

Vigilância genómica da malária em Moçambique



Geração de dados genómicos no laboratório

O presente boletim descreve a implementação do Sequenciamento de Nova-Geração (NGS, do inglês *Next Generation Sequencing*) para a vigilância genómica do *Plasmodium falciparum* em Moçambique, estabelecida no Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Investigação em Saúde de Manhiça (CISM).

As plataformas de NGS permitem a geração rápida de dados sequenciando grandes quantidades de DNA em paralelo mediante o uso de diversas tecnologias [1]. O princípio básico da técnica consiste na fragmentação do DNA seguida da sequenciação múltipla de cada base do genoma do parasita (completo ou parcial), o que permite maior acurácia dos dados gerados e uma visão sobre a variação do DNA [1].

Processo de geração de dados genómicos

O processo de geração de dados genéticos no laboratório consiste em quatro etapas principais (Fig. 1): (i) recepção de amostras no laboratório, (ii) extracção de DNA, quantificação da parasitemia e biobanco, (iii) preparação de bibliotecas e sequenciação no MiSeq da Illumina e (iv) análise de dados.

A análise inicial fornece informação acerca da qualidade da corrida e das amostras processadas. Porque o NGS produz grandes quantidades de sequências, na concepção da sua infraestrutura laboratorial também deve ser considerada tanto a capacidade de armazenamento de dados assim como um computador de alto rendimento para análise bioinformática de dados massivos.

Figura 1: Processo de geração de dados genómicos



1. Płoski, R. (2016). *Next Generation Sequencing—General Information about the Technology, Possibilities, and Limitations. Clinical Applications for Next-Generation Sequencing*, 1–18. doi:10.1016/b978-0-12-801739-5.00001-5.1

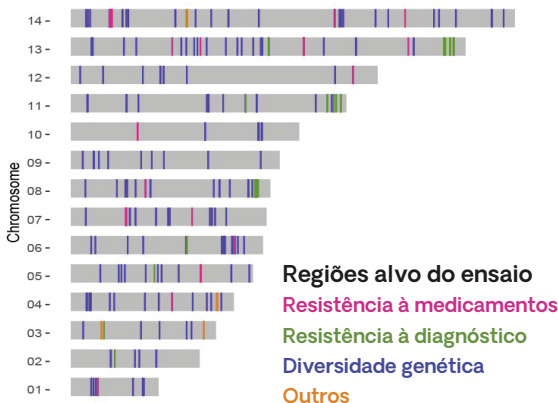
A infraestrutura laboratorial

A infraestrutura laboratorial está baseada no CISM e apresenta um fluxograma unidireccional composto basicamente de duas componentes com o objectivo principal de evitar contaminações: (A) a pré-PCR e (B) a pós-PCR como ilustrado no esquema abaixo.



O ensaio molecular

Genoma de *P. falciparum*



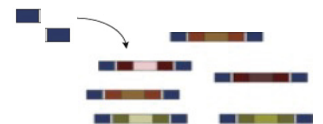
Multiplex PCR

Amplificação de cada locus alvo



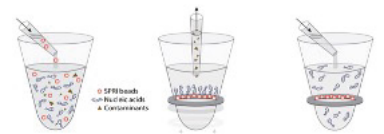
Indexing PCR

Marcação exclusiva de amplicons em uma amostra individual



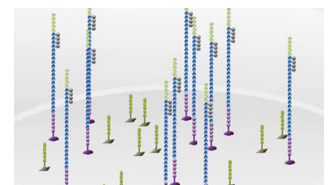
Lavagens

Purificação magnética de fragmentos de DNA



Sequenciamento

Mistura de amostras e carregamento no MiSeq para sequenciamento



Iniciativa do Presidente dos EUA Contra a Malária

