



SOCIEDAD MEXICANA
DE INMUNOLOGIA
En la lucha contra las enfermedades
infecciosas, autoinmunes, alergias y el cáncer



Laboratorio Nacional de Citometría de flujo
IIB-UNAM

TALLER: INMUNOFENOTIPIFICACIÓN DE LEUCEMIAS POR CITOMETRIA DE FLUJO
LABORATORIO NACIONAL DE CITOMETRIA DE FLUJO LABNALCIT - SOCIEDAD MEXICANA DE
INMUNOLOGIA

12 y 13 de abril de 2018, CDMX, MÉXICO.

Ubicación: LABNALCIT, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Responsables: LABNALCIT y SMI

Ponentes Invitados:

- Dra. Rosana Pelayo Laboratorio de oncoinmunología, CIBIOR-IMSS puebla-Presidenta SMI
 - Dr. Juan Carlos Núñez Enríquez Hospital de Pediatría - IMSS CdMx
- Dr. Juan Carlos Balandrán Laboratorio de oncoinmunología, CIBIOR-IMSS puebla Profesor SMI,
 - MsC Héctor Rosete - Beckman Coulter
 - María Inés - Beckton Dickinson

OBJETIVO: Establecer los fundamentos y aplicaciones del inmunofenotipo de leucemias por citometría de flujo multiparamétrica (taller teórico-práctico), protocolos de tinción y análisis de datos para la identificación de poblaciones normales y patológicas.

DIRIGIDO A: Profesionales del área de la salud, y/o Investigadores del área biomédica y de ciencias de la vida que requieran el uso de estas metodologías para el desarrollo de sus actividades

INTRODUCCIÓN: La Citometría de Flujo multiparamétrica es una herramienta tecnológica muy poderosa que ha sido sustancial para el apoyo en el diagnóstico de enfermedades hematológicas. El sub-fraccionamiento celular de acuerdo a marcadores de membrana y moléculas intracelulares a través de anticuerpos específicos fluorocromados ha podido establecer patrones poblacionales de diversas fuentes biológicas y ha permitido identificar poblaciones anormales o malignas. La velocidad de adquisición de los datos sumado a la alta sensibilidad y a su gran versatilidad han convertido a la citometría de flujo en una herramienta básica para el diagnóstico, sub-clasificación y para la evaluación de la efectividad de los tratamientos durante el seguimiento del paciente a través de la detección de la enfermedad mínima residual, sin dejar de lado la información que brindan las técnicas de biología molecular.

Durante los dos días del taller se estudiarán brevemente los principios biológicos de la hematopoyesis, proceso de formación de las células sanguíneas para entender la hematopoyesis en un contexto de enfermedad. Se recordarán los principios básicos de la técnica de Citometría de Flujo para un mejor entendimiento del sub-fraccionamiento de médula ósea en poblaciones primitivas de progenitores hematopoyéticos (CD34⁺) y los estadios de maduración de los progenitores. Así mismo, se revisarán algunos paneles de marcadores celulares para el establecimiento del inmunofenotipo de enfermedades hematológicas, principalmente leucemias. Presentación de un panel mínimo necesario



y la significancia de cada marcador propuesto para su aplicación en el seguimiento del paciente en el contexto de enfermedad mínima residual. Se incluirá una parte práctica en donde se detallará el manejo de muestras y protocolos de tinción para citometría de flujo, así como la adquisición de los datos en el equipo. Los conocimientos adquiridos serán puestos en práctica en una sesión de análisis de diferentes casos y a través de diferentes *softwares* de análisis remarcando la importancia de tener un algoritmo de análisis inteligente.

PROGRAMA:

DÍA 1

SESIÓN TEÓRICA: 9:00 am - 11:00am

- 9:00 - 9:15 Inauguración. Dra. Gloria Soldevila Melgarejo (Responsable LABNALCIT)
- 9:15 - 9:45 **Introducción.** Patobiología de la Leucemias. Hematopoyesis normal y leucémica. La citometría de flujo en el diagnóstico y seguimiento de las leucemias (Enfermedad Mínima Residual). Dra. Rosana Pelayo (Laboratorio de Linfopoyesis, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS)
- 9:45 - 10:15 **Fundamentos de la Citometría de Flujo.** Principios básicos de la citometría de flujo y del inmunofenotipo. Dra. Andrea Bedoya
- 10:15 - 11:00 **Estrategias citométricas para el estudio de la hematopoyesis normal.** Biología de la formación de células sanguíneas a partir de células troncales. Vías de diferenciación linfoide y mieloide. Moléculas de membrana clave y algoritmos de análisis para la clasificación de poblaciones leucocitarias humanas. Células troncales hematopoyéticas CD34, subfraccionamiento de progenitores hematopoyéticos de médula ósea. Dr. Juan Carlos Balandrán
- **Estrategias citométricas para el estudio de la hematopoyesis leucémica.** Moléculas clásicas para el establecimiento fenotipos anormales de médula ósea: CD45, CD34, CD10, CD19, CD7, CD3, MPO, CD13 y CD14. Paneles empleados por consorcios internacionales para inmunofenotipificación de enfermedades hematológicas. Panel mínimo necesario para sub-clasificar leucemias y algoritmo de análisis para la identificación y clasificación de poblaciones leucocitarias normales y patológicas. Dr. Juan Carlos Balandrán

COFFEE BREAK: 11:00 am - 11:30am

SESIÓN TEÓRICA: 11:30 am - 2:00 pm

- 11:30 - 12:00 **Células troncales leucémicas:** Importancia biológica del estudio de las células iniciadoras de la leucemia. Caracterización funcional y fenotípica en leucemias mieloides y linfoides. Dr. Juan Carlos Balandrán
- 12: 00 - 12: 45 **Enfermedad mínima residual en la clínica_** Dr. Juan Carlos Núñez Enríquez



- 12: 45 - 1:20 pm Diagnóstico de leucemias en la clínica: Armonización - Beckman Coulter
- 1:20 - 2:00pm Diagnóstico de leucemias en la clínica: Euroflow - Beckton Dickinson

COMIDA: 2:00 - 3:00 pm

SESIÓN TEÓRICA: 3:00 - 5:00 pm

- 3:00 - 4:00 pm Consideraciones para la tinción celular. Manejo de la muestra, número de células mínimo y óptimo para establecer el inmunofenotipo. Reactivos, anticuerpos, protocolos para la lisis eritrocitaria. Muestras fijadas vs no fijadas.
- 4:00 - 5pm Experiencias del laboratorio Clínico - Validación de resultados: - Thermo Scientific (Por confirmar)
-

DIA 2

SESIÓN PRÁCTICA: 9:00am -11:00am

- Tinción de antígenos de superficie. Fundamento de la técnica de la tinción celular de superficie y manejo de muestras: Aspirado de Médula ósea (AMO), Sangre Periférica y Líquido Cefalorraquídeo (LCR).
 - o PANEL tipo ALOT- Optimizado en Investigación:
 - o PANEL tipo ALOT (*Acute Leukemias Orientation Tube*) armonización
 - o PANEL SCREENING EUROFLOW

COFFEE BREAK: 11:00 am - 11:30 am

SESIÓN PRÁCTICA: 11:30am -2:00pm

- Adquisición en el citómetro. Número de eventos mínimo para establecimiento del inmunofenotipo y para el seguimiento del paciente (Enfermedad Mínima Residual).



**SOCIEDAD MEXICANA
DE INMUNOLOGÍA**
En la lucha contra las enfermedades
infecciosas, autoinmunes, alergias y el cáncer



Laboratorio Nacional de Citometría de flujo
IIB-UNAM

COMIDA: 2:00 - 3:00 pm

SESIÓN PRÁCTICA: 3:00pm -5:00pm

- **Análisis de Datos.** Algoritmos de análisis de inmunofenotipos a través del *software* Infinicyt. Dr. Juan Carlos Baladrán
 - o Utilidad del antígeno CD45. Establecimiento del algoritmo de análisis.
 - o Identificación de poblaciones linfocitarias maduras.
 - o Poblaciones hematopoyéticas anormales

MÁS INFORMACIÓN:

Dra. Gloria Soldevila

Dra. Andrea Bedoya

e-mail: labnalcit@iibiomedicas.unam.mx

tel: 5622-3839