

 <p>HEMATOLOGIE (Biologie)</p>	<p><b>PLATEFORME DE CYTOMETRIE EN FLUX</b></p> <p><b>CHARTRE D'UTILISATION</b></p> <p>Plateforme de Cytométrie en Flux (Dr C. Rapatel) Service d'Hématologie Biologique (Pr M. Berger) CHU Estaing - 1 place Lucie et Raymond Aubrac 63003 CLERMONT-FERRAND Cedex</p>	 <p>CHU CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE CLERMONT FERRAND</p>
---	---	--

**Objectif** : Décrire les procédures et règles de fonctionnement de la plateforme de cytométrie en flux

**Domaine d'application** : Pré-analytique, plateforme de cytométrie en flux

**Responsable de l'application** : Dr Chantal Rapatel, responsable du secteur

Coordonnées de la plateforme :

Service d'Hématologie Biologique (Pr Marc BERGER)

CHU Estaing

1 place L. et R. Aubrac

63003 CLERMONT-FERRAND

Téléphone : 04 73 750 204

Fax : 04 73 750 207

E-mail : [plateforme-cmf@chu-clermontferrand.fr](mailto:plateforme-cmf@chu-clermontferrand.fr)

Responsable : Dr Chantal RAPATEL

Ingénieur : Dr Céline BOURGNE

#### I- Présentation de la plateforme

La plateforme de cytométrie en flux (CMF) installée au sein du Service d'Hématologie Biologique (CHU Estaing), assure d'une part une activité dédiée au diagnostic et au suivi des patients et d'autre part, une activité dédiée à la recherche.

La plateforme dispose de différents instruments dédiés à la recherche, cofinancés par le CHU, la région Auvergne, le FEDER et la fondation ARC :

- **Analyseur BD FACSCanto II** équipé de 3 lasers (Violet 405nm, Bleu 488nm et Rouge 633nm), capable d'analyser jusqu'à 8 couleurs simultanément.
- **Analyseur / Trieur de cellules BD FACSAria SORP** équipé de 5 lasers (UV 355nm, Violet 407nm, Bleu 488nm, Jaune-vert 561nm et Rouge 633nm), capable d'analyser jusqu'à 18 couleurs de façon simultanée. Cette automate, pouvant trier jusqu'à 4 sous-populations différentes, est équipé d'un module autoclone permettant de trier sur lame ou sur plaque, en mode classique ou « *Single Cell* » (une cellule par puits ou co-cultures en déposant un nombre défini de cellules (jusqu'à 4 sous-populations différentes) dans un même puits). Enfin, nous disposons d'un système de contrôle des températures des fractions triées et à trier. La sécurité des utilisateurs est assurée grâce au système d'aspiration des aérosols.

Ces technologies sont accessibles aux équipes de recherche de la région.

La plateforme propose les services suivants :

- Analyse cellulaire multiparamétrique permettant l'identification et l'analyse phénotypique et/ou fonctionnelle de différentes sous-populations cellulaires.
- Tri multiparamétrique haute vitesse
- Exploitation et retraitement des données (logiciels BD FACSDiva 7.0 et Infinicyt).

En tant qu'expert, le personnel de la plateforme peut apporter une aide dans l'analyse des résultats.

## **II- Conditions d'accès**

La plateforme est ouverte du lundi au vendredi de 8h30 à 16h30. Elle est accessible à toutes les équipes de recherche (secteur public ou privé) qui en feront la demande.

Le fonctionnement de la plateforme est soumis à des procédures définies par le responsable de la plateforme. Tous les utilisateurs doivent avoir pris connaissance de la charte d'utilisation, la signer et s'engager à la respecter.

### **a. Inscriptions**

Les nouveaux utilisateurs doivent prendre rendez-vous auprès du responsable et/ou l'ingénieur de la plateforme pour discuter de la faisabilité du projet et de l'implication de la plateforme. Les conditions d'analyse et de tri seront définies ; la demande sera tarifiée et planifiée.

Lors de ce premier rendez-vous, les futurs utilisateurs devront présenter le contexte et les objectifs de l'étude. Une « fiche projet » leur sera remise, elle devra être complétée et signée par le responsable du projet. Cette fiche comprend :

- Le titre du projet
- Un résumé de l'étude
- La nature des échantillons
- Le type et le nombre de marquage
- La nature des prestations souhaitées

Dans le cas d'un projet de plus ou moins longue durée faisant appel à une simple analyse multiparamétrique et sur une série d'expérimentations réalisées dans les mêmes conditions (même type cellulaire, mêmes paramètres...), une formation pourra être proposée à l'utilisateur dès lors que le protocole d'analyse aura été validé par le responsable de la plateforme.

**Attention** : seules les personnes ayant suivi et validé cette formation seront autorisées à utiliser les analyseurs. Une personne formée par la plateforme ne peut en aucun cas former une autre personne de son équipe. La présence d'un utilisateur autonome sera tolérée en dehors des horaires d'ouverture de la plateforme, jusqu'à 18h maximum. En l'absence du personnel expert, les personnes présentes seront sous l'entière responsabilité de leur responsable d'équipe.

Les tris ne peuvent être réalisés que par le personnel expert de la plateforme, après validation du protocole de préparation cellulaire.

### **b. Réservation**

La réservation des automates est obligatoire. Elle se fait par téléphone (04 73 750 204) ou par mail ([plateforme-cmf@chu-clermontferrand.fr](mailto:plateforme-cmf@chu-clermontferrand.fr)). Un planning de réservation en ligne est en cours d'élaboration pour l'analyseur. Pour le trieur, une réservation par téléphone est obligatoire.

Pour le bon fonctionnement de la plateforme il est important que les utilisateurs soient ponctuels à leur rendez-vous. En cas de retard, et pour ne pas pénaliser l'utilisateur suivant, le créneau réservé ne pourra être décalé.

Tout créneau réservé et annulé moins de 24h à l'avance sera facturé (hormis cas particuliers pour certains tris).

### **c. Utilisation des équipements**

Une copie des procédures d'utilisation des automates est placée dans un classeur situé à proximité des cytomètres. Ces dernières doivent être rigoureusement respectées par chaque utilisateur, en particulier les procédures de décontamination et de nettoyage.

Les utilisateurs s'engagent à signaler tout incident ou dysfonctionnement au personnel de la plateforme. La personne inscrite au créneau de réservation sera tenue responsable en cas de problème lié à une utilisation incorrecte de l'automate durant cette période. Dans le cas où le non-respect des consignes entraînerait des dommages sur les automates, les coûts induits seront facturés à l'équipe.

**Il est strictement interdit d'intervenir techniquement sur les cytomètres.**

#### **d. Récupération des données**

La plateforme s'engage à conserver les données brutes au format .fcs pour une durée de deux ans, et décline toute responsabilité en cas de perte des données au-delà de cette période. **Il est formellement interdit de récupérer des données sur les automates reliés aux automates avec une clé USB.** La station de retraitement des données, branchée en réseau, est dédiée à cette fonction.

### **III- Préparation cellulaire**

Sauf cas particuliers définis lors de la réunion de mise en place, les échantillons devront être préparés avant d'être transmis à la plateforme. Certaines étapes de préparation peuvent être réalisées dans la salle de préparation de la plateforme.

La plateforme de CMF fournit le liquide de gaine ainsi que tous les réactifs nécessaires au bon fonctionnement des automates. Les utilisateurs doivent fournir les réactifs nécessaires à la préparation des échantillons avant analyse, ainsi que les tubes/plaques de recueil des échantillons en cas de tri. Le personnel de la plateforme aide au choix des réactifs.

Les échantillons destinés à une analyse simple devront être obligatoirement contenus dans des tubes à hémolyse s'adaptant sur l'automate, fournis par la plateforme.

En cas de fourniture de consommables/réactifs par la plateforme, une facturation sera établie.

Les échantillons à trier seront préparés et acheminés selon les conditions définies avec l'équipe technique.

Tous les échantillons destinés au tri cellulaire seront filtrés selon les modalités définies avec l'équipe technique.

Tous les échantillons devront être accompagnés de la fiche expérience et/ou de la fiche de demande de tri fournie par le personnel de la plateforme.

### **IV- Hygiène et sécurité**

Les utilisateurs s'engagent à respecter les modalités d'accès au laboratoire ainsi que les règles d'hygiène et de sécurité en vigueur au sein du Service d'Hématologie Biologique.

Tous les utilisateurs doivent porter l'équipement de protection individuelle adapté (blouse, gants...).

Les paillasses/hottes doivent être laissées parfaitement propres après utilisation. Aucun échantillon ne devra se trouver sur la plateforme en dehors des créneaux réservés. Tout échantillon laissé sur la plateforme sera systématiquement jeté.

Les échantillons contaminés par des agents pathogènes ou génétiquement modifié doivent être impérativement signalés au personnel technique. Les utilisateurs s'engagent à fournir toutes les informations relatives aux risques potentiels pour les manipulateurs et/ou le matériel. Le responsable de la plateforme se réserve le droit de refuser une prestation s'il juge que les échantillons présentent des risques trop importants.

Les utilisateurs s'engagent à informer le personnel de la plateforme le plus rapidement possible en cas de contamination observée dans une culture de cellules ayant été triée sur la plateforme.

La plateforme n'est pas équipée pour prendre en charge des échantillons radioactifs, leur manipulation y est donc strictement interdite.

Les utilisateurs s'engagent à posséder les documents règlementaires nécessaires à l'utilisation des échantillons, notamment les autorisations et consentements des patients pour les prélèvements d'origine humaine.

## V. Engagements de la plateforme

La plateforme s'engage à mettre à disposition toutes ses compétences pour aider l'équipe demandeuse à élaborer son projet d'utilisation de la cytométrie en flux, le protocole d'analyse et/ou de tris, et pour mettre en place les essais de mise au point. En revanche, elle ne peut s'engager sur le résultat, dépendant de la complexité de chaque demande.

## VI. Tarification

Le tarif des différentes prestations disponibles est établi et validé chaque année par le responsable de la plateforme, le chef de service et la direction du CHU. Il est disponible auprès du personnel de la plateforme. Le temps de mise en place des projets n'est pas facturé (réunion de mise en place + deux premières heures d'analyse ou trois premiers tris).

Pour chaque future équipe utilisatrice, le responsable émettra un devis décrivant la/les prestations prévues et le tarif applicable. Une fois accepté, ce devis devra être retourné signé par le responsable d'équipe au responsable de la plateforme avant la réalisation de la prestation.

Les sommes perçues permettront de couvrir l'essentiel des coûts de fonctionnement et de maintenance des automates de la plateforme.

## VII. Publications/communications

Dans le but de valoriser la plateforme et de favoriser son développement, toutes les publications/communications scientifiques écrites et/ou orales contenant des données obtenues sur la plateforme de CMF devront mentionner le nom de la plateforme dans les remerciements.

Un membre de l'équipe sera associé au rang d'auteur des publications/communications scientifiques écrites et/ou orales en cas d'implication dans la mise au point, l'obtention ou l'analyse des résultats de cytométrie.

Chaque équipe s'engage à informer la plateforme des références des publications et/ou communications incluant des données de CMF.

En cas de non-respect des règles énoncées ci-dessus, le responsable de la plateforme se réserve le droit de refuser l'accès à un utilisateur.

Je soussigné(e) .....

Membre de l'équipe  
.....

Certifie avoir pris connaissance des règles d'utilisation de la plateforme de CMF et m'engage à les respecter.

Fait à ....., le ...../...../.....

Signature du responsable d'équipe  
*Précédé de la mention « Lu et approuvé »*

Signature de l'utilisateur  
*Précédé de la mention « Lu et approuvé »*