



OVIDEIXO-1: 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, UNB
 TO DE OLIVEIRA RESENDE

TOA nº 00193-00000518/2020-49
 12 meses
 31/07/2020

Nº SEI
 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 7: determinação do índice de proliferação dos linfócitos obtidos dos pacientes e expressão de marcadores de superfície por citometria de fluxo na: 1)primeira coleta 2)segunda coleta. Meta 8: Determinação dos níveis de citocinas por kit multiplex e marcadores celulares por citometria de fluxo na: 1)primeira coleta 2)segunda 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: 1)primeira coleta 2)segunda coleta.

Indicador	KPI	ATENÇÃO	OK
Capacidade de Coleta	OK		X
Capacidade de Análise	OK		X
Capacidade de Armazenamento	OK		X
Capacidade de Sequenciamento	OK		X
Capacidade de Análise de Sequências	OK		X
Capacidade de Análise de Citocinas	OK		X
Capacidade de Análise de Linfócitos	OK		X
Capacidade de Análise de IgG	OK		X

Principais etapas programadas	Data Prevista	Estágio atual	Status
Meta 1	até 30/04/2021	Esta etapa está com 80% já realizada com coleta de mais de 100 amostras	Em andamento
Meta 5	até 30/04/2021	As parciais com os hospitais já foram estabelecidas. Coletas em pleno andamento 70% das amostras coletadas.	Em andamento
Meta Geral - aquisição de reagentes necessários	até 30/04/2021	Os reagentes necessários para os ensaios todos sendo adquiridos. Coletas em andamento	Compras em pleno andamento. Aprox. 70% já adquiridos.
Meta 2, 3 e 4	até 31/05/2021	Atividades em pleno andamento. Mais de 140 amostras já foram sequenciadas. A análise de correlação com sequenciamento (variantes) e	Aproximadamente 80% da Início: Sequências sendo realizadas para sites dos
Meta 6	até 31/05/2021	Em execução baseada nos resultados de sequências das metas 3 e 4	
Metas 7, 8, 9 e 10	até 31/08/2021	aguardando a finalização dos dados da meta 6	Ainda não efetivamente 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/FIS e demais comitês de ética	FRACO	Projeto aprovado pelo CEP/FIS atividades liberadas. Aprovado nos conselhos das Instituições participantes	Anamélia L. Bocca
Agora as etapas estão em plena realização, apesar das dificuldades de ações de pesquisa impostas pela pandemia e as restrições impostas pela UNB.			

PRINCIPAIS AÇÕES REALIZADAS (PERÍODO ANTERIOR)

Mês/Ano	Realização
maio/21	<p>Atividades Realizadas em Maio de 2021</p> <p>Foram continuadas as coletas dos voluntários dos grupos moderados e graves, através de captação espontânea e também procura ativa junto aos setores de enfermagem e fisioterapia do Hospital Universitário de Brasília (HUB). As células e soro dos voluntários estão sendo armazenados sob congelamento para serem utilizadas em momento futuro. Alguns reagentes adquiridos para a análise por citometria de fluxo chegaram ao laboratório, enquanto outros estão previstos para chegar no mês de junho. A análise de anticorpos por dot-ELISA está sendo realizada, sendo que a maioria dos pacientes assintomáticos e alguns pacientes moderados já tiveram seu soro analisado. Análises preliminares demonstram que há uma correlação entre a gravidade da doença e uma maior presença de anticorpos, principalmente contra a proteína N do vírus. A metodologia do Dot-ELISA foi realizada com a sensibilização de membranas de nitrocelulose com o antígeno N (SARS-CoV-2) com as concentrações de 1 µg, 0,1 µg, 0,01 µg e 0,001 µg. Após esta etapa, as fitas foram bloqueadas. Cada fita foi identificada com um número e associada com o respectivo paciente. Finalizado o bloqueio, cada fita foi incubada com soro do paciente em solução PBS e leite desnatado. Prosseguiu-se com três lavagens cada, aplicado o anticorpo secundário (Anti IgG humano conjugado com fosfatase alcalina) e incubado posteriormente. Ao final, repetiu-se a etapa de lavagem, e aplicou-se solução alcalina, elevando o pH para melhor atividade da enzima. Foi aplicada solução alcalina para visualização da reação antígeno-anticorpo e incubou-se a solução de 3 a 5 minutos. Após a visualização da reação, as fitas foram lavadas com água destilada, fotografadas, secadas e armazenadas.</p>

PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)

Mês/Ano	Realização
jun/21	<p>Atividades Previstas para Junho de 2021. Para o mês de junho está previsto a extração e sequenciamento de Para o mês de junho está previsto a extração e sequenciamento de 96 amostras coletadas entre os meses de agosto de 2020 até a segunda quinzena de julho de 2021. Dessa forma, poderemos correlacionar as amostras com as regiões de coleta no DF e também com o processo de reificação com novas variantes.</p> <p>Atividades Previstas para Junho de 2021: Em junho estão previstas mais coletas de voluntários moderados e graves. As células e soro serão armazenadas juntamente com a dos voluntários anteriores. Serão realizados também mais ensaios para dosar anticorpos por ELISA nos soro dos voluntários previamente coletados e armazenados, começando a análise dos pacientes moderados e graves. Com a chegada dos anticorpos de citometria prevista para este mês, também serão realizados os ensaios de titulação destes anticorpos, ensaio piloto de marcação e calibração do equipamento para posterior análise das células coletadas dos voluntários.</p>

INFORMAÇÕES RELEVANTES PARA STAKEHOLDERS

--