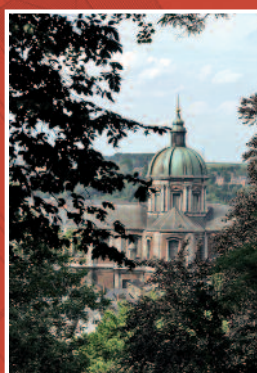


Journées de formation pratique en cytométrie et en biologie moléculaire

30 - 31 MAI 2012 - YVOIR - BELGIQUE



Comité scientifique :

Pour l'AFC
Bernard Chatelain
Claire Loosen
Vincent Genty



Nathalie Taquet
Ludivine Chapat
Susanne Bolte
Marielle Bouix
Mickael Bourge
Lydia Campos
Francine Garnache Ottou

Pour l'ABCA/BVAC
Anne Kornreich
Sarah Baatout
Nicole Schaaf-Lafontaine
Bernard Husson



Inscription :

http://www.uclmontgodinne.be/cyto2012/formulaire_inscription.php

CHU de Mont-Godinne
Avenue Docteur Thérasse, 1
5530 Yvoir - BELGIQUE



Numéro de déclaration d'activité AFC :
- 82 38 04784 38 -

Journées de formation pratique en cytométrie et en biologie moléculaire

PROGRAMME DES SESSIONS PLÉNIÈRES DES MATINÉES

Mercredi 30 mai 2012

- 09h30 - 10h 1.** Le photon, un acteur fondamental de la cytométrie en flux comme en image
(*Christian MULLER, Strasbourg*)
- 10h - 10h30 2.** Pièges et artéfacts en cytométrie de flux multicolore (Claude LAMBERT, Saint-Etienne)
- 11h30 - 12h Pauses Café**
- 11h - 11h30 3.** Analyse physiologique des microorganismes au cours des processus d'élaboration des boissons fermentées (*Marielle BOUIX, Paris*)
- 11h30 - 12h 4.** Maturation myéloïde (*Marie-Christine BÉNÉ, Nancy*)
- 12h - 12h30 5.** Analyse des biopsies en cytométrie en flux (*Gautier DETRY et Bernard HUSSON, Jolimont*)

Jeudi 31 mai 2012

- 09h - 09h30 1.** Apport de la cytométrie multiparamétrique dans l'étude de la thymopoïèse humaine (*Vahid ASNAFI, Paris*)
- 09h30 - 10h 2.** Discussion des arguments en faveur du diagnostic de syndrome lymphoprolifératif T en cytométrie en flux (*Marie-Christine JACOB, Grenoble*)
- 10h - 10h30 3.** Diagnostic des immunodéficiences (*Françoise MASCART, Bruxelles*)
- 10h30 - 11h Pauses Café**
- 11h - 11h30 4.** Microvésicules : nouvel agent de communication entre tumeurs et système immunitaire (*Clotilde THERY, Paris*)
- 11h30 - 12h 5.** Cytométrie et étude des réponses cellulaires (*Christian MULLER, Strasbourg*)
- 12h - 12h30 6.** Le FRET et la Cytométrie (*Frédéric LARBRET, Nice*)

Autres membres du comité scientifique :

Lutfiye Alpan, Nicolas Bailly, Annick Brandenburger, Spencer Brown, Julie Cazareth, Francesca Cecchet, Yvan Cornet, Antonio Cosma, Agathe Debliquis, Marcelo De Carvalho, Jacques Delcourt, Philippe Devel, Jean-Michel Dogné, Jonathan Douxfils, Bernard Drenou, Alex Dromelet, Chantal Fossat, Damien Gheldof, Julie Hardij, Nicolas Hougardy, Michel Janssens, Véronique Kerrels, Julie Laloy, Frédéric Larbret, Magali Le Garff-Tavernier, Rémi Letestu, Jean-François Mayol, François Mullier, Nicolas Neyman, Sandra Ormenese, Agnès Petit, Philippe Poncelet, Olivier Pradier, Peggy Sanatine, Pascale Saussoy, Vincent Schlessler, Françoise Solly, Nathalie Taquet, Clotilde Thery. (*Liste non exhaustive*)

Comité d'organisation :

Claire Loosen

Laboratoire d'hématologie CHU Mont-Godinne
Avenue Docteur Thérasse, 1 - 5530 YVOIR - BELGIQUE
Tél. : +32 81 42 32 02 - E-mail : claloosen@gmail.com

Secrétariat administratif :

Alpha Visa Congrès

624, rue des Grèzes - 34070 MONTPELLIER - FRANCE
Tél. : +33 (04) 67 03 03 00 - Fax : +33 (0)4 67 45 57 97
E-mail : jfpc@alphavisa.com

Journées de formation pratique en cytométrie et en biologie moléculaire

PROGRAMME DES ATELIERS DES APRÈS-MIDI (14H - 17H30)

A - Préanalytique

1. Préparation d'échantillons pour immunophénotypage

L'immunophénotypage par cytométrie en flux requiert des conditions de préparation des échantillons adaptées au type de prélèvement biologique et au type d'antigène à détecter en surface ou en intra-cellulaire. Cet atelier a pour but de décrire les conditions optimales de préparation d'échantillons pour immunophénotypage.

B - Boîte à outils en cytométrie en flux

1. ABC de la cytométrie en flux: réglage des PMT et des seuils

Cet atelier permet de découvrir le cytomètre en flux, son principe de fonctionnement, son architecture fluïdique et électronique. Il est particulièrement indiqué pour les débutants en cytométrie en flux, pour ceux qui désirent approfondir leurs connaissances sur le fonctionnement des cytomètres et pour ceux qui souhaitent découvrir un autre type de cytomètre que celui qu'ils utilisent. Des cytomètres basés sur une focalisation capillaire ou un alignement acoustique seront disponibles.

2. Fuites spectrales et réglage des compensations

L'augmentation des paramètres détectables en cytométrie en flux rend plus aigu le souci des compensations des fuites spectrales des cytomètres en flux.

L'atelier vise essentiellement à montrer la stratégie à développer pour assurer une compensation correcte de ces signaux fluorescents et à expliquer le moyen de contrôler les compensations établies sur l'appareil.

3. Cytométrie en flux capillaire

4. Tri cellulaire en cytométrie de flux

Certains cytomètres sont non seulement des analyseurs mais également des trieurs permettant de séparer des éléments en fonction des paramètres de diffusion lumineuse et de fluorescence du cytomètre. Cet atelier explique les principes des trieurs de cellules et reprend les différents éléments à contrôler pour mettre en place une procédure de tri.

L'atelier envisage aussi les contrôles de qualité du tri (rendement, pureté).

C - Immunophénotypage en hématologie

1. Mise en place d'un protocole multicolore pour immunophénotypage

2. Maturation des cellules hématopoïétiques

3. Leucémies lymphoblastiques aiguës : panels, maladie résiduelle, recherche d'hématogones

4. Leucémies myéloblastiques aiguës et syndromes myélodysplasiques : panels et interprétation

5. Panels "hémopathies lymphoprolifératives" (diagnostic phénotypique des syndromes lymphoprolifératifs T, B et NK)

6. HPN : Workshop AFC : mise en place du protocole et interprétation des données (SMD, myélémies...)

7. HPN : Analyse de cas cliniques

PROGRAMME DES ATELIERS DES APRÈS-MIDI (14H - 17H30)

D - Analyse d'ADN

1. Cycle cellulaire, viabilité cellulaire, apoptose et réparation d'ADN
2. Analyse de ploïdie, mesure de taille du génome, endoreduplication, quantification logarithmique, flow cytometric seed screening
3. Cycle cellulaire avec EdU compatible avec Protéines Fluorescentes.

E - Quantification en cytométrie en flux

1. Analyse d'événements rares (cellules souches...)

La cytométrie en flux permet d'analyser un grand nombre de cellules en un minimum de temps et ouvre donc la porte à la détection et quantification d'événements rares. Cet atelier envisage les différentes conditions préanalytiques, d'acquisition et d'analyse des données afin d'assurer une mesure correcte de ces événements. Les exemples utilisés seront la détection de maladie résiduelle dans les hémopathies malignes, l'analyse du contenu en ADN des mégacaryocytes, les petits clones HPN...

2. Intensité d'expression antigénique

L'intensité de fluorescence en cytométrie est dans certaines conditions étroitement liée à l'expression d'un antigène de surface d'une cellule. Cet atelier vise à définir les méthodes utilisées pour quantifier ces antigènes, particulièrement en immunofluorescence indirecte (QIFI). Les limites de la quantification en immunofluorescence directe seront aussi abordées.

3. Mesure de concentration cellulaire

Cet atelier décrira les méthodes de mesure de concentration cellulaire par cytométrie en flux. Des techniques utilisant un standard interne de concentration (billes) ainsi que des techniques de mesure directe du volume de la préparation analysée seront décrites. Les exemples utilisés seront la numération des CD4, la numération des plaquettes et la numération des cellules souches.

F - Multiplexage

1. Principes et applications

Cette technologie utilise des billes « étiquettes » de différentes fluorescences permettant d'analyser plus ou moins 64 composés moléculaires par échantillon. Cela permet donc la détection quantitative et qualitative de protéines, une évaluation de la signalisation cellulaire, la détection et la quantification de cytokines, de facteurs de croissance, de molécules du système HLA,... Cette technologie peut être mise en œuvre sur des cytomètres spécifiquement dédiés ou non.

G - Immunologie

1. Détection de cellules T spécifiques d'antigène

H - Microbiologie

1. Dénombrement et analyse physiologique des microorganismes dans les boissons fermentées

I - Autres applications en cytométrie

1. Activation des basophiles et métabolisme oxydatif
2. Neurobiologie : microglie, neurones
3. Signalisation cellulaires, phosphorylation...
4. Transfert Résonant d'Énergie de Fluorescence (FRET) par cytométrie

PROGRAMME DES ATELIERS DES APRÈS-MIDI (14H - 17H30)

J - Traitement des données

1. Traitement des données, choix d'un logiciel
2. Infinicyt
3. Kaluza
4. FlowJo et Spice
5. ModFit (cycle cellulaire)

Pour ces ateliers, des postes de travail seront à votre disposition afin de découvrir les softs et de comprendre l'intérêt de leur utilisation. Les ateliers rassembleront par niveau d'expertise les participants intéressés, ce qui permettra de découvrir ou d'approfondir l'utilisation de ces logiciels.

K - Analyse d'images

1. ABC de l'analyse d'image
2. Imagerie par cytométrie en flux
3. Technologie holographique : technologie quantitative pour la numération, l'étude de viabilité et l'analyse cellulaire (OVIZIO)

Ovizio conçoit, développe et commercialise des systèmes d'imagerie 3-D et 4-D basés sur une nouvelle technologie: la Microscopie Holographique Digitale (DHM). Les appareils Ovizio combinent l'imagerie 3-D quantitative avec la vitesse dans une approche non-invasive. La microscopie holographique franchit la barrière entre la cytométrie de flux et la microscopie classique avec l'avantage qu'il n'est souvent pas nécessaire d'échantillonner et de préparer les échantillons. La microscopie holographique digitale peut être utilisée dans le domaine des Sciences de la Vie, le Diagnostique et l'Industrie Pharmaceutique (p.ex. dans les bioréacteurs pour suivre la viabilité de cellules eukaryotes, le comptage et la prolifération cellulaires ainsi que d'autres paramètres spécifiques).

L - Biologie moléculaire

1. Préparations de biologie moléculaire : extraction d'ADN, d'ARN...
Utilisation du Kit QIAGEN pour extraire le DNA, RNA ET PROTEINES à partir de petites quantités de matériel (cellules et tissus). Problèmes rencontrés et solutions. Exemples d'utilisations du DNA et RNA extraits (génotypages , Q-PCR, Arrays). Quantification et analyse de la qualité du RNA par la technologie Agilent (détermination du RIN). Cas particulier : le sang , utilisation du kit LEUKOLOCK d'AMBION pour extraire le RNA.
2. Micro-arrays

M - Ateliers « Plateformes »

1. Les plateaux techniques de cytométrie en flux
2. Les plateaux techniques de biologie moléculaire

N - Cytométrie et hématimétrie

1. Abbott
2. Danaher (Beckman Coulter)
3. Horiba ABX
4. Sysmex

O - Accréditation

1. Accréditation de la paillasse de cytométrie

P - Plaquettes et Microvésicules: Groupe de deux ateliers de 3h chacun

1. Génération de thrombine, microscopie électronique, microscopie de force atomique
2. Cytométrie en flux et tests dépendants des phospholipides et/ou du facteur tissulaire