



COVID-19: Diversidade genômica de coroa vírus associada à indução de memória imunológica de curta e média duração. Uma estratégia para a produção de vacinas eficientes e de amplo espectro.

F. FINATEC, LUB.
TO DE OLIVEIRA RESENDE

TOA nº 00193-00000518/2020-49

Nº SEI

12 meses
31/07/2020

30/09/2021

RESUMO DO PROJETO

Indicadores de Desempenho (KPIs)

Objeto: O objetivo deste projeto é monitorar a diversidade genética de SARS-CoV-2 no Distrito Federal, identificar padrões de distribuição espaço-temporal e correlacionar a diversidade genética viral com o estabelecimento de memória imunológica dos pacientes, de curto e médio prazo.

Metas:
 Meta 1: obtenção das amostras de diferentes regiões do DF.
 Meta 2: análises com as sequências para serem analisadas.
 Meta 3: identificação dos padrões filogenéticos 2) análise da disseminação espaço-temporal.
 Meta 4: correlação das variantes genômicas com os parâmetros dos pacientes.
 Meta 5: armazenamento das amostras e análise das amostras.
 Meta 6: obtenção de sequências de peptídeos selecionados pela ligação com o MHC de classe I e II e síntese destes peptídeos.
 Meta 7: determinação do índice de proliferação dos linfócitos obtidos dos pacientes e expressão de marcadores de superfície por citometria de fluxo na: 1ªprimeira coleta 2ªsegunda coleta.
 Meta 8: Determinação dos níveis de citocinas por kit multiplex e marcadores celulares por citometria de fluxo na: 1ªprimeira coleta 2ªsegunda coleta.
 Meta 9: Determinação do índice de proliferação celular por citometria de fluxo e produção de citocinas por kit multiplex.
 Meta 10: Determinação dos níveis de IgG total, IgG1, IgG2a no soro por ELISA dos pacientes na: 1ªprimeira coleta 2ªsegunda coleta.

| Indicador | OK | ATENÇÃO | OK |
|--------------------|----|---------|----|
| Execução | X | | X |
| Orçamento | X | | X |
| Governança | X | | X |
| Comunicação | X | | X |
| Qualidade | X | | X |
| Risco | X | | X |
| Controle de custos | X | | X |
| Controle de prazo | X | | X |
| Comunicação | X | | X |

| Principais etapas programadas | Data Prevista | Estágio atual | Status |
|-------------------------------|----------------|--|---------------------------------|
| Meta 1 | até 30/09/2020 | Já foi realizada a parceria formal com o Lacen e foi aprovado pelo CEP/FS. | projeto no CEP/FS já analisado. |
| Meta 2 | até 30/09/2020 | Escoa pronta para iniciar. O protocolo está padronizado e as parcerias com os hospitais já foram estabelecidas. Já foi aprovado pelo CEP/FS. Recrutamento de pacientes e de reagentes necessários para os ensaios já foram analisados, bem como os protocolos que serão utilizados já estão todos padronizados. Coletas iniciadas. | APROVADO |
| Meta 3 e 4 | até 30/10/2020 | Aguardando a realização da meta 1 | Compras iniciadas |
| Meta 6 | até 31/01/2021 | Aguardando a realização da meta 3 | não iniciado |
| Metas 7, 8, 9 e 10 | até 30/07/2021 | aguardando a realização da meta 5 | não iniciado |

| Pontos de atenção | Nível risco | Resolução / Providência | Responsável |
|--|-------------|--|-------------------|
| Algumas etapas (metas) do projeto tiveram um atraso inicial de 60 dias devido ao não depósito do dinheiro. Dinheiro foi depositado em 28/09/2020 | FRACO | Recurso financeiro liberado. Depósito foi efetuado em 28/09/2020. Projeto em andamento com as etapas previstas - Ver informe em anexo. | FAPDF |
| Aprovação do projeto pelo CEP/FS e demais comitês de ética | FRACO | Projeto aprovado pelo CEP/FS atividades liberadas. Aprovado nos conselhos das Instituições participantes | Anamélia L. Bocca |

PRINCIPAIS AÇÕES REALIZADAS (PERÍODO ANTERIOR)

Relatório de Sequenciamento de Amostras de SARS-COV-2 (Janeiro de 2021)

O projeto foi finalmente aprovado no Comitê de Ética da Secretaria de Saúde do DF e imediatamente iniciamos o sequenciamento das amostras. Neste período foi gerado o primeiro relatório de monitoramento de variantes virais circulantes no Distrito Federal, o qual foi encaminhado para os órgãos responsáveis na Secretaria de Saúde do DF, garantindo assim suporte para ações de vigilância.

Atividades Realizadas em Janeiro de 2021

As coletas de sangue dos voluntários continuaram durante o mês de janeiro, seguindo os parâmetros de inclusão de testes em estabelecimentos. Ao todo, 16 voluntários participaram durante o mês. De forma constante, novos voluntários também foram abordados e agendados para o próximo mês. As células e soro dos voluntários estão sendo armazenados sob congelamento para serem utilizados em momento futuro. Foi realizado neste mês um ensaio piloto visando testar nossos protocolos de congelamento, armazenamento e descongelamento das PBMCs, bem como os protocolos de reativação destas células in vivo. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com recuperação de mais de 80% de células viáveis armazenadas em nitrogênio líquido. A ativação destas células também se mostrou satisfatória, tendo os linfócitos ativados com Concanavalina A (ConA) demonstrado proliferação significativa em ensaio com CFSE em citometria de fluxo. Outra rotina estabelecida desde o início do projeto é a realização de reuniões quinzenais, para discutir os avanços entre os grupos envolvidos no projeto. No mês de janeiro uma reunião foi realizada, ao final do mês. Neste mês também foi realizada a coleta de sangue de quatro pacientes provenientes de Manaus e internados no HUB, sendo as PBMCs e soro armazenados para futuras análises.

Durante este período foram selecionadas 56 amostras de acordo com alguns critérios estabelecidos pela equipe: (i) CTs discordantes entre os diferentes sítios, (ii) suspeita de reinfecção, (iii) pacientes provenientes de Manaus e (iv) pacientes escolhidos aleatoriamente dentre as amostras positivas da semana. Todas as amostras foram extraídas, amplificadas e sequenciadas nas dependências do LACEN/DF. Amostras com CTs maiores que 27 foram consideradas não-sequenciáveis, entretanto para alguns casos foi realizada uma tentativa de sequenciamento.

Um total de 36 genomas foram sequenciados na plataforma MinION, com maior ou menor grau de cobertura/qualidade. Os resultados destas estão descritos na Figura 1 e na Tabela 1. Todos os pacientes provenientes de Manaus (8 amostras) estavam infectados com a variante P.1, linhagem B.1.1.28 e como esperado apresentaram mutações na proteína Spike (E484K, N501Y e K417V). Esta variante foi detectada também em um dos pacientes escolhidos aleatoriamente (ID: 17845347). Para excluir qualquer possibilidade de contaminação, a amostra foi extraída novamente e re-sequenciada, e a presença da variante P.1 foi confirmada de modo inequívoco. A variante P.2 está presente na maioria das amostras coletadas mais recentemente (17 amostras) e todas com a mutação E484K na proteína Spike. Já nas amostras mais antigas é possível observar a

PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)

Atividades Previstas para Fevereiro de 2021

Em fevereiro estão previstas mais coletas de voluntários, sendo que 8 já estão com datas marcadas para a primeira quinzena do mês. As células e soro serão armazenadas juntamente com a dos voluntários anteriores. Neste mês também iniciaremos a procura ativa por pacientes recuperados que apresentaram prognóstico pior durante a infecção (voluntários moderados e graves). A procura envolverá a verificação de prontuários e contato direto com os pacientes recuperados, bem como abordagem nos dias de ambulatório em que há retorno destes pacientes. A expectativa é que a coleta sanguínea destes grupos inicie no final deste mês.

Atividades Previstas para Fevereiro de 2021. Para o mês de fevereiro está previsto a extração e sequenciamento de ao menos 30 amostras de 2020 e mais 42 dos meses de janeiro e fevereiro de 2021.

INFORMAÇÕES RELEVANTES PARA STAKEHOLDERS