

	Analyse du rendement de décongélation de cellules mononucléées de sang adulte	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
Moyenne	41,6	35,5	45,1
Erreur standard	1,5	2,4	1,9
N	94	34	60
Médiane	41,5	30,5	46,0
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).

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

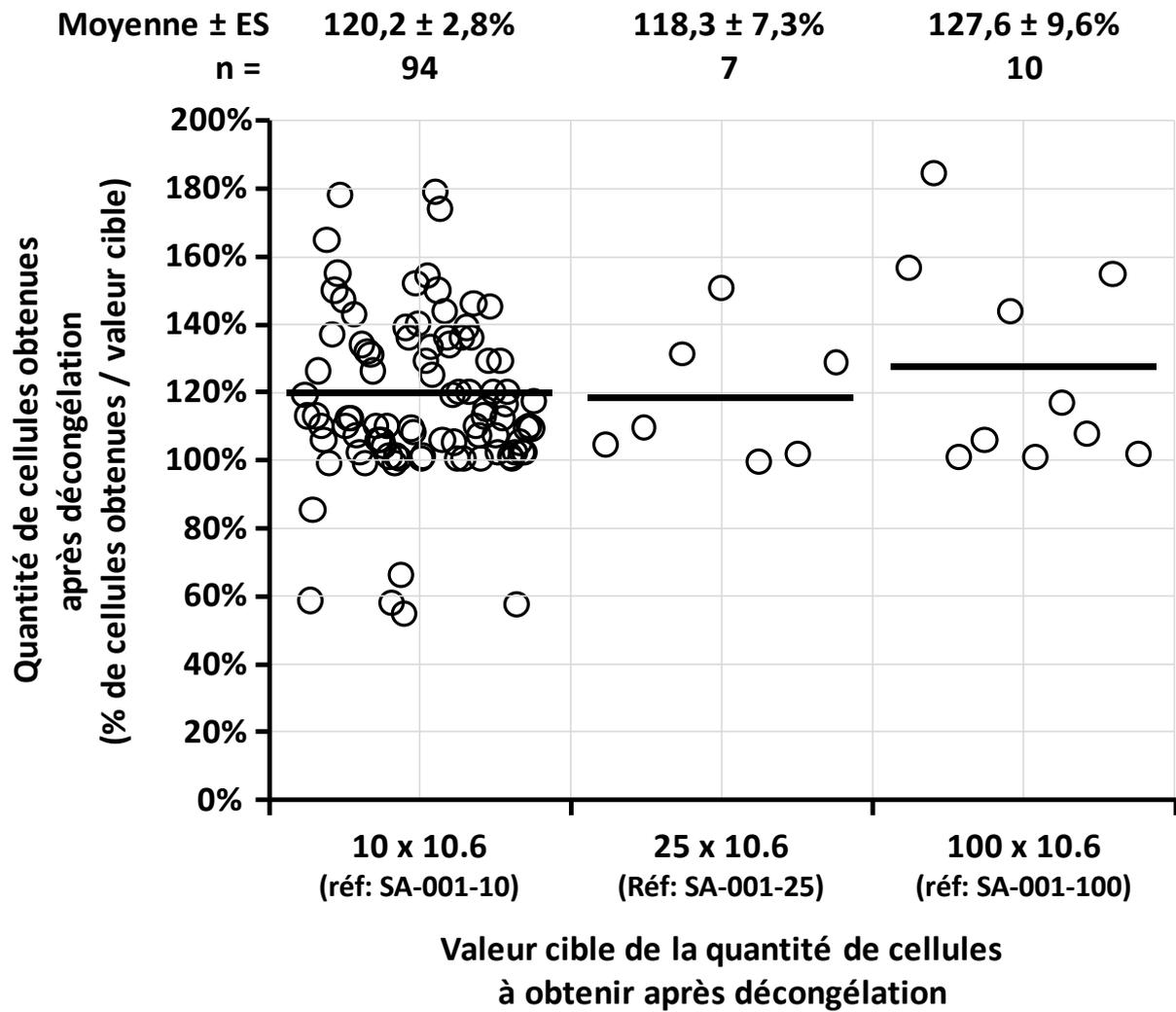


Figure 1 : Rendement de récupération des cellules mononucléées obtenues après décongélation, par rapport à la quantité cible de cellules. Chaque cercle représente la valeur d'un donneur, les barres représentent la moyenne du groupe.