

	Immunophénotypage des cellules souches de sang placentaire	Référence	CRM-00x
		Version	1
		Date d'application :	15/02/2019
Rédaction	Charlotte DARDAINE		
Validation	Eric ROBINET		

OBJECTIF

Evaluer le phénotype des cellules souches hématopoïétiques (CSH) CD34+ de sang placentaire (références SC-150-xx à SC-153-xx) avant congélation.

METHODE

Analyse en cytométrie en flux sur cytomètre MACS Quant 10 (Miltenyi Biotec France, Paris, France).

PROTOCOLE

Les CSH sont analysées après tri immunomagnétique positif CD34 et sont immunomarquées avec des anticorps CD34, CD38, CD90, CD3, CD14, CD19, CD56 et le marqueur de viabilité Viability™ (Miltenyi Biotec). L'analyse en cytométrie est réalisée après élimination par fenêtrage des doublets et des cellules mortes (Viability™ positives). L'analyse porte sur 53 tris de sangs placentaires provenant de 21 filles et 32 garçons.

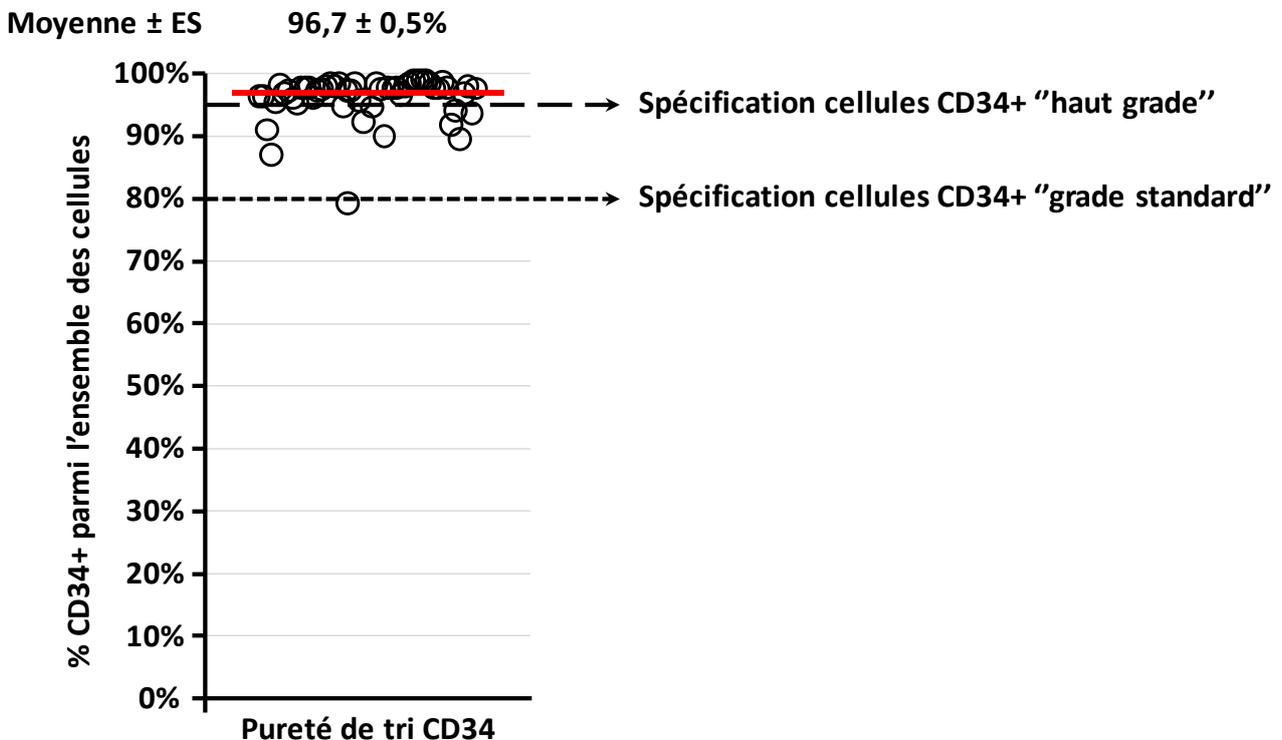
RESULTATS

Pureté des cellules CD34+

La pureté des cellules CD34+ issues de 53 tris successifs est de $96,7 \pm 0,5\%$ (moyenne \pm erreur standard).

Avec 79,7% de pureté, un seul tri sur 53 n'atteint pas la spécification de pureté minimale des cellules CD34+ de grade standard ($\geq 80\%$ de pureté pour les références SC-152-xx et SC-153-xx).

Quarante-quatre tris sur 53 (soit 83% des tris) atteignent la spécification de pureté minimale des cellules CD34+ de haut grade ($\geq 95\%$ pour les références SC-150-xx et SC-151-xx).



	Immunophénotypage des cellules souches de sang placentaire	Référence	CRM-00x
		Version	1
Rédaction	Charlotte DARDAINE	Date d'application :	15/02/2019
Validation	Eric ROBINET		

Phénotype des cellules CD34+

Les pourcentages de cellules CD34+ exprimant les marqueurs CD38 et CD90 sont respectivement de $83,9 \pm 1,6\%$ et $1,3 \pm 0,3\%$ (moyenne \pm erreur standard). Comme attendu, les cellules CD34+ CD38+, marqueur de progéniteurs, sont majoritairement CD90-. Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) CD34+, qui sont CD38-/CD90+, ne sont pas ou peu détectables du fait du faible nombre d'évènements acquis au cytomètre (<10.000 évènements) lors de la réalisation de nos contrôles de qualité.

Caractérisation de la fraction contaminante

Les cellules contaminant la fraction positive du tri immunomagnétique sont principalement des monocytes (cellules CD14+) et des lymphocytes B (cellules CD19+).

Les résultats représentés dans la figure ci-dessous sont exprimés en % des cellules totales vivantes (moyenne \pm erreur standard).

