

Technique de concentration 30x des leucocytes dans le plasma

1. Contexte et objectif

1.1 But du document

Ce document décrit la procédure de concentration 30x des leucocytes à partir de plasma obtenu à partir de sang complet.

1.2 Destinataires

Collaborateurs du LCQ.

1.3 Modifications apportées (par rapport à la version précédente)

- Non applicable

2. Mode opératoire

1. Prendre un plasma produit à l'UPL.
2. Tarer un tube Falcon de 50 ml (sans le bouchon) sur une balance de précision.
3. Prélever et mettre environ 30 ml de plasma dans le tube Falcon préalablement taré.
4. Mettre le tube Falcon sur une balance de précision et ajuster la quantité de plasma à l'aide d'une pipette Pasteur jusqu'à ce que le poids du plasma atteigne 31g.
5. Centrifuger le tube Falcon à 4'750 G pendant 30 minutes à température ambiante.
6. Prélever délicatement le surnageant à l'aide d'une pipette Pasteur et le jeter. Laisser environ 500 µl au fond du tube.
7. Peser le tube Falcon (sans le bouchon) avec les 500 µl de plasma restant. Calculer le volume du plasma : **Poids obtenu (g)-Tare falcon (g)**
1.026 (densité plasma)
8. Bien mélanger les 500 µl restant à l'aide d'un vortex afin de remettre les leucocytes en suspension.
9. Faire un spin down à 4'750 G afin de récupérer tout le matériel au fond du tube.
10. Laisser reposer 10 minutes.
11. Mesurer la quantité de leucocytes au FACSCalibur.(1)
12. Calculer la valeur des leucocytes présents dans le plasma :

$$\frac{\text{Valeur obtenue au FACSCalibur (10}^6\text{/l) x Volume après avoir centrifugé et décanté (ml)}}{\text{Volume de départ (ml)}}$$

3. Documents liés + références

1. IT - RM - FACSCalibur

GESTION DU DOCUMENT

Auteur(s) : Di Vincenzo Mercuri Luciana

Validation :

Corinne Benay

Approbation :

Niels Lion

Libération par le service qualité :

Jocelyne Conne

Christel Dubey