



Data do relatório: 20/10/2021

RELATÓRIO EXECUTIVO DO PROJETO

Nome do projeto	FAP/COVID/EX01-Diversidade genômica de coronea vírus associada à indução de memória imunológica de curta e média duração: Uma estratégia para a produção de vacinas eficientes e de amplo espectro.		
FAPDF	FINATEC_LNB		
RENATO DE OLIVEIRA RESENDE		TOA nº 00193-0000518/2020-49	Nº SEI
FAPDF		12 Meses	30/09/2021
RS 887.700.000		31/07/2020	

RESUMO DO PROJETO

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	<p>Meta 1: obtenção das amostras de diferentes regiões do DF</p> <p>Meta 2: análises com as sequências para serem analisadas</p> <p>Meta 3: identificação dos padrões filogenéticos 2) análise da disseminação espaço-temporal</p> <p>Meta 4: correlação das variantes genômicas com os parâmetros dos pacientes</p> <p>Meta 5: armazenamento das amostras e análise das amostras</p> <p>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.</p> <p>Meta 8: Determinação dos níveis de citocinas por kit multiplex e marcadores celulares por citometria de fluxo na: 1)primeira coleta 2)segunda coleta</p> <p>Meta 9: Determinação do índice de proliferação celular por citometria de fluxo e produção de citocinas por kit multiplex.</p> <p>Meta 10: Determinação dos níveis de IgG total, IgG1, IgG2a no soro por: Elisa dos pacientes na: 1)primeira coleta 2)segunda coleta.</p>

Indicadores de Desempenho (KPIs)		Atenção	Ok
Disponibilidade	Não		X
Conformidade	Não		X
Governança	Não		X
Integridade	Não		X
Segurança	Não		X
Qualidade de dados	Não		X
Comunicação	Não		X

Principais etapas programadas	Data Prevista	Estágio atual	Status
Meta 1	até 30/04/2021	Esta etapa foi 100% já realizada e superado o muito a meta	Em andamento
Meta 5	até 30/04/2021	As parcerias com os hospitais já foram estabelecidas. Coletas em pleno andamento 80% das amostras coletadas. 100 % para análise filogenética e	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 com 100% atingido. Mais de 300 amostras já foram sequenciadas. A análise de correlação com sequenciamento (variantes)	Aproximadamente 80 % da iniciado. Sequências sendo finalizadas para testes dos
Meta 6	até 31/05/2021	Em execução baseada nos resultados de sequências das metas 3 e 4	Em andamento
Metas 7, 8, 9 e 10	até 31/08/2021	Aguardando a finalização dos dados da meta 5	As etapas agora efetivamente iniciadas em andamento

Plano de execução / Plano de execução	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)

Relatório de Sequenciamento de Amostras de SARS-CoV-2 (Setembro de 2021):	Mês/Ano	Atividade
<p>Até final de 2020, a linhagem predominante foi linhagem Zeta (P.2), que começou a ser substituída pela Variante Gamma no início de 2021. A primeira detecção desta variante ocorreu em dezembro de 2020 e em março de 2021 já era a linhagem predominante no DF e responsável pela maioria dos casos. Em julho de 2021, a variante Delta foi detectada e dois meses depois ela tornou-se predominante em todo o DF. Análises filogenéticas preliminares foram realizadas. Como é possível observar, sequências do Distrito Federal ficaram dispersas em toda a filogenia, entretanto é possível notar agrupamentos formados principalmente por sequências coletadas em nosso estudo, sugerindo que existe informação em nossas sequências para avaliarmos a distribuição espacial e temporal previstas no plano inicial.</p> <p>Entre os dias 04 a 11 setembro foram selecionadas 47 amostras de pacientes escolhidos aleatoriamente (Unidade sentinela - Vírus respiratório) e algumas amostras com suspeita de reinfecção. Todas as amostras foram extraídas e amplificadas e sequenciadas nas dependências do LACEN-DF e do Instituto de Biologia da UNB.</p> <p>As amostras foram sequenciadas amplificadas e sequenciadas 42 genomas com a plataforma MinION. Os dados gerados foram analisados com o objetivo de identificar mutações genômicas e linhagens dos vírus. A variante mais abundante foi a variante Delta, detectada em 37 amostras (88,1%). A variante Gamma foi encontrada apenas em 4 amostras (9,5%). Uma amostra foi classificada dentro da linhagem B.1.1.161, conhecida como linhagem Saudita, a qual já foi descrita na Arábia Saudita, Alemanha, Estados Unidos da América, Itália e República Checa (https://cov-lineages.org/lineage.html#lineage-B.1.1.161).</p>	set/21	<p>Atividades Realizadas em Setembro de 2021</p> <p>Foi iniciada a padronização de dosagem quantitativa de anticorpos por ELISA nos soros de voluntários saudáveis, visando a utilização da técnica no soro dos pacientes acometidos por COVID. Foram iniciados também os ensaios de titulação dos anticorpos de citometria, incluindo ensaios piloto de marcação e a calibração do colômetro. Para tal, células de doadores voluntários saudáveis foram utilizadas, sendo estimuladas ou não com fito hemaglutina (PHA-P). Marcações individualizadas com cada anticorpo em diferentes concentrações foram realizadas, para determinar a concentração ideal de uso em nosso modelo. Também foram testados diferentes protocolos de marcação, em tubo e em placa de cultura.</p>

PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)

Atividades Previstas para Outubro de 2021. Serão continuados os ensaios de titulação dos anticorpos de citometria, ensaio piloto de marcação e calibração do equipamento, focando nas compensações necessárias para a análise dos vários fluorocromos que serão utilizados em conjunto nas células coletadas dos voluntários. Também será testado um protocolo para marcação intracelular das células, visando a detecção de produção das citocinas IL-2 e TNF. Ao final do mês, os voluntários que participarem do projeto serão novamente contatados, visando uma segunda coleta de amostras sanguíneas, para a verificação do estabelecimento de memória frente à infecção pelo SARS-COV-2	Mês/Ano	Atividade
<p>Atividades Previstas para Outubro de 2021. Serão continuados os ensaios de titulação dos anticorpos de citometria, ensaio piloto de marcação e calibração do equipamento, focando nas compensações necessárias para a análise dos vários fluorocromos que serão utilizados em conjunto nas células coletadas dos voluntários. Também será testado um protocolo para marcação intracelular das células, visando a detecção de produção das citocinas IL-2 e TNF. Ao final do mês, os voluntários que participarem do projeto serão novamente contatados, visando uma segunda coleta de amostras sanguíneas, para a verificação do estabelecimento de memória frente à infecção pelo SARS-COV-2</p> <p>Atividades Previstas para Outubro de 2021. O mês de outubro prevê a finalização do sequenciamento de aprox. 50 amostras. Elaboração de dois artigos de divulgação científica e elaboração de relatórios de consolidação para o LACEN - DF.</p>	out/21	

INFORMAÇÕES RELEVANTES PARA STAKEHOLDERS

--