

Lymphoprep™

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Lymphoprep™ è una soluzione sterile pronto uso per l'isolamento di sospensioni pure di linfociti, testate per la presenza di endotossine. La soluzione contiene sodio diatrizoato e polisaccaride alle seguenti concentrazioni:

Sodio Diatrizoato	9.1% (w/v)
Polisaccaride	5.7% (w/v)

Proprietà fisico-chimiche:

Densità	1.077 ± 0.001 g/ml
Osmolalità	290 ± 15 mOsm

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA DI SEPARAZIONE

La tecnica più comunemente utilizzata per separare i leucociti consiste nel miscelare, in una provetta, il sangue con un composto in grado di aggregare gli eritrociti, aumentandone la velocità di sedimentazione. La sedimentazione dei leucociti viene scarsamente influenzata, consentendo quindi la loro raccolta dalla parte superiore della provetta una volta separati stabilmente dagli eritrociti. Utilizzando una miscela di sodio diatrizoato e polisaccaride, Bøyum (1968) sviluppò una tecnica di centrifugazione tale da ottenere l'isolamento dei linfociti in un solo passaggio. Thorsby e Bratlie (1970) apportarono piccole modifiche a questa tecnica ottenendo preparazioni pure di linfociti per test di citotossicità ed allestimento di colture cellulari. Come ribadito anche da altri autori, Harris e Ukayiofo (1969), Ting e Morris (1971) questo è un metodo affidabile, semplice e rapido per la preparazione di frazioni linfocitarie da sangue di cadavere e da sangue anticoagulato conservato entro 6 ore a temperatura ambiente.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

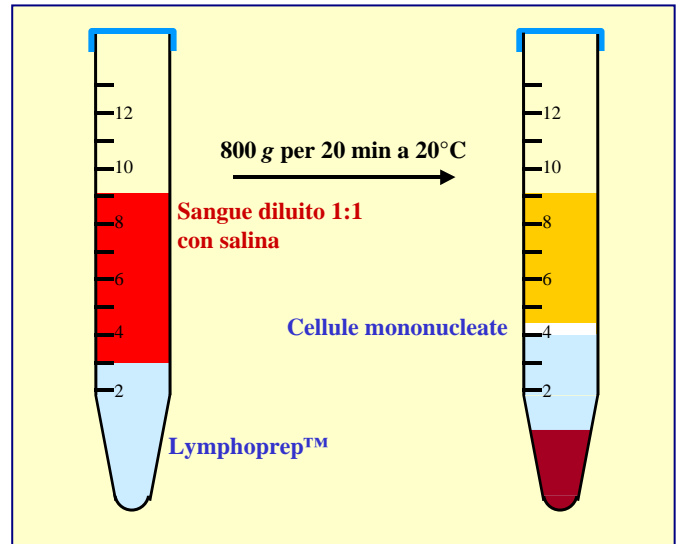
Lymphoprep™ è stabile 3 anni se conservato in condizioni di sterilità e non esposto alla luce. L'esposizione prolungata alla luce solare diretta induce il rilascio di iodio dalla molecola di sodio diatrizoato, sebbene questo effetto sia trascurabile lavorando su cadenza giornaliera. Lymphoprep™ va conservato a temperatura ambiente.

PROCEDURA DI SEPARAZIONE (vedere la figura)

1. Raccogliere il sangue in una provetta con anticoagulante (EDTA, eparina, ACD) oppure utilizzare sangue defibrinato.
2. Diluire il sangue mediante l'aggiunta di un uguale volume di 0.9% NaCl.
3. Stratificare delicatamente 6 mL di sangue diluito sopra 3 mL di Lymphoprep™ in una provetta da centrifuga da 12–15 mm. In alternativa la soluzione Lymphoprep™ può essere stratificata sotto il sangue diluito. Evitare la penetrazione tra il sangue e la soluzione. Chiudere la provetta per prevenire la formazione di aerosol.
4. Centrifugare 20 minuti a 800 x g a temperatura ambiente (approssimativamente 20°C) in un rotore a braccio oscillante. Qualora il sangue sia stato conservato per più di 2 ore aumentare a 30 minuti il tempo di centrifugazione.
5. Al termine della centrifugazione le cellule mononucleate si dispongono in una banda distinta tra il campione ed il medium, come mostrato nella figura. Il modo migliore per estrarre le cellule è quello di utilizzare una pipetta Pasteur evitando di prelevare materiale dallo strato superiore.
6. Diluire la frazione cellulare con 0.9% NaCl o con il medium, in modo da ridurre la densità della soluzione, quindi far sedimentare le cellule mediante centrifugazione a 250 x g per 10 minuti.

PUREZZA E VITALITÀ

Il metodo descritto è stato ritenuto rapido, semplice ed affidabile e consente l'ottenimento di risultati eccellenti su campioni di sangue dalla maggior parte dei soggetti normali e dei pazienti. Questa tecnica può anche essere adottata per la preparazione di sospensioni linfocitarie destinate allo studio di colture linfocitarie miste.



La contaminazione da eritrociti, rilevata nelle sospensioni linfocitarie, viene stimata tra l'1 ed il 5% del conteggio cellulare totale. Campioni provenienti da pazienti nel corso di una intensa terapia immunosoppressiva possono generare una lieve contaminazione da granulociti immaturi. Nel caso in cui si utilizzi sangue eparinizzato è essenziale rimuovere la maggior quantità possibile di piastrine in modo da evitare effetti inibitori nei test di citotossicità. Generalmente la procedura di lavaggio descritta è sufficiente a raggiungere lo scopo.

BIBLIOGRAFIA

- Bøyum, A. (1968): Separation of leucocytes from blood and bone marrow. Scand J. Clin. Lab. Invest. 21, Suppl. 97.
- Favour, C.B. (1964): Antigen-antibody reactions in tissue culture. Immunological Methods, ed. J.R. Ackroyd, pp. 195-223. Blackwell Scientific Publ., Oxford.
- Harris, R. & Ukayiofo, E.V. (1969): Rapid preparation for lymphocytes for tissue typing. Lancet 327,7615.
- Ting, A. & Morris, P.J. (1971): A technique for lymphocyte preparation from stored heparinized blood. Vox Sang. 20,561.
- Thorsby, E. & Bratlie, A. (1970): A rapid method for preparation of pure lymphocyte suspensions. Histocompatibility Testing 1970, ed. P.I. Terasaki, p. 655 Munksgaard, Copenhagen.

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Lymphoprep™ Prod. no. 1114544	1x250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1114545	4x250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1114547	6x500 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1116507	10x250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1116508	10x500 ml

Fabbricante:

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

www.optiprep.com

Società certificate e ISO 13485