
Programme de Formation

ELISPOT : quantification des cellules T spécifiques de l'antigène fréquentes ou rares sur PBMC de qualité conforme



Organisation

Durée : 14 heures

Mode d'organisation : Présentiel

Contenu pédagogique



Public visé

Ingénieurs, techniciens, post-doctorants, étudiants en thèse de doctorat ou en maîtrise. Cette formation est optimale pour les personnes ayant un prérequis de manipulation en L2 et qui sont novices pour la conception et la réalisation d'ELISPOT.



Objectifs pédagogiques

- Conceptualiser les ELISPOT pour la mesure de la fréquence des cellules T spécifiques de l'antigène chez l'humain en incluant l'étude de populations rares
- Maîtriser les contrôles qualité sur les PBMC humains
- Mettre au point un protocole en ELISPOT avec ou sans standardisation
- Analyser des échantillons de PBMC humains en ELISPOT, en situation réelle en laboratoire L2
- Mettre en forme les résultats obtenus sur l'échantillon individuel et sur une cohorte de sujets



Description

L'ELISPOT (enzyme-linked immunospot assay) permet de mesurer, entre autres, la fréquence des lymphocytes T sécrétant des cytokines en réponse à une stimulation antigénique, à l'aide d'une technique immunoenzymatique. L'ELISPOT est utilisé couramment en immuno-monitoring. L'objectif de la formation est d'acquérir les connaissances théoriques et pratiques pour mesurer en ELISPOT la fréquence de cellules T circulantes spécifiques d'un antigène donné chez l'humain, y compris pour étudier des populations rares.

La formation abordera :

- La conception : ELISPOT simples ou doubles, choix des antigènes et des concentrations cellulaires.
- La réalisation : isolement ou décongélation des PBMC, comptage et mesure de la viabilité des



PBMC en excluant les globules rouges et débris cellulaires, incubation avec les antigènes en plaque ELISPOT, révélation et lecture des plaques ELISPOT.

- Le calcul de la fréquence des cellules T spécifique d'un antigène dans un échantillon et sur une cohorte de sujets en tenant compte des différences statistiques avec le bruit de fond, étape essentielle pour l'analyse de populations rares.

Il est prévu la réalisation d'un ELISPOT en laboratoire L2 sous poste de sécurité microbiologique sur des échantillons de PBMC ainsi qu'une analyse de cohortes sur des métadonnées brutes appartenant au laboratoire de formation. L'objectif de la partie pratique sera de mesurer la fréquence de cellules T spécifiques d'antigènes de virus ou de parasites. Alternativement et sur entente préalable, les participants peuvent soumettre leurs propres échantillons de PBMC, antigènes ou données.

Programme détaillé : 1er jour

- Matin : Théorie - Introduction sur les ELISPOT pour mesurer la fréquence des cellules T spécifiques de l'antigène chez l'homme
- Après-midi : Pratique - Décongélation de PBMC de sujets sains, comptage cellulaire avec une méthode automatisée. Activation des PBMC par différents stimuli et antigènes en plaque ELISPOT, en adaptant les concentrations cellulaires et antigéniques. Chaque participant disposera d'un matériel de manipulation non partagé. Nous introduirons dans l'expérience des PBMC répondant ou pas aux critères de qualité requis pour des tests cellulaires ainsi qu'une standardisation nécessaire pour une comparaison de plusieurs analyses

2e jour

- Matin : Pratique - Révélation des plaques ELISPOT. Lecture automatisée de Spot Forming Cells sur ELISPOT révélés
- Après-midi : Pratique - Exemple d'immuno-monitoring par ELISPOT sur une cohorte de sujets et calcul de la LOD et de la réponse spécifique de l'antigène. Chaque participant travaillera sur un fichier Excel d'analyses



Prérequis

Niveau d'études : au minimum licence.

Aptitude : travail autorisé en laboratoire L2 (formation et habilitation délivrées par l'entreprise ou l'établissement d'origine), connaissances de base pour la manipulation de fichiers Word et Excel.



Modalités pédagogiques

3h de TD, 10h de TP



Moyens et supports pédagogiques

- Des supports dématérialisés seront remis aux participants à l'issue de la formation.
- Tous les équipements de protection individuelle, équipements de laboratoire, réactifs et échantillons biologiques requis pour la réalisation de l'ELISPOT d'apprentissage seront mis à la disposition du participant par le laboratoire de formation.
- Pour des raisons pratiques, il est demandé aux apprenants de venir avec un ordinateur portable équipé des logiciels classiques « office » (Word, Excel...). En cas d'impossibilité, les formateurs pourront mettre à disposition quelques ordinateurs.



Modalités d'évaluation et de suivi

Un suivi individualisé par des évaluations formatives est assuré. Une attestation de fin de formation est délivrée à la fin du parcours.

Tout au long de la formation, le participant réalisera lui-même l'essentiel de la rédaction du protocole, les expériences ELISPOT en laboratoire L2 sous PSM et le traitement informatique des données. Ces éléments seront corrigés par les formateurs au fur et à mesure de la formation. Cet apprentissage sera facilité par la petite taille du groupe (maximum 3 participants).



Informations sur l'admission

L'admission à cette formation ne fait l'objet d'aucun examen, test ou sélection préalable ; l'inscription est validée après réception du dossier complet et confirmation par l'organisme de formation.



Informations sur l'accessibilité

Notre organisme s'engage à garantir l'accessibilité de ses formations à distance et en présentiel aux personnes en situation de handicap. Un référent handicap est mobilisable afin d'analyser les besoins spécifiques et de mettre en place, lorsque cela est possible, les adaptations pédagogiques, techniques ou organisationnelles nécessaires.