada pelo fabricante.
- (B) importância da informação fornecida ao diagnóstico.
- (C) conhecimento técnico, científico ou médico do fabricante.
- (D) relevância e impacto do resultado para o indivíduo e para a saúde pública.
- (E) relevância epidemiológica.

20. A RDC 36/2015 se aplica aos produtos para diagnóstico *in vitro* fabricados em território nacional e àqueles fabricados em outros países que venham a ser importados para o Brasil. Entretanto, essa resolução NÃO se aplica:

- (I) aos reagentes isolados comercializados como insumos para fabricação de produtos para diagnóstico *in vitro*.
- (II) aos produtos de uso exclusivo em pesquisa, incluindo os importados e rotulados como RUO – “Research Use Only”.
- (III) aos softwares para diagnóstico *in vitro* não embarcados nos equipamentos, os quais são tratados em regulamento específico.
- (IV) aos reagentes e materiais de referência destinados especificamente à avaliação de qualidade em testes de proficiência ou intralaboratoriais.
- (V) aos reagentes ou conjuntos de reagentes montados nos laboratórios de análises clínicas para serem utilizados exclusivamente na mesma instituição, seguindo protocolos de trabalho definidos, sendo proibida sua comercialização ou doação.

De cima para baixo, as afirmativas acima VERDADEIRAS são:

- (A) I, II, III e V.
- (B) I, II, III, IV e V.
- (C) II, III, IV.
- (D) II, III e V.
- (E) II, III e IV.

21. A extração de ácidos nucleicos, isolamento do DNA ou RNA, é um processo que pode ser realizado em diferentes tipos de amostras. Existem vários métodos, cada um deles é destinado a aplicações distintas. A metodologia usada para detecção de um vírus com genoma RNA, por exemplo, pode não ser a mais adequada para fins diagnósticos ou para a prática de PCR de protozoários. Assim, os métodos podem ter diferentes desempenhos sobre a extração de ácidos nucleicos, purificando o material para realizar uma análise adequada. Baseado nos conceitos de extração de ácidos nucleicos, é INCORRETO afirmar que:

- (A) dependendo do protocolo de extração de ácido nucleico, pode ocorrer a extração de DNA e/ou RNA em conjunto ou separada.
- (B) a extração de ácidos nucleicos, caso seja padronizada, pode apresentar desempenho semelhante, independente de ser manual ou automatizada.
- (C) a extração automatizada de DNA/RNA a ser empregada na PCR em Tempo Real, com fins de diagnóstico, deve seguir um protocolo em que a obtenção de amostras de alta pureza é fundamental.
- (D) atualmente, a extração de DNA pode ser com fenol/clo-rofórmio, Trizol, sílica, partículas magnéticas, entre outros.
- (E) o volume a ser submetido à extração de DNA/RNA é muito importante, não impacta diretamente na sensibilidade da reação.

22. A necessidade de quantificação molecular de amostras se tornou rotina em numerosos patógenos virais e circunstâncias clínicas incluindo infecções crônicas como o HIV, HCV e HBV para os quais a carga viral pode indicar a progressão da infecção e a resposta do paciente à terapia. Entretanto, o cálculo da carga viral para uma amostra pode variar significativamente entre diferentes ensaios PCR em Tempo Real quantitativo. A alternativa que NÃO explica a variação é:

- (A) os cálculos da carga viral foram validados quanto à reprodutibilidade e comutabilidade interensaios.
- (B) a discordância pode ser resultado da semelhança nas sequências de primers/sondas.
- (C) foram utilizadas metodologias alternativas de extração de DNA/RNA.
- (D) tipo de equipamento de PCR utilizado.
- (E) tipo de amostra (sangue total x plasma).

23. Em setembro de 2022 foi manchete no mundo e no Jornal O Globo: “Poliomielite: Nova York declara estado de emergência após detectar vírus em esgoto. Patógeno já foi encontrado em cinco condados do estado depois de um homem não vacinado ter sido diagnosticado com a paralisia, no primeiro caso dos EUA em quase uma década.” A Organização Mundial de Saúde orienta que a vigilância ambiental forneça um alerta precoce sobre vírus em circulação na população e recomenda testes em águas residuais não tratadas como parte da vigilância ambiental. A metodologia que NÃO é recomendada para esta finalidade é:

- (A) PCR em Tempo Real “one step”.
- (B) PCR digital.
- (C) sequenciamento.
- (D) PCR digital em Tempo Real quantitativo.
- (E) PCR “two steps”.

24. A descoberta da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR – “Polymerase Chain Reaction”) em 1986 permitiu consolidar nas últimas duas décadas o desenvolvimento de novas linhas de pesquisa básica e aplicada na área de reativos para diagnóstico. Esta técnica permite, a partir de uma pequena quantidade de ácido nucleico, amplificar diversas vezes em escala exponencial a região alvo aumentando a quantidade de material a ser analisada viabilizando assim a detecção da presença ou ausência de vírus, bactérias ou qualquer sequência de interesse. Baseado na metodologia de PCR para o diagnóstico, a partir da detecção de retrovírus, para um ensaio mais sensível e específico é correto afirmar que:

- (A) o PCR “one step”, com síntese de cDNA a partir do oligo iniciador reverso da reação é mais indicado.
- (B) o PCR “two steps” com síntese de cDNA a partir de random primer é mais indicado.
- (C) o PCR “one step”, com síntese de cDNA a partir de oligo dT é mais indicado.
- (D) a amplificação de DNA é mais indicada.
- (E) a amplificação de RNA é mais indicada.

25. O sequenciamento genético é uma técnica desenvolvida nos anos 70 e ganhou força em meados da década de 80 com o sequenciamento de Sanger. No entanto, foi com o surgimento do Sequenciamento de Nova Geração (NGS) que houve uma revolução na maneira de se realizar a análise do DNA. As metodologias de sequenciamento de DNA que são consideradas de nova geração:

- (A) sequenciamento terminador de cadeia, sequenciamento por síntese e sequenciamento por ligação.
- (B) sequenciamento por degradação química, sequenciamento por síntese e sequenciamento por ligação.
- (C) sequenciamento por ligação, sequenciamento por molécula única e sequenciamento por degradação química.
- (D) sequenciamento por ligação, sequenciamento por síntese e sequenciamento por molécula única.
- (E) sequenciamento por degradação química, sequenciamento por molécula única e sequenciamento terminador de cadeia.

26. As limitações dos métodos de sequenciamento de primeira geração levaram ao desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento de nova geração, que são capazes de realizar sequenciamento paralelo massivo de DNA. O sequenciamento de segunda e de terceira geração são denominados:

- (A) NNGS (New Next Generation Sequencing).
- (B) 3NGS (3° Next Generation Sequencing).
- (C) HTS (High Throughput Sequencing).
- (D) HTS (High Total Sequencing).
- (E) HNGS (High Next Generation Sequencing).

27. A implementação do Teste de Amplificação de Ácidos Nucleicos (NAT) para triagem em bancos de sangue reduz o risco transfusional de agentes virais como HIV, HCV, HBV entre outros. É correto afirmar que:

- (A) o ensaio NAT detecta a presença do material genético RNA do HIV, HCV e HBV nas amostras de plasma de doações feitas durante o período de soro-conversão, em janela imunológica ou no período de risco transfusional residual.
- (B) o ensaio NAT eliminou o risco da transmissão de infecções virais por transfusão de sangue e seus derivados.
- (C) diferentemente do teste de sorologia, o NAT não detecta a presença de anticorpos e sim do material genético do vírus, reduzindo a janela imunológica no caso do HIV de 20-22 dias para 13-15 dias, HCV de 60 dias para 20 dias e HBV de 70 dias para 10-12 dias.
- (D) o ensaio NAT é complementar a sorologia e não possui a capacidade de substituí-la.
- (E) o ensaio NAT é utilizado na triagem de bancos de sangue, sendo obrigatório na Europa, América do Norte e Ásia. Sua implementação é um consenso mundial, visa garantir a segurança transfusional e não auxilia na atualização dos dados epidemiológicos.

28. Para garantir o desempenho de um produto de diagnóstico molecular, se faz necessário o processamento de controles positivo, negativo e interno. Os controles minimizam possíveis erros técnicos, contaminações, resultados falso negativos e falso positivos, além de garantir uma avaliação do desempenho do produto. Caso um produto de diagnóstico molecular possua VLP (“Virus Like Particle”) como controle em sua composição, é correto afirmar que:

- (A) VLP de HIV são partículas virais miméticas que podem ser processadas nos ensaios de diagnóstico molecular apenas como controle interno de reação, validando a etapa de extração de ácido nucleico.
- (B) VLP de HIV são partículas virais miméticas, consideradas biosseguras por não possuírem as proteínas gp120 e gp41, responsáveis pela interação com a célula CD4 e sem capacidade replicativa.
- (C) VLP HCV são partículas virais miméticas que podem ser processadas nos ensaios de diagnóstico molecular como controle positivo e interno de reação, validando apenas a etapa de extração de ácido nucleico.
- (D) VLP são partículas virais miméticas que podem ser processadas nos ensaios de diagnóstico molecular apenas como controle interno de reação, validando todas as etapas metodológicas da reação.
- (E) VLP de HCV são partículas virais miméticas biosseguras e sem capacidade replicativa, que podem ser controle interno de reação.

29. Durante as últimas décadas, o desenvolvimento de novos insumos e equipamentos permitiram a evolução da PCR convencional para um novo sistema que amplifica e detecta os produtos de PCR em Tempo Real, tornando esta técnica a mais utilizada no momento para o diagnóstico molecular. Sobre a PCR em Tempo Real, uma inovação tecnológica resultante da PCR convencional, é correto afirmar que:

- (A) o resultado da PCR convencional é gerado após a finalização da reação, ou seja, na fase platô. Na PCR em Tempo Real o resultado é obtido na fase exponencial.
- (B) a PCR em Tempo Real é uma ferramenta de diagnóstico específica, precisa, sensível, com pouca capacidade de amplificar baixas concentrações de DNA ou RNA, reprodutível e de fácil manipulação.
- (C) diferentemente da PCR convencional, a metodologia de PCR em Tempo Real utiliza moléculas fosforescentes ou fluoróforos no sistema que monitoram a obtenção dos produtos amplificados durante cada ciclo da reação.
- (D) esta técnica combina amplificação e detecção do ácido nucleico alvo em uma única etapa, excluindo processos adicionais como: eletroforese, subsequente coloração, visualização dos produtos amplificados, análise e interpretação de resultados.
- (E) a PCR em Tempo Real é um ensaio exclusivamente quantitativo. Para a PCR em Tempo Real ser quantitativa faz-se necessário o uso de curva padrão padronizada com diferentes concentrações previamente conhecidas.

30. A técnica de amplificação em cadeia da polimerase (PCR) é composta por três etapas: desnaturação da dupla fita de DNA, anelamento dos oligonucleotídeos e extensão da cadeia. É correto afirmar que:

- (A) a desnaturação da dupla fita de DNA é gerada pelo aumento de temperatura, o anelamento dos oligonucleotídeos ocorre em sequências específicas do alvo de interesse a ser amplificado e a extensão da cadeia pela enzima Taq I DNA.
- (B) a temperatura de anelamento é específica para cada ensaio uma vez que é diretamente dependente da composição de bases (A+T e C+G), cada sequência de oligonucleotídeos possui seu próprio Tm (“Melting Temperature”- temperatura onde 60% dos oligonucleotídeos estão anelados à fita molde).
- (C) a eficiência da reação é avaliada pelo *slope*, onde $E = 10^{(-1/slope)} - 1$
- (D) a definição do Tm da reação não é um fator essencial e crítico para a realização de uma reação de PCR com desempenho satisfatório.
- (E) o número de ciclos necessários para uma reação chegar na fase exponencial independe da quantidade de material no início da reação, ou seja, quanto maior a quantidade de DNA ou RNA no início da reação menor o Ct (Ct - “Ciclo Threshold”) que será detectado.

31. Diferentes sistemas e fluorescências podem ser utilizados para a técnica de PCR em Tempo Real. Historicamente, o PCR em Tempo Real vem evoluindo em relação a quantidade de filtros e, conseqüentemente, capacidade de multiplexação de alvos. Neste sentido, um pesquisador pretende desenvolver um ensaio pentaplex, sem referência passiva, para diferenciar diferentes patógenos. Visando um ensaio diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade, a combinação de fluoróforos viável em relação ao espectro de fluorescência de um equipamento de PCR em tempo Real de 6 canais. É correto afirmar que:

- (A) FAM – VIC – TAMRA – ATTO 647N – Quasar 670.
- (B) FAM – JOE – TET – Red 610 – Quasar 670.
- (C) FAM – VIC – JOE- LIZ – Cy5.
- (D) FAM – VIC – TAMRA – Quasar 570 – Cy5.
- (E) FAM – VIC – NED – Red 610 - LIZ.

32. Em sistemas onde se usa a referência passiva, para uniformizar e normalizar a absorção da fluorescência em toda a placa, o filtro D (≈610 nm) não fica disponível para a reação multiplex. É correto afirmar que:

- (A) o valor de ΔR_n ($\Delta R_n = R_n + R_nROX$) é gerado, onde R_n é a diferença da fluorescência absorvida em um ponto de interesse somada a fluorescência da linha base (baseline).
- (B) o valor de R_n permite analisar a quantidade de fluorescência absorvida para uma determinada reação normalizado pelo sinal do ROX (referência passiva).
- (C) na avaliação de produtos de diagnóstico molecular para obtenção de registro, os ensaios não devem excluir a referência passiva.
- (D) para ensaios IVD o uso de referência passiva é de escolha do fabricante e deve constar na instrução de uso.
- (E) a fluorescência ROX somente pode ser utilizada para amplificação/detecção de alvos de produtos RUO (Research Use Only).

33. Atualmente, a PCR em Tempo Real é uma das técnicas mais utilizadas para diferentes diagnósticos e exames como: identificação de agentes infecciosos, alterações dos cromossomos, determinação de paternidade, genealogia, identificação de pessoas ou amostras, síndromes genéticas, propensão a doenças (testes preditivos) etc. Sobre esta técnica para a finalidade diagnóstica é INCORRETO afirmar que:

- (A) ensaios PCR em Tempo Real quantitativo são muito mais sensíveis, específicos e rápidos, principalmente quando comparados aos testes convencionais.
- (B) ensaios PCR em Tempo Real quantitativo baseados em reação multiplex permitem não só que mais de um alvo de interesse seja analisado na mesma reação, como também possibilita adicionar um controle interno, o qual validará individualmente cada reação.
- (C) a plataforma de PCR em tempo Real é composta por um termociclador, sistema óptico para excitação do fluoróforo e coleta de emissão (filtros de excitação e detecção), computador e software com capacidade de adquirir, armazenar e analisar os resultados.
- (D) para todos os sistemas de PCR em Tempo Real, deve-se levar em consideração o background com multicomponente gerado para cada amplificação. Este ruído pode interferir no resultado final, sendo apenas causado por: degradação inespecífica da sonda, fluorescência residual do fluoróforo e diferenças na transparência dos tubos/placa.
- (E) para garantir o estabelecimento de um teste de PCR em Tempo Real multiplex que seja reprodutível e sensível, é extremamente importante a padronização da reação, uma vez que diferentes alvos estarão competindo pelos íons de magnésio (cloreto e acetato), enzimas e dNTPs.

34. O 6º Padrão Internacional da OMS (Organização Mundial de Saúde) e National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), para RNA do vírus da hepatite C (HCV) para técnicas de amplificação de ácido nucleico (NAT), código NIBSC 18/184, é destinado para a calibração de reagentes de referência secundários contendo plasma de HCV processado em HCV NAT. O padrão compreende de plasma humano liofilizado e HCV. O HCV foi proveniente de uma doação de período de janela positivo para o genótipo 1a do RNA do HCV de alto título. O padrão foi liofilizado em alíquotas de 1,1 mL e armazenado a -20 °C. O material foi calibrado em Unidades Internacionais (UI), em paralelo com o 5º Padrão Internacional da OMS para RNA do HCV para NAT, em colaboração de um estudo envolvendo 19 laboratórios em todo o mundo. Apresentação do painel: 257.000 UI/frasco (5,41 log₁₀ UI/frasco).

Incerteza: a unidade atribuída não carrega uma incerteza associada à sua calibração. A incerteza pode, portanto, ser considerada como sendo a variância do peso do frasco após o enchimento e foi determinada como sendo de +/- 0,19%. Sobre o painel é correto afirmar que:

- (A) para estabelecer um painel de 5 pontos com diluição seriada base 10 nas 3 primeiras diluições e base 5 nas duas últimas, o frasco liofilizado deve ser reconstituído em 1 mL de água livre de nuclease. Sugere-se: 1º diluição: 0,5mL NIBSC 18/184 reconstituído + 4,5mL plasma verdadeiro negativo; 2º diluição: 0,5mL 1º diluição + 4,5mL plasma verdadeiro negativo; 3º diluição: 0,5mL 2º diluição + 4,5mL plasma verdadeiro negativo; 4º diluição: 1mL 3º diluição + 5mL plasma verdadeiro negativo; 5º diluição: 1mL 4º diluição + 5mL plasma verdadeiro negativo. Sendo as cargas virais esperadas do painel de diluição de 25700, 2570, 257, 51 e 10 UI/mL.
- (B) para estabelecer um painel de 5 pontos com diluição seriada base 10 nas 3 primeiras diluições e base 5 nas duas últimas, reconstituir como descrito na instrução de uso, sugere-se: 1º diluição: 1mL NIBSC 18/184 reconstituído + 9mL plasma verdadeiro negativo; 2º diluição: 1mL 1º diluição + 9mL plasma verdadeiro negativo; 3º diluição: 1mL 2º diluição + 9mL plasma verdadeiro negativo; 4º diluição: 2mL 3º diluição + 8mL plasma verdadeiro negativo; 5º diluição: 2mL 4º diluição + 8mL plasma verdadeiro negativo. Sendo as cargas virais esperadas do painel de diluição de aproximadamente 25700, 2570, 257, 51 e 10 UI/mL.
- (C) após a reconstituição do frasco a amostra terá 257 x 10⁴ UI/frasco.
- (D) para estabelecer um painel de 5 pontos com diluição seriada base 10 nas 3 primeiras diluições e base 5 nas duas últimas, será esperado uma variação de valor de Ct entre os pontos de cerca de 3,3.
- (E) o painel NIBSC 18/184 deve ser processado sem diluição, pois qualquer processamento poderá interferir na calibração de UI/mL definida pelo NIBSC.

35. SHERLOCK é uma ferramenta de diagnóstico MPOC (“*Molecular Point of Care*”) baseada em CRISPR para detecção de moléculas únicas de alvos de ácidos nucleicos. Essa metodologia funciona programando enzimas CRISPR-CAS especiais para detectar a presença de uma assinatura específica de ácido nucleico em uma amostra através da detecção direcionada no amplicon. Sobre SHERLOCK é correto afirmar que:

- (A) durante a pandemia de COVID-19 foi desenvolvido, para detecção do vírus SARS-CoV2, o ensaio SHERLOCK, baseado em reação isotérmica com CRISPR, com as enzimas T7 RNA Polimerase e CAS-13.
- (B) durante a pandemia de COVID-19 foi desenvolvido, para detecção do vírus SARS-CoV2, ensaio SHERLOCK, baseado em qPCR com CRISPR, com as enzimas Transcriptase Reversa e CAS-13.
- (C) durante a pandemia de COVID-19 foi desenvolvido, para detecção do vírus SARS-CoV2, ensaio SHERLOCK, LAMP com CRISPR, com as enzimas T7 RNA Polimerase e CAS-9.
- (D) SHERLOCK significa “Specific High-Sensitivity Enzymatic Reporter locking”.
- (E) trata-se de metodologia que une a PCR com CRISPR, tornando o ensaio mais sensível.

36. As complexas questões atuais de pesquisa exigem uma profundidade de informação que ultrapassa a capacidade das tecnologias tradicionais da PCR. A terceira geração de PCR, a PCR digital ou dPCR, reduz essa lacuna por ser uma técnica simples e prática. Sobre dPCR é INCORRETO afirmar que:

- (A) a dPCR utiliza as análises finais e as estatísticas de Poisson para quantificar o número absoluto de moléculas de ácido nucleico presentes em uma amostra.
- (B) pode-se realizar PCR digital em chips, discos microfluídicos, microarrays, placas tipo qPCR e microgotas ou cristais de gotículas baseados em emulsões de óleo/água.
- (C) cada partição é analisada durante o ciclo de PCR para a detecção (reação positiva) ou ausência (reação negativa) de um sinal fluorescente, e então o número absoluto de moléculas presentes na amostra é calculado. Ela não depende de uma curva padrão para a quantificação do alvo da amostra. A eliminação da dependência das curvas padrão reduz o erro e melhora a precisão.
- (D) tanto dPCR quanto a PCR em tempo real ou quantitativa (qPCR) podem ser usadas para quantificar ácidos nucleicos em uma amostra, sendo sensíveis e reprodutíveis.
- (E) algumas vantagens do particionamento são: alta tolerância para inibidores, aumenta a concentração efetiva, viabiliza a quantificação dos alvos de baixa abundância, detecta e discrimina variantes alélicas (SNPs).

37. No Brasil, segundo a Portaria 34/2014 da ANVISA, o teste de ácido nucleicos, na triagem de doadores de sangue, tem como objetivo detectar o material genético do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Vírus da Hepatite C (HCV) e o Vírus da Hepatite B (HBV), circulante no plasma do doador. Quanto ao desenvolvimento de novas gerações de ensaios NAT baseados em metagenômica por Sequenciamento de Nova Geração (NGS) é correto afirmar que:

- (A) o tempo de processamento e análise são compatíveis com a rotina dos hemocentros e a liberação de plaquetas.
- (B) há inviabilidade técnica de sequenciar por NGS cargas virais próximas ao limite de detecção para HBV, HCV e HIV.
- (C) o custo é equivalente a técnica de amplificação/detecção em tempo real.
- (D) há viabilidade técnica para sequenciar por NGS independente da carga viral.
- (E) há viabilidade técnica de sequenciar cargas virais próximas ao limite de detecção do HBV, HCV e HIV.

38. A primeira vez que a maioria da população começou a ouvir falar de variantes do coronavírus, ainda circulava as primeiras variantes em diferentes ondas. Em novembro de 2020, a variante do SARS-CoV2 que primeiramente começou a circular no Brasil foi:

- (A) alfa (B.1.1.7).
- (B) beta (B.1.351).
- (C) gama (B.1.1.28.1).
- (D) delta (B.1.617.2).
- (E) ômicron (B.1.1.529).

39. Sabemos que, na prática científica, sempre existirão abreviaturas, acrônimos e siglas, como também termos técnicos específicos na rotina de laboratório, e que muitas vezes são mencionados rapidamente. Com certeza, há nomes e siglas que são de fácil entendimento, outras são de uso comum no nosso meio acadêmico, contudo, existem algumas que não são devidamente compreendidas, o que pode levar a erros. O desconhecimento do real significado dos termos pode levar a uma aplicação indevida. É INCORRETO afirmar que:

- (A) água tratada com DEPC (Diethyl Polycarbonato), livre de RNAses, DNAses e resíduos de proteínas; o DEPC modifica e inativa os resíduos de histidina e tirosina, constituindo assim, um método eficiente no controle da contaminação por proteínas.
- (B) POP é um documento que registra o passo a passo de um processo, garantindo que qualquer pessoa consiga realizá-lo. Trata-se de um protocolo padronizado com o objetivo de diminuir os desvios de execução e, por conseguinte, de qualidade na entrega do produto ou serviço.
- (C) transgênico é sinônimo para a expressão “Organismo Geneticamente Modificado” (OGM). É um organismo que recebeu um gene de outro organismo doador. Essa alteração no seu DNA permite que mostre uma característica que não tinha antes.
- (D) um Organismo Geneticamente Modificado (OGM) é submetido a técnicas que modificam o seu genoma, enquanto o transgênico é submetido a técnicas que inserem um trecho de DNA/RNA de uma outra espécie.
- (E) a PTK (proteínase K) é importante na extração de ácidos nucleicos, principalmente para o material sanguíneo, por digerir proteínas durante a purificação DNA ou RNA.

40. Um indivíduo masculino de 25 anos, após procurar um Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) foi diagnosticado com HIV, sendo encaminhado para o ambulatório de Imunologia do Hospital Universitário Gaffrée Guinle. Após consulta com o infectologista, foi realizada a quantificação da carga viral, sendo 104 cópias/mL. Este paciente não apresentava nenhuma contra-indicação para o início do tratamento antirretroviral. Os testes de carga viral se baseiam em genes do HIV, os quais podem ou não ser alvo de antirretrovirais. A resistência a antirretrovirais pode acarretar mutações no genoma do HIV. Para os alvos no genoma do HIV e tratamento indicado para este paciente o correto é:

- (A) Transcriptase Reversa (Tenofovir) + Transcriptase Reversa (Lamivudina) + Integrase (Dolutegravir).
- (B) Transcriptase Reversa (Tenofovir) + Transcriptase Reversa (Lamivudina) + Protease (Efavirenz).
- (C) Transcriptase Reversa (Tenofovir) + Transcriptase Reversa (Lamivudina) + Transcriptase Reversa (Zidovudina).
- (D) Transcriptase Reversa (Zidovudina) + Integrase (Dolutegravir) + Protease (Efavirenz).
- (E) Transcriptase Reversa (Zidovudina) + Transcriptase Reversa (Lamivudina) + Integrase (Raltegravir).

Prova Discursiva

QUESTÃO

Estudo indica maior risco de morte por Chikungunya, mesmo após crise da doença: “Desde o início do ano, as infecções causadas pelo mosquito *Aedes aegypt*, como dengue e chikungunya, têm aumentado. Nestas últimas semanas, Acre, Minas Gerais, Goiás e o Distrito Federal decretaram estado emergencial após o aumento do número de casos de dengue, exigindo cuidado redobrado com o mosquito. Outras cidades veem os números aumentarem não apenas para esta doença, como para a chikungunya. O estado de São Paulo enfrenta um aumento de 26% no número de casos de chikungunya neste ano.” **Walisson Araújo (Cidacs/Fiocruz Bahia)**, 15/02/2024, disponível em <https://portal.fiocruz.br/noticia/2024/02/estudo-indica-maior-risco-de-morte-por-chikungunya-mesmo-apos-cri-se-da-doenca>

Imagine que um pesquisador terá que desenvolver uma proposta de produto e plataforma, com **alta capacidade de processamento**, para atender a esta situação epidemiológica. Como gerente deste produto, precisará estabelecer uma estratégia de projeto visando o desenvolvimento de um ensaio de **diagnóstico molecular multiplex discriminatório** para arbovírus, que terá como objetivo final ser um produto para diagnóstico *in vitro* a ser registrado junto à ANVISA. Este produto atenderá ao Ministério da Saúde como uma **ferramenta diagnóstica e de vigilância epidemiológica**.

Discorra, com o mínimo 50 linhas e o máximo 150 linhas, sobre as diferentes etapas da elaboração de um projeto de desenvolvimento de produto para diagnóstico “*in vitro*” (IVD) para **comercialização no mercado nacional**, considerando:

- a) Definição da estratégia diagnóstica comercial com justificativa epidemiológica para o SUS (Sistema Único de Saúde).
- b) Descrição dos aspectos técnicos de desenvolvimento do projeto.
- c) Descrição dos aspectos regulatórios.

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

INSTRUÇÕES

1. Por motivo de segurança a Fiocruz solicita que o candidato transcreva em letra cursiva, em espaço próprio no Cartão de Respostas da Prova Objetiva, a frase abaixo apresentada:

“As melhores coisas da vida, não podem ser vistas nem tocadas, mas sim sentidas pelo coração.” (Dalai Lama)

2. Para cada uma das questões da prova objetiva são apresentadas 5 (cinco) alternativas classificadas com as letras (A), (B), (C), (D) e (E), e só uma responde da melhor forma possível ao quesito proposto. Você só deve assinalar UMA RESPOSTA. A marcação de nenhuma ou de mais de uma alternativa anula a questão, MESMO QUE UMA DAS RESPOSTAS SEJA A CORRETA.

3. A duração da prova é de 4 (quatro) horas, considerando, inclusive, a marcação do Cartão de Respostas e a Prova Discursiva. Faça-a com tranquilidade, mas controle o seu tempo.

4. Verifique se a prova é para o **PERFIL** para o qual concorre.

5. Somente após autorizado o início da prova, verifique se este Caderno de Questões está completo e em ordem. Folhear o Caderno de Questões antes do início da prova implica na eliminação do candidato.

6. Verifique, no **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**, se seu nome, número de inscrição, identidade e data de nascimento estão corretos. Caso contrário, comunique ao fiscal de sala.

7. O **Caderno de Questões** poderá ser utilizado para anotações, mas somente as respostas assinaladas no **Cartão de Respostas da Prova Objetiva** e no **Caderno de Respostas da Prova Discursiva** serão objeto de correção.

8. Observe as seguintes recomendações relativas ao **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**:

. não haverá substituição por erro do candidato;

. não deixar de assinar no campo próprio;

. não pode ser dobrado, amassado, rasurado, manchado ou conter qualquer registro fora dos locais destinados às respostas;

. a maneira correta de marcação das respostas é cobrir, fortemente, com esferográfica de tinta azul ou preta, o espaço correspondente à letra a ser assinalada;

. outras formas de marcação diferentes da que foi determinada acima implicarão a rejeição do **Cartão de Respostas**;

9. O fiscal não está autorizado a alterar quaisquer dessas instruções.

10. Você só poderá retirar-se da sala após 60 minutos do início da prova.

11. Quaisquer anotações só serão permitidas se feitas no caderno de questões.

12. Você poderá anotar suas respostas da prova objetiva em área específica do Caderno de Questões, destacá-la e levar consigo.

13. Os três últimos candidatos deverão permanecer na sala até que o último candidato entregue ao fiscal todo o seu material de prova.

14. Ao terminar a prova, entregue ao fiscal de sala, obrigatoriamente, o **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**, o **Caderno de Respostas da Prova Discursiva** e o **Caderno de Questões**.

15. Prova Discursiva:

- A questão discursiva deverá ter um limite mínimo de 50 linhas e máximo de 150 linhas.

- Transcreva sua resposta para a parte pautada do **Caderno de Respostas da Prova Discursiva**. Não assine, rubrique ou coloque qualquer marca que o identifique, sob pena de ser anulado. Assim, a detecção de qualquer marca identificadora no espaço destinado à transcrição do texto definitivo acarretará nota ZERO na respectiva prova discursiva.

- O tempo total de duração das provas será de 4 (quatro) horas, incluindo o tempo para o preenchimento da Resposta Definitiva da Questão Discursiva. Nenhum rascunho SERÁ LEVADO EM CONTA.

Boa Prova!



Ao término da prova, anote aqui suas respostas e destaque na linha pontilhada.

01	<input type="checkbox"/>	09	<input type="checkbox"/>	17	<input type="checkbox"/>	25	<input type="checkbox"/>	33	<input type="checkbox"/>
02	<input type="checkbox"/>	10	<input type="checkbox"/>	18	<input type="checkbox"/>	26	<input type="checkbox"/>	34	<input type="checkbox"/>
03	<input type="checkbox"/>	11	<input type="checkbox"/>	19	<input type="checkbox"/>	27	<input type="checkbox"/>	35	<input type="checkbox"/>
04	<input type="checkbox"/>	12	<input type="checkbox"/>	20	<input type="checkbox"/>	28	<input type="checkbox"/>	36	<input type="checkbox"/>
05	<input type="checkbox"/>	13	<input type="checkbox"/>	21	<input type="checkbox"/>	29	<input type="checkbox"/>	37	<input type="checkbox"/>
06	<input type="checkbox"/>	14	<input type="checkbox"/>	22	<input type="checkbox"/>	30	<input type="checkbox"/>	38	<input type="checkbox"/>
07	<input type="checkbox"/>	15	<input type="checkbox"/>	23	<input type="checkbox"/>	31	<input type="checkbox"/>	39	<input type="checkbox"/>
08	<input type="checkbox"/>	16	<input type="checkbox"/>	24	<input type="checkbox"/>	32	<input type="checkbox"/>	40	<input type="checkbox"/>