



## Plateau technique de Cytométrie en Flux Mobile



CHARTE D'UTILISATION

## Table des matières

<b>I.</b>	<b>Le plateau technique de cytométrie en flux .....</b>	<b>3</b>
1.	<i>Le personnel du plateau technique .....</i>	3
2.	<i>Le comité de pilotage (COPIL).....</i>	3
3.	<i>Les locaux.....</i>	3
4.	<i>Les instruments disponibles .....</i>	4
<b>II.</b>	<b>Le fonctionnement .....</b>	<b>5</b>
1.	<i>L'accès à la plateforme .....</i>	5
2.	<i>Demande de service.....</i>	5
3.	<i>Services proposés : .....</i>	6
4.	<i>L'autonomie .....</i>	6
5.	<i>La réservation.....</i>	6
6.	<i>L'annulation .....</i>	7
7.	<i>La valorisation .....</i>	7
8.	<i>La tarification.....</i>	7
9.	<i>La facturation.....</i>	7
10.	<i>Les consommables et les réactifs .....</i>	7
<b>III.</b>	<b>Les règles d'utilisation des cytomètres.....</b>	<b>8</b>
1.	<i>Les règles générales d'utilisation des cytomètres.....</i>	8
2.	<i>Règles à suivre pour le stockage des données et l'analyse des résultats .....</i>	8
	<i>Annexe I- La préparation cellulaire .....</i>	9
	<i>Annexe II : Règles d'hygiène et de sécurité - Prévention des risques biologiques .....</i>	10
1.	<i>Les principes généraux de sécurité.....</i>	10
2.	<i>Les règles et mesures d'hygiène et de sécurité .....</i>	10
3.	<i>Gestion et évacuation des déchets solides et liquides.....</i>	10

Cette charte définit :

- les engagements du plateau technique envers les utilisateurs,
- les règles de base que tout utilisateur du plateau technique doit respecter,
- le fonctionnement général du plateau technique.

Le plateau assure :

- le contrôle de qualité et maintenance des instruments.
- L'archivage des données et protocoles.
- Formation des utilisateurs : les utilisateurs sont formés pour devenir autonomes sur l'ensemble des analyseurs du service. La formation se compose de deux modules, un module théorique et un module pratique sur un analyseur. L'utilisateur débutant est ensuite assisté au démarrage de ses propres expériences.
- Évaluation des nouvelles technologies d'analyse permettant de maintenir au meilleur niveau le plateau technique de cytométrie en flux.

## I. Le plateau technique de cytométrie en flux

L'activité du plateau technique de cytométrie en flux mobile MOBICYTE sous la tutelle de l'Université de Reims Champagne-Ardenne (URCA) et de l'INERIS par convention est régie en accord avec la convention par un comité de pilotage (COPIL) qui se réunit pour définir les règles liées à l'administration du plateau technique.

### ***1. Le personnel du plateau technique***

Responsable scientifique, technique et administratif : **Damien RIOULT**, IR, Bureau BII 08, 2<sup>e</sup> étage, Bâtiment 18, Pôle Campus Moulin de la Housse  
Téléphone : 33 (0)3 26 91 34 10  
Mail : [damien.rioult@univ-reims.fr](mailto:damien.rioult@univ-reims.fr)

### ***2. Le comité de pilotage (COPIL)***

Le plateau technique de cytométrie est placé sous la responsabilité d'un comité scientifique et technique utilisateur, composé d'experts scientifiques et techniques qui se réunissent régulièrement (1 fois par mois). Sont membres de ce conseil :

- **Alain GEFARD** (URCA)
- **Anne BADO-NILLES** (INERIS)
- **Damien RIOULT** (URCA)
- **Jean-Marc PORCHER** (INERIS)
- **Stéphane BETOULLE** (URCA)

### ***3. Les locaux***

Le plateau technique de cytométrie est hébergé par l'UMR-I 02 SEBIO, situé porte BII 04, 2<sup>ème</sup> étage, Bâtiment 18, Campus Moulin de la Housse Chemin des Rouliers, 51100 Reims.

#### 4. Les instruments disponibles

Le plateau technique de cytométrie dispose de plusieurs instruments :

- Un cytomètre analyseur Accuri C6 classique (BD Biosciences) :

2 lasers (488 nm et 635nm)

2 paramètres de morphologie (taille et granulosité)

4 paramètres de fluorescence

- Pour le laser 488 nm : 520±15, 585±25, 670 LP.
- Pour le laser 630 nm : 610±10

Passeur d'échantillons compatible avec :

- plaques 96 puits (U ou L)
- plaques 48 puits
- portoirs 24 tubes (tubes 12x75 ou micro tube type Eppendorf)

Logiciel d'acquisition : BD Accuri Software (Windows)



- Un cytomètre analyseur Accuri C6 custom (BD Biosciences) :

2 lasers (375 nm et 635nm)

2 paramètres de morphologie (taille et granulosité)

4 paramètres de fluorescence

- Pour le laser 488 nm : 520±15, 585±25.
- Pour le laser 375 nm : 450±10, 720±20

Passeur d'échantillons compatible avec :

- plaques 96 puits (U ou L)
- plaques 48 puits
- portoirs 24 tubes (tubes 12x75 ou micro tube type Eppendorf)

Logiciel d'acquisition : BD Accuri Software (Windows)



- Deux logiciels de post-analyse :

- FlowJo X (Windows)
- FCAP Array (Windows)



## **II. Le fonctionnement**

### ***1. L'accès à la plateforme***

Pour les externes et non-autonomes, le service est ouvert du lundi au vendredi de 9h00 à 17h30. Les rendez-vous avec prestations sont pris sans interruption entre 9h30 et 17h30. Le service sera fermé pendant les jours fériés et lors des congés du responsable technique. Seuls les utilisateurs déclarés autonomes peuvent utiliser les équipements en l'absence de l'ingénieur après avoir fait connaître leurs besoins. Le lundi matin, est la période privilégiée pour la maintenance hebdomadaire des appareils.

Les appareils de la plateforme sont ouverts aux utilisateurs suivants :

Utilisateurs locaux URCA

Utilisateurs académiques extérieurs et institutionnel

Utilisateurs industriels

Des tarifications différentes sont proposées à ces différents utilisateurs (cf. section II.8). Tout utilisateur doit être connu du personnel de la plateforme, auprès duquel il se sera préalablement inscrit (cf. section II.2).

Seuls les utilisateurs autonomes internes aux tutelles sont autorisés à utiliser les cytomètres sans l'assistance du personnel du plateau technique. Une liste des utilisateurs autonomes est définie et validée par le responsable scientifique et le responsable technique. Le fonctionnement du plateau technique est soumis à des procédures définies par les responsables pour l'ensemble des cytomètres, dans le respect des bonnes pratiques de laboratoires et des règles d'utilisation des appareils (annexe). Tout contrevenant prend le risque de se voir interdire l'accès au plateau technique.

### ***2. Demande de service***

Pour tout projet d'analyse, le demandeur renseigne la « Fiche projet » en ligne et la retourne dûment complétée (parties 1, 2 et 3) au responsable du plateau pour évaluation de la faisabilité du projet. Afin d'assurer la traçabilité de la demande, un numéro sera attribué au projet et devra être rappelé sur tout document ou correspondance ultérieure.

Si le projet est approuvé, la « Fiche projet » est retournée au demandeur, partie 4 renseignée, dans un délai maximum de 30 jours, accompagnée du coût estimé spécifique au service demandé et au projet décrit, ainsi qu'un planning prévisionnel, pour validation ; si le projet est refusé, la « Fiche projet » est retournée au demandeur, partie 4 renseignée, dans un délai maximum de 30 jours, avec la justification du refus.

Le demandeur valide ou non le projet et renvoie la « Fiche projet », partie 5 renseignée, au responsable du plateau dans un délai maximum d'une semaine.

Des conventions de collaboration ou des contrats types seront négociés et signés avant le démarrage des projets pour les prestations avec préparation d'échantillons, recherche et développement collaboratif.

### ***3. Services proposés :***

S'appuyant sur l'expertise de laboratoire universitaire et de l'INERIS, le plateau est en mesure de proposer plusieurs services.

**1. Temps machine sur site, pour les internes aux tutelles uniquement**

Les équipements sont mis à la disposition du demandeur après une formation et un accompagnement dans l'utilisation de ces équipements. Les utilisateurs sont responsables de leurs analyses. Autonomie préalable nécessaire.

**2. Prestation sans préparation d'échantillons**

L'équipe de la plateforme réalise la prestation comprenant l'analyse sans traitement préalable de l'échantillon. Seul l'ajout de réactif pré-analyse pourra être réalisé.

**3. Expertises**

La plate-forme propose conseils et expertises à chaque étape des études menées, pouvant aller de la stratégie d'échantillonnages à l'interprétation des résultats.

**4. Prestations avec préparation d'échantillons, recherche et développement collaboratif**

Des contrats de partenariat et de collaboration seront établis pour la réalisation de projets qui nécessitent une mise au point importante :

- prestation avec traitement préalable de l'échantillon (préparation et/ou exposition)
- le développement des nouvelles analyses ou tests spécifiques
- le développement de techniques innovantes ou de nouvelles applications

**5. Enseignement et Formation continue**

Le personnel scientifique de la plate-forme dispense des formations continues courtes sur certains équipements. Le personnel scientifique peut aussi intervenir dans la mise en place de travaux pratiques.

### ***4. L'autonomie***

L'acquisition et l'analyse des échantillons peuvent être faites en autonomie par l'utilisateur déclaré autonome par le personnel du plateau technique. Sont qualifiés « utilisateurs autonomes » les utilisateurs qui ont reçu une formation préalable à la cytométrie, aux précautions d'utilisation des cytomètres, aux précautions de manipulation de matériel biologique, aux protocoles de préparation cellulaire, et dont l'autonomie a été validée par le responsable du plateau technique. L'autonomie n'est en aucun cas transmise d'un utilisateur à un autre.

**Seuls les utilisateurs internes aux tutelles peuvent être déclarés autonomes.**

### ***5. La réservation***

La réservation est obligatoire et se fait uniquement en contactant le personnel du plateau technique par e-mail ([mobicyte@univ-reims.fr](mailto:mobicyte@univ-reims.fr)) ou par téléphone (au 33 (0)3 26 91 34 10) en précisant : le projet et l'heure(s) de réservation demandée(s).

Après validation, le créneau sera réservé et sera affiché dans l'agenda. Le créneau minimum réservé est de 1 heure pour les cytomètres analyseurs.

Pour le bon fonctionnement du plateau technique, il est important que les utilisateurs soient ponctuels à leur rendez-vous. En cas de retard d'un utilisateur, le rendez-vous se terminera à l'heure initialement prévue lors de la réservation afin de ne pas léser l'utilisateur suivant. Le créneau sera facturé dans son intégralité.

Lors de la réservation, les utilisateurs s'engagent à fournir toutes informations relatives aux risques liés aux échantillons qu'ils apportent sur le plateau technique.

Un planning prévisionnel d'utilisation de chaque cytomètre est disponible.

## **6. L'annulation**

En cas d'annulation, il est impératif de prévenir le personnel du plateau technique, le plus tôt possible. Toute réservation non utilisée et non annulée dans un délai de 48h sera facturée.

## **7. La valorisation**

Pour valoriser l'activité du plateau technique et favoriser son développement, il est important que son activité soit explicitement reconnue. Lorsque la prestation du plateau technique consiste uniquement en une assistance et à l'accès aux équipements, le plateau technique est cité dans la section " Acknowledgements/Remerciements" de toute publication, communication écrite et/ou orale (service 1, 2). En cas d'implication plus importante du personnel de la plateforme dans la mise au point, l'obtention et l'analyse des résultats de cytométrie en flux (service 3 et 5), les modalités d'association aux publications, communications écrites et/ou orales devront être discutées, négociées et clairement stipulées dans la convention de collaboration ou le contrat signé. Dans tous les cas, une copie de la publication/communication devra être envoyée au responsable scientifique du plateau technique.

## **8. La tarification**

Les coûts de fonctionnement du plateau technique sont établis par le COPIL sur la base réglementaire du SAIC (URCA) et par le COPIL.

Le coût estimé du service demandé sera communiqué au demandeur avant la validation du projet ; il est calculé comme suit :

- Un tarif de base fixe est établi par équipement (coût de l'utilisation autonome de l'équipement sans préparation d'échantillons)
- Le coût du service demandé est ensuite évalué suivant le service proposé, le type de demandeur, la nature et la durée du projet.

Les tarifs de base sont établis annuellement par les responsables de plateaux techniques et les directeurs de laboratoires concernés, et peuvent être communiqués sur demande (annexe 1).

Après validation du projet par le demandeur, un devis ou une proposition financière sont établis au travers des documents contractuels spécifiques.

Les formations d'autonomie des utilisateurs ne sont pas facturées.

## **9. La facturation**

Pour les utilisations internes (service 1 et 2), la facturation est établie deux fois par an. Elle est envoyée aux laboratoires utilisateurs au mois de juin pour les utilisations du premier semestre de l'année en cours et au mois de janvier de l'année suivante pour les utilisations du second semestre de l'année en cours.

Règles de facturation pour les analyseurs

- o Un minimum de 1 h d'utilisation sera facturée par période réservée.
- o Toute réservation non utilisée et non annulée sera facturée pour la durée totale de la réservation.
- o Tout retard dû à un problème matériel propre au plateau ne sera pas facturé.

Pour les autres services, la facturation aura lieu dès la fin du service.

## **10. Les consommables et les réactifs**

Les utilisateurs doivent acheter leurs propres consommables et réactifs (service 1,2 et 3). Le plateau technique ne met à disposition que les cônes stériles pour l'utilisation au cours de l'activité.

### III. Les règles d'utilisation des cytomètres

#### 1. Les règles générales d'utilisation des cytomètres

Les utilisateurs s'engagent à :

Suivre scrupuleusement les procédures d'utilisation disponibles à proximité de chaque appareil. Signaler obligatoirement tout incident au personnel du plateau technique. La personne inscrite au créneau de réservation sera tenue responsable en cas de problème lié à une utilisation incorrecte pendant cette période.

Laisser les équipements et accessoires propres et rangés après chaque utilisation ; le plateau technique assure la maintenance générale des appareils, mais chaque utilisateur est tenu de respecter les conditions d'utilisation (notamment lavage, remplissage et vidange des réservoirs de l'appareil) prévues dans la procédure d'utilisation de chaque appareil. Ce temps fait partie du temps décompté d'utilisation de l'appareil.

Il est rigoureusement interdit d'intervenir techniquement sur les cytomètres.

En fin d'utilisation du cytomètre, l'utilisateur doit remplir le registre d'activité situé à côté de l'appareil :

- Vérifier les niveaux de liquide de gaine (« sheath » et « waste ») et intervenir si besoin.
- Ranger et nettoyer le plan de travail.

Les utilisateurs s'engagent à être vigilance et à signaler tout problème ou dysfonctionnement dans les plus brefs délais

#### 2. Règles à suivre pour le stockage des données et l'analyse des résultats

Les cytomètres sont réservés à l'acquisition des données. Il est interdit de stocker des données personnelles sur les disques durs des cytomètres. Celles-ci peuvent être effacées des postes de travail sans préavis. Les données générées sur les appareils du plateau technique sont transférées une fois par trimestre sur un système de sauvegarde situé sur le plateau technique. La récupération des données des utilisateurs autonomes est de leurs responsabilités. Pour les utilisateurs non autonome les modalités seront définies dans la convention (transmission des datas brut, notion de confidentialité...). En cas de dysfonctionnement informatique, le plateau ne pourrait être tenu pour responsable dans la perte des données. Les ordinateurs sont équipés de dongle WIFI permettant un accès à internet via les logins et mots de passe personnel pour les membres URCA (via EDUSPOT ou EDUROAM). Les utilisateurs s'engagent à respecter les chartes informatiques mise en place par l'Université de Reims Champagne Ardenne.

#### Acceptation de la Charte

Je soussigné(e), Mme, Mr ..... confirme avoir lu ce document et m'engage à en respecter les règles.

Fait à ....., le... /... /...

Signature de l'utilisateur, précédée de la mention « lu et approuvé »

Signature du responsable d'Équipe



## ***Annexe I- La préparation cellulaire***

La Cytométrie en flux est une technique qui s'applique aux cellules ou éléments en suspension; les utilisateurs doivent donc :

Prendre les précautions nécessaires lors de la préparation de leurs échantillons (dissociation, filtration, le cas échéant addition de BSA 3%, EDTA, DNase, ...) afin d'éviter la formation d'agrégats ou de débris. Venir avec tous les témoins « exploitables » pour effectuer les réglages et mesures :

- o Témoin sans marquage (inutile dans le cas de l'analyse du cycle cellulaire)
- o Témoin simple marquage pour chaque fluorochrome utilisé (en cas de marquages multiples) pour le réglage des compensations.
- o Contrôle positif (lignée, stimulation,...)
- o ...

Les appareils ne se trouvant pas dans un lieu confiné, seuls des échantillons sans risque biologique associé (classe 1) peuvent être analysés sans traitement particulier.

Règles de passage des échantillons pour les analyseurs :

- o Cellules sans risque biologique associé : PAS D'OBLIGATION DE FIXATION
- o Cellules avec un risque biologique associé : FIXATION RECOMMANDE (avec minimum de 1 % de paraformaldehyde de grade histologique (sans méthanol).
  - cellules provenant de matériels biologiques d'origine humaine ou simienne
  - cellules provenant de matériels infectés ou modifiés de niveau L2 ou L3 (p. ex. HIV, SIV, TB, HepB, HepC, HepD, LCMV, SARS, HTLV-a, HTLV-2)
  - micro-organismes de niveau L2 ou L3 (bactéries, parasites, ...)

Les échantillons de classe 2 et de classe 3 doivent être déclarés au moment de la réservation et ne pourront être manipulés au niveau du plateau technique que dans les conditions décrites ci-dessus. En cas de doute et en attente d'une information précise sur les échantillons, le personnel du plateau technique se réserve le droit d'interdire l'accès du plateau technique.

Un cahier de prévention sur les risques biologiques a été réalisé par le CNRS (site ci-dessous) et pourra aider toute personne concernée par ces risques à les identifier, les évaluer et définir des mesures de prévention adaptées.

<http://www.dgdr.cnrs.fr/SST/CNPS/guides/doc/risquebio/Guiderisquesbiojuillet2012.pdf>

L'utilisateur s'engage à posséder tous les documents réglementaires qui autorisent l'utilisation de ses échantillons.

Une discussion avec le personnel du plateau sera souhaitée afin de faciliter le passage des échantillons dans les meilleures conditions de travail possibles.

## ***Annexe II : Règles d'hygiène et de sécurité - Prévention des risques biologiques***

### ***1. Les principes généraux de sécurité***

L'accès à l'utilisation autonome des cytomètres est strictement réservé aux utilisateurs formés par le personnel du plateau technique. Le personnel doit avoir préalablement validé cet accès. Le respect des bonnes pratiques de laboratoire est de rigueur. Le transport des échantillons des laboratoires vers le plateau technique doit se faire dans des boîtes de transport fermées adaptées. Tout nouvel utilisateur autonome recevra les consignes générales de sécurité relatives au plateau technique et devra signer un cahier de suivi de la formation sécurité, signifiant qu'il a reçu les consignes et s'engage à les respecter.

Les numéros d'urgence de la faculté et les consignes de sécurité du bâtiment de la faculté sont affichés dans les locaux du plateau technique. Aucun échantillon ne doit se trouver dans le laboratoire en dehors du temps d'acquisition des résultats.

### ***2. Les règles et mesures d'hygiène et de sécurité***

Aucune préparation cellulaire ne doit être réalisée sur le plateau technique. Le plateau technique est strictement réservé à l'acquisition et au post-traitement des échantillons. Seule l'addition extemporanée de colorants vitaux est autorisée dans des conditions strictes de manipulation des cellules vivantes.

Les utilisateurs ne doivent laisser aucun matériel usagé à jeter sur le plateau technique. Les règles d'évacuation des déchets définies dans la charte doivent être respectées (cf section V.3).

Tous les utilisateurs doivent porter l'équipement de protection individuel approprié à la manipulation de leurs échantillons : blouse(s), gants, masque, lunettes...

Le port de gants est INTERDIT sur TOUS les systèmes informatiques du plateau technique.

La cytométrie fait appel à l'utilisation de lasers de classe 3 émettant dans le visible pouvant entraîner une destruction irréversible de la rétine et donc une perte totale de la vision. Il est de ce fait interdit pour l'utilisateur :

- d'ouvrir les capots des appareils. En cas de problème, contacter immédiatement le responsable du plateau technique.
- d'entrer dans les salles du plateau technique lors de la maintenance des appareils.

### ***3. Gestion et évacuation des déchets solides et liquides***

Les déchets solides non contaminés (papier, essuie-tout, ...) sont à jeter dans les poubelles à papier. Les déchets solides contaminés (essuie-tout, tubes avec échantillons, filtres, seringues, cônes, gants,...) sont à jeter dans les poubelles jaunes. Les déchets liquides sont à jeter dans les bidons prévus à cet effet. . Aucun déchet ne doit être évacué à l'évier.