



[www.grupocitometria.org.ar](http://www.grupocitometria.org.ar)

## **INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO**

**Modalidad on line**

### **PROGRAMA 2024**

#### **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***



[www.grupocitometria.org.ar](http://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](http://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



[www.grupocitometria.org.ar](http://www.grupocitometria.org.ar)

**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.
- 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.



[www.grupocitometria.org.ar](http://www.grupocitometria.org.ar)

**Actividad práctica:**

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

***Cuestionario de Revisión***

**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](http://www.grupocitometria.org.ar)

## CRONOGRAMA 2024

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.

Módulos y Actividades	Fecha de Inicio*	Fecha de Finalización**
<b>Presentaciones en el Foro General</b>	3 de Abril	8 de Abril
Módulo I	10 de abril	15 de Abril
Módulo II	17 de Abril	29 de Abril
Módulo III	1 de Mayo	13 de Mayo
Módulo IV <b>Primera Parte</b>	15 de Mayo	27 de Mayo
Módulo IV *** <b>Segunda Parte</b>	29 de Mayo	10 de Junio
<b>Elección de temas y formación de equipos para Trabajo Grupal</b>	<b>12 de Junio</b>	<b>17 de Junio</b>
Módulo V <b>Primera Parte</b>	12 de Junio	17 de Junio
Módulo V*** <b>Segunda Parte</b>	19 de Junio	24 de Junio
Modulo V <b>Tercera Parte</b>	26 de Junio	15 de Julio
Módulo VI	17 de Julio	22 de Julio



Fundación Patagónica Austral

[www.fupau.org.ar](http://www.fupau.org.ar)

[www.elearningfupau.org.ar](http://www.elearningfupau.org.ar)



[www.grupocitometria.org.ar](http://www.grupocitometria.org.ar)

Módulo VII Diseño de protocolo de diagnóstico/investigación	24 de Julio	<b>Entrega</b> 5 de Agosto
Repaso	7 de Agosto	12 de Agosto
Recuperación de Módulo No realizado/No aprobado	14 de Agosto	19 de Agosto
Evaluación Final (envío por correo)	21 de Agosto	26 de Agosto

\*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.

**14 de Agosto:** Es la fecha en que **se enviarán por e-mail** los cuestionarios recuperatorios a quienes les corresponda recuperar y el **19 de Agosto** tienen que ser enviadas las respuestas.

**21 de agosto:** Es la fecha en la que la Evaluación Final **será enviada**, por e-mail, a cada Alumno.

**26 de agosto:** Es la fecha límite que tiene el alumno para enviar- por e-mail- la Evaluación Final con sus respuestas.

Los Certificados los recibirán, en el e-mail particular, a partir del 16 de Septiembre de 2024.

-----