

XI Encontro do Instituto Adolfo Lutz Desafios do Laboratório de Saúde Pública: conhecer, monitorar e responder 04 a 07 de novembro de 2024

04 a 07 de novembro de 2024 São Paulo/SP

e40833 • Biologia Médica

Produção de emblocado celular parafinado do vírus da dengue como controle positivo para imuno-histoquímica

Jerenice Esdras Ferreira^{1*} D, Eliane Margareth Pimenta Carneiro¹ D, Camila Malta Romano⁵ D, Cinthya dos Santos Cirqueira Borges² D, Daniel Monteiro Ferreira² D, Karen Miguita¹ D, Leonardo José Tadeu Araújo³ D, Aurea Silveira Cruz Garçon⁴ D

- ¹ Núcleo de Hematologia e Bioquímica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.
- ² Núcleo de Anatomia Patológica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.
- ³ Núcleo de Patologia Quantitativa, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.
- ⁴ Núcleo de Cultura de Células, Centro de Procedimentos Interdisciplinares, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.
- ⁵ Instituto de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Coordenadora da Comissão Científica: Adriana Pardini Vicentini

Os emblocados celulares (EC) obtidos de cultura são utilizados como alternativa aos fragmentos de órgãos como controle positivo, no diagnóstico laboratorial nas técnicas de colorações histoquímicas, imuno-histoquímicas (IHQ) e testes moleculares na identificação de diversos microrganismos, como fungos, bactérias e vírus. Nosso objetivo foi produzir EC parafinado, a partir de cultura de células infectadas com o vírus da dengue, para serem utilizados como controle positivo nas reações de IHO. Para produção dos EC foram utilizadas culturas de células C6/36 em meio Leibovitz, infectadas com sobrenadante de cultura dos quatro subtipos de dengue (1-4) e mantidas em estufa a 28 °C por três semanas. Foi realizado centrifugação, os sedimentos foram fixados em formalina 10% por 24 horas, fixados em álcool 70% por duas horas. Os sedimentos dos quatro subtipos foram misturados a pequenos fragmentos de fígado e baço (tecidos sem infecção, remanescentes obedecendo critérios de temporalidade). A mistura foi distribuída em tubos e coberto com HistoGel. Após solidificação do material, seguimos o protocolo padrão de processamento histológico. Foram realizados cortes de 3 micrômetros nos EC parafinados e analisados pela técnica de IHQ. Procedendo a recuperação antigênica por calor úmido em pH 6,0, utilizando anticorpo primário monoclonal anti-dengue NS1 na diluição 1:1000. Na amplificação da reação utilizou-se o sistema de polímeros conjugado com anticorpo secundário e fosfatase alcalina, seguida da revelação com cromógeno e análise das lâminas em microscópio óptico. Os resultados mostraram uma imunorreatividade presente nos EC avaliada pela intensidade máxima (graus 0 - 4), confirmando reação verdadeira mediante ausência de coloração nos controles negativos. Concluímos que a produção de emblocado celular é uma ferramenta estratégica, reprodutível e de suma importância na obtenção de controles positivos para serem empregados em imuno-histoquímica na garantia da qualidade analítica.

Palavras-chave. Dengue, Células Cultivadas, Imuno-Histoquímica.

Comitê de Ética: Não declarado pelos autores.



^{*}Autor de correspondência: jerenice.esdras@ial.sp.gov.br