

InBlood Assay™ – Immunosuppression

Objectif

Evaluer dans du sang total frais la capacité d'un produit à inhiber la sécrétion de cytokines par des cellules sanguines activées.

Ce test est applicable à des petites molécules ou des biomédicaments pour évaluer leur activité anti-inflammatoire ou immunosuppressive.

Méthode

Format: plaque 96 puits, volume réactionnel 100µl

Sang total : frais (moins de 4h après collecte) prélevé sur des donneurs adultes sains.

Nombre de donneurs: 3-6 par plaque (voir les différentes options de formats)

Stimulus: LPS ultrapure 0.1EU/ml ou L. monocytogenes inactivé par la chaleur (HKLM, 10⁷/ml)

Contrôle positif : Dexamethasone 10µM

Control négatif: sang non stimulé, produit seul sans stimulus

Incubation: préincubation de 15min avec le produit suivi de 4h ou 24h avec le stimulus.

Paramètre mesuré: TNF ou IL6 (technique HTRF®)

Temps d'exécution: une semaine à partir de la réception du produit (pour les tests urgents, les résultats non mis en forme peuvent être envoyés sous 48h, cette option sera facturée en sus)

Produit à tester

Doit être envoyé de préférence en solution dans une solution saline à une concentration au moins 10 fois supérieure à la concentration testée la plus élevée.

Quantité totale requise: au moins 1.5 fois la quantité totale nécessaire pour l'essai.

Les concentrations testées doivent correspondre à une dilution en série du produit.

Concentrations & réplicats: voir les différentes options de formats.

Note importante: Le sang est activé par des faibles concentrations d'endotoxines. Ainsi, **le produit doit être dépourvu d'endotoxines pour éviter une activation non spécifique du sang**. La présence d'endotoxines peut être réduite en filtrant la solution contenant le produit au moyen d'un filtre PES 0.2µm ou en utilisant des colonnes de type Detoxi-Gel™ (Pierce).

Options de formats

Un produit testé

Nb de donneurs	Nb de concentrations testées/donneur +/- stimulus	Réplicats
3	6 (+ 2 contrôles)	2
4	4 (+2 contrôles)	2
6	2 (+2 contrôles)	2

Deux produits testés

Nb de donneurs	Nb de concentrations testées/produit/donneur +/- stimulus	Réplicats
3	3 (+ 1 contrôle sans produit)	2

Prix

Le prix de base s'entend pour une plaque 96 puits et un produit testé sur du sang provenant de 3 donneurs (mis en évidence dans la table ci-dessus). Des frais additionnels seront facturés pour chaque donneur supplémentaire et chaque produit supplémentaire testés dans la même plaque.

Résultats

Un rapport de recherche avec les concentrations inhibitrices médianes (IC50) estimées pour les produits atteignant plus de 50% d'inhibition sera envoyé à la fin de la prestation.

Limitations

Les essais réalisés par Blood Assay Solutions sont à des fins de recherche. Les résultats obtenus ne peuvent pas être utilisés directement dans des dossiers réglementaires de demande de mise sur le marché d'un produit fabriqué à des fins thérapeutiques et/ou diagnostic en santé humaine et/ou animale.

Services optionnels

Les services suivants sont optionnels et seront facturés en sus.

- Stockage des surnageants à long terme à -80°C.
- Dosage par HTRF ou ELISA de protéines supplémentaires dans les surnageants conservés par Blood Assay Solutions

Plan de plaque type pour 3 donneurs, échantillons en duplicate

