

Pr ORIANNE WAGNER-BALLON

Département d'Hématologie et Immunologie biologiques — Hôpital Henri Mondor — Créteil

Dr DOROTHEE SELIMOGLU-BUET

INSERM UMR1170, Université Paris-Sud — Gustave Roussy — Villejuif

## PROTOCOLE PHENOTYPAGE LMMC POUR NAVIOS (BECKMAN-COULTER)

- Ajouter les anticorps suivants à **200 µl** de sang total prélevé sur **EDTA**  
Remarques :  
1) Analyser impérativement **dans les 24h suivant le prélèvement**  
2) Diluer les échantillons pour **ajuster la suspension à 10 G/L**  
3) Possibilité d'utiliser le **CD2** ou le **CD7** voire d'utiliser les 2 anticorps pour une exclusion optimale des lymphocytes T et des cellules NK

FC	PE	PC5.5	PC7	APC	AA700	PB	KrOr
AC	CD24	CD56	CD14	CD2	CD7	CD16	CD45
Référence	IM1428U	A79388	A22331	A60794	8H8.1	A82792	B36294
Quantité (µl)	20	5	5	5	5	10	5
Mode fluorescence <b>FLOW SET PRO lot 9001051</b>	79.6	31.8	6.96	3.98	76.1	17.6	47.7
Voltage PMT NAVIOS MONDOR (à titre informatif)	437	522	563	483	603	441	425

**Merci de nous communiquer votre lot actuel de FLOW SET PRO afin que nous vous transmettions les valeurs cibles correspondantes !**

- Incuber 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière
- Ajouter 1mL de VersaLyse avec 25 µl of IOTest 3 10X\* Fixative Solution
- Incuber 20 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière
- Acquérir immédiatement **SANS** procédure de lavage  
Remarque : Veiller à acquérir un minimum de **10 000 événements MO1 (idéalement 20 000)** pour une interprétation correcte des pourcentages

**Réglage Taille/Structure sur sang normal (donneur EFS)**

Valeur Mode sur	FSC	SSC
PNN	729	1023
MONOCYTES	568	304
LYMPHOCYTES	372	95
Voltage PMT NAVIOS MONDOR (à titre informatif)	620 (gain 2)	769 (gain 7,5)

**ANALYSE : SE REPORTER A LA STRATEGIE DE GATING**