



ST3395
HT3381

Citometria de fluxo

Tecnologista em Saúde Pública

Prova Objetiva e Discursiva

**Conhecimentos Específicos
na Área de Atuação**

01. A resposta imune adquirida a parasitas que possuem a capacidade de infectar os fagossomos de macrófagos é mediada principalmente por:

- (A) linfócitos Th1.
- (B) linfócitos Th2.
- (C) células Dendríticas.
- (D) linfócitos T citotóxicos.
- (E) linfócitos B da Zona Marginal.

02. O principal efeito da citocina Interferon-gama nos macrófagos é:

- (A) aumento da permeabilidade da membrana nuclear.
- (B) diminuição da capacidade fagocítica.
- (C) aumento da capacidade fagocítica.
- (D) diminuição da expressão de moléculas coestimuladoras.
- (E) diminuição da capacidade microbicida.

03. Observe as informações abaixo sobre a seleção tímica:

- I – Os timócitos duplo-positivos cujo TCR não apresenta capacidade de reconhecimento da molécula de MHC são selecionados positivamente.
- II – Os timócitos duplo-positivos cujo TCR apresenta ligação de alta afinidade e alta avidéz com a molécula de MHC são selecionados positivamente.
- III – Os timócitos duplo-positivos cujo TCR apresenta ligação de baixa afinidade e baixa avidéz com a molécula de MHC são selecionados positivamente

Das afirmativas acima:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas II está correta.
- (C) apenas III está correta.
- (D) I e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

04. A principal função do linfócito T citotóxico é:

- (A) ativação de células dendríticas.
- (B) indução de morte em células infectadas por patógenos intracelulares.
- (C) cooperação com o linfócito B para produção de anticorpos.
- (D) reconhecimento de moléculas de MHC classe II.
- (E) Resposta imune a helmintos.

05. Em um processo inflamatório na pele decorrente de lesão as primeiras células a migrarem para o sítio inflamatório são:

- (A) linfócitos T.
- (B) macrófagos.
- (C) linfócitos T gama-delta.
- (D) células NK.
- (E) Neutrófilos.

06. Se injetarmos uma pequena quantidade de corante diluído em solução salina fisiológica no subcutâneo de um camundongo, após 1 minuto esperamos encontrar maior concentração do corante:

- (A) nos pulmões.
- (B) no baço.
- (C) no fígado.
- (D) nos linfonodos.
- (E) no coração.

07. Após uma imunização o tempo mínimo esperado para detectarmos no soro a presença de anticorpos específicos contra o antígeno injetado é de:

- (A) 3 a 5 horas.
- (B) 7 a 10 dias.
- (C) 5 a 7 semanas.
- (D) 6 meses.
- (E) somente após segundo contato com o antígeno.

08. São células envolvidas na recirculação de linfócitos pelos linfonodos:

- (A) células da vênula de endotélio alto.
- (B) células M
- (C) células mesangiais.
- (D) células mesenquimais.
- (E) selectinas.

09. Após ativação os linfócitos T passam a expressar:

- (A) receptor de LPS.
- (B) Genes envolvidos na maturação de afinidade
- (C) As moléculas B7.1 e B7.2.
- (D) receptor de alta afinidade para IL-2.
- (E) Fator de Von Hildebrand.

10. Um antígeno reconhecido por uma Imunoglobulina de superfície do linfócitos B será:

- (A) transferida e apresentada pelo macrófago.
- (B) internalizada para o núcleo.
- (C) internalizado, processado e seus peptídeos serão secretados com novas imunoglobulinas.
- (D) internalizado, processado e seus peptídeos serão apresentados em molécula do MHC de classe II.
- (E) Responsável pela estrutura pentaméria da IgM.

11. A citotoxicidade celular dependente de anticorpos é executada por:

- (A) linfócitos T helper.
- (B) linfócitos T citotóxicos.
- (C) macrófagos ativados.
- (D) linfócitos B.
- (E) células NK.

12. Em transplante de tecidos pode ocorrer um tipo de rejeição que é denominada de hiperaguda, pois ocorre muito rapidamente e o tecido transplantado pode ser destruído em poucas horas. Esta rejeição é causada por:

- (A) anticorpos pré-formados.
- (B) linfócito T auto-reativos.
- (C) plaquetas.
- (D) linfócitos T gama delta.
- (E) imunocomplexos.

13. Tumores com características altamente imunogênicas são mais frequentes em:

- (A) linfomas.
- (B) tumores do sistema nervoso central.
- (C) indivíduos alérgicos
- (D) metástases.
- (E) pacientes imunossuprimidos.

14. São citocinas típicas da resposta imune do tipo TH2:

- (A) IFN-gama; IL-10 e IL-15.
- (B) IL-4; IL-5 e IL-10.
- (C) IL-4 e IL-12.
- (D) IL-1; IL-6 e IL-8.
- (E) IL-10; IL-17 e IL-21.

15. Os linfócitos T foliculares são caracterizados por:

- (A) possuir alta capacidade de secretar citocinas.
- (B) diferenciar mais rapidamente em células Th17
- (C) possuir alta capacidade de interação com o linfócito B.
- (D) secretar IL-22.
- (E) infiltrar o sistema nervoso.

16. A operação que estabelece uma relação entre os valores fornecidos por padrões e as indicações correspondentes do instrumento de medição é chamada de:

- (A) manutenção.
- (B) validação.
- (C) aferição.
- (D) calibração.
- (E) reparo.

17. Observe as afirmativas a seguir em relação às cabines de segurança biológica.

- I – Uma das razões para o uso das cabines de segurança biológica é a proteção do profissional e do ambiente laboratorial dos aerossóis potencialmente infectantes que podem se espalhar durante a manipulação.
- II – Na cabine de segurança biológica não deve ser utilizado o bico de Bunsen.
- III – A cabine de segurança biológica classe II protege o manipulador, o ambiente e o material.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas II está correta.
- (C) apenas I e II estão corretas.
- (D) apenas II e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

18. Meios para proteger os profissionais e o ambiente laboratorial da exposição aos agentes biológicos de risco, pela adoção de boas práticas de laboratório e pelo uso de equipamentos de proteção individual e coletiva é a definição de:

- (A) contenção primária.
- (B) contenção secundária.
- (C) barreiras de contenção.
- (D) análise de risco.
- (E) trabalho em contenção.

19. Ação para eliminar a causa de uma potencial não-conformidade ou outra situação potencialmente indesejável, refere-se a:

- (A) análise crítica.
- (B) auditoria interna.
- (C) ação preventiva.
- (D) ação corretiva.
- (E) melhoria contínua.

20. O controle de documentos é um requisito das normas de sistema de gestão da qualidade. Observe as afirmativas a seguir referentes a este requisito.

- I - O laboratório deve estabelecer e manter procedimentos para controlar todos os documentos que fazem parte do seu sistema de gestão.
- II - Os documentos do sistema de gestão gerados pelo laboratório devem ser univocamente identificados.
- III - Não é necessário estabelecer procedimentos para descrever como são realizadas e controladas as alterações nos documentos mantidos em sistemas computadorizados.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas II está correta.
- (C) apenas I e II estão corretas.
- (D) apenas II e III estão corretas.
- (E) todas estão corretas.

Conhecimentos Específicos no Perfil

21. Os Sinais de FSC e SSC obtidos na citometria de fluxo são obtidos devido:

- (A) à dispersão da luz fluorescente quando excitada pelo fluorocromo.
- (B) ao potencial elétrico gerado pela partícula quando atravessa o feixe de laser.
- (C) à dispersão da luz que ocorre quando a partícula atravessa o feixe de laser.
- (D) aos sinais fluorescentes gerados pelos anticorpos.
- (E) à dispersão das células gerada no fluxo laminar.

22. Para ensaios que visam detectar, por citometria de fluxo, células em apoptose os reagentes mais adequados são:

- (A) anexina-V purificada e Iodeto de Propídeo.
- (B) anexina-V conjugada à FITC e Iodeto de Propídeo.
- (C) anticorpos específicos para anexina e 7-amino actinomicina D.
- (D) iodeto de propídeo e 7-amino actinomicina D.
- (E) iodeto de propídeo e solução permeabilizante da membrana celular.

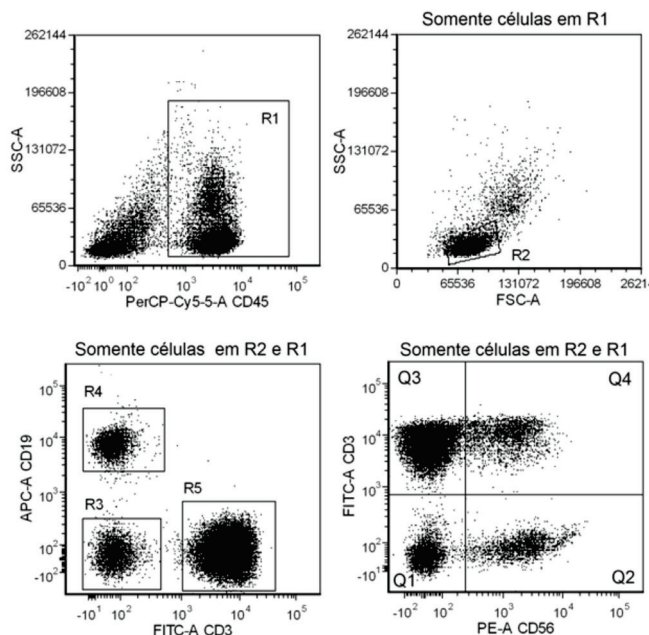
23. Observe os tipos de amostras abaixo:

- I – linfócitos em suspensão em meio líquido.
- II – corte de tecido com espessura inferior a 30 micrômetros.
- III – células tronco mesenquimais isoladas de parede de cordão umbilical e suspensas em meio líquido.

Podem ser analisadas pela técnica de citometria de fluxo:

- (A) apenas a amostra I.
- (B) apenas a amostra II.
- (C) apenas a amostra III.
- (D) as amostras I e II.
- (E) as amostras I e III.

Para responder as questões 24 a 27 observe a figura abaixo, que representa uma imunofenotipagem por citometria de fluxo de células mononucleares de sangue humano:



24. As células selecionadas em R2 são:

- (A) linfócitos.
- (B) monócitos.
- (C) neutrófilos.
- (D) basófilos.
- (E) Macrófagos.

25. O fenótipo das células em Q2 é

- (A) CD3- CD56+ CD19-.
- (B) CD45+ CD3- CD56+.
- (C) CD45- CD3+ CD56-.
- (D) CD3- CD19+ CD56+.
- (E) CD45- CD3+ CD56-.

26. As células em R5 são:

- (A) células NK.
- (B) células NK-T.
- (C) linfócitos B.
- (D) linfócitos T.
- (E) macrófagos.

27. A População selecionada em R5 é a mesma mostrada em:

- (A) Q1 + Q2.
- (B) Q2 + Q3.
- (C) Q3 + Q4.
- (D) Q4 + Q2.
- (E) Q1 + Q4.

28. Em citometria de fluxo definimos doublets como:

- (A) duas partículas que se sobrepõem ao passar pelo laser.
- (B) dois eventos subsequentes.
- (C) dois eventos idênticos.
- (D) uma célula em divisão.
- (E) duas células com mesmo fenótipo.

29. A função do sistema de fluidos no citômetro de fluxo é:

- (A) gerar os sinais fluorescentes de tamanho e granulosidade.
- (B) transportar as células do tubo de amostra até o feixe de laser.
- (C) alterar a morfologia das células.
- (D) lubrificar o aparelho.
- (E) evitar o esgotamento da amostra.

30. Para a realização da Imunofenotipagem por citometria de fluxo são utilizados:

- (A) anticorpos policlonais conjugados à substâncias radioativas.
- (B) anticorpos monoclonais conjugados à substâncias radioativas.
- (C) anticorpos monoclonais conjugados à moléculas fluorescentes.
- (D) apenas anticorpos produzidos por camundongos.
- (E) apenas anticorpos que possuem atividade citolítica.

31. O painel mais indicado para análise das células sanguíneas de pacientes com AIDS possui anticorpos específicos para as moléculas:

- (A) CD3, CD4, CD19 e CD45.
- (B) CD3, CD8 e CD19.
- (C) CD4, CD19 e CD45.
- (D) CD3, CD4 e CD8.
- (E) CD3, CD4, CD8 e CD45.

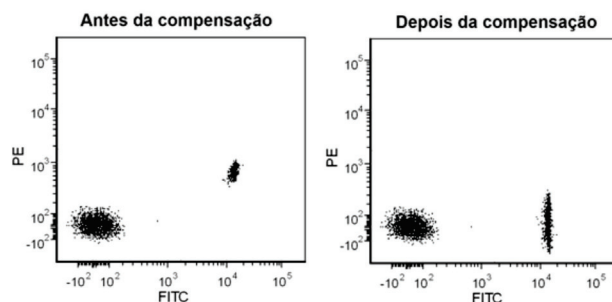
32. É um marcador típico de Linfócitos B:

- (A) CD3.
- (B) CD133.
- (C) CD19.
- (D) CD45.
- (E) CD66.

33. São fluorocromos excitados pelo laser de 488nm:

- (A) FITC, PE e APC.
- (B) PE, Alexa Fluor 700 e Pacific Blue.
- (C) FITC, Pacific Blue e Alexa Fluor 647.
- (D) FITC, PE e PerCP-Cy5.5.
- (E) Alexa 488, APC e BV510.

34. A figura abaixo mostra uma mesma amostra em duas situações, antes e depois da compensação:



O ajuste realizado no aparelho para que a amostra fosse compensada foi:

- (A) aumento do valor de x no ajuste: PE \rightarrow x% FITC.
- (B) diminuição do valor de x no ajuste: PE \rightarrow x% FITC.
- (C) aumento do valor de x no ajuste: FITC \rightarrow x% PE.
- (D) diminuição do valor de x no ajuste: FITC \rightarrow x% PE.
- (E) aumento do valor de x no ajuste: APC \rightarrow x% PerCP.

35. Os ajustes de compensação na citometria de fluxo são necessários devido à sobreposição:

- (A) dos espectros de emissão de luz dos fluorocromos.
- (B) dos espectros de absorção de luz dos fluorocromos.
- (C) das voltagens das células fotomultiplicadoras.
- (D) das voltagens dos diodos utilizados para a leitura das fluorescências.
- (E) do fluxo laminar existente na célula de fluxo.

36. Um filtro óptico denominado como 530/30 BP será atravessado pela luz com comprimento de onda:

- (A) entre 500 e 560 nanômetros.
- (B) entre 515 e 545 nanômetros.
- (C) entre 500 e 530 nanômetros.
- (D) menor que 500 e maior que 560 nanômetros.
- (E) menor que 515 e maior que 545 nanômetros.

37. Observe as características abaixo:

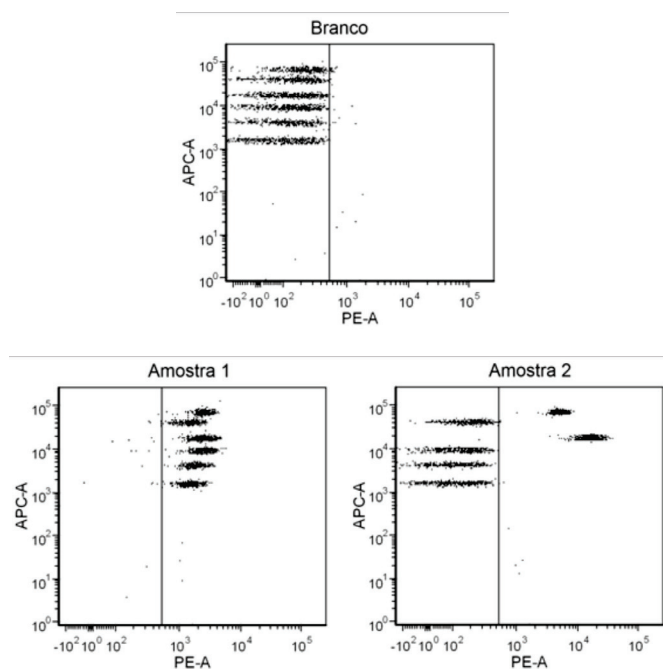
- I – Lasers e filtros ópticos instalados no citômetro de fluxo.
- II – Espectro de absorção de luz do fluorocromo.
- III – Espectro de emissão de luz do fluorocromo.

Na montagem de painéis para análise em citometria de fluxo devemos considerar:

- (A) apenas I.
- (B) apenas II.
- (C) apenas III.
- (D) apenas II e III.
- (E) todas.

Para responder às questões 38 a 40 observe a figura e o texto abaixo.

Os “bead based assays” são ensaios que permitem a dosagem de moléculas solúveis utilizando esferas microscópicas conjugadas à anticorpos específicos, estas esferas são fabricadas com características que permitem as diferenciar em populações na citometria de fluxo. A figura mostra uma análise utilizando o kit CBA (Cytometric bead Array) de duas amostras: O “branco” se refere à uma amostra na qual as beads foram incubadas com uma solução na qual se sabia que não havia nenhuma das citocinas avaliadas. As beads utilizadas neste kit permitem a detecção das seguintes citocinas na ordem de cima para baixo: IL-8; IL-1beta; IL-6; IL-10, TNF-alfa e IL-12p70.



38. No ensaio ilustrado acima a característica que permite a distinção entre as esferas é:

- (A) as esferas possuem tamanhos diferentes.
- (B) as esferas estão conjugadas à anticorpos diferentes.
- (C) as esferas estão conjugada com PE.
- (D) as esferas possuem cargas elétricas diferentes.
- (E) as esferas possuem intensidades de fluorescência diferentes.

39. Sobre as amostras é possível afirmar que:

- (A) não foi possível detectar IL-10 na amostra 1.
- (B) a amostra 2 possui maior concentração de IL1 beta que a amostra 1.
- (C) na amostra 1 não foi possível detectar a presença de nenhuma citocina.
- (D) a amostra 2 possui maior concentração de IL-6 que a mostra 1.
- (E) na amostra 1 não foi detectada IL-12p70.

40. Para que seja possível a quantificação das citocinas analisadas no CBA é necessário incluir no ensaio:

- (A) esferas quantitativas.
- (B) anticorpos conjugados com streptoavidina.
- (C) sobrenadantes de cultura de linfócitos.
- (D) curva padrão.
- (E) amostras em duplicata.

41. A técnica de separação celular por citometria de fluxo (cell sorting) permite separar:

- (A) apenas em linfócitos.
- (B) quaisquer populações celulares, desde que possuam o mesmo tamanho.
- (C) células associadas com compostos fluorescentes.
- (D) apenas células marcadas com anticorpos fluorescentes.
- (E) apenas células de camundongos.

42. A separação das células no cell sorting é possível porque:

- (A) são aplicadas cargas elétricas na membrana das células.
- (B) as células são isoladas em gotículas microscópicas.
- (C) os fluorocromos direcionam as células.
- (D) existe uma rede de capilares que direciona as células.
- (E) o nozzle é uma peça de metal.

43. As placas defletoras são:

- (A) duas placas de metal carregadas eletricamente, uma com carga positiva e outra com carga negativa.
- (B) duas placas de metal carregadas eletricamente com carga positiva.
- (C) duas placas de metal carregadas eletricamente com carga negativa.
- (D) placas isolantes que protegem as células da eletricidade.
- (E) placas isolantes que protegem o operador da eletricidade.

44. O “drop delay calibration” é um ajuste presente nos aparelhos de cell sorting que recebe diferentes nomes dependendo do modelo e do fabricante do aparelho, consiste em aferir e ajustar o tempo entre a passagem da partícula analisada pelo laser e o ponto de quebra (break-off) do stream. Este ajuste tem como finalidade:

- (A) garantir que não haverá formação de doublets.
- (B) diminuir o tempo de sorting.
- (C) ajustar a voltagem das placas defletoras.
- (D) garantir o melhor ângulo de abertura para os side streams.
- (E) ajustar o tempo entre a leitura da partícula e a modulação da carga aplicada para a separação.

45. Após o cell sorting é possível verificar a pureza obtida na separação:

- (A) realizando a contagem das células separadas em câmara de Neubauer.
- (B) analisando beads fluorescentes para essa finalidade.
- (C) reservando uma alíquota da amostra antes da separação para análise ao microscópio.
- (D) analisando um gráfico de FSC x SSC.
- (E) analisando uma alíquota do material separado no citômetro de fluxo.

46. Avalie se são verdadeiras (V) ou falsas (F) as afirmativas a seguir:

- I – Se aumentarmos velocidade de aquisição o número de abortos tende a aumentar.
- II – Maior velocidade de aquisição garante melhor pureza de separação.
- III – O sorting de quatro vias apenas pode ser realizado com o nozzle de 70 micrômetros

De cima para baixo a sequência correta é:

- (A) V, V e F.
- (B) F, F e V.
- (C) F, V e V.
- (D) V, F e F.
- (E) F, V e F.

47. Os tetrâmeros são reagentes utilizados em citometria de fluxo para detectar:

- (A) linfócitos T de memória.
- (B) linfócitos B auto-reativos.
- (C) linfócitos T antígeno-específicos.
- (D) linfócitos B foliculares.
- (E) células tronco hematopoiéticas.

48. Ensaios com CFSE podem ser utilizados para detectar:

- (A) cariótipo celular.
- (B) produção de espécies reativas de oxigênio.
- (C) influxo de cálcio.
- (D) proliferação celular.
- (E) produção de citocinas.

49. Uma dificuldade encontrada para a análise de bactérias por citometria de fluxo é que:

- (A) a presença da parede celular impede a ligação de anticorpos.
- (B) o tamanho de algumas bactérias fica próximo do limite de detecção do aparelho.
- (C) o LPS pode ativar os linfócitos.
- (D) não é possível produzir anticorpos monoclonais contra antígenos bacterianos.
- (E) as bactérias podem proliferar dentro do aparelho.

50. Além de sua fluorescência, outra característica do iodeto de propídeo que permite utilizá-lo para análise de ciclo celular por citometria de fluxo, é a:

- (A) ligação estequiométrica à ácidos nucleicos.
- (B) permeabilidade seletiva.
- (C) afinidade por fatores de transcrição envolvidos na proliferação celular.
- (D) capacidade de ligação à fosfatidil serina.
- (E) atividade proteolítica.

Questão Discursiva

INSTRUÇÕES:

A questão discursiva deverá ter um máximo de 30 linhas.

Transcreva sua resposta para a parte pautada no verso do seu Cartão de Respostas. Não assine, rubrique ou coloque qualquer marca que o identifique, sob pena de ser anulado. Assim, a detecção de qualquer marca identificadora no espaço destinado à transcrição do texto definitivo acarretará nota ZERO na respectiva prova discursiva.

O tempo total de duração das provas será de 4 (quatro) horas, incluindo o tempo para o preenchimento do Resposta Definitiva da Questão Discursiva. Nenhum rascunho SERÁ LEVADO EM CONTA.

QUESTÃO:

01. Um pesquisador desenvolveu um modelo murino de infecção por uma bactéria no qual verificou através de análises histológicas um intenso infiltrado de células mononucleares no tecido cardíaco.

Conhecendo sua vasta experiência em citometria de fluxo ele te procura e propõe uma colaboração para ajudá-lo a isolar e caracterizar as células que estão infiltrando o coração durante a infecção, pois ele leu em um trabalho recente que as células Th17 poderiam estar envolvidas no agravamento das lesões decorrentes desta infecção, e ele gostaria de separar as células produtoras de IL-17 para experimentos de transferência para outros animais.

Descreva quais experimentos você iria propor ao seu novo colaborador, não se esqueça de citar os painéis de anticorpos que você proporia e qual a finalidade de cada um deles.

Descreva também, em linhas gerais, quais seriam os equipamentos de citometria de fluxo necessários para os experimentos propostos.

RASCUNHO

1. Por motivo de segurança a Fundação Dom Cintra solicita que o candidato transcreva em letra cursiva, em espaço próprio no Cartão de Respostas, a frase abaixo apresentada:

2. Para cada uma das questões da prova objetiva são apresentadas 5 (cinco) alternativas classificadas com as letras (A), (B), (C), (D) e (E), e só uma responde da melhor forma possível ao quesito proposto. Você só deve assinalar UMA RESPOSTA. A marcação de nenhuma ou de mais de uma alternativa anula a questão. **MESMO QUE UMA DAS RESPOSTAS SEJA A CORRETA.**

3. A duração da prova é de 4 (quatro) horas, considerando, inclusive, a marcação do Cartão de Respostas. Faça-a com tranquilidade, mas controle o seu tempo.

4. Verifique se a prova é para o **PERFIL** para o qual concorre.

5. Somente após autorizado o início da prova, verifique se este Caderno de Questões está completo e em ordem. Folhear o Caderno de Questões antes do início da prova implica na eliminação do candidato.

6. Verifique, no **Cartão de Respostas**, se seu nome, número de inscrição, identidade e data de nascimento estão corretos. Caso contrário, comunique ao fiscal de sala.

7. O **Caderno de Questões** poderá ser utilizado para anotações, mas somente as respostas assinaladas no **Cartão de Respostas** serão objeto de correção.

8. Observe as seguintes recomendações relativas ao **Cartão de Respostas**:

- . não haverá substituição por erro do candidato;
- . não deixar de assinar no campo próprio;
- . não pode ser dobrado, amassado, rasurado, manchado ou conter qualquer registro fora dos locais destinados às respostas;
- . a maneira correta de marcação das respostas é cobrir, fortemente, com esferográfica de tinta azul ou preta, o espaço correspondente à letra a ser assinalada;
- . outras formas de marcação diferentes da que foi determinada acima implicarão a rejeição do **Cartão de Respostas**;

9. O fiscal não está autorizado a alterar quaisquer dessas instruções.

10. Você só poderá retirar-se da sala após 60 minutos do início da prova.

11. Quaisquer anotações só serão permitidas se feitas no caderno de questões.

12. Você poderá anotar suas respostas em área específica do Caderno de Questões, destacá-la e levar consigo.

13. Os três últimos candidatos deverão permanecer na sala até que o último candidato entregue o **Cartão de Respostas**.

14. Ao terminar a prova, entregue ao fiscal de sala, obrigatoriamente, o **Caderno de Questões** e o **Cartão de Respostas**.

Boa Prova!

Ao término de sua prova, anote aqui seu gabarito e destaque na linha pontilhada.

01		11		21		31		41	
02		12		22		32		42	
03		13		23		33		43	
04		14		24		34		44	
05		15		25		35		45	
06		16		26		36		46	
07		17		27		37		47	
08		18		28		38		48	
09		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	