PRELEVEMENTS	TRAITEMENT **Sous PSM – Délai de congélation maximal = 4h (24h pour les PBMC)** **Congélation dans les cryotubes 1D stériles en polypropylène fournis par le CCN de l'OFSEP** **Ne pas indiquer l'Identifiant EDMUS sur les cryotubes 1D !**	CODE PRELEVEMENT ID Patient.Lettre.Suffixe	ECHANTILLONS Cryotubes 1D à utiliser pour le stockage **Code échantillon = code barre 1D du cryotube**	
 **3** tubes SST de 3.5 mL	• 30min minimum après le prélèvement, centrifuger les tubes SST **10 min** à **2000 g** à **4°C** avec frein • Pooler le **sérum** dans 1 tube stérile en polypropylène • Faire **10 échantillons de sérum de 500 µL** et les congeler immédiatement à **-80°C** (**délai < 4h**) • Pour les prélèvements **NOMADMUS** (inclusion et itératifs), faire 9 échantillons + 1 de **100 µL** à réserver pour envoi au CHU de Lyon pour dosage des anticorps AQP4/MOG • Dans le cas d'un prélèvement itératif réalisé avec le kit réduit (cohortes CIS / SEP RR, (Pré-)RIS ou GUMMS-Pro), ne faire que **6 échantillons de sérum de 500 µL** (à partir des 2 tubes SST prélevés).	ID Patient.A.S	**Sérum**	**Cryotubes 1D OFSEP + Capdisk** **JAUNES** (réf 390743A)
 **2** tubes EDTA de 4 mL	• Centrifuger **10 min** à **2000 g** à **4°C** avec frein • Pooler le **plasma** dans 1 tube stérile en polypropylène • Faire **2 échantillons de culot globulaire de sang total EDTA de 1,8 mL** et les congeler immédiatement à **-80°C** (**délai < 4h**) • Centrifuger le plasma **10 min** à **3200 g** à **4°C** avec frein • Faire **6 échantillons de plasma de 500 µL** et les congeler immédiatement à **-80°C** (**délai < 4h**)	ID Patient.A.PE ID Patient.A.ST	**Sang total** **Plasma**	**Cryotubes 1D OFSEP + Capdisk** **ROUGES** (réf 390745A) **Cryotubes 1D OFSEP + Capdisk** **VIOLETS** (réf 390789A)
 **4** tubes CPT de 8 mL	• Centrifuger les tubes **20 min** à **1800 g** à **20°C** sans frein, dans les **2 h** suivant le prélèvement • Enlever 2mL de plasma, remettre en suspension et conserver verticalement si besoin à T° ambiante • Pooler le reste (l'anneau) contenant les **PBMC** dans un tube conique stérile en polypropylène de 50 mL et ajuster le volume à 45 mL avec du PBS 1X sans Mg++ ni Ca++ (1er lavage) • Centrifuger **10 min** à **330 g** à **20°C** avec frein • Eliminer le surnageant et ajuster le volume à 1 mL avec du PBS 1X • Prélever 20 µL pour la numération/viabilité, rajouter 9 mL de PBS (2ème lavage) • Centrifuger **10 min** à **330 g** à **20°C** avec frein • **À 4°C**, éliminer le surnageant et ajuster le volume avec de **l'AH 4 %** pour avoir une concentration de 20 millions par mL • **À 4°C**, ajouter doucement le même volume de milieu de congélation (**AH 4 %+**20 % DMSO) (concentration=10^6/mL) • Faire les échantillons de PBMC en fonction de la numération obtenue : - Faire **5 échantillons de 10 millions de cellules/mL** (1 mL) - S'il reste **entre 3 et 10 millions de cellules, faire 1 échantillon de plus avec la quantité restante** (entre 300 µL et 900 µL) - S'il reste **moins de 3 millions de cellules (< 300 µl), les rajouter au dernier échantillon** • Congeler à **-80°C en boite à congélation progressive** (**délai < 24h**) puis à **-196°C** (après 12h)	ID Patient.A.LY	**PBMC**	**Cryotubes 1D OFSEP + Capdisk** **BLEUS** (réf 390741A)
 **1** tube LCR (3 mL max)	• Centrifuger le tube LCR à **4°C** pendant **10 min** à **400 g** • Sans toucher le culot, faire **10 échantillons de LCR de 200 µL** et les congeler immédiatement à **-80°C** (**délai < 4h**) • Remettre en suspension le culot cellulaire en ajoutant **100 µL de tampon de lyse LB1** (à prélever dans les aliquots de 1,2 mL fournis par l'OFSEP) • Faire **1 aliquot de cellules du LCR de 100 µL** et le congeler immédiatement à **-80°C** (**délai < 4h**)	ID Patient.A.LCR ID Patient.A.LCRC	**LCR** **LCRC**	**Cryotubes 1D OFSEP + Capdisk** **VERTS** (réf 390746A) **Cryotubes 1D OFSEP + Capdisk** **BLANCS** (réf 390742A)
 **1** tube de salive (5 mL)	• Aliquoter directement dans les cryotubes 1D pour faire **5 échantillons de salive de 1 mL** et les congeler immédiatement à **-80°C** (**délai < 4h**)	ID Patient.A.SA	**Salive**	**Cryotubes 1D OFSEP** (sans Capdisk)