

2º Parcial
Inmunología
2020

Pregunta 1

Finalizado

Puntúa 10,00
sobre 12,00
 Marcar
pregunta

A) Un niño al que se sospecha padece de una inmunodeficiencia primaria (IDP) se le realiza la semicuantificación de isoaglutininas por ALT. Para ello, se utiliza una suspensión de glóbulos rojos del grupo "B". Responda:

- 1) ¿Cuál es el grupo sanguíneo del niño?
- 2) ¿Con qué sueros hemoclasificadores dio positiva la muestra? ¿Qué fenómeno se observa? ¿Cómo se interpreta el resultado?
- 3) ¿Cuál es la muestra biológica usada para la investigación de Ag hemáticos? ¿Y cuál en la determinación de isoaglutininas?

B) Para completar el diagnóstico de IDP, el médico solicita la cuantificación de IgM totales mediante IDRC.

- 1) ¿En qué se basa esta técnica?
- 2) ¿Cómo se prepara la placa para esta determinación en particular?
- 3) ¿Cuál será la muestra biológica empleada para la determinación?

A) 1) el grupo sanguíneo del niño es el A

2) La muestra dió positiva con el suero hemoclasificador anti-A. el fenómeno observables es la aglutinación, dada por la formación de grumos. El resultado se interpreta como presencia de Ag A en la superficie del eritrocito.

3)La muestra biológica utilizada para la investigación de Ag hemáticos es el suero. En la determinación de isoaglutininas la muestra biológica utilizada es también el suero.

B) 1)Esta técnica se basa en determinar una concentración de Ag (mg/ml) a partir del agregado del mismo (el cual se encuentra en una muestra de suero, y es el que se quiere determinar su concentración) en un pocillo de un agar que contiene el Ac monoespecífico en concentración constante y en exceso . el Antígeno va a difundir en el agar, formando uniones con el Ac , y cuando las concentraciones son óptimas, se formará un halo de precipitación, el cual permitirá determinar la concentración del Ag en cuestión debido a que el diámetro del halo de precipitación es proporcional a la concentración del antígeno a partir de una tabla provista por el fabricante.

2) se va a disolver el agar y una vez que este a una temperatura acorde, se le agrega el Ac (obtenido de un plan de inoculación), y se espera a que solidifique, luego con un sacabocado se realizan los pocillos, en donde se sembrará la muestra.

3) la muestra biológica empleada para la determinación es suero del paciente.

Comentario:

A) 1) Correcta

2) Correcta

3) Incorrecta/Correcta

B) 1) Correcta

2) Incompleta (qué Ac tendrá la placa de IDRC?)

3) Correcta

Pregunta **2**

Finalizado

Puntúa 10,00
sobre 10,00

🚩 Marcar
pregunta

Se desea investigar la presencia de anticuerpos anti-*Brucella abortus* en un paciente que padece de brucelosis crónica y al que la prueba de ARP le dio negativa en todas las alícuotas. Además se descartó el fenómeno de prozona.

- 1) ¿Cuál será la muestra biológica empleada?
- 2) ¿Qué prueba de interacción secundaria utilizaría para realizar dicha determinación? Fundamente su respuesta.
- 3) Indique los pasos de la técnica empleada y los reactivos que serán necesarios para su realización.
- 4) Si además le solicitan informar el título de dichos anticuerpos, ¿Cómo debe proceder en ese caso?

1) la muestra biológica empleada es suero del paciente

2) Para realizar la determinación de anticuerpos anti- *Brucella abortus*, emplearía la reacción de Coombs indirecta, dado que permite determinar la presencia o ausencia de anticuerpos bloqueantes o incompletos, como podría ser en este caso. Estos Ac bloqueantes o incompletos suelen aparecer en enfermedades reincidentes o crónicas dadas por Ag particulados, como es el caso de la brucelosis.

3) muestra biológica: suero del paciente

Ag= suspensión de *Brucella abortus*

Reactivo de coombs (suero que contiene anticuerpos anti- IgG y anti- C3)

La muestra biológica se incuba con el Ag, *Brucella abortus*, luego incuba con el reactivo de coombs (a tiempo y temperatura adecuados) y se observa pasado el tiempo requerido, la aparición o no de un aglutinado. (luego de cada incubación se debe de hacer un lavado para eliminar lo que no se unió).

4) En este caso se debe de realizar diluciones seriadas del suero del paciente, agregándole concentraciones constantes del Ag y el reactivo de coombs, y de esta forma se verá cual es la mayor dilución en donde se observa aglutinación. Una vez que se identifica, se determina el título realizando la inversa de la dilución.

Comentario:

- 1) Correcta
- 2) Correcta
- 3) Correcta
- 4) Correcta

A dos sueros de cerdo se les realiza una aglutinación rápida en placa (ARP) para semicuantificar anticuerpos anti-*Brucella abortus* y se obtienen los siguientes resultados:

Pocillo	1	2	3	4	5	Control negativo
Suero 1	-	-	-	-	+	-
Suero 2	+	+	+	-	-	+
Título por convención	20	40	80	160	320	

- a) Analice las observaciones realizadas en cada uno de los sueros; de ser posible informe el título. En caso contrario, explique cómo procede y **justifique**.
- b) ¿Qué técnica de interacción secundaria emplearía para determinar si los anticuerpos pertenecen al isotipo IgM? Justifique.
- c) Empleando una técnica de interacción primaria ¿Qué debería tener en cuenta para determinar anticuerpos del isotipo IgM?

a) Suero 1:

el control negativo da correctamente, por lo cual no hay aglutinaciones inespecíficas, procedo a leer los pocillos de reacción. En este caso no puedo determinar el título, esto se debe a que no se encuentra una dilución la cual sea la última observable como aglutinación positiva, esto se debe a un fenómeno de prozona, por lo cual se debe de diluir el suero y realizar nuevamente el procedimiento, para determinar el título.

suero 2:

el control negativo no da como se debe, por lo cual indica presencia de aglutinaciones inespecíficas, puede deberse a un error al realizar el procedimiento o por la solución fisiológica. Se debe de realizar nuevamente el procedimiento para poder hacer el informe.

b) Emplearía una técnica de aglutinación lenta en tubo, procesando en paralelo el suero tratado con 2-mercaptoetanol y sin 2-mercaptoetanol. En el tratado con 2-ME se determina solamente IgG dado que este reactivo reduce la IgM pentamérica, y la monomérica no produce aglutinación, por lo cual solo se determina IgG, en cambio el suero sin tratar permite determinar no solo IgG sino también IgM.

realizando diluciones seriadas del suero y procesándolos en paralelo con 2-me y sin 2-me, se puede determinar el título en ambos casos y así determinar si los ac pertenecen al isotipo IgM, esto se corrobora viendo una disminución de los títulos en el suero tratado con 2-me respecto al sin tratar con 2-me

c) debería tener en cuenta que el Ac conjugado debe de reconocer a este Ac del isotipo IgM, y debe ser obtenido en una animal distinto pero debe además reconocer a dicho ac.

es decir si el anticuerpo a determinar es un isotipo IgM y se encuentra en un suero humano, el Ac conjugado debe ser una anti-IgM humana obtenida en cabra.

Comentario:

c) acá sería, anti-IgM de cerdo obtenida en..marcada con...

Pregunta 4

Parcialmente
correcta

Puntúa 1,33
sobre 4,00

🚩 Marcar
pregunta

Recibe en su laboratorio una muestra para investigar y cuantificar células *natural killers* (NK). Para ello procede con un análisis de poblaciones linfocitarias por citometría de flujo. Señales todas las opciones que considere correctas según el procedimiento que llevará a cabo:

Seleccione una o más de una:

- a. Por usar CD45 en el panel de anticuerpos, en ninguno de los gráficos dot plot encontrará células en el cuadrante doble negativo. ✘
- b. Recurre a un panel de anticuerpos como anti-CD45, anti-CD19, anti-CD3 marcados con fluorocromos diferentes.
- c. La población de células que desea investigar se encontrará en el cuadrante doble positivo del gráfico CD3 vs CD56.
- d. La población de células que desea investigar se encontrará en un cuadrante simple positivo del gráfico CD45 vs CD56. ✘
- e. La población de células que desea investigar se encontrará en un cuadrante simple positivo del gráfico CD19 vs CD56. ✔
- f. Recurre a un panel de anticuerpos como anti-CD45, anti-CD19, anti-CD56 marcados con fluorocromos diferentes. ✔
- g. La población de células que desea investigar se encontrará en un cuadrante simple positivo del gráfico CD3 vs CD19.
- h. Recurre a un panel de anticuerpos como anti-CD45, anti-CD3, anti-CD4 marcados con fluorocromos diferentes.
- i. No será necesario el gráfico FSC vs SSC para generar el gate de linfocitos.
- j. La población de células que desea investigar se encontrará en el cuadrante doble positivo del gráfico CD19 vs CD56.

Respuesta parcialmente correcta.

Ha seleccionado demasiadas opciones.

Las respuestas correctas son: Recurre a un panel de anticuerpos como anti-CD45, anti-CD19, anti-CD56 marcados con fluorocromos diferentes., La población de células que desea investigar se encontrará en un cuadrante simple positivo del gráfico CD19 vs CD56., No será necesario el gráfico FSC vs SSC para generar el gate de linfocitos.

Pregunta **5**

Finalizado

Puntúa 3,00
sobre 6,00

🚩 Marcar
pregunta

Ante la sospecha de una enfermedad autoinmune y para ayudar al diagnóstico el médico solicita la determinación de anticuerpos antinucleares (ANA) por IFI.

a) En este ensayo ¿qué reactivo es necesario titular previamente? ¿Cuál es la finalidad?

Mencione dos situaciones en que plantearía una nueva titulación.

b) Mencione tres causas que podrían llevar a invalidar el resultado en la determinación de ANA.

a) se debe titular previamente el conjugado fluorescente para obtener la dilución óptima y evitar tener valores menores al óptimo de el Ac específico /proteína , que pueden dar como consecuencia una menor especificidad.

la relación de fluorescencia / proteína es mayor a 4 , por lo cual hay fluorescencia inespecífica

la relación de fluorescencia/proteína es menor a 2,5 por lo cual disminuye la fluorescencia específica , dando resultados falsos negativos.

b) la muestra no fue procesada luego de las 72 horas y no fue conservada a -20°C , la muestra se encuentra contaminada , o la muestra esta hemolizada

Comentario:

Dilución óptima de trabajo que permita diferenciar entre un resultado positivo y uno negativo.

Cuándo plantear nueva titulación??

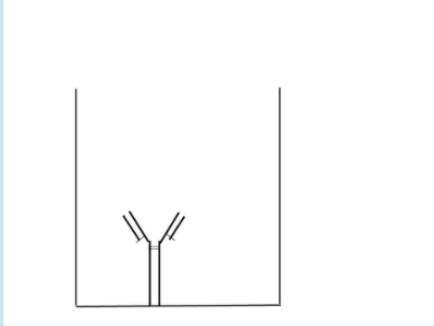
Pregunta 6

Finalizado

Puntúa 9,00
sobre 12,00

⚑ Marcar
pregunta

Se desea determinar la IgG total en un suero de un paciente utilizando un kit de Elisa indirecto.



- Indique el paso que está representado en la figura, su utilidad, la especificidad y el origen de los anticuerpos utilizados.
- Mencione los pasos que sean necesarios para continuar con la determinación de la IgG, especificando si fuera necesario el tipo de reactivo, Ag o especificidad de los anticuerpos utilizados.
- Mencione qué cambios realizaría en el diseño anterior si desea identificar IgG específica para saber si el paciente padeció hepatitis B. Especifique si fuera necesario el tipo de reactivo, Ag o especificidad de los anticuerpos utilizados.
- ¿Seguiría siendo un Elisa indirecto? Si- No Justifique su respuesta

a) el paso representado en la figura es la fijación de un Ac (anti IgG de mono obtenido en humano) a la fase sólida de alto pegado a proteínas, se utiliza para capturar el Ag en cuestión que se encuentra en el suero del paciente (en este caso la IgG total). el Ac utilizado es de origen humano obtenido en un animal.

b) una vez realizada la sensibilización de la placa (punto anterior), se realiza el bloqueo de la placa , con proteína de leche o de albúmina, la cual se va a unir a los sitios donde no se unió el AC de captura por lo cual va a impedir las uniones inespecíficas.

se incuba con la muestra biológica, luego se realiza un lavado con buffer tween 20 para eliminar lo que no se unió de esta muestra

se procede a agregar el Ac conjugado (Ac anti IgG humana obtenida en ratón con una enzima , en este caso una peroxidasa) se lava con buffer tween 20 y se elimina el Ac conjugado que no se unió

se agrega la sustancia cromogénica (como trimerilbencidina)

y por ultimo se frena la reacción de color con H2SO4 2 N , el cual desnaturaliza la enzima peroxidasa y frena de esta forma la reacción de color.

c) se va a necesita un Elisa para detectar Anticuerpos

Se va a fijar a la placa de alto pegado de proteínas un Ag (lisado de Hepatitis B)

se va a bloquear la placa , se agrega el suero (que contiene los Ac contra Hepatitis B en donde este Ac va a funcionar como un Ac primario)

se lava con buffer tween 20

se incuba con el Ac conjugado marcado con una enzima (anti IgG humana marcada con peroxidasa)

se lava con buffer tween 20

se agrega la sustancia cromogénica (trimeetilbencidina)

se para la reacción de color con H2SO4 2N

d) si sigue siendo un ELISA indirecto ya que el Ac que posee el paciente que sufrió una hepatitis B , a a actuar como un AC primario .

Comentario:

a) Anti IgG de mono obtenido en humano no puede ser.

b) El diseño que pedía era indirecto no directo

Pregunta **7**

Correcta

Puntúa 4,00
sobre 4,00

🚩 Marcar
pregunta

Señale las opciones INCORRECTAS respecto a las características de las células HEP-2:

Seleccione una o más de una:

- a.
Hace a la técnica menos sensible porque presenta menor concentración de Ag. ✓
- b.
Es un sustrato menos específico porque procede de hígado humano. ✓
- c. No permite detectar anticuerpos relacionados con la división celular. ✓
- d. Al provenir de un cultivo celular asincrónico exponen Ag no presentes en la célula en reposo.
- e.
Se reconocen solo patrones nucleares. ✓
- f.
Los núcleos son más grande por lo que se observan patrones con más detalles.

Respuesta correcta

Las respuestas correctas son:

Hace a la técnica menos sensible porque presenta menor concentración de Ag.

,

Es un sustrato menos específico porque procede de hígado humano.,

Se reconocen solo patrones nucleares., No permite detectar anticuerpos relacionados con la división celular.

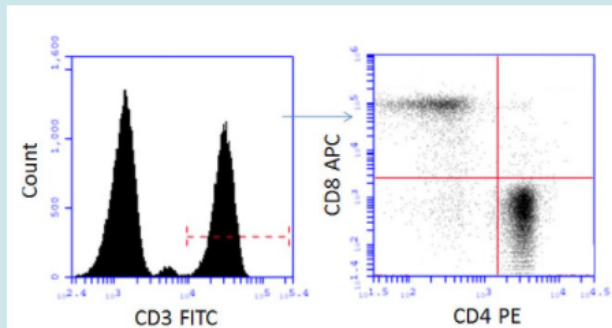
Pregunta 8

Finalizado

Puntúa 7,50
sobre 12,00

🚩 Marcar
pregunta

En un ensayo citométrico se obtuvieron los siguientes resultados. Considere que los gráficos que siguen proceden del análisis de una población (gate) de linfocitos. Indique si cada afirmación es verdadera o falsa. Fundamente en todos los casos.



- a) Ambos gráficos son del tipo monoparamétricos.
- b) El protocolo consistió en incubar la muestra de sangre con anti-CD4 y anti-CD8 marcados con fluorocromos distintos, luego se procedió a lavar, lisar los glóbulos rojos y adquirir.
- c) La reducida población de células en el cuadrante doble negativo podría estar relacionada con que los LB estén disminuidos en cantidad.
- d) Otra forma de cuantificar células CD4+ y CD8+ es plantear el dot plot CD4 PE vs CD8 APC sobre el gate de linfocitos.

a) FALSO. El histograma (gráfico de la izquierda) es monoparamétrico ya que solo se tiene en cuenta como parámetro la marcación de CD3 con FITC , el Nº de células , no se considera un parámetro. En el Dot blot del gate de linfocitos (gráfico de la derecha) se considera biparamétrico ya que tiene la marcación de CD4 con PE y la CD8 con APC

b) VERDADERO. la lisis de los Glóbulos rojos puede hacerse antes de la marcación con los fluorocromos o después de esta , sin embargo sería útil hacer antes de hacer pasar la muestra por el citómetro de flujo. Esta lisis se realiza para evitar tener contaminaciones de la muestra yasi evitar obtener fluorescencias inespecíficas.

c) FALSO, la disminución de la población de células en el cuadrante doble negativo podría estar relacionada con la lisis de los Glóbulos rojos , pudiendo haber quedado una pequeña proporción de estos , cuando se extrajo el material sin estos para realizar la citometría de flujo. Para determinar la cantidad de LB que hay se debe de realizar un dot blot del gate de linfocitos con un marcaje de CD19 y/o CD20 con FITC vs CD- por ejemplo

d) FALSO. del gate de linfocitos también se encuentran los LB además de los LT CD4+ y CD8+, se aconseja primero ir de lo más general a lo más específico. por lo cual primero se debería de determinar la presencia o ausencia de LB , NK y LT , se pueden hacer un dot blot del gate de linfocitos de CD19 vsCD3 , CD56VS CD3 y luego hacer un dot blot de CD4 VsCD8

Comentario:

b) F

c) GR??

Pregunta 9

Parcialmente correcta

Puntúa 3,00 sobre 4,00

🚩 Marcar pregunta

Se desea investigar en el suero de un paciente, la presencia del **Ag de superficie** del virus de la varicela (**AgVs**), empleando la técnica de ELISA indirecto. Si Ud. tuviera que diseñar el ELISA para realizarlo, relacione cada paso con el reactivo o muestra biológica correspondiente.

Incubación con el anticuerpo conjugado	Antigammaglobulina de ratón obtenida en conejo marcado con peroxidasa	❌
Incubación con el suero del paciente	Antígeno de superficie del virus de la varicela (AgVs)	✅
Frenado de la reacción.	Ácido sulfúrico.	✅
Sensibilización de la placa	Anti-(AgVs) monoclonal murino	✅
Incubación con el anticuerpo primario	Anti-(AgVs) humano obtenido en ratón	❌
Bloqueo.	Buffer PBS-leche.	✅
Lavados	Buffer PBS-Tween 20	✅
Revelado	Cromógeno y peróxido de hidrógeno	✅

Respuesta parcialmente correcta.

Ha seleccionado correctamente 6.

La respuesta correcta es: Incubación con el anticuerpo conjugado → Antigammaglobulina de conejo obtenida en cabra marcado con peroxidasa, Incubación con el suero del paciente → Antígeno de superficie del virus de la varicela (AgVs), Frenado de la reacción. → Ácido sulfúrico., Sensibilización de la placa → Anti-(AgVs) monoclonal murino, Incubación con el anticuerpo primario → Anti-(AgVs) humano obtenido en conejo, Bloqueo. → Buffer PBS-leche., Lavados → Buffer PBS-Tween 20, Revelado → Cromógeno y peróxido de hidrógeno

Pregunta **10**

Parcialmente
correcta

Puntúa 2,00
sobre 4,00

🚩 Marcar
pregunta

Señale las opciones INCORRECTAS respecto de los alérgenos en las reacciones de hipersensibilidad de tipo I:

Seleccione una o más de una:

- a. Un alérgeno diferente al que produjo la sensibilización no puede desencadenar un fenómeno anafiláctico aunque sus estructuras sean muy similares.
- b. Difunden lentamente hacia las superficies mucosas gracias a su alta solubilidad lo que los hace más inmunogénicos. ✓
- c. Debe ser multivalente para que sea posible el entrecruzamiento de los receptores vecinos.
- d. Mantienen sus propiedades fisicoquímicas inalteradas gracias a su elevada inestabilidad. ✓
- e. Poseen actividad proteasa lo que hace más fácil el ingreso a través de mucosas.
- f. Los pólenes, alimentos, ácaros y pelos de mascotas están entre los más frecuentes.
- g. En ciertas ocasiones se comportan como haptenos asociándose a proteínas del huésped y adquiriendo así inmunogenicidad.
- h. Su unión a la IgE fijada a la superficie de mastocitos y basófilos conduce a la sensibilización de la célula.

Respuesta parcialmente correcta.

Ha seleccionado correctamente 2.

Las respuestas correctas son: Difunden lentamente hacia las superficies mucosas gracias a su alta solubilidad lo que los hace más inmunogénicos., Mantienen sus propiedades fisicoquímicas inalteradas gracias a su elevada inestabilidad. , Su unión a la IgE fijada a la superficie de mastocitos y basófilos conduce a la sensibilización de la célula., Un alérgeno diferente al que produjo la sensibilización no puede desencadenar un fenómeno anafiláctico aunque sus estructuras sean muy similares.

1. En la **técnica de screening** de HAI. Indique V o F. Reescriba el enunciado en caso de ser falso.

- a) Se les agrega a los controles positivo y negativo glóbulos no sensibilizados y a los pocillos con la muestra del paciente glóbulos rojos sensibilizados.
- b) Luego del tiempo de incubación, la presencia de un botón de glóbulos rojos en el fondo del pocillo de un suero incógnita indica ausencia de anticuerpos anti-*T.cruzi* y se informa: No reactivo.
- c) Al terminar el tiempo de incubación, la presencia de un botón de glóbulos rojos o un manto en el fondo del pocillo indican un resultado reactivo y no reactivo respectivamente.

2. En la **técnica de titulación** de HAI:

- a) ¿Cómo se investiga la presencia de anticuerpos heterófilos? Justifique.
- b) Si estos anticuerpos estuvieran presentes en la muestra que analiza ¿Cómo los elimina?

1.a) FALSO , los controles negativo y positivo son sueros sin anticuerpos anti-*T. cruzi* y suero con anticuerpos anti- *T cruzi* respectivamente. A los pocillos se les agrega la muestra (suerodel paciente) y los GR de carnero sensibilizados.

b)VERDADERO

c)FALSO. Al terminar el tiempo de incubación, la presencia de un botón de glóbulos rojos o un manto en el fondo del pocillo indican un resultado No reactivo y reactivo respectivamente.

2. a)La presencia de anticuerpos heterófilos se investigan realizando diluciones seriadas de la muestra con los GR de carnero sensibilizados salvo en los 2 primeros pocillos correspondientes a las diluciones 1/2 y 1/4 donde se le coloca GR de carnero no sensibilizados , para utilizarlos como control de heterofilia.

Si luego de la incubación se obtienen en los 2 primeros pocillos (dilucion 1/2 y 1/4 , la presencia de un botón en el fondo del pocillo, indica que no se encuentran presentes dichos Ac heterófilos , y se prosigue a realizar la lectura de los pocillos de reacción, en caso de observar la presencia de un manto en estas dos diluciones , se debe de realizar una adsorción para eliminar esos Ac heterófilos de la muestra)

SE investiga la presencia de estos Ac con GR de carnero no sensibilizados , ya que estos Ac específicos son capaces de aglutinar GR de especies distintas, como en este caso.

b)Se debe de realizar una adsorción en donde se van a a colocar en partes iguales, la muestra (suero incógnita) y una suspensión de GR de carnero no sensibilizados en un tubo, se va a dejar a baño maría a 37°C por 30 minutos, luego se centrifuga quedando separados el suero sin los Ac. heterófilos en el sobrenadante (es el que utilizaremos para realizar nuevamente la titulación) y los Ac heterófilos con los GR de carnero no sensibilizados en el pellet.

Comentario:

1. a) Falso. A los controles - y + que se les agrega??