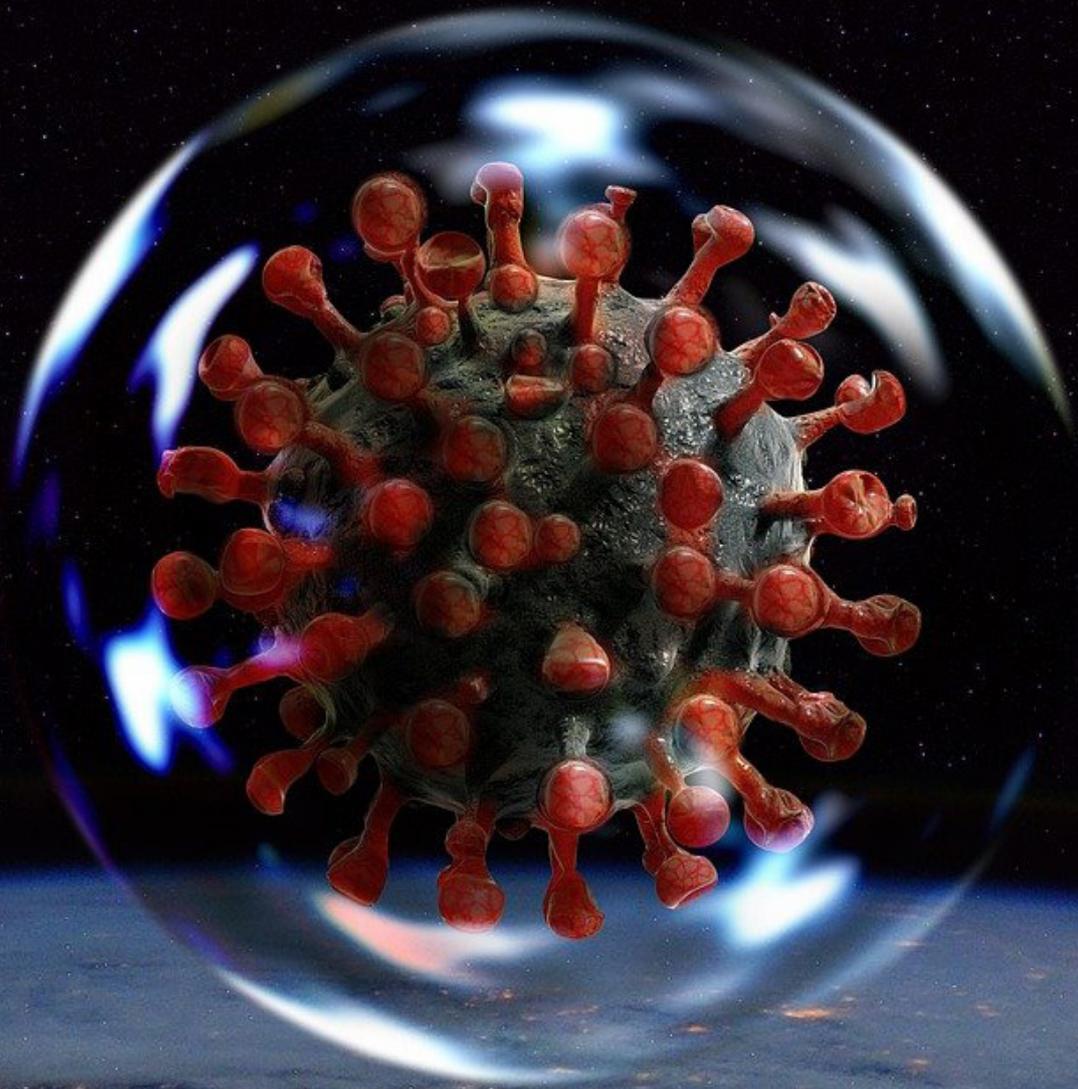




Izasa  
Scientific

A Werfen Company



**Investigação  
COVID-19**

# CARTA DO DIRETOR

Como é sabido, estamos todos na primeira linha da batalha contra o coronavírus COVID-19.

Antes de mais, gostaríamos de incentivar, parabenizar e agradecer pelo esforço que estão a realizar para aumentar o conhecimento do vírus em tempo recorde, permitindo-nos superar este período complexo que estamos a viver.

Da nossa parte, Izasa Scientific, gostaríamos de apoiar o seu trabalho com as soluções tecnológicas para testes de investigação e diagnóstico que temos no momento, bem como com as contribuições de tecnologias de ponta recentemente surgidas a nível internacional, as quais estamos acompanhando, relacionadas com a investigação em virologia.

Entre outras áreas como vacinas, anticorpos, genotipagem, automatização e robotização de manuseamento de amostras líquidas, etc.

Esperamos que seja do seu interesse a informação que apresentamos e reitero o nosso agradecimento pelo esforço nestes dias.

Atentamente

  
Carlos Azevedo  
Director General  
Izasa Scientific

# INTRODUÇÃO

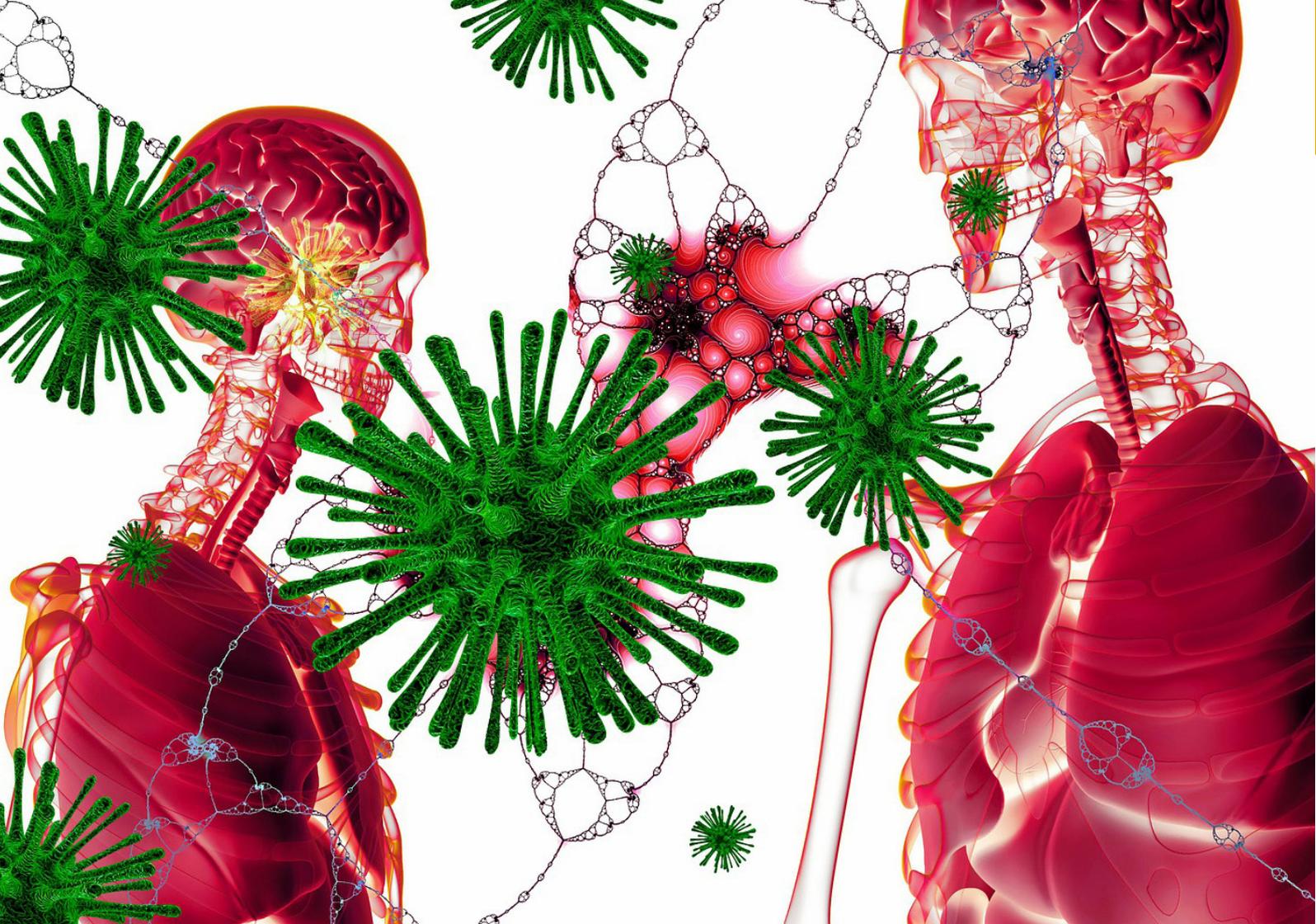
No contexto da emergência global causada pela pandemia causada por SARS-CoV-2 (Covid-19), duas principais linhas de ação estão a ser desenvolvidas:

- Contenção e controlo da expansão do vírus para evitar o colapso dos sistemas de saúde
- Desenvolvimento de soluções preventivas ou terapêuticas a curto e médio prazo.

Essas duas estratégias requerem o desenvolvimento em paralelo de uma série de linhas de ação:

- **EPIDEMIOLOGICAS:** Conhecimento da dinâmica da expansão do vírus. Enquadramento dos testes massivos populacionais maciços e o estudo da dinâmica populacional das diferentes estirpes do vírus.
- **FARMACOLÓGICAS:** A partir da “reutilização” de medicamentos já testados em outros vírus numa tentativa de atenuar a gravidade dos efeitos clínicos da mortalidade. Posteriormente, o desenvolvimento de medicamentos específicos. Como estratégia alternativa, o desenvolvimento de imunoterapias (MoAbs) de rápido desenvolvimento, destinadas a bloquear o vírus.
- **PREVENTIVAS:** Desenvolvimento de vacinas eficazes, mesmo numa situação potencial altamente variável (como acontece com alguns dos vírus RNA).
- **CONHECIMENTO DO VÍRUS:** Investigação básica da estrutura e biologia do vírus, bem como aspetos associados, como dinâmica populacional e fatores de suscetibilidade ou resistência à infeção.
- **BIOBANCO:** Os trabalhos massivos que estão a ser desenvolvidos exigirão a gestão de um grande número de amostras biológicas que necessitam ser geridas num ambiente de biossegurança e rastreabilidade.

De qualquer forma, contamos com uma tecnologia avançada, que pode permitir que a comunidade científica e de saúde avance mais rapidamente nessas linhas de ação.



# Estratégias Epidemiológicas

# Estratégias Epidemiológicas

Dada a necessidade de aumentar significativamente o número de sequências do genoma da SARS-CoV-2 para estabelecer um estudo epidemiológico que permita tirar conclusões sobre a morbidade e mortalidade das diferentes variantes do vírus.

Propomos:

Plataforma Fluidigm: Juno- Biomark. Os benefícios são:

- **Suficiente resolução** para estudos epidemiológicos: podemos multiplexar 24 a 96 genótipos diferentes em cada amostra.
- **Alta produtividade**: mais de 6.000 amostras por dia em cada unidade Biomark, para 24 variantes génicas.
- **Alto nível de automatização**: com uma quantidade de intervenção manual mínima e simples.
- **Facilidade de análise de resultados**: evita a necessidade de uma grande equipa de bio-informáticos para obter conclusões.
- **Baixo custo por ensaio**: e mais importante, um baixo volume de reagentes, fator crítico num ambiente onde a disponibilidade mundial de certos reagentes é complexa.
- **Flexibilidade**: tecnologia adequada para o estudo de patógenos de rápida evolução, uma vez que os painéis de expressão genética são personalizáveis. Durante os ensaios, os biomarcadores a analisar podem ser modificados em muito poucos dias, permitindo a inclusão, de forma direta, de novos genótipos emergentes.
- **Versatilidade**: a mesma plataforma Juno-Biomark, sem necessidade de modificação, pode ser usada para criar bibliotecas para NGS, de uma forma mais rápida, económica e com menos requisitos de intervenção manual, o que permite seguir a estratégia de Sequenciação Massiva, em paralelo.



**Biomark™ HD**

- Gene expression
- Genotyping
- Copy number analysis
- Digital PCR



Resumindo, com um número limitado de plataformas, poderá ser possível em pouco mais de uma semana a análise de um número massivo de infetados, permitindo ter dados significativos acerca da morbidade / mortalidade das diferentes estirpes do virus, se é que existe realmente associação (como existe em outros virus de RNA). Isto poderá ser realizado com um custo mínimo e baixos requisitos de recursos humanos.

# Estratégias Epidemiológicas

A médio prazo, além do estudo dos fatores intrínsecos ao vírus, é necessário considerar um segundo estudo epidemiológico, orientado ao conhecimento do motivo da resposta tão diferente que os pacientes apresentam, independentemente do sexo, idade ou etnia.

Neste sentido, **Fluidigm** lançou um projeto cooperativo com centros de classe mundial, aberto a propostas de colaboração



**Helios, citometria de massas Fluidigm.** Permite rapidamente a identificação de possíveis biomarcadores que definem a resposta de um indivíduo. Essa tecnologia permite o estudo de subpopulações do sistema imunológico com alto grau de complexidade.

A combinação estudos de subpopulações com técnicas tais como a separação celular por Sorting e sequenciação de células individuais, combinando equipamentos como o **SH da Sony** e o **C1 de Fluidigm**, permitem avançar rapidamente na definição dos painéis moleculares, e incorporar posteriormente na **plataforma Biomark**, para o screening massivo a nível de população e até sua subsequente incorporação em painéis de prognósticos para a triagem de pacientes, a identificação de populações em risco ou mesmo as composições das possíveis vacinas a serem usadas.

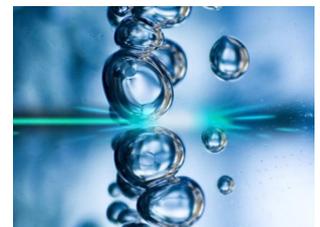
Fluidigm já possui painéis prontos para utilização, com análise automática do monitorização da resposta imune da plataforma **Helios**, das quais existem duas unidades instaladas em Espanha.

Graças aos seus **30, ampliável a 42 anticorpos**, MaxPar Direct Immune Profiling Assay permite caracterizar 37 populações do sistema imunológico do paciente através de uma simples amostra de sangue. A análise é realizada automaticamente usando o software específico MaxPar PathSetter.



Helios CyTOF - MaxPar Direct Immune Profiling Assay (DIPA) Panel

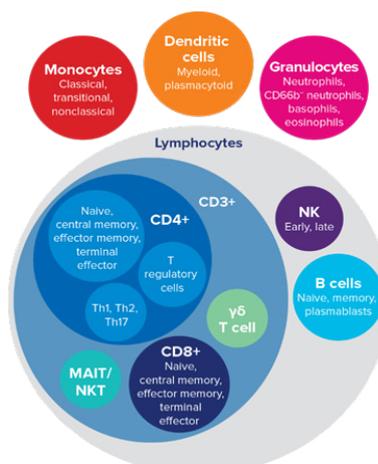
# SONY



SONY SH800 Cell Sorter  
Isolamento de célula única usando fluorescência



Fluidigm C1 Platform  
Isolamento de célula única através de microfluidica



# Estratégias Epidemiológicas

## Automatização de Processos

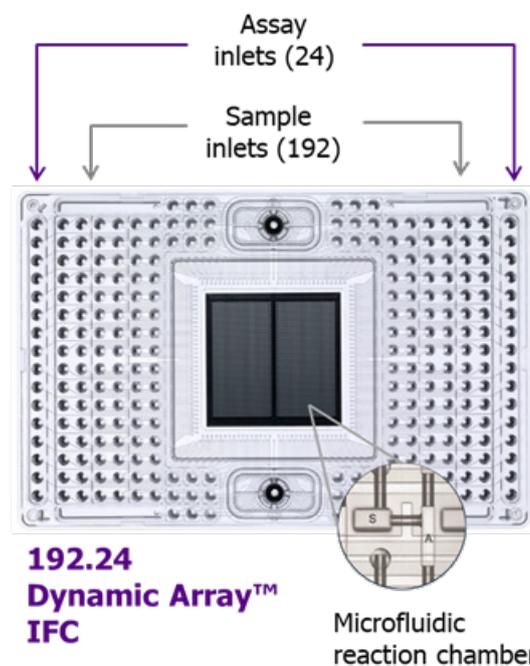
### Plataforma de manuseamento de amostras

**Biomek, series i5/i7 de Beckman Coulter.** Automatizam o processamento de um grande número de amostras, garantindo a rastreabilidade dos processos de extração e manipulação de amostras.

**Plataforma BK400 de Fluidigm.** Automatiza o manuseamento dos sistemas microfluídicos (placas IFC) de Fluidigm, mas também pode ser usada para plataformas abertas de PCR clássicas, como parte da estratégia de diagnóstico massivo.



FLUIDIGM®



Beckman Coulter oferece uma solução completa para a extração de RNA viral da COVID-19, com o **Biomek i5-M** e o **kit RNAdvance Viral** incluindo protocolo automatizado testado e validado para o RNA viral da COVID-19.

Com capacidade de processamento de 2 placas DeepWell, un total de 192 amostras de extracción RNA Viral COVID-19; o Biomek i5-MC alíquota o reagente e as amostras, realiza a lise da amostras inicial, a captura, lavagem e a eluição de RNA viral, num processo totalmente automático e sem intervenção do utilizador.

O processo completo de extração pode ser realizado no Biomek i5-MC em aproximadamente 2 horas (1 h se a lise for feita fora do robot) para duas placas de 96 poços simultaneamente. A solução inclui o método automatizado validado e o suporte para o seu funcionamento.





# Farmacología Clásica

# Farmacologia Clássica

## Fase I: análise “in vitro”

Plataforma Cytation da Biotek. Soluções para triagem massiva “in vitro” (HTS), através da automatização de ensaios moleculares e celulares.

Em todos os casos, a solução passa pela integração de:

- Sistemas de manipulação de amostras da **Beckman Coulter (series i5/i7)**
- Detetores especializados em HTS a nível molecular, como **Biotek Synergy Neo2**
- Ensaios de citotoxicidade (tanto toxicidade de fármacos, como efeito citopático por meio de virus) para o qual se integra a plataforma de análise celular massivo **Biotek Cytation**.

Também é necessário ter em conta que a **Biotek** proporciona todos os sistemas auxiliares destas grandes plataformas, tais como as séries de **lavadores e outros leitores**.



Leitor HTS **Synergy NEO2**, a plataforma ideal para ensaios avançados de fluorescência com alto processamento de amostras, como ensaios de afinidade de células vivas, incluindo controlo de gás e injetores

O leitor multimodo **Cytation5** com módulo Cellular Imaging, Cytation5, incluindo controlo de gás e injetores para executar com eficiência o trabalho com células vivas, seu módulo de microscopia automatizada Widefield e suas funções como espectrofluorímetro, permitem que seja a plataforma mais eficiente do mercado para desenvolvimento dos ensaios de citotoxicidade de células vivas



Plataforma robótica de manipulação de líquidos, **Biomeki5**, capaz de ter um braço com uma cabeça de 8 pontas expansíveis ou uma cabeça multicanal de 96 pontas ou 384 pontas e com suas 25 posições de trabalho, tem capacidade para produzir 7 placas Placas AMPureXP ou 2 RNAdvance sem intervenção do utilizador

Plataforma de manipulação de líquidos robótica, **Biomeki7** híbrido, com cabeça multicanal de 96 pontas, 8 pontas expansíveis entre si e gripper em cada braço. Com 35 posições de trabalho, é capaz de produzir 10 placas AMPureXP ou 4 placas RNAdvance sem intervenção do utilizador

# Farmacologia Clássica

## Fase II: análise dos mecanismos de ação

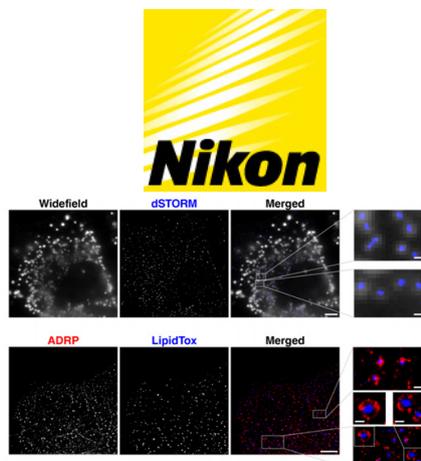
O uso de qualquer medicamento “convencional”, em terapia antiviral, visa basicamente atacar três frentes:

- **Bloqueio do processo de “adsorção do vírus”**, ou seja, evitar que penetre nas células para continuar o seu ciclo de replicação.
- **Bloquear a produção intracelular de vírus**, quer seja bloqueando a replicação do genoma, bloqueando a produção de certas proteínas virais ou impedindo a montagem das subunidades virais, evitando a geração de novos vírus com capacidade infecciosa.
- **Bloquear aspetos da resposta normal do organismo contra a infeção**, o que pode levar a quadros clínicos perigosos. No caso específico do SARS-CoV-2, é a resposta inflamatória a nível pulmonar.

**Microscopia de alta resolução Abberior-Nikon STED.** Permite observar como um vírus interage com sua célula-alvo. São necessárias técnicas de microscopia de super resolução, especialmente em amostras vivas, nas quais os processos de montagem das subunidades do vírus podem ser seguidos (no exemplo, a reorganização de Proteínas do HIV para a geração de uma nova partícula viral com capacidade infecciosa).

**Microscopia Super Resolução STORM de Nikon.** Fornece a melhor resolução possível em amostras fixas.

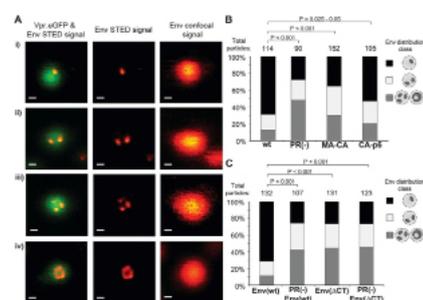
Ambas as técnicas permitem acompanhar a dinâmica de adsorção, internalização e produção de novas partículas virais.



Visualização de “lipid droplets” com dSTORM

Analisan a co-localização de “lipid droplet” e proteínas da cápside viral em células infectadas com o vírus da hepatite C

Dennis Eggert et al., PLOS One. July 2014 Vol9:Issue7:e102511.



STED-image shows substructure

no structure in confocal image

Agrupação de Proteínas virais Env após a maturação do HIV descrita utilizando microscopia STED

J. Chojnacki et al., Science. Oct 2012 26;338(6106):524-8.

# Farmacologia Clássica

## Fase II: análise dos mecanismos de ação

Microscopia Eletrônica de Transmissão TEM de Jeol, que fornece a mais alta resolução para a visualização de estruturas virais dentro das células infetadas.

Recentemente, dois estudos por criomicroscopia eletrônica determinaram a estrutura da proteína S (proteína viral responsável pela adsorção e internalização) ligada à proteína ACE-2 (receptor da célula do vírus).

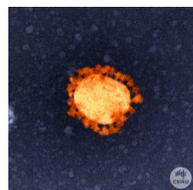


Imagem tirada com TEM Jeol 1400



JEM-F200 field emission transmission electron microscope

# Farmacologia Clássica

## Fase III: análise “in vivo” em modelos animais

Como etapa anterior aos estudos clínicos em humanos, é necessária a análise em modelos animais, o que permite avaliar a eficácia do tratamento e abordar possíveis aspectos adversos do mesmo.

Podem-se estabelecer três grandes grandes categorias:

- 1. Efeitos a nível de organismo:** Tipicamente perfis bioquímicos que envolvem certos órgãos (perfil hepático, cardíaco, renal ...). Em segundo lugar, o estado geral do sistema imunitário, bem como as respostas pró ou anti-inflamatórias.
- 2. Seguimento da progressão da infecção:** Habitualmente, carga viral e desenvolvimento da resposta imune.
- 3. Efeitos a nível tecidual:** Ensaios de Anatomia clássica, combinada com novas técnicas de maior resolução, como imuno-histoquímica com alto nível de multiplexação ou técnicas de microscopia de alta resolução para estudos em nível celular da presença de vírus intracelular nos seus diferentes estágios.

Nos três níveis, temos soluções tecnológicas tanto convencionais como avançadas:

- Citometria analítica Luminex e Sony
- Biomark de Fluidigm para carga viral
- NanoView R100 para a contagem de virus em plasma
- Citometria de Massas Helios de Fluidigm
- Microscopia clássica direta e fluorescência Nikon
- Microscopia confocal de spinning de Andor
- Super resolução STED Abberior
- Microscopia de massas Hyperion de Fluidigm

# Farmacologia Clássica

## Fase III: análise “in vivo” em modelos animais

### 1 - Efeitos a nível de organismo

Plataformas para monitorizar a resposta imune, 3 níveis de abordagem:

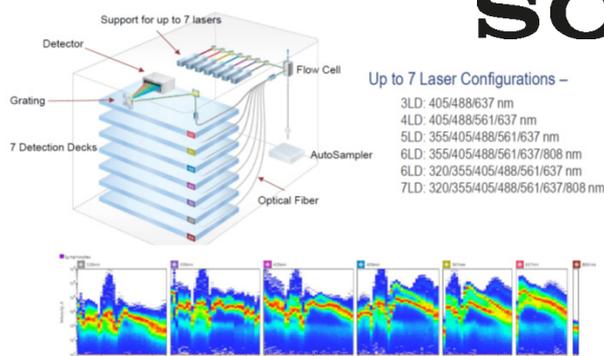
Citometria clássica de Luminex, equipamentos adequados para instalação em áreas restritas para animais, tanto pelo seu tamanho pequeno como pela facilidade de manutenção.



**Luminex**®

Os equipamentos Guava easyCyte usam tecnologia microcapilar patentada, facilitando o funcionamento do hardware. Esta tecnologia permite trabalhar com um baixo volume de amostra e a determinação de contagens absolutas sem uso de calibradores. Em ambientes restringidos, a tecnologia microcapilar implica um volume de resíduos extremamente reduzido. Por outro lado, todos os modelos Guava cumprem com critérios **GMP**.

Citómetro espectral SA3800 da Sony com alto nível de multiplex idealmente considerado para ser capaz de obter perfis complexos de populações, em amostras escassas. Especialmente quando combinado com sistemas de automatização de placas micro-titer, para poder realizar análises populacionais em testes sobre modelos animais, com números significativos.



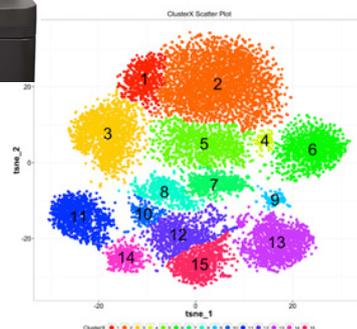
**SONY**

A nova série de citómetros espectrais ID7000 da SONY aloja até 7 lasers e 186 detetores, podendo assim detetar o espectro de fluorescência de todos os fluoróforos disponíveis no mercado.

Citómetro de massas Helios de Fluidigm de muito alto nível de multiplexado, quando uma pequena quantidade de amostra está disponível, como no caso de trabalho com animais de laboratório (tipo rato), o aumento na multiplexação ajuda a definir os conjuntos populacionais com um aumento exponencial na complexidade. Os equipamentos de Fluidigm permitem o mais alto nível de complexidade existente nos dias de hoje. Além disso, é compatível com um módulo de imagem, que permite estender esta tecnologia a amostras “sólidas” para análises complexas, a nível celular, de secções de tecido da anatomia patológica.



Helios, é a plataforma de citometria de massa Fluidigm, que permite uma multiplexagem extremamente alta da análise de marcadores biológicos simultaneamente, como pode ser visto no histograma, no qual é realizada uma análise de 15 biomarcadores.



# Farmacologia Clássica

## Fase III: análise “in vivo” em modelos animais

### 2 - Acompanhamento da progressão da infecção

A este nível, temos duas tecnologias diferenciadoras:

- **Plataforma Biomark da Fluidigm.** Avaliação da “carga viral” por métodos de biologia molecular. Pode abordar ensaios de um grande número de indivíduos e é diretamente automatizável num Biomek.



#### Biomark™ HD

- Gene expression
- Genotyping
- Copy number analysis
- Digital PCR

Qualitative (present/absent)



Quantitative (viral load)



O sistema **Biomark** de Fluidigm permite, por meio de ensaios de expressão gênica, realizar uma detecção rápida do vírus, bem como a quantificação da carga viral na amostra do paciente, o que pode ser de grande ajuda na determinação de um prognóstico clínico.

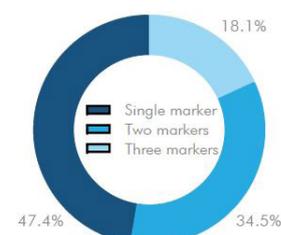
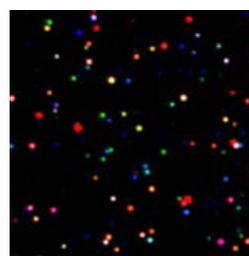
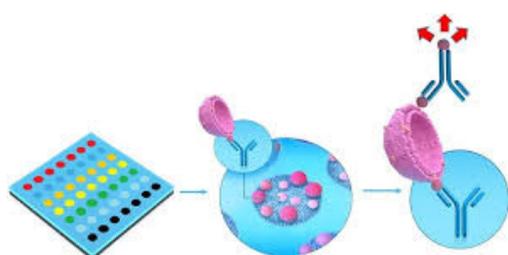


Plataforma robótica de manipulação de líquidos, Biomek 4000, ideal para automatização simples, robusta e versátil da preparação de placas para PCR / RTPCR ou qPCR em formato de placa de 96 ou 384 poços ou mesmo para trabalhos com placas IFC dos sistemas Fluidigm. É capaz de processar automaticamente, incluindo a preparação Master mix, 2 placas de 384 poços em menos de 30 minutos, ou seja, mais de 1500 preparações de PCR por hora. Inclui protocolos Wizard para PCR set-up, guiando o utilizador facilmente na construção de seu protocolo personalizado.



**Exoview R100 de Nanoview.** Permite a contagem absoluta de partículas virais até 50nm, fornecendo, desde muito recentemente, a resolução necessária para detetar e quantificar nanopartículas, com a especificidade de proporcionar o uso de MoAbs específicos do vírus, para diferenciá-los de outras estruturas presentes no plasma de indivíduos infetados.

A plataforma Nanoview permite a **detecção, quantificação e fenotipagem de nanopartículas** presentes nas nossas amostras biológicas (com resolução até 50 nm) automaticamente, em minutos, o que pode representar uma ferramenta poderosa no diagnóstico de doenças virais



# Farmacologia Clássica

## Fase III: análise “in vivo” em modelos animais

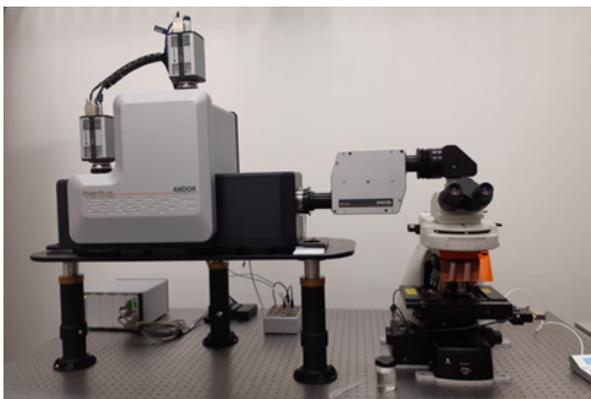
### 3 - Efeitos a nível tecidual

O estudo dos danos produzidos pelo vírus nos diferentes órgãos e tecidos é essencial para avaliar os efeitos de um tratamento médico. Mesmo a possibilidade de identificar a presença de vírus em diferentes tecidos é um dado de interesse especial.

A nossa oferta combina ensaios clássicos de AP com a possibilidade de realizar estudos de alta resolução com diferentes equipamentos **Nikon**, ou de “elevado multiplexing” com **Fluidigm**.



**ANDOR**  
an Oxford Instruments company



DragonFly 202 de Andor com um microscópio direto de Ni-U de Nikon



STEDYCON de Abberior com um microscópio invertido Ti2E de Nikon

**abberior**  
INSTRUMENTS



Maturação HIV-1 observada com microscopia STED  
J. Hanne et al., ACS Nano 2016 10 (9), 8215-8222

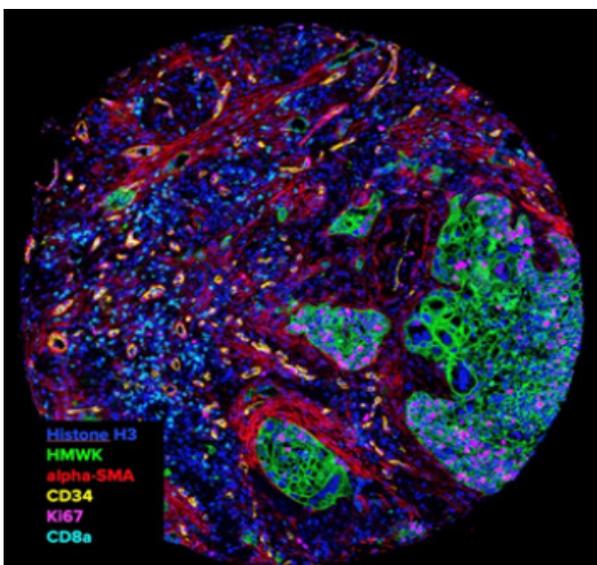
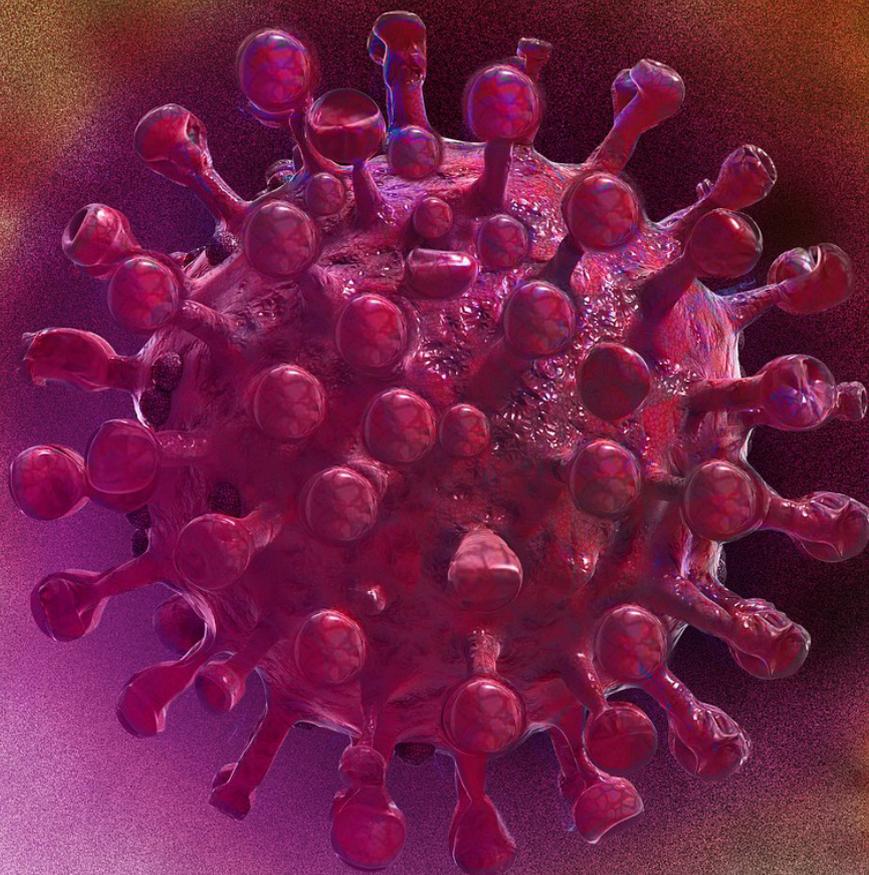


Imagem do sistema Hyperion de Fluidigm, mostrando a resposta imune antitumoral em biópsias retiradas de pacientes. A imagem mostra simultaneamente 6 dos 25 biomarcadores analisados nesta experiência, analisados usando o software HystoCat

**FLUIDIGM**



# Farmacologia II

## Imunoterapia

# Farmacologia II: Imunoterapia

## Desenvolvimento de Anticorpos Monoclonais

Uma variante “farmacológica”, enquadrada na imunoterapia, é o **desenvolvimento de Anticorpos Monoclonais (MoAbs)** com capacidade de bloqueio, para impedir a progressão da infecção viral.

Possui vantagens como estratégia rápida, como alta especificidade, velocidade na geração de inúmeras variantes ativas e, em geral, alta tolerância, com baixa toxicidade (não necessariamente nula) das versões “humanizadas” desses anticorpos monoclonais.

### Existem várias maneiras de gerar esses anticorpos:

- Imunização de ratos, posterior geração de clones de fusão e depois engenharia genética para a sua humanização. É um método clássico.
- Desenvolvimento direto de versões humanizadas por técnicas como “Phage Display”. Técnicas mais recentes.

Todos eles têm os seus prós e contras, mas todos partilham certas fases e técnicas necessárias para seu desenvolvimento. De fato, várias fases do ensaio são semelhantes às usadas em medicamentos clássicos, com as adaptações correspondentes, mas com tecnologias basicamente similares.

### Cultivos celulares:

Tanto para a geração, como para a expansão de clones, são necessárias instalações de cultura de células de segurança biológica.

Em certos casos, como o Phage Display, é necessária uma instalação individualizada para cada variante a fabricar no caso de hibridomas clássicos podem ser partilhadas instalações mais facilmente, mas em ambos os casos, são necessários ambientes de cultivo de segurança biológica.

# Farmacologia II: Imunoterapia

## Desenvolvimento de Anticorpos Monoclonais

Para as atividades de:

- Desenvolvimento de anticorpos monoclonais (MoAbs) com capacidade de bloqueio.
- Culturas celulares

Podemos oferecer a maior parte da instrumentação: **cabinas de segurança, frigoríficos e congeladores Haier, microscópios Nikon, centrífugas Beckman Coulter, etc.**



Ultracongelador DW-86L828BP série  
Variable Drive Control Technology  
Haier Biomedical

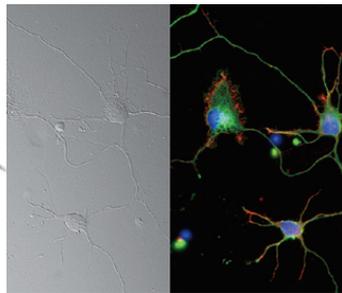


Cabina Seg. Biológica série  
HR1200-IIA2 Haier Biomedical

**Haier**



Imagens de neurónios adquiridos com as técnicas DIC e Epi-fluorescência tiradas com um microscópio Ti2E de campo 25mm

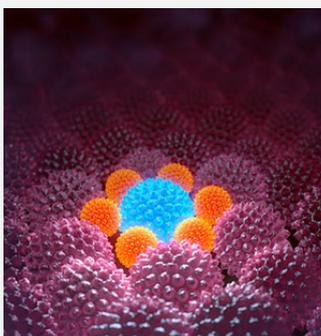


**BECKMAN  
COULTER**  
We're better together

Cultivos celulares Centrífuga de Bancada modelo AVANTI  
J-15R

**Sorting SH da Sony**, no caso de clonagem de hibridomas. A nossa solução permite a clonagem de célula única e opera automaticamente em condições de biossegurança.

Este equipamento, devido às suas características automáticas, dimensões e facilidade de uso (não requer pessoal específico), pode ser instalado diretamente no ambiente da sala de cultura. Além disso, o design, com base em elementos descartáveis, pode ser incorporado diretamente nos ambientes GMP.



**SONY**

SONY SH800 Cell Sorter. Com as plataformas de classificação celular da SONY, células únicas podem ser isoladas por fluorescência, acelerando a purificação de hibridomas e a subsequente produção de anticorpos e vacinas

# Farmacologia II: Imunoterapia

## Desenvolvimento de Anticorpos Monoclonais

### Ensaio de Afinidade

Durante a fase de seleção, é gerado um número enorme de espécies moleculares diferentes (anticorpos com afinidades diferentes), que devem ser rastreadas (HTS) e testadas quanto à sua afinidade contra todo o vírus ou contra as diferentes proteínas do capsídeo viral.

A carga de trabalho deste processo é alta e a automatização do processo não reduz apenas o tempo, como também evita erros e contaminação cruzada.

A **ressonância de plasmão de superficial (SPR)** foi considerado durante muito tempo uma das técnicas padrão fundamentais para medir a intensidade de união e afinidade das interações moleculares, incluindo as interações antígeno-anticorpo e partículas virais. Ao medir diretamente a união em tempo real sem utilizar marcador, SPR proporciona medições confiáveis para compreender melhor as vias da doença, a geração e validação de potenciais fármacos a ensaiar.



**OpenSPR** é uma solução de baixo custo para análise de interação molecular em tempo real sem a necessidade de rótulos. Equipamento de dois canais (amostra vs. referência) com possibilidade de automatização e controlo de temperatura até 4°C para 2 placas de 96 poços, permitindo que o equipamento trabalhe 24/7 sem interrupções.

 **nicoya**

Alto é o primeiro instrumento SPR do mundo que integra **microfluídica digital (DMF), inteligência artificial (AI) e nanotecnologia**. A tecnologia de manipulação de fluidos DMF elimina a necessidade de bombas, válvulas ou tubos físicos e substitui-os por um cartucho descartável de custo baixo, brindando maior qualidade de dados e menor tempo de manipulação.



# Farmacologia II: Imunoterapia

## Desenvolvimento de Anticorpos Monoclonais

Plataformas robóticas da Beckman Coulter que permitem a automatização desses ensaios, em conjunto com equipamentos HTS como Synergy de Biotek, bem como outros acessórios e equipamentos automatizáveis, como as lavadoras Biotek.

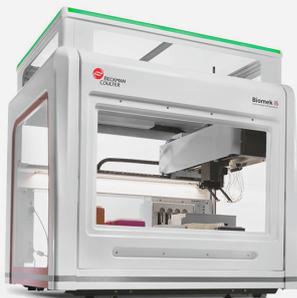


 **BioTek**<sup>®</sup>



Lavador de microplacas 405LS e Synergy HTX com injetores, instrumentação para desenvolver ensaios ELISA com leituras de absorvância ou fluorescência, um primeiro passo na automação

Incubadora com gripper BioSpa8, com 8 câmaras de incubação, com a integração de um leitor Cytation5 e um dispensador / lavador de microplacas EI406. Instrumentação completa para o desenvolvimento de qualquer ensaio ELISA avançado ou testes de citotoxicidade, podendo realizar 8 ensaios em paralelo e desenvolver testes de lapso de tempo sem intervenção do utilizador



 **BECKMAN  
COULTER**  
*We're better together*

Plataforma robótica de manipulação de líquidos, Biomek i5, capaz de ter um braço com uma cabeça expansível de 8 pontas ou uma cabeça multicanal de 96 pontas ou 384 pontas. Com as suas 25 posições de trabalho, tem capacidade para produzir 7 Placas AMPureXP ou 2 RNAAdvance sem intervenção do utilizador



Plataforma robótica de manipulação de líquidos, **Biomek i7** híbrido, com cabeça multicanal de 96 pontas, 8 pontas expansíveis entre si e gripper em cada braço. Com 35 posições de trabalho, é capaz de produzir 10 placas AMPureXP ou 4 placas RNAAdvance sem intervenção do utilizador



# Estratégia Preventiva

# Estratégia Preventiva

## Conceção e produção de vacinas

Com base em dados epidemiológicos, a situação ideal é o desenvolvimento de uma vacina que evite situações de possíveis pandemias atuais ou futuras.

Tanto desde a utilização de vírus atenuados ou inativados, até aos mais recentes, baseados em construções de vírus sintéticos, aos quais parte do genoma é removido, para evitar a sua reprodução (outra variante do vírus inativado) deve ser realizada em instalações e condições de segurança biológica, onde podemos oferecer equipamentos como:

- Vicell Blu de BC
- Fidabio (Flow Induced Dispersion Analysis)
- Nocoya Alto
- ExoView R100 de NanoView
- Jeol JEM-F200
- Beckman Ultracentrifugação Serie Optima (Modelos XE/XPN)
- Beckman Alta Velocidade/Capacidade Serie Avanti (Modelos JXN)
- ASKION C-line HS200
- Haier Cabina Segurança
- Invertido de Rotina Nikon TS2
- Centrifuga Bancada Avanti J-15R



Microscópio Ts2R-FL dentro de uma cabina de fluxo laminar



Haier

Ultracongelador, cabina de segurança biológica e frigoríficos de laboratório



Centrifugação e Ultracentrifugação



 **BECKMAN  
COULTER**  
*We're better together*



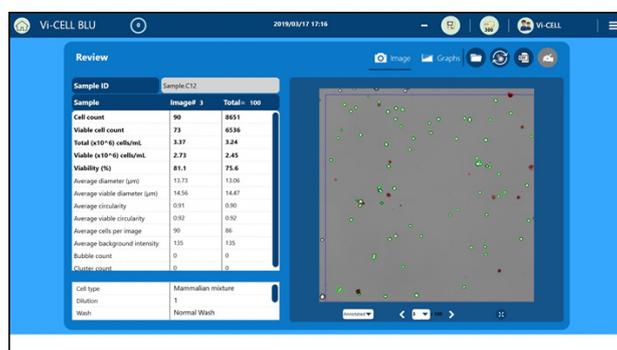
# Estratégia Preventiva

## Conceção e produção de vacinas

Uma vez estabelecidos as culturas e antes de iniciar os testes, *in vitro* e *in vivo*, é necessário passar pela fase de produção escalável de vírus, em quantidade suficiente para realizar esses ensaios.

O primeiro passo é o controlo de qualidade do processo de produção na cultura. Isso é feito em dois níveis:

- Acompanhamento das culturas (avaliação do efeito citopático) antes do processo de purificação.
  - **Vi-Cell Blu da Beckman Coulter**. O padrão internacional para esses controlos.
  - **ExoView R100 de Nanoview**, recentemente já permite quantificar as partículas virais no sobrenadante da cultura e fazer a contagem absoluta de partículas virais, em comparação com ensaios moleculares, que nos dão apenas o número de cópias do genoma do vírus, mas não se este fizer parte de vírus antigos.



Analizador de viabilidade celular e contador de células automático Vi-Cell BLU de Beckman Coulter.

O Vi-Cell Blu automatiza o método de coloração com azul de tripano amplamente aceite para determinar a viabilidade celular usando a tecnologia de análise de imagem. O processo é completamente automático e os resultados são obtidos em minutos. O instrumento é totalmente controlado a partir de uma interface de software avançado fácil de usar, projetado para máxima produtividade.

É um instrumento ideal para monitorizar a viabilidade das culturas de células utilizadas nos processos de transdução, sendo um fator chave no controle da eficiência na produção do agente biológico final.

### A tecnologia patenteada **FIDA (Flow Induced Dispersion Analysis)**

permite a **deteção direta de moléculas e interações moleculares em condições de partículas nativas numa ampla gama de tamanhos** (diâmetros entre 0,5-1000 nm) com aplicações diretas no desenvolvimento de medicamentos e no estudo de vacinas, vetores virais, proteínas de membrana, etc.



Com **Fida Analyser (FIDA 1)** obtém-se informação sobre interações de união complexas, assim como a caracterização e concentração de proteínas e nanopartículas em condições nativas. É uma técnica útil para validar **dados de Kd** obtidos com técnicas de imobilização (SPR ou BLI) de forma rápida, fácil e precisa.

# Estratégia Preventiva

## Conceção e produção de vacinas

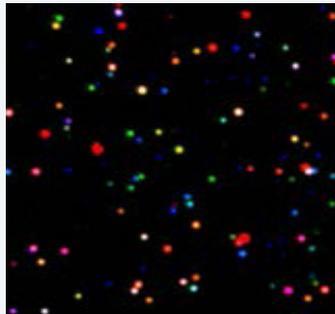
Alto é o primeiro instrumento **SPR** do mundo que integra **microfluídica digital (DMF)**, **inteligência artificial (AI)** e **nanotecnologia**. A tecnologia de manipulação de fluídos DMF elimina a necessidade de bombas, válvulas ou tubos físicos e substitui-os por um cartucho descartável de custo baixo, brindando mais qualidade de dados e menor tempo de manipulação.

 nicoya



 NanoView  
BIOSCIENCES

Deteção, quantificação e fenotipagem de nanopartículas presentes nas nossas amostras biológicas (com resolução até 50 nm) com a plataforma Exoview R100 da Nanoview.



 JEOL

Controlo de qualidade: devemos recorrer à **Microscopia Eletrónica de Transmissão (TEM)** de Jeol, como método de verificação da integridade estrutural de vírus ou viriões a serem usados.



JEM-F200 field emission transmission electron microscope

# Estratégia Preventiva

## Conceção e produção de vacinas

Na produção de vírus ou partículas virais para uso em vacinas, usam-se as **ultracentrífugas da Beckman Coulter**, especialmente com os **rotores 70Ti e SW40Ti**, para separar, purificar e preparar tanto vírus intactos, como viriões, ou nos casos em que é possível, subunidades virais com capacidade imunogénica.

O processo de ultracentrifugação preparativo, mesmo à escala de produção comercial, é um dos processos mais delicados, não apenas por causa do desempenho do processo (perder uma percentagem da produção pode ser economicamente muito caro) e pela pureza das frações isoladas, mas também é essencial para poder realizar esse processo em condições de biossegurança.



Ultra modelo OPTIMA XPN-100



Rotor SW 40Ti



Rotor 70Ti



Armazenamento e gestão de amostras. Todo este processo gera um grande número de amostras, tanto de variedades de vírus, linhas de células, stock de vírus ou até vírus produzidos no processo. Independentemente da quantidade de frascos a gerir, todos eles têm duas características: primeiro, são amostras de risco biológico; segundo, são materiais dedicados à produção de vacinas para uso terapêutico, para os quais estão sujeitos a procedimentos de GMP .

## ASKION



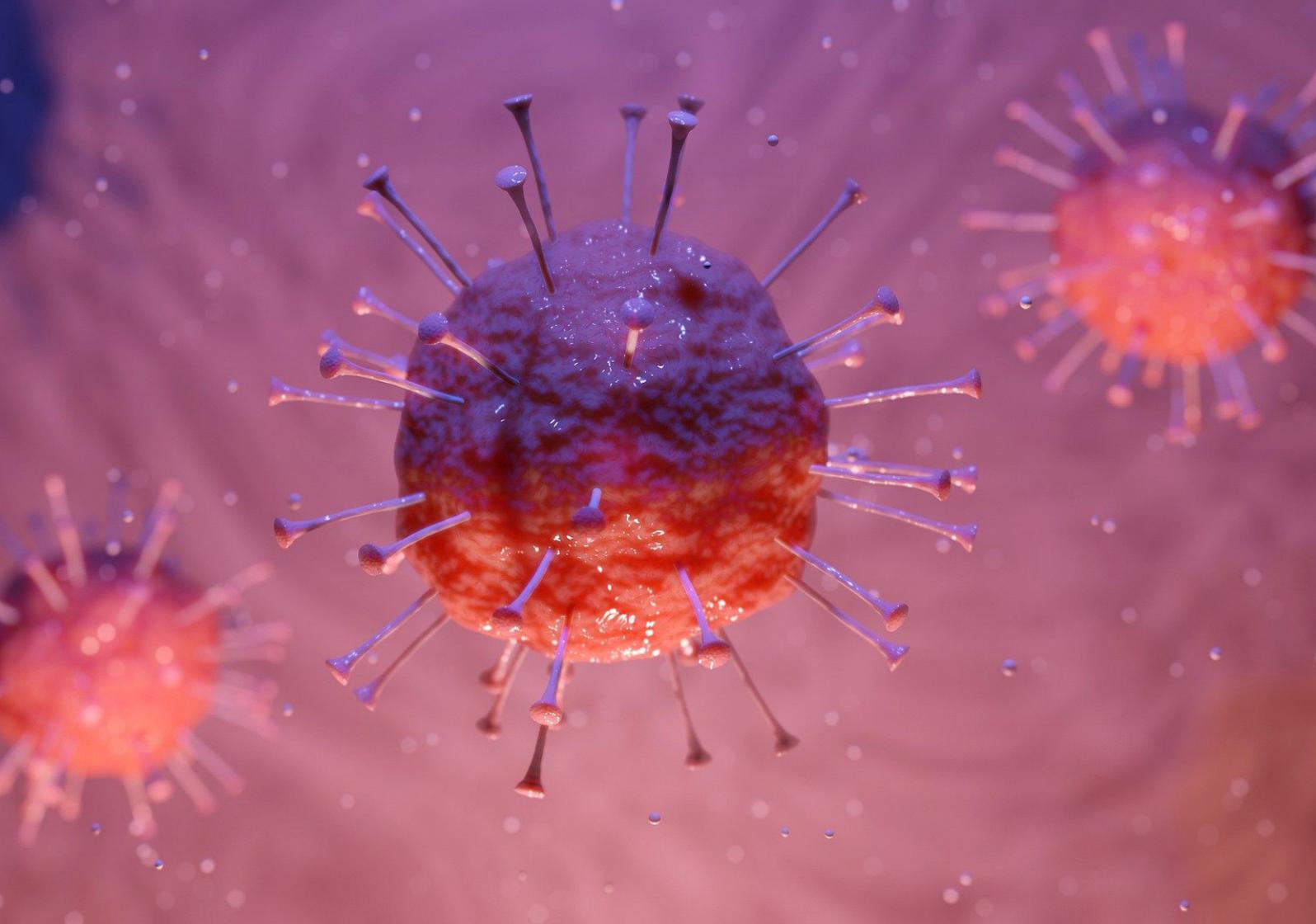
ASKION C-line® hermetic storage HS200 M/L

Equipamento de armazenamento criogénico disponível em diferentes formatos S, M ou L, dependendo das necessidades.

As unidades podem ser combinadas de forma modular para formar uma estação de armazenamento inteira para diferentes amostras, como frascos, bolsas de sangue e goblets. A temperatura de armazenamento chega a  $-185^{\circ}\text{C}$  e nos equipamentos de maior capacidade, é possível armazenar até 1.000.000 de amostras por unidade.

A **linha c-line de Askion** oferece equipamento de criopreservação para qualquer tipo de amostra biológica e permite ter o controlo de cada atividade realizada com o equipamento. Graças à estação de controlo da C-line, responsável por gerar toda a documentação necessária para monitorizar continuamente o processo, uma opção totalmente automatizada é oferecida para sistemas de biobancos.

[https://www.youtube.com/watch?time\\_continue=7&v=AVtwJHeB3rM&feature=emb\\_logo](https://www.youtube.com/watch?time_continue=7&v=AVtwJHeB3rM&feature=emb_logo)



# Conhecimento do vírus

# Conhecimento do vírus

**Plataforma Juno Biomark da Fluidigm.** Permite abordar e automatizar os processos do estudo epidemiológico, a monitorização de novas variantes e o estudo dos fatores de risco populacional.



## Biomark HD



GENE EXPRESSION



GENOTYPING



PROTEIN EXPRESSION



DIGITAL PCR



SAMPLE IDENTIFICATION

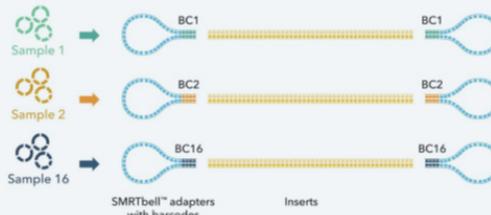


As plataformas Juno e Biomark da Fluidigm são poderosas ferramentas de análise genética, incluindo detecção de mutações, PCR quantitativo ou sequenciamento direcionado. Essas técnicas podem ser muito úteis no estudo da evolução de infecções virais e na classificação de novas variantes.

**Plataforma de ultra sequenciação de PacBio.** Do ponto de vista do conhecimento da genética do vírus, permite aprofundar os mecanismos de replicação, variações e modificações epigenéticas, além de detalhes da expressão génica e síntese de subunidades de vírus.



A plataforma de ultra sequenciação Sequel II da Pacific Biosystems é uma ferramenta poderosa em aplicações de virologia, especialmente na sequenciação de novas variantes virais usando NGS e na detecção de mutações num grande número de amostras simultaneamente



**Citometria espectral com alto nível de multiplexação da Sony,** Permite o conhecimento da resposta imune à infeção, tanto em aspectos relacionados como à capacidade dos indivíduos de neutralizar o vírus, quanto a possíveis reações inflamatórias descontroladas, responsáveis por alguns dos sintomas mais graves da pneumonia. É a base para o desenho de estratégias de prevenção ou tratamentos farmacológicos.

## SONY



ID7000 Spectral Analyzer

**Citometria de massas da gama Helios da Fluidigm.** Esta última possui painéis padronizados prontos para uso que permitem o mais alto nível de definição possível na identificação de populações que respondem e que não respondem.



Helios™ system

Panel Categories	Human	Mouse
Immunophenotyping	✓	✓
Cytokines	✓	✓
Signaling pathways	✓	✓
Cell cycle analysis	✓	✓
Checkpoint markers	✓	✓
T cell (four options)	✓	✓
B cell	✓	✓
Myeloid cell	✓	✓

Maxpar Panel Kits



Maxpar Direct Immune Profiling Assay

# Conhecimento do vírus

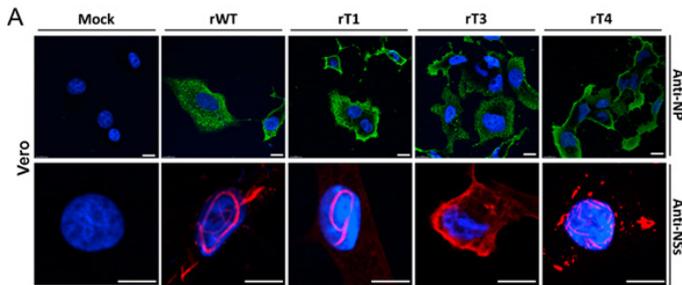
Do ponto de vista da biologia da infecção, no nível celular, os requisitos das técnicas microscópicas serão muito exigentes.

- Sistema confocal Nikon e super resolução STORM de Nikon em amostras fixas.
- Sistema confocal de spinning Andor, ou super resolução STED de Abberior para célula viva .

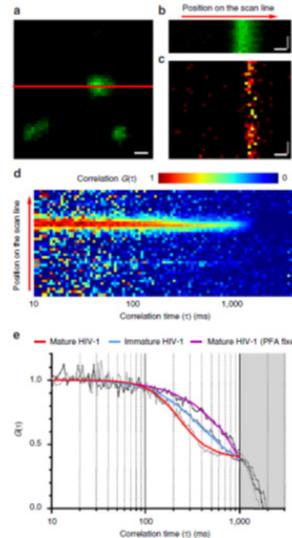
As diferentes técnicas apresentam diferenças no nível de resolução, na capacidade de obter imagens com maior velocidade ou a possibilidade de trabalhar com amostras frescas ou vivas. Em muitos casos são complementares; em outros, a escolha dependerá dos aspetos particulares de cada investigação.

Neste grupo de análises, de certa forma, também estão incluídos estudos estruturais do vírus e seus recetores, nos quais a técnica mais poderosa no momento é a **Crio-Microscopia Eletrónica Jeol**, para aprender sobre estruturas de proteínas num nível de resolução sem precedentes.

**ANDOR**  
an Oxford Instruments company



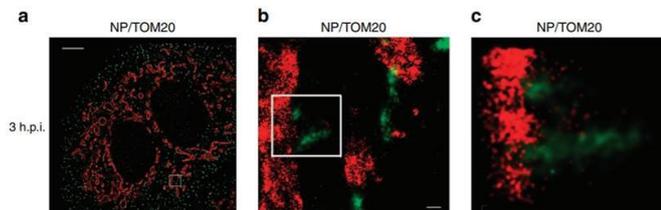
Graças à tecnologia de spinning disk de Andor, foi descrita a formação de filamentos NSS (em vermelho) em células infectadas pelo vírus RVFV (Rift Valley Fever Virus).  
Shufen Li et al., Viruses, 11, 834



**abberior**  
INSTRUMENTS

Medições de STED-FCS measurements de proteínas Env em partículas individuais de VIH

J. Chojnacki et al., Nature Communications volume 8, Article number: 545 (2017)



Utilizando a técnica STORM descreveu-se a localização próxima de ribonucleoproteínas virais pertencentes ao vírus da gripe A (a verde) com a membrana mitocondrial da célula infectada (a vermelho)



Swantje Liedmann, et al. Nature Communications (2014) 5:5645

**JEOL**

ARM™ 300  
Field Emission  
Cryo-electron  
Microscope



# Conhecimento do vírus

Do ponto de vista da experimentação animal, é necessário equipamento específico para animais pequenos, para que o processo de infecção possa ser monitorizado “in vivo”.

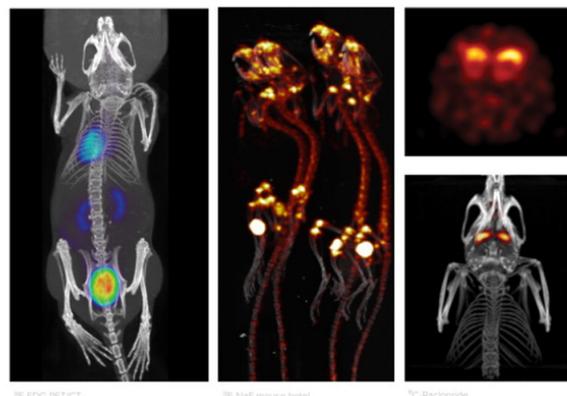
Sistemas TAC ou PET da Molecubes para pequeno animal.



**MOLECUBES**  
MODULAR  
BENCHTOP  
IMAGING



IN-VIVO SCANS



Os sistemas de imagem molecular da Molecubes oferecem equipamentos com a mais recente tecnologia para diagnóstico pré-clínico. Todo o equipamento está em conformidade com as tabelas de laboratório padrão e é portátil. Permitem o diagnóstico em pequenos animais de laboratório, oferecendo uma análise de imagem muito precisa em doses extremamente baixas e excelente contraste tecidual.

Os equipamentos são modulares e podem trabalhar individualmente ou combinar-se entre si para realizar diferentes tipos de screening:

- x-cube: tecnologia CT.
- β-cube: tecnologia PET
- γ-cube: tecnologia SPECT

E algo que não podemos esquecer, todos esses trabalhos devem ser realizados com o mais alto nível de **automatização possível**, e num ambiente de Bio segurança.

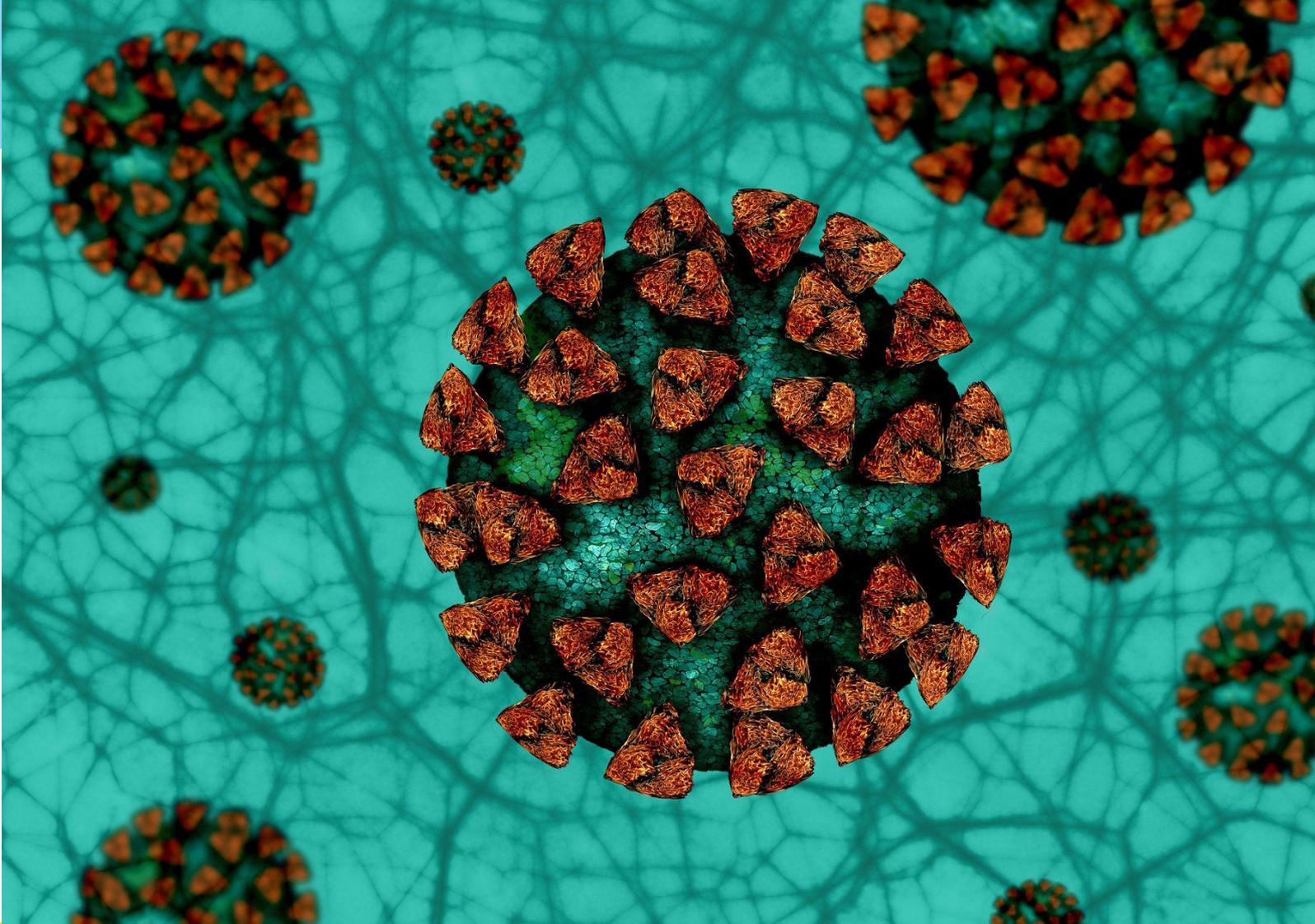


Plataforma robótica de manipulação de líquidos, **Biomek i5**

**Haier**



Cabina Seg. Biológica serie **HR1200-IIA2**



# Biobancos e Gestão de Amostras

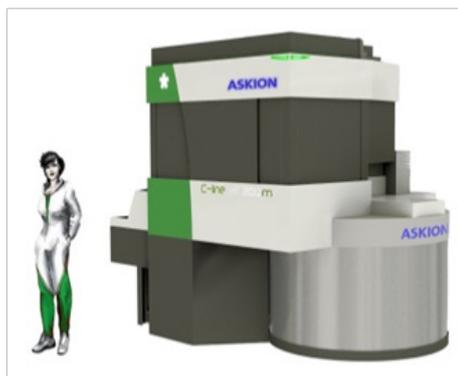
# Biobancos e Gestão de Amostras

No ambiente de virologia, é necessário gerir um número muito importante de amostras biológicas de alto valor e potencialmente perigosas, como vírus, amostras de pacientes, linhas de células ou amostras de material genético.

## Biobancos criogénicos de Askion.

- Baseados em N<sub>2</sub> líquido-vapor, oferecendo a maior segurança para a integridade das coleções
- Sistema totalmente automático e selado, garante inacessibilidade ao armazenamento criogénico. A manipulação de qualquer frasco é feita sem intervenção humana.
- Seguro contra acidentes, como falhas elétricas, sem comprometer a integridade das amostras.

Rastreabilidade garantida, sendo recomendada adicionalmente para certos ácidos nucleicos que apesar de não precisarem de armazenamento em N<sub>2</sub>, para a sua estabilidade, por segurança não deveriam ser armazenados de outra forma.



HS200-L HS200-S HS200-M

Estes sistemas oferecem uma solução ideal para bancos de biobancos, onde o armazenamento de amostras é de grande importância para a correta preservação do material biológico.

Dependendo da necessidade de capacidade de armazenamento, o utilizador pode escolher entre três versões diferentes do HS200: S / M / L.

As três versões são totalmente compatíveis entre si e podem ser conectadas por um sistema externo para criar um biobanco totalmente automatizado.

Os sistemas de armazenamento da C-line permitem armazenar diferentes formatos de amostras biológicas que variam de tecidos, frascos a bolsas de sangue.

O armazenamento ocorre na fase gasosa do azoto líquido. A qualidade máxima da amostra é garantida por décadas devido ao armazenamento em temperaturas muito baixas e temperaturas de manipulação de amostras abaixo de -130°C.

# Biobancos e Gestão de Amostras

Plataformas i-Series Beckman Coulter. Além disso, durante a fase de preparação da amostra, para envio ao Biobanco, procura-se maximizar a **automatização** dos processos, com duas finalidades:

- Reduzir o risco de erro humano.
- Reduzir o risco dos utilizadores à exposição de agentes patógenos.

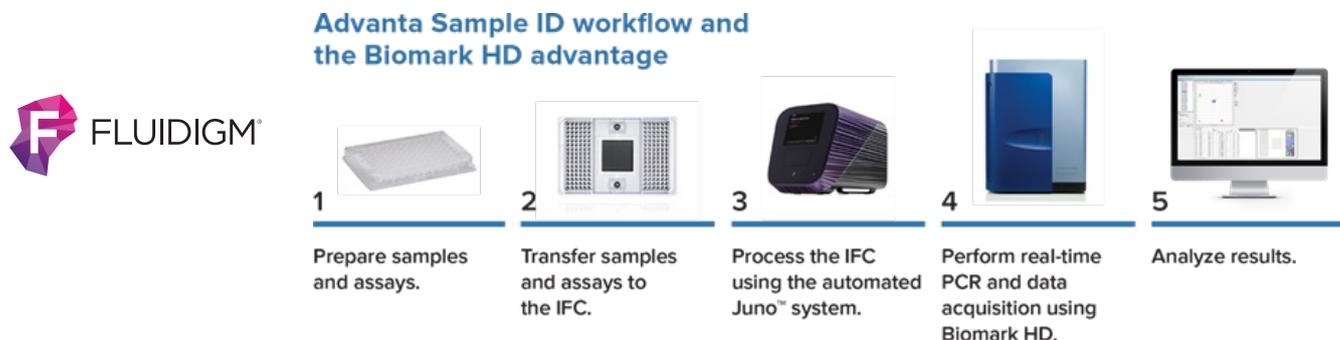


Plataforma robótica de manipulação de líquidos, Biomek i7, com integrações do Leitor de microplacas, filtros HEPA com fluxo laminar e incubadora de células



De qualquer forma, durante algumas fases do processo de preparação e posterior extração, não é possível evitar 100% de erro humano. Daí a necessidade de verificar a identidade das amostras antes do armazenamento e posteriormente durante o uso à saída do Biobanco.

Baseado na plataforma **Biomark da Fluidigm**, temos um painel de marcadores, que permite a identificação positiva das amostras, assim como amostras de DNA para verificar a sua integridade e qualidade.



O Advanta Sample ID Genotyping panel é um painel composto por 96 SNPs projetado para gerar uma impressão digital genética de qualidade, específica para cada uma das amostras que são processadas ou armazenadas por laboratórios e biobancos.

**Poderoso** - Permite monitorizar a identidade e a qualidade de cada amostra com o uso de 96 SNPs: 10 SNPs para qualidade de amostra, 6 para género, 40 para população e 40 altamente polimórficos.

**Flexível** - Pode ser personalizado adicionando ou modificando SNPs para populações específicas de amostras, dependendo da aplicação ou patologia a ser estudada.

**Eficiente** - Facilmente automatizável, minimiza os custos porque as reações são feitas em volumes de nanolitros e reduz reações extras para testar a qualidade da amostra.

