



XI Encontro do Instituto Adolfo Lutz

Desafios do Laboratório de Saúde Pública: conhecer, monitorar e responder



04 a 07 de novembro de 2024

São Paulo/SP

e40755

• Biologia Médica

Desenvolvimento de cinco painéis de imunofenotipagem universais modificados do Projeto de Imunologia Humano para monitorar o sistema imune

Barbara Suellen Guimarães Marin Ferreira , Daniela Ferreira Pugliesi , Paula Ordonhez Rigato* 

Laboratório de Imunobiologia e Biomarcadores, Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor de correspondência: paula.rigato@ial.sp.gov.br

Coordenadora da Comissão Científica: Adriana Pardini Vicentini

A citometria de fluxo (CF) é poderosa para monitorar o sistema imune, mensurando múltiplos parâmetros em milhares de células individuais rapidamente. A disponibilidade de inúmeros reagentes proporciona a determinação de proteínas de superfície, intracelulares e intranucleares levando a incontáveis aplicações e metodologias. A mensuração acurada das variações do sistema imune (SI) exige ensaios precisos e padronizados de imunofenotipagem. Desenvolvemos e testamos 5 painéis de imunofenotipagem (12 cores) baseados no Consórcio Internacional de Imunofenotipagem Humano (CIIH-8 cores) do Projeto de Imunologia Humana (NIAID, EUA). Foram realizadas a testagem e titulação de 11 anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos (AcM-F), e marcador de viabilidade (V) em células mononucleares do sangue periférico por painel (P): (P1) Células T Memória/Ativação, (P2) Fenótipo Th, (P3) T regulatória/ativação/exaustão, (P4) células B e (P5) monócitos, células NK e dendríticas. Leitura realizada no citômetro de fluxo Cytotflex S (Beckman Coulter, EUA). Os dados foram analisados no FlowJo 10.8.1 (BD, EUA). Foram testados e titulados 57 AcM-F nos cinco painéis que definiram populações marcadas e não-marcadas, e os índices de marcação (IM) calculados. A concentração de anticorpo utilizada foi com maior IM. Amostras de PBMC e sangue periférico marcadas com o conjunto de AcM-F+V definiram múltiplas populações de células: (P1) T, TCD4+, TCD8+, *naïve*, memória central ou efetora, efetora expressando ou não marcador de ativação e exaustão; (P2) T, TCD4+, TCD8+, Th1, Th2, Th17 e T folicular ativada/exausta; (P3) T, TCD4+, TCD8+, regulatória, memória, *naïve*, ativada/exausta; (P4) B, CD19+ e/ou CD20+, *naïve*/memória, transicional, plasmablasto, ativadas; (P5) Monócitos totais, clássicos e não clássicos, 3 subpopulações de NK, células dendríticas (mielóides/plasmocitóides) ativadas/não ativadas. Os cinco painéis de imunofenotipagem desenvolvidos e testados permitem a caracterização das populações definidas pelo CII-PIH podendo ser utilizados em qualquer contexto de saúde ou patológico para monitorar o SI.

Palavras-chave. Citometria de Fluxo, Imunofenotipagem, Sistema Imune.

Comitê de Ética: Instituto Adolfo Lutz, Parecer nº 4.108.242 / CAAE 13564519.6.0000.0059.

Órgão Financiador: FAPESP, Processos nº 2017/50333-7 e nº 2021/01496-6; CAPES Processo 88887.949026/2024-00 e IAL/CCD/SES.