

Lymphoprep™ Tube

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le Lymphoprep™ est une solution stérile, testée en endotoxines et prête à l'emploi pour l'isolement des cellules mononucléées humaines.

Le Lymphoprep™ tube est un tube en plastique stérile pré-rempli avec le Lymphoprep™. La solution contient du diatrizoate de sodium et du polysaccharide dans les concentrations suivantes:

Diatrizoate de sodium	9,1% (p/v)
Polysaccharide	5,7% (p/v)

Caractéristiques physico-chimiques:

Densité	1.077 ± 0.001 g/ml
Osmolarité	290 ± 15 mOsm

Le Tube Lymphoprep™ se compose de deux compartiments séparés par une membrane. Le compartiment inférieur est pré-rempli avec le Lymphoprep™. La membrane permet à l'échantillon de sang d'être versé directement dans le tube. Il n'est pas nécessaire de déposer l'échantillon de sang en couche régulière.

PRINCIPE DE SÉPARATION

La technique la plus répandue pour séparer les leucocytes est de mélanger le sang avec un composé qui agrège les érythrocytes, augmentant ainsi leur taux de sédimentation. La sédimentation des leucocytes n'est pas affectée et il est possible de les récupérer dans la partie supérieure du tube alors que les érythrocytes ont sédimenté.

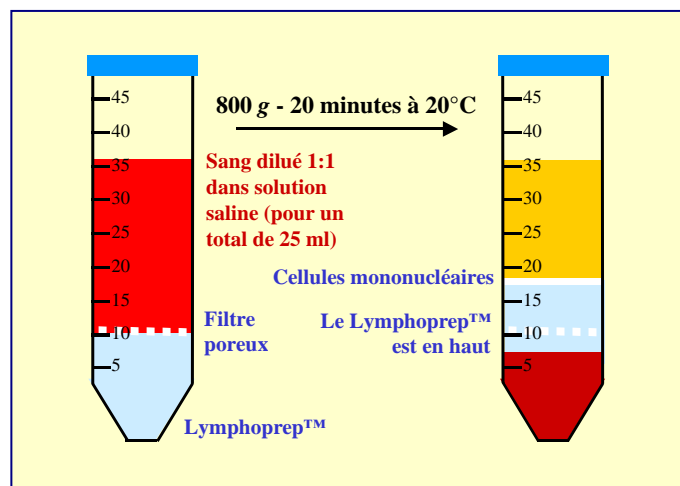
En utilisant un mélange de sodium metrizoate (Isopaque) et de Ficoll®, A. Bøyum (1968) a développé une technique en une seule étape avec centrifugation pour l'isolement de lymphocytes. Dans le Tube Lymphoprep™, le compartiment inférieur est pré-rempli avec une solution de Lymphoprep™. Une quantité appropriée de sang entier ou dilué est déposée dans le tube et centrifugé dans des conditions spécifiques. Les érythrocytes et granulocytes sont pris au piège dans le compartiment inférieur, tandis qu'on retrouve une couche de cellules mononucléaires dans le compartiment supérieur.

STABILITÉ ET STOCKAGE

Le Tube Lymphoprep™ est produit dans des conditions stériles. Le Lymphoprep™ est stable pendant 3 ans si la solution est stockée dans des conditions stériles et à l'abri des rayons du soleil.

PROTOCOLE DE SÉPARATION (voir la figure)

1. Collecter le sang dans un tube contenant de l'anticoagulant (type EDTA, héparine, ACD) ou utiliser du sang défibriné.
2. Dans des conditions normales, le Lymphoprep™ se trouve en-dessous de la membrane. Cependant une utilisation inappropriée peut provoquer une légère fuite de Lymphoprep™ au-dessus de la membrane. Dans ce cas, il convient de centrifuger le tube pendant 1 minute à 400g pour replacer le liquide en bas du tube avant toute utilisation.
3. Ajouter 6 ml de sang dilué (1:1) au tube contenant 2 ml de Lymphoprep™, ou 20ml de sang dilué (1 :1) au tube contenant 10 ml de Lymphoprep™.
4. Centrifuger les tubes à 800g pendant 20 minutes (18-22°C).
5. Après centrifugation, les cellules mononucléaires forment une couche distincte dans l'échantillon comme indiqué dans le schéma ci-contre.
6. Ces cellules peuvent alors être récupérées par pipetage. Une autre alternative consiste à récupérer le contenu du tube situé au-dessus de la membrane par simple décantation.
7. Diluer la fraction récoltée avec une solution saline physiologique afin de réduire la densité de la solution, puis sédimenter les cellules par centrifugation à 250g pendant 10 minutes.



PURETE ET VIABILITE

La méthode décrite est rapide, simple, fiable, et donne d'excellents résultats avec des échantillons de sang provenant de la plupart des individus normaux et de patients.

La présence d'érythrocytes dans la suspension mononucléaire est habituellement comprise entre 3 à 10% du nombre total de cellules. Certains granulocytes immatures peuvent suivre les lymphocytes lors d'un traitement intense par immunosuppresseurs.

Lorsque du sang avec héparine est utilisé, il est essentiel d'éliminer la plupart des plaquettes afin d'éviter l'inhibition dans des tests de cytotoxicité. La procédure de lavage décrite est généralement suffisante.

REFERENCES

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

PRODUITS

Cat. No. 1019817	30 tubes x 2 ml
Cat. No. 1019818	18 tubes x 10 ml

FABRICANT:

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 9001 certified company