

PRODUKTBESCHREIBUNG

Lymphoprep™ ist eine gebrauchsfertige, sterile und Endotoxin-getestete Lösung zur Gewinnung von Lymphozytensuspensionen. Lymphoprep™ Tube ist ein steriles Plastikröhrchen, das bereits Lymphoprep enthält. Die Lösung enthält Natrium-Diatrizoat und Polysaccharide in folgenden Konzentrationen:

Natrium-Diatrizoat	9,1% (w/v)
Polysaccharide	5,7% (w/v)

Physikalisch-chemische Kennzahlen:

Dichte	1,077 ± 0,001 g/ml
Osmolalität	290 ± 15 mOsm

Lymphoprep™ Tube besteht aus zwei Bereichen, die durch einen Plastikeinsatz getrennt sind. Der untere Bereich ist bereits mit Lymphoprep™ gefüllt. Der Plastikeinsatz ermöglicht das direkte Befüllen des Röhrchens mit Blut, und das schwierige Übersichten entfällt.

PRINZIP DES TRENNVORGANGS

Die gebräuchlichste Methode zur Anreicherung von Leukozyten ist das Versetzen von Blut mit einem Reagenz, welches Erythrozyten aggregiert und deren Sedimentationsrate erhöht. Die Sedimentation von Leukozyten wird nur geringfügig beeinflusst, so dass diese sich oberen Teil des Röhrchens ansammeln, während die Erythrozyten sedimentieren.

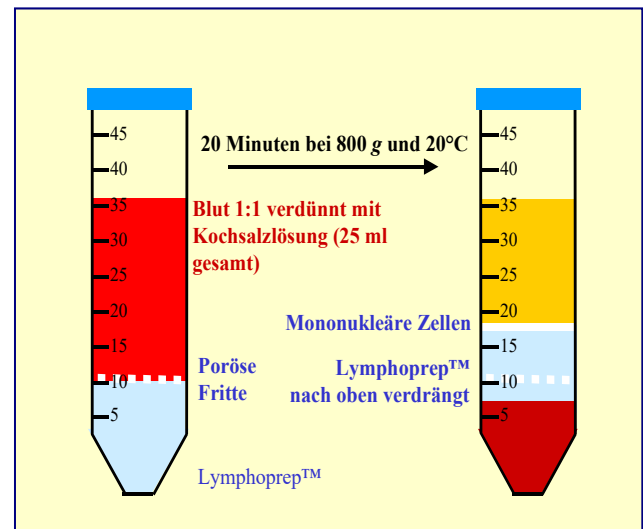
Bøyum entwickelte 1968 eine Einschnitt-Zentrifugationstechnik zur Isolierung von Lymphozyten, indem er eine Mischung aus Natrium-Metrisoat (Isopaque) und Ficoll® verwendete. Bei dem Lymphoprep™ Tube ist der untere Bereich bereits mit Lymphoprep™ gefüllt. Die entsprechende Menge von Gesamt- oder vorverdünntem Blut wird einfach in den oberen Teil pipettiert und das Röhrchen bei u. g. Bedingungen zentrifugiert. Erythrozyten und Granulozyten werden im unteren Bereich zurückgehalten, während sich eine leicht erkennbare Schicht mit mononukleären Zellen im oberen Bereich befindet.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Lymphoprep™ Tube wird unter sterilen Bedingungen hergestellt. Lymphoprep™ ist 3 Jahre haltbar, wenn die Lösung steril und lichtgeschützt aufbewahrt wird.

DURCHFÜHRUNG (siehe Abbildung)

1. Blutabnahme in einem Röhrchen mit vorgelegtem Antikoagulans (EDTA, Heparin, ACD) oder defibriniertes Blut verwenden.
2. Normalerweise befindet sich Lymphoprep™ unterhalb des Plastikeinsatzes. Unsachgemäße Behandlung kann zu Durchlässigkeit in den oberen Bereich führen. In diesem Fall empfiehlt es sich, das Röhrchen vor Gebrauch 1 Minute bei 400xg zu zentrifugieren, um die Lösung in den unteren Bereich zurückzuführen.
3. Nun 6 ml vorverdünntes Blut (1:1) in das 2 ml Lymphoprep™ Tube oder 20ml vorverdünntes Blut (1:1) in das 10 ml Lymphoprep™ Tube füllen.
4. Die Röhrchen 15 min bei 800g und 18-22°C zentrifugieren.
5. Nach dem Zentrifugieren bilden die mononukleären Zellen eine scharfe Bande an der Grenzfläche, wie in der Abbildung gezeigt. Die Zellen werden mit einer Pasteur-Pipette von der Grenzschicht abgenommen. Alternativ kann der gesamte Inhalt des oberen Bereiches dekantiert werden.
6. Die abgenommene Fraktion wird mit 0,9% NaCl-Lösung oder Medium verdünnt, um die Dichte der Fraktion zu erniedrigen. Anschließend werden die Zellen 10 Minuten bei 250 x g sedimentiert.

**REINHEIT UND FUNKTION**

Die beschriebene Methode hat sich als schnell, einfach und zuverlässig erwiesen und führt bei Blutproben der meisten Normalspender und Patienten zu sehr guten Ergebnissen. Eine Kontamination in der Lymphozytensuspension durch Erythrozyten liegt meist bei 3-10% der Gesamtzellzahl. Einige unreife Granulozyten können gefunden werden bei intensiver Immunsuppressionstherapie. Bei Verwendung von Heparinblut muss der Großteil der Blutplättchen entfernt werden, um Inhibitionen im Zytotoxizitätstest zu vermeiden. Dafür ist die beschriebene Waschprozedur in der Regel ausreichend.

LITERATUR

Bøyum, A. (1968): Separation of leucocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 21, Suppl. 97.

BESTELLINFORMATION

Art. Nr. 1019817 30 Tubes x 2 ml
Art. Nr. 1019818 18 Tubes x 10 ml

HERSTELLER:

Alere Technologies AS
P.O.Box 6863 Rodeløkka
N-0504 Oslo, Norway
Tel: +47 24 05 60 00
Fax: +47 24 05 60 10

www.optiprep.com

ISO 13485 zertifiziert