	<b>Analyse du rendement de décongélation de cellules mononucléées de sang adulte</b>	Référence	CRM-004
		Version	1
		Date d'application :	05/02/2019
Rédaction	Charlotte DARDAINE		
Validation	Eric ROBINET		

## OBJECTIF

Evaluer le rendement d'obtention de cellules mononucléées de sang adulte (références SA-001-xx) après décongélation, par rapport à la quantité cible de cellules.

## METHODE

Numération au bleu trypan sur appareil de numération Countess II (Fisher Scientific, Illkirch, France).

## PROTOCOLE

Les cellules mononucléées isolées par centrifugation sur coussin de ficoll de concentrés leuco-plaquettaire ("buffy-coat", EFS-Bourgogne/Franche-Comté, Besançon, France) issus de donneurs volontaires sains adultes sont congelées et stockées en vapeur d'azote liquide :

- sous un volume de 1 mL : référence SA-001-10, quantité cible : 10x10.6 cellules
- sous un volume de 4 mL : référence SA-001-25, quantité cible : 25x10.6 cellules
- sous un volume de 4 mL : référence SA-001-100, quantité cible : 100x10.6 cellules

Après décongélation et lavage en tampon PBS (Gibco™, Life Technologies, Bleiswijk, Pays-Bas), les cellules sont numérées sur Countess II après coloration au bleu trypan.


L'étude porte sur l'analyse de 7 à 94 donneurs (34 femmes, 60 hommes) dont l'âge est le suivant :

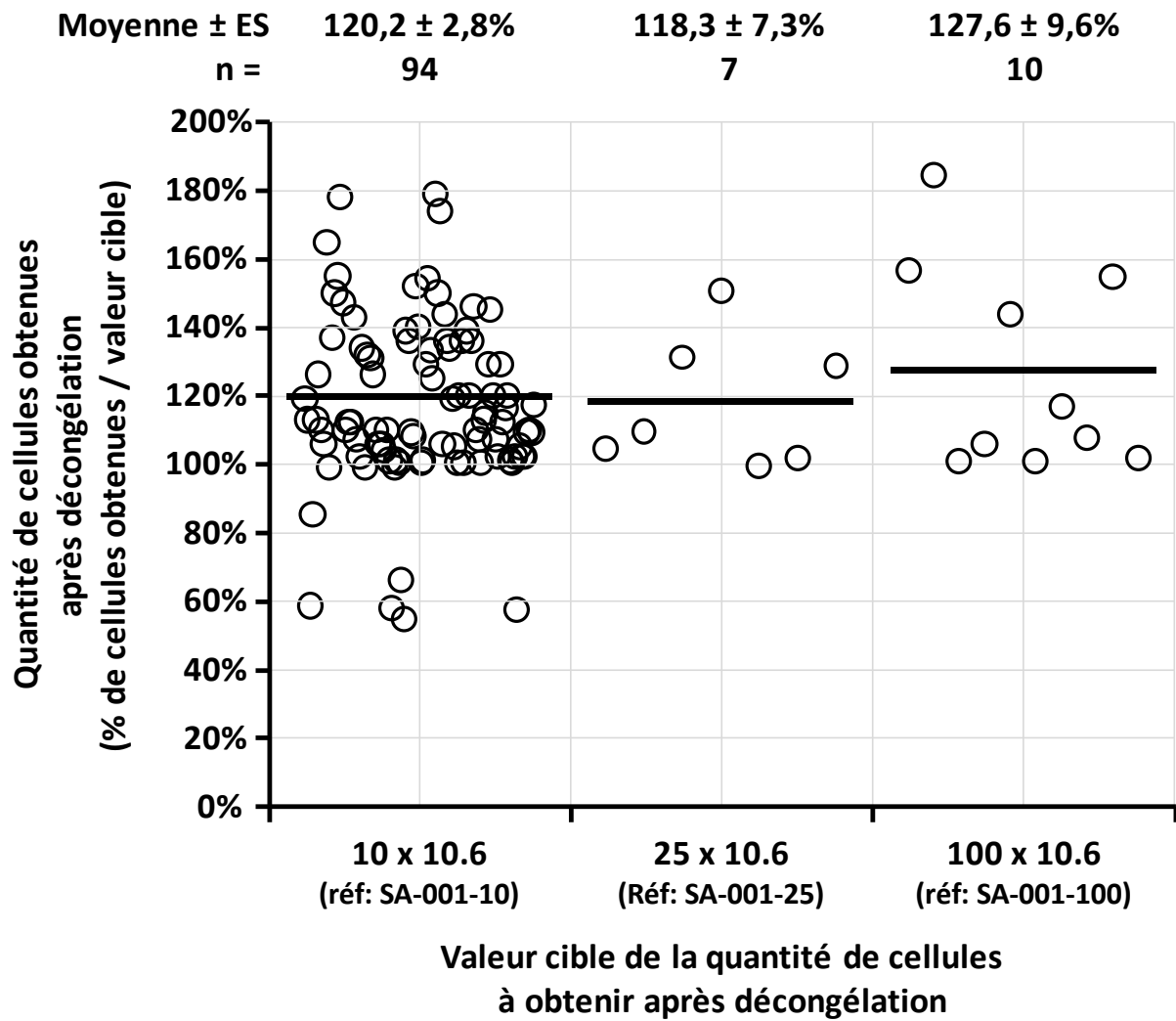
	Population globale	Femmes	Hommes
<b>Moyenne</b>	<b>41,6</b>	<b>35,5</b>	<b>45,1</b>
Erreur standard	1,5	2,4	1,9
N	94	34	60
<b>Médiane</b>	<b>41,5</b>	<b>30,5</b>	<b>46,0</b>
Minimum	18,0	18,0	19,0
Maximum	69,0	63,0	69,0

## RESULTATS

La quantité de cellules obtenues après congélation est supérieure ou égale à la quantité prévue dans 94% des cas pour la référence SA-001-10 (n = 94 donneurs testés) et dans 100% des cas pour les références SA-001-25 (n = 7 donneurs tests) et SA-001-100 (n = 10 donneurs testés) (cf Figure 1).

Cinq des six ampoules SA-001-10 ayant donné lieu à une obtention de cellules inférieure à la quantité prévue ont également été testées pour les références SA-001-25 ou SA-001-100, avec succès (> 100% de rendement de récupération).

	<b>Analyse du rendement de décongélation de cellules mononucléées de sang adulte</b>	Référence	CRM-004
		Version	1
		Date d'application :	05/02/2019
Rédaction	Charlotte DARDAINE		
Validation	Eric ROBINET		



**Figure 1 : Rendement de récupération des cellules mononucléées obtenues après décongélation, par rapport à la quantité cible de cellules.** Chaque cercle représente la valeur d'un donneur, les barres représentent la moyenne du groupe.