

Mathieu Hauwel¹, Cassandra Hogan², Paula Fernandez³, et Thomas Matthes⁴

L'Ecole Suisse de Cytométrie en Flux

Apparue dans les laboratoires de recherche dans les années 70, la Cytométrie en Flux (CMF) est considérée aujourd'hui comme une technique d'analyse cellulaire incontournable pour les centres de recherche biomédicale et les hôpitaux de pointe. Cette technique ne cesse de se développer et de trouver de nouvelles applications.

Depuis 2012 l'Ecole Suisse de Cytométrie en Flux propose des formations de base et sur des thèmes spécifiques aux laborantins, techniciens d'analyse, biologistes et médecins.

Principes de la cytométrie

Comme son nom l'indique, la CMF est une technique d'analyse qui permet d'effectuer des mesures «métrique» sur des cellules «cyto» en suspension et entraînées par un liquide «en flux». Le cytomètre focalise le flux cellulaire devant un laser qui excite les cellules individuellement. Ensuite la lumière réémise par diffraction et par fluorescence, est captée et décomposée en différentes couleurs afin d'être mesurée. La lumière diffractée renseigne sur la taille et la complexité structurale des cellules.

L'analyse cellulaire par CMF fait autant appel à des notions de physique et de chimie, que de biologie et de médecine.

Des sondes fluorescentes, le plus souvent des anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes, permettent de réaliser des immunophénotypes, c'est-à-dire de détecter spécifiquement sur la même cellule la présence de certaines molécules à la surface ou même à l'intérieur des cellules. Des millions de cellules sont ainsi analysées une par une en quelques minutes et des renseignements obtenus sur leur taille, leur structure, et leur phénotype. Ces données multiparamétriques sont ensuite analysées par des logiciels permettant une représentation graphique de ces populations cellulaires et de leurs caractéristiques.

La CMF est tout particulièrement adaptée à l'étude du système immunitaire et des cellules hématopoïétiques. En effet, elle permet non seulement de distinguer et quantifier au niveau des cellules du sang périphérique et de la moelle osseuse les différentes populations cellulaires présentes, mais également d'identifier des cellules tumorales sur la base de changements du phénotype. Ainsi la CMF a trouvé sa place dans les laboratoires de routine en pathologie, immunologie et hématologie où elle est utilisée par exemple pour l'investigation des immunodéficiences, pour le dosage des lymphocytes T CD4+ dans le suivi des patients HIV, pour l'analyse des hémopathies malignes avec le diagnostic différentiel des leucémies et lymphomes, ainsi que pour le suivi de ces patients après chimiothérapie ou transplantation de cellules souches avec la recherche d'une éventuelle maladie résiduelle.

Problématique de la formation en cytométrie

L'analyse cellulaire par CMF fait autant appel à des notions de physique et de chimie, que de biologie et de médecine. Les progrès techniques avec l'arrivée des cytomètres de dernière génération accommodant jusqu'à 18 couleurs sont en train de bouleverser les méthodes conventionnelles d'analyse et requièrent une expertise de plus en plus poussée. Pourtant il n'existe actuellement en Suisse aucune formation spécifique dans ce domaine et les utilisateurs apprennent souvent «sur le tas», sans avoir le temps dans la routine quotidienne d'acquérir les bases théoriques permettant d'exploiter pleinement les capacités de ces cytomètres de pointe.

L'Ecole Suisse de Cytométrie en Flux a été créée en janvier 2012 au sein des Hôpitaux Universitaires de Genève pour répondre à ce besoin. Elle propose à un large public de professionnels des cours généraux ou spécifiques sur les différents aspects de la CMF, de la préparation des échantillons à l'analyse informatique multiparamétrique. De nouveaux cours sont régulièrement proposés et peuvent aussi être mis en place sur demande.

L'Ecole Suisse de Cytométrie en Flux: organisation et fonctionnement

Les cours sont dispensés en français ou anglais (également en allemand sur demande), selon les sessions, au Centre Médical Universitaire de Genève dans un local dédié à la formation en CMF. Un cytomètre est mis à disposition des stagiaires ainsi qu'une paillasse entièrement équipée pour la préparation des échantillons. Chaque stagiaire dispose d'un bureau et d'un ordinateur pour l'analyse de données. Les matinées sont dédiées aux cours théoriques, les travaux pratiques sur le cytomètre ou à l'ordinateur ont lieu l'après-midi. Afin de répondre au mieux aux besoins individuels et permettre un échange



La salle des cours équipée avec un cytomètre, une paillasse de travail et six bureaux avec des ordinateurs personnels. Un cours théorique est donné pour six élèves.

1 Dr Mathieu Hauwel, Service Hématologie, HUG Genève

2 Dr Cassandra Hogan, Service Pathologie, HUG Genève

3 Dr. Paula Fernandez, Zentrum für Labormedizin, Kantonsspital Aarau

4 Dr Thomas Matthes, Service Hématologie, HUG Genève

Eine schweizerische Schule für Durchflusszytometrie

Entwickelt wurde die Durchflusszytometrie in den Siebzigerjahren in Forschungslabors. Sie ist in den letzten Jahrzehnten zu einer Untersuchungsmethode herangereift, welche aus den heutigen Biomedizinischen Forschungsinstituten und den Universitätskliniken nicht mehr wegzudenken ist. Die Methode erlaubt an einzelnen Zellen die parallele Untersuchung verschiedenster Parameter, wie z.B.: Grösse, Fluoreszenz, Aktivitätsstatus, Zelloberflächenproteine. Neue Anwendungen werden fortlaufend entwickelt.

Seit 2012 bietet die Schweizerische Schule für Durchflusszytometrie am Universitätskrankenhaus Genf Fortbildungskurse an, sowohl für Einsteiger als auch für Fortgeschrittene, für Laborassistenten, Biologen und Ärzte. Nähere Informationen finden Sie auf der Website der Schule unter www.cytometryschool.ch.

dynamique, le nombre de participants est limité à six.

Quelles sont les formations proposées et à qui s'adressent les cours ?

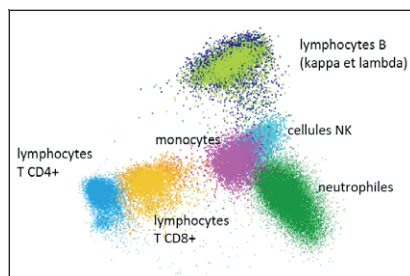
Les formations que propose l'école sont modulaires. Le cours « Introduction et perfectionnement en cytométrie en flux » couvre en une semaine tous les aspects théoriques et pratiques de la cytométrie. Il s'adresse aux laborantins, techniciens d'analyse, biologistes, médecins et chercheurs avec un intérêt pour la cytométrie, mais sans connaissances préalables.

Différents cours plus avancés sont également proposés, regroupés chaque fois autour d'un thème particulier, par exemple CMF pour l'immunologiste, CMF pour le diagnostic de lymphomes, etc. Tous les détails concernant ces

cours ainsi que les informations pratiques sont accessibles sur le site Web de l'école: www.cytometryschool.ch.

Quels bénéfices retirer d'une formation en cytométrie ?

Pour les personnes n'ayant pas ou peu de pratique de la cytométrie, elles auront l'avantage de démarrer leur apprentissage sur des bases théoriques complètes et solides. Elles seront ainsi plus rapidement autonomes. Les utilisateurs expérimentés, quant à eux, bénéficieront d'une mise à jour de leurs connaissances et d'un aperçu des dernières applications en cytométrie.



Analyse par cytométrie en flux d'un échantillon de sang périphérique normal. Chaque petit point représente un globule blanc. Un marquage avec une combinaison de dix anticorps permet la visualisation de sept populations cellulaires différentes: neutrophiles, monocytes, lymphocytes T CD4+ et CD8+, lymphocytes B kappa ou lambda positives et cellules NK. Un algorithme mathématique permet la présentation des données issus de l'espace 10-dimensionnel en deux dimensions. (image produit avec le software Infinicyt®)

Du point de vue du responsable de laboratoire, la formation de son personnel technique aura non seulement un impact positif sur le standard de qualité du laboratoire, mais améliorera également la mise en place de nouveaux protocoles et la transition vers des technologies de dernière génération.

La taille restreinte du groupe permet l'échange convivial de l'expérience de chacun et la comparaison des différentes méthodes. Lors des cours, les principaux protocoles et méthodes d'analyses sont passés en revue et leurs avantages et inconvénients sont comparés. Les cours de cytométrie sont également l'occasion de sensibiliser les stagiaires aux normes de contrôle qualité et procédures d'accréditation.

L'Ecole Suisse de Cytométrie en Flux souhaite promouvoir les bonnes pratiques de laboratoire et participer à l'élévation des standards de qualité en Suisse. Les cours ont pour but d'apporter aux stagiaires la maîtrise des principes de CMF quel que soit le modèle et la marque de la machine utilisée par la suite. De même, les chapitres traitant de l'analyse de données couvrent des notions générales, applicables aux différents logiciels existant sur le marché. L'Ecole ne fournit pas de formation spécifique utilisateur, qui est du ressort des spécialistes applications de chaque compagnie.

Correspondance:
Thomas.Matthes@hcuge.ch

L'Ecole Suisse de Cytométrie en Flux propose pour 2013 et 2014 six cours différents:

Cours 1	Introduction et perfectionnement en cytométrie en flux
Cours 2	Applications avancées de la cytométrie pour immunologistes et hématologues
Cours 3	Diagnostic de l'HPN par cytométrie en flux
Cours 4	Applications avancées de la cytométrie pour la recherche
Cours 5	Diagnostic de lymphomes B et T par cytométrie en flux
Cours 6	Diagnostic de leucémies aiguës par cytométrie en flux



Schweizerische Union für Labormedizin
Union Suisse de Médecine de Laboratoire
Unione Svizzera di Medicina di Laboratorio
Swiss Union of Laboratory Medicine

Tagung – Neue Labortarife 2013

Für Mitglieder der Verbände der SULM, Interessierte an der Labormedizin, Gesundheitsfachleute, PolitikerInnen und Medienschaffende.

Donnerstag, 13. Juni 2013, 09.15–12.30 Uhr, Hotel Schweizerhof, Bern
Anmeldung: www.sulm.ch