

Tableau de calculs de lysats (M-AMS)

LCW

Premièrement, déterminer le nombre de puits à tester:

Deux puits sont nécessaires pour le contrôle négatif.

Deux puits sont nécessaires pour le réactif contrôle de lysats.

Deux puits sont nécessaires pour chaque échantillon de patient à tester (pré, post, courant, etc.)

1. Calculs pour la détermination du total des puits à tester soit pour classe I ou soit pour classe II:

$$\frac{4}{\text{(Puits contrôles)}} + \frac{\quad}{\text{(Puits patients)}} + \frac{2}{\text{(Perte pipetage)}} = \frac{\quad}{\text{(Puits totaux)}} \times \frac{15 \mu\text{L}}{\text{(Vol/puits)}} = \frac{\quad \mu\text{L (a)}}{\text{(Vol lysat dilué nécessaire)}}$$

Ensuite, déterminer la quantité de lysat non dilué nécessaire.

2. Calculs pour la détermination de la quantité de lysat non dilué nécessaire pour les bandes de classe I:

Diviser le volume total de lysat dilué par 8 pour déterminer la quantité de lysat non dilué requis pour les bandes de classe I.

$$\frac{\quad \mu\text{L (a)}}{\text{(Vol lysat dilué nécessaire)}} \div \frac{8}{\text{(Dilution classe I)}} = \frac{\quad \mu\text{L (b)}}{\text{(Vol lysat non dilué nécessaire pour les bandes de classe I)}}$$

3. Calculs pour la détermination de la quantité de lysat non dilué nécessaire pour les bandes de classe II:

Diviser le volume total de lysat dilué par 4 pour déterminer la quantité de lysat non dilué requis pour les bandes de classe II.

$$\frac{\quad \mu\text{L (a)}}{\text{(Vol lysat dilué nécessaire)}} \div \frac{4}{\text{(Dilution classe II)}} = \frac{\quad \mu\text{L (c)}}{\text{(Vol lysat non dilué nécessaire pour les bandes de classe II)}}$$

4. Calculs pour la détermination de la quantité totale de lysat nécessaire pour les bandes des deux classes, I et II:

Faire la somme des volumes de lysats non dilués requis pour les bandes de classe I et les bandes de classe II pour déterminer le volume total du lysat non dilué nécessaire.

$$\frac{\quad \mu\text{L (b)}}{\text{(Classe I)}} + \frac{\quad \mu\text{L (c)}}{\text{(Classe II)}} = \frac{\quad \mu\text{L (d)}}{\text{(Vol total de lysat non dilué requis)}}$$

5. A partir du volume total de lysat non dilué requis, déterminer le volume de cellules à préparer:

$$\frac{\quad \mu\text{L (d)}}{\text{(Vol de lysat non dilué requis)}} \div \frac{10}{\text{(Dilution de lyse)}} = \frac{\quad \mu\text{L (e)}}{\text{(}\mu\text{L lymphocytes)}}$$

Note: 30 μL de cellules ou approximativement 90×10^6 cellules fourniront suffisamment de lysat pour tester 20 échantillons de patients en duplicat pour la réactivité des classes I et II.

10 μL de cellules ou approximativement 30×10^6 cellules fourniront suffisamment de lysat pour tester 20 échantillons de patients en duplicat pour la réactivité de la classe I.

20 μL de cellules ou approximativement 60×10^6 cellules fourniront suffisamment de lysat pour tester 20 échantillons de patients en duplicat pour la réactivité de la classe II.

Enregistrement des dilutions:

Volume de cellules utilisé (e) _____

Volume de tampon de lyse lymphocytaire dilué ajouté _____ (100 μL / 10 μL volume de cellules)

Enregistrement de dilution du lysat de classe I:

Volume total de lysat classe I dilué (a) _____

Volume de lysat non dilué utilisé (b) _____

Volume de LCD utilisé (a-b) _____

Enregistrement de dilution du lysat de classe II:

Volume total de lysat classe II dilué (a) _____

Volume de lysat non dilué utilisé (c) _____

Volume de LCD utilisé (a-c) _____