

Lymphoprep™

Descrição do produto

Lymphoprep™ é uma solução pronta a usar, estéril e testada para endotoxinas, usada para isolar suspensões puras de linfócitos. A solução contém diatrizoato de sódio e polisacarídeo nas seguintes concentrações.

Diatrizoato de sódio	9,1% (p/v)
Polisacarídeo	5,7% (p/v)

Características físicas:

Densidade	1,077 +/- 0,001 g/ml
Osmolaridade	290 +/- 15 mOsm

Princípio do processo de separação

A técnica mais comum de separação de linfócitos é misturar o sangue com um composto que agrega os eritrócitos e portanto, aumenta a velocidade de sedimentação. A sedimentação dos leucócitos é apenas afectada ligeiramente e podem colher-se da parte superior do tubo quando os eritrócitos estiverem depositados no fundo do tubo. Usando a mistura de Metrizoato de Sódio e polisacarídeo, BØYUM (1968) desenvolveu uma técnica de centrifugação num passo só, para isolamento dos linfócitos. Thorsby e Bratlie (1970) usaram esta técnica com ligeiras modificações na preparação de suspensões de linfócitos puros para testes de cito toxicidade de linfócitos em cultura. Tal como outros autores deram ênfase, Harris e Ukayiofo (1969) Ting e Morris (1971), é um método credível, simples e rápido, adequado para a preparação de preparados de linfócitos de sangue de cadáveres e de sangue com anti-coagulantes armazenado à temperatura ambiente até 6 horas.

Estabilidade e armazenagem

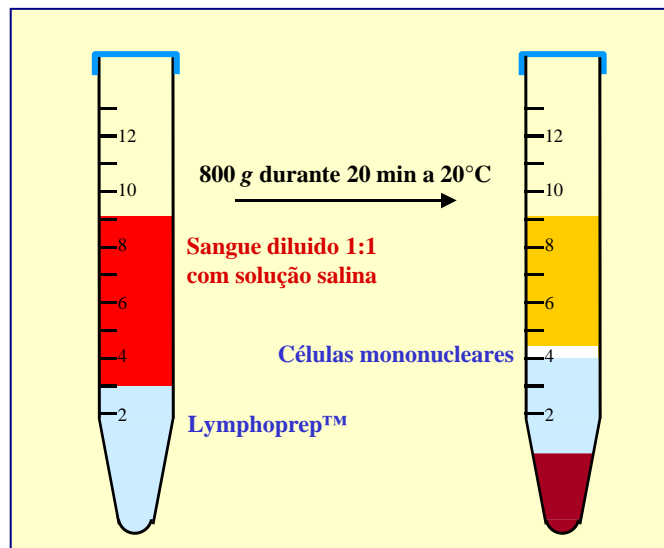
Lymphoprep™ é estável por 3 anos desde que a solução esteja guardada esterilizada e protegida da luz. Exposição prolongada à luz solar directa leva a que se liberte Iodo da molécula de diatrizoato. É um efeito sem importância se estivermos a trabalhar com a solução diariamente. Lymphoprep™ deve ser guardado a temperatura ambiente.

Processo de separação (ver a figura)

1. Fazer a colheita de sangue num tubo com anti-coagulante (EDTA, heparina ACD) ou usar sangue desfibrinado.
2. Diluir o sangue adicionando um volume igual de NaCl a 0,9%.
3. Cuidadosamente, fazer uma camada de 6ml do sangue diluído sobre 3ml de Lymphoprep™, num tubo de centrífuga de 12-15mm. Evitar a mistura do sangue e do fluido de separação. Fechar o tubo para evitar contaminação por aerossóis.
4. Centrifugar a 800xg por 20 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) num rotor basculante. Se o sangue estiver guardado por mais de 2 horas, aumentar a centrifugação para 30 minutos.
5. Depois da centrifugação, as células mono nucleares formam uma banda distinta na interface da amostra/meio, como mostra a figura. O melhor modo de retirar as células dessa interface é usar uma pipeta Pasteur sem remover a camada superior.
6. Diluir a fracção recolhida com solução 0,9% de NaCl ou meio, para reduzir a densidade da solução e separar as células por centrifugação por 10 minutos a 250xg.

Pureza e viabilidade

O método descrito é considerado o mais rápido, simples e seguro e dá resultados excelentes com amostras de sangue de indivíduos normais e de pacientes. A técnica também pode ser usada para a preparação de suspensões de linfócitos para testes de cultura de misturas de linfócitos. A contaminação por eritrócitos, em suspensões de linfócitos, é habitualmente, entre 1 a 5 por cento, do número de células total. Alguns granulócitos imaturos podem seguir os linfócitos, durante uma terapia intensa imuno supressiva. Quando se usa sangue heparinizado, é essencial remover as plaquetas, para evitar a inibição, nos testes de cito toxicidade. O processo de lavagem descrito, é, em geral, suficiente.



Referências:

- 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.

Informação para pedido:

Lymphoprep™ Prod. no. 1114544	1 x 250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1114545	4 x 250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1114547	6 x 500 ml
Lymphoprep™ Prod. No. 1116507	10 x 250 ml
Lymphoprep™ Prod. No. 1116508	10 x 500 ml

Manufactura:

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

www.axis-shield-density-gradient-media.com

ISO 13485 certified company

Nota: A tradução desta literatura foi feita sem seguir o Acordo Ortográfico