



Concurso Público Fiocruz 2023

Tecnologista em Saúde Pública Prova Discursiva

TE41

Citometria de fluxo

Espelho de Resposta

Pontuação da Questão Discursiva conforme Anexo II do Edital nº 2, de acordo com a Unidade detentora da vaga.

Espera-se que o candidato, no desenvolvimento do tema, tenha feito considerações técnicas adequadas sobre os seguintes pontos:

Sub-item 1.1) Citometro digital. Apenas estes citômetros permitem a avaliação de FSC-A para compor o gráfico de singlets exibido no gráfico A na figura, desta forma, trata-se de um citômetro digital.

Sub-item 1.2) Os fluorocromos APC (laser vermelho) e FITC (laser verde) apresentados na estratégia de gating são lidos por lasers diferentes, e a viabilidade geralmente é lida com fluorescências excitadas por laser violeta então não precisaria de compensação. No entanto, se a viabilidade for avaliada com corantes antigos (ex trypan blue ou PI) excitados nos lasers vermelho ou azul, é necessário fazer compensação. Ou seja, depende do corante de viabilidade, neste caso.

Sub-item 1.3) Refere-se a uma amostra de PBMC ou células mononucleares do sangue periférico, como pode ser observado no gráfico de tamanho e granulosidade, o que é confirmado pelo gate de células T (CD3) e a proporção de células B (CD19) que é aproximadamente de 7,3%.

Sub-item 1.4) Quando uma única célula passa pelo laser que indica tamanho (FSC), o pulso que dá origem ao parâmetro gera uma curva que é medida pela altura (H), área (A) e largura (W). Assim, FSC-H se correlaciona com o FSC-A para uma célula sozinha, ou singleto, e estas células aparecem na diagonal em um gráfico de pontos FSC-H/FSC-A. No entanto, quando as células se aglomeram, essa correlação é perdida e, como tal, dupletos ficam fora da diagonal do gráfico. Assim esta estratégia de gating é capaz de discriminar dupletos de singletos.

Sub-item 1.5)

D) População real. Trata-se de linfócitos T que apresentam população única e característica na forma arredondada e com maioria (percentual aproximado de 70-80%).

E) População real. Trata-se de linfócitos B que apresentam população única e característica na forma arredondada e com menor percentual (percentual aproximado de 4-11%).

F) População real. Trata-se de uma população rara de células imaturas na linhagem hematopoética com característica bifenotípica na qual expressam CD3+CD19+ ao mesmo tempo. Circulam na proporção de 0,1% em PBMCs humanos.

Sub-item 1.6)

Perfil correto é o C (operador 3). Trata-se da avaliação de células T invariáveis expressando CD3 e um TCR (cadeia alfa 24) característico de células NKT invariáveis, uma subpopulação de células T que expressa alguns marcadores de NK como NK1.1. No entanto, são células T. O perfil mais adequado para a biologia destas células é o perfil C observado pelo Operador 3, no qual a população duplo-positiva apresenta um formato de elipse. Este formato é crucial para se definir o protocolo adequado para avaliar a biologia destas células T e se avaliar receptor de células T, pois indica que existe uma molécula de CD3 para cada uma das moléculas de TCR na superfície da célula T em questão. Todas as marcações de receptores de células T versus CD3 devem gerar esta elipse, então outros perfis com outros anticorpos para TCR (exemplos: TCRab, TCRVa7.2, TCRVg etc) deveriam apresentar esta forma elíptica no gráfico de dotplot na citometria de fluxo. O operador 1 apresentou um perfil próximo da população elíptica, no entanto todas as células CD3+ apresentaram marcação com o anticorpo, ou seja, o que não poderia ser verdade pois este TCR é detectado em uma parcela única de células T.