



www.grupocitometria.org.ar

INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO

Modalidad on line

PROGRAMA 2022

MODULO UNO

Primera Parte

Introducción.-Historia.-Esquema básico del Citómetro de Flujo.

Segunda Parte

Fuente de luz.-Geometría del haz de luz.-Sistema óptico.

Detector y amplificador de señales.

Tercera Parte

Sistema de fluidos.-Celda o cámara de flujo.-Sistema Informático

Actividad práctica: Investigación y descripción de las especificaciones de un citómetro de flujo

Cuestionario de Revisión

MODULO DOS

- Gráficos: Gráfico de Puntos.-Gráfico Tri-dimensional.
- Gráfico de Contornos.-Gráfico de Densidad.-Histograma.
- Estadísticas. Herramientas de análisis.-Operadores Lógicos.
- Controles del ensayo
- Introducción al análisis multiparamétrico

Actividad práctica:

- Resolución de ejercicios con autocorrección para aprender el uso de las herramientas del programa.

-Análisis de distintas muestras ya adquiridas en un equipo utilizando el programa Flowing (Software libre). Los docentes proporcionarán los archivos y las consignas para la utilización de las herramientas

Cuestionario de Revisión



Fundación Patagónica Austral

www.fupau.org.ar

www.elearningfupau.org.ar



www.grupocitometria.org.ar

MODULO TRES

Fluorocromos y colorantes

- ✓ Introducción.- Revisión-Citometría de fluorescencia: Fluorocromos: Aspectos generales.
- ✓ Fluorocromos Orgánicos: Compuestos que se intercalan en el DNA. Aplicaciones y propiedades diferenciales.
- ✓ Compuestos orgánicos pequeños que se conjugan a Biomoléculas.
- ✓ Compuestos orgánicos que se modifican por actividad celular.
- ✓ Compuestos orgánicos lipofílicos que se integran en las biomembranas.
- ✓ Fluorocromos Biológicos: Ficobiliproteínas.

Ejemplos:

- ✓ Conjugación de fluorocromos proteicos.
- ✓ Fluorocromos en tandem FRET: f [Dëem, A ëex ,r].
- ✓ Proteína fluorescente verde (GFP) y sus derivados (FP's).
- ✓ Fluorocromos Nanotecnológicos.
- ✓ Quantum-Dots (Q-Dots).
- ✓ Propiedades fluorescentes de los Q-Dots.
- ✓ Diseño de los Q-Dots aplicados en citometría de fluorescencia.

Actividad práctica: Empleo de una aplicación on line, el SpectraViewer, para consultar los espectros de excitación y emisión de los distintos fluorocromos a fin de relacionarlos entre sí y conocer la posible utilización en cada equipo de acuerdo a sus especificaciones. Ejercicios prácticos

Cuestionario de Revisión

MODULO CUATRO

Aplicaciones de la Citometría de Flujo

Primera Parte:

- Estudio de Poblaciones leucocitarias.
- Subpoblaciones LTCD4 y LTCD8 : utilidad en el seguimiento del paciente pediátrico infectado con VIH
- Estudio de otras Poblaciones sanguíneas.



www.grupocitometria.org.ar

Segunda Parte:

- Funcionalidad y Viabilidad Celular.
- Contenido de ADN.
- Apoptosis.
- Aplicación de las Microesferas.
- Células NK.
- Otras aplicaciones

Actividad práctica:

- Discusión de distintos aspectos de la evaluación de linfocitos CD3+CD4+, recuentos absolutos: citómetros de plataforma única y doble, recomendaciones del CDC
- Análisis de neutrófilos y eritrocitos en muestras proporcionadas por los docentes mediante el empleo del programa Flowing para responder determinadas consignas
- Lectura de trabajos científicos en los cuales se han desarrollado aplicaciones de la citometría.
- Investigación bibliográfica sobre nivel de subpoblaciones de linfocitos CD3+CD4+ y CD3+CD8+ evaluables por citometría de flujo, que están directamente relacionadas al tratamiento anti-retroviral en pacientes pediátricos VIH+

Cuestionario de Revisión

MODULO CINCO

Primera Parte:

- Procesamiento de las muestras
- Preparación de una muestra para adquirir. Consideraciones prácticas.

Segunda Parte: Citómetros Analógicos. Conceptos básicos. Calibración Manual.

- Amplificación Lineal y Logarítmica.
- Adquisición de Células pequeñas. Umbral.
- Calibración manual
 - I) Protocolo de marcación. Gráficos para la adquisición.
 - II) Ajuste de los Voltajes.
 - III) Compensación.
- Control de linealidad

Tercera Parte A: Citómetros Digitales. Calibración del equipo: Calibración automática

- I) Optimización de Voltajes y estandarización de lecturas citométricas.
- II) Control de calidad instrumental con microesferas: Adquisición e interpretación.



www.fupau.org.ar

www.elearningfupau.org.ar



www.grupocitometria.org.ar

III) Compensación Automática.

IV) Validación de la compensación automática

Tercera Parte B:

I) Compensación post-adquisición (off line)

Actividad práctica:

-Desarrollo de un procedimiento para marcar células de una muestra de médula ósea.

-Evaluación de distintos esquemas de compensación automática

-Armado de paneles de marcación multicolor que se adecuen a las especificaciones de un modelo determinado de citómetro.

-Compensación off line de una muestra de células marcadas con dos fluorescencias empleando el programa Flowing

Cuestionario de Revisión

MODULO SEIS

Nuevos equipos y aplicaciones emergentes de la Citometría de Flujo.

- ✓ Tecnología aplicada en Citometría de Flujo.
- ✓ Citometría de flujo multiparamétrica Convencional
 - Láseres
 - Detectores,
 - Configuración del instrumental óptico.
 - Nuevos reactivos fluorescentes
 - Aplicaciones de la citometría multiparamétrica.
 - Compensación electrónica en Citometría Multiparamétrica.
- ✓ Citometría de Flujo multiparamétrica No convencional
 - Citometría de Flujo de Espectro completo ó espectral
 - Citometría de masa o CyTof
- ✓ Aplicaciones emergentes en Citometría de Flujo
 - Citómetros de Flujo para muestras Ambientales
 - Citómetros que permiten el análisis cuantitativo de imágenes.

Actividad práctica:

-Diseño de un experimento de cell sorting. Respuesta a las consignas dadas por el docente

Cuestionario de Revisión



www.fupau.org.ar

www.elearningfupau.org.ar



www.grupocitometria.org.ar

MODULO SIETE

Trabajo Grupal

Diseño de un Protocolo para la evaluación de marcadores celulares. Dispondrán de diferentes temas, cada alumno tendrá que elegir uno, y los grupos quedarán conformados de acuerdo a su elección.

Cada grupo dispondrá de un espacio de intercambio en el cual podrán compartir bibliografía relacionada con el tema elegido, discutir los distintos aspectos del trabajo y elaborar un texto que cumpla los objetivos propuestos por los docentes.

Al final del módulo se habilitará un foro general para que los alumnos tengan acceso a todos los trabajos y compartan sus experiencias .



www.grupocitometria.org.ar

CRONOGRAMA 2022

Durante el desarrollo de cada módulo los docentes incluirán actividades en los FOROS de carácter obligatorio, en donde los alumnos expondrán sus respuestas/resultados y debatirán con sus compañeros con el acompañamiento docente.

Es un requisito indispensable responder cada uno de los Cuestionarios de Revisión para avanzar al siguiente módulo.

<i>Módulos</i>	<i>Fecha de Inicio*</i>	<i>Fecha de Finalización**</i>
Presentaciones en el Foro General	6 de Abril	11 de Abril
Módulo I	13 de Abril	18 de Abril
Módulo II	20 de Abril	2 de Mayo
Módulo III	4 de Mayo	16 de Mayo
Módulo IV Primera Parte	18 de Mayo	30 de Mayo
Módulo IV *** Segunda Parte	1 de Junio	13 de Junio
Elección de temas y formación de equipos para Trabajo Grupal	15 de Junio	20 de Junio



Fundación Patagónica Austral

www.fupau.org.ar

www.elearningfupau.org.ar



www.grupocitometria.org.ar

Módulo V		
Primera Parte	22 de Junio	27 de Junio
Módulo V***		
Segunda Parte	29 de Junio	4 de Julio
Módulo V		
Tercera Parte	6 de Julio	18 de Julio
Módulo VI	20 de Julio	25 de Julio
Módulo VII		
Primera Parte-Diseño de protocolo de diagnóstico/investigación	27 de Julio	Entrega : 8 de Agosto
Módulo VII		
Segunda Parte-Discusión	10 de Agosto	15 de Agosto
Recuperación de Módulo-No realizado/No aprobado	17 de Agosto	22 de Agosto
Repaso	24 de Agosto	29 de Agosto
Evaluación Final (envío por correo)	30 de Agosto	5 de Septiembre

***a las 8 am hora de Argentina**

**** 23.50 hora de Argentina-** marca el límite para enviar cada cuestionario de Revisión.

*****El Cuestionario de Revisión del Módulo IV se habilitará a partir de la Segunda Parte y el del Módulo V a partir de la Tercera Parte.**



www.fupau.org.ar

www.elearningfupau.org.ar



www.grupocitometria.org.ar

17 de Agosto: Es la fecha en la que se **enviarán por e-mail** los Cuestionarios recuperatorios a quienes corresponda recuperar

30 de Agosto : Es la fecha en la que la Evaluación Final **será enviada por e-mail**, a cada alumno

5 de Septiembre: Es la fecha límite que tiene el alumno para enviar- por e-mail- a la casilla de docencia la Evaluación Final con sus respuestas.

Los Certificados los recibirán, en el e-mail particular, a partir del **28 de Septiembre de 2022.**



www.fupau.org.ar

www.elearningfupau.org.ar