

Pr Valérie Bardet

Service d'Hématologie-Immunologie-Transfusion, CHU A Paré

Dr Nicolas Chapuis

Service d'Hématologie, CHU Cochin

Dr Estelle Guérin

Service d'Hématologie, CHU Limoges

## SCORE d'OGATA

### Stratégie de fenêtrage pour le calcul du score à 4 points

*Protocole technique pour les utilisateurs BD FACS Lyric™ (BD Life sciences)*

#### ▪ Proposition de panel

*Ces valeurs cibles de billes RAINBOW sont données à titre indicatif*

Anticorps	CD34 PerCP- Cy5.5	CD19 PE-Cy7	CD10 APC	CD45BV605
Référence du clone	8G12	SJ25C1	HI10a	HI30
Quantité (µL)	5	5	5	5
Médiane fluorescence Rainbow 8 peak beads Lot 0147525	7 <sup>ème</sup> pic 55 838	8 <sup>ème</sup> pic 6 157	7 <sup>ème</sup> pic 37 319	7 <sup>ème</sup> pic 15 319

- La technique se fait sur un prélèvement de moelle anticoagulée (EDTA ou héparine), à techniquer dans les 12h (maximum 24h)
- Ajouter les anticorps à 50µl de moelle diluée avec du PBS (environ 2 M de cellules)
- Agiter et laisser incuber 15 min à l'abri de la lumière à température ambiante
- Ajouter 500µl de Pharmlyse, incuber 10 min à l'abri de la lumière
- Laver avec 3 ml de PBS
- Vider le tube par retournement
- Reprendre dans 500 µl de PBS selon la richesse de l'échantillon
- Acquérir sur le cytomètre 200 à 300 000 évènement CD45 positifs

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