



I) Localisation de la plateforme

Service d'Hématologie biologique

CHU Estaing

1 place Lucie et Raymond Aubrac

63003 Clermont-Ferrand

Téléphone : 04 73 75 02 04

Fax : 04 73 75 02 07

Mail : plateforme-cmf@chu-clermontferrand.fr

Responsable : Dr Joévin Besombes

Ingénieur : Dr Céline Bourgne

II) Présentation de la plateforme et des équipements

La plateforme de tri cellulaire et cytométrie en flux (CMF) est installée au sein du service d'Hématologie biologique du CHU de Clermont-Ferrand. Elle dispose de différents équipements dédiés aux activités de recherche, cofinancés par le CHU, la région Auvergne, le FEDER et la fondation ARC :

- **Analyseur BD LSRFortessa X-20** équipé de 3 lasers et capable d'analyser simultanément 2 paramètres de morphologie (taille et granularité) ainsi que 14 paramètres de fluorescence.
- **Analyseur/trieur de cellules BD FACSAria SORP** équipé de 5 lasers et capable d'analyser simultanément 2 paramètres de morphologie et 18 paramètres de fluorescence. Cet instrument permet de trier jusqu'à 4 sous-populations différentes. Il est de plus 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 dans un même puit) ainsi que d'un système de contrôle des températures des fractions triées et à trier.
- **Stations de retraitement des données** (logiciels BD FACSDiva 9.0 et FlowJo 10.8).

La plateforme propose les services suivants :

- Analyse cellulaire multiparamétrique (identification et analyse phénotypique et/ou fonctionnelle de différentes sous-populations cellulaires).
- Tri cellulaire multiparamétrique haute vitesse.
- Aide pour l'exploitation et l'analyse des données de cytométrie.
- Expertise dans le design des panels et la conception des expériences.

III) Conditions d'accès

La plateforme est accessible du lundi au vendredi de 8h30 à 16h30 (jusqu'à 18h pour les utilisateurs autonomes sur l'analyseur et les stations de retraitement des données*), à toutes les équipes de recherche du secteur public ou privé qui en feront la demande.

8h30 - 16h30	16h30 - 18h*
Tris cellulaires, analyses réalisées par le personnel de la plateforme, formations, conseils...	
Accès en autonomie aux analyseur et stations de retraitement des données	

*cf. paragraphe « d. Utilisation en autonomie des équipements »



a. Inscription d'un nouvel utilisateur

Les nouveaux utilisateurs doivent prendre rendez-vous auprès du responsable et/ou de 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 tarifée et planifiée.

Lors de ce premier rendez-vous, les futurs utilisateurs devront présenter le contexte et les objectifs de l'étude. Une description écrite du projet leur sera demandée, elle devra être signée par le responsable du projet. Cette description 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.

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. Les expériences ne pourront commencer qu'après signature des documents.

b. Réservation

La réservation des équipements est obligatoire. Elle se fait par mail (plateforme-cmf@chu-clermontferrand.fr) ou par téléphone (04 73 750 204). Pour le bon fonctionnement de la plateforme et pour ne pas pénaliser les utilisateurs suivants, il est important que les horaires de rendez-vous soient strictement respectés. Tout créneau réservé et annulé moins de 24h à l'avance sera facturé (hormis cas particuliers pour certains tris).

c. Utilisation en autonomie des équipements

Seul l'analyseur BD LSRFortessa X-20 et les stations de retraitement des données sont utilisables en autonomie.

Dans le cas d'un projet faisant appel à une analyse multiparamétrique simple 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 aura été validé par le responsable de la plateforme. **Attention** : seules les personnes ayant suivi et validé cette formation seront autorisées à utiliser l'analyseur de façon autonome. 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 directeur d'équipe.

Une copie des procédures d'utilisation des équipements est placée dans un classeur situé à proximité des cytomètres. Ces dernières doivent être rigoureusement respectées, 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 accueillie.



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 ordinateurs reliés aux automates avec une clé USB.**

IV) 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. 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 spécifique 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.

Toute modification du protocole (type cellulaire, anticorps, fluorochrome...) devra être signalée au personnel de la plateforme dans un délai suffisant pour anticiper de nouveaux réglages (changement de *nozzle*, recalcul de la matrice de compensation...).

V) 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 et PSM 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 modifiés 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.

VI) 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.

VII) 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.

VIII) 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 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

Signature de l'utilisateur