

Lymphoprep™ Tube

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Lymphoprep™ è una soluzione sterile pronto uso per la separazione di cellule mononucleate umane, testata per la presenza di endotossine. Il Lymphoprep™ Tube è una provetta di plastica sterile contenente Lymphoprep™. La soluzione è costituita da sodio diatriziato e polisaccaride alle seguenti concentrazioni:

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

Caratteristiche fisico-chimiche:

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

Il Lymphoprep™ Tube consiste in due compartimenti separati da un setto in plastica. Il compartimento inferiore contiene Lymphoprep™. Il setto in plastica consente l'aggiunta del campione di sangue, diluito in soluzione fisiologica, direttamente nella provetta. Non è necessaria alcuna manovra di stratificazione del campione.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA DI SEPARAZIONE

La tecnica comunemente più utilizzata per separare i leucociti consiste nel miscelare il sangue con un composto in grado di aggregare gli eritrociti, in modo da aumentarne la velocità di sedimentazione. La sedimentazione dei leucociti in queste condizioni è trascurabile ed i leucociti possono quindi essere prelevati dalla parte superiore della provetta una volta stabilizzata la deposizione degli eritrociti nella parte inferiore.

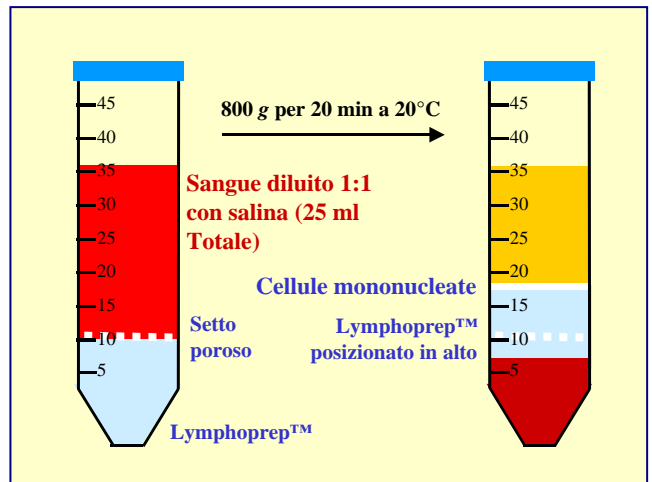
Utilizzando una miscela di sodio metriziato (Isopaque) e Ficoll®, A. Bøyum (1968) perfezionò la separazione dei linfociti mediante una tecnica centrifugativa diretta. Nel Lymphoprep™ Tube il comparto inferiore è pre-riempito con Lymphoprep™. Una appropriata quantità di sangue intero viene versata nel comparto superiore e la provetta viene centrifugata in condizioni specifiche. Gli eritrociti ed i granulociti rimangono isolati nel comparto inferiore, mentre uno strato ben distinto di cellule mononucleate è visibile nel comparto superiore.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Il Lymphoprep™ Tube viene prodotto in condizioni di sterilità ed è stabile 3 anni se non contaminato e protetto dalla luce solare diretta.

PROCEDURA DI SEPARAZIONE (vedere la figura)

1. Raccogliere il sangue in una provetta con anticoagulante (EDTA, eparina, ACD) oppure utilizzare sangue defibrinato.
2. In condizioni normali il Lymphoprep™ rimane al di sotto del setto. Una manipolazione inadeguata potrebbe causarne una leggera fuoriuscita sul lato opposto. In questo caso centrifugare la provetta per 1 minuto a 400xg, in modo da riposizionare la soluzione verso il fondo della provetta prima del suo utilizzo.
3. Aggiungere 6 ml di sangue diluito (1:1) al tubo contenente 2 ml di Lymphoprep™ o 20 ml di sangue diluito (1:1) al tubo contenente 10 ml di Lymphoprep™.
4. Centrifugare il tubo per 20 minuti a 800g (18-22°C).
5. Dopo la centrifugazione le cellule mononucleate formano una banda ben distinta tra il campione ed il medium, come mostrato nella seguente figura. Le cellule possono essere prelevate direttamente con una pipette Pasteur oppure ottenute dopo aver rimosso, mediante travaso, l'intero contenuto della provetta al di sopra del setto.
6. Diluire la frazione con soluzione fisiologica per ridurre la densità ed ottenere un precipitato di cellule mediante centrifugazione per 10 minuti a 250g.



PUREZZA E VITALITÀ

Il metodo descritto si è rivelato rapido, semplice ed affidabile, fornendo eccellenti risultati su campioni di sangue sia da individui normali che da pazienti.

La contaminazione da eritrociti, nella sospensione linfocitaria, può essere stimata tra il 3% ed il 10% del conteggio totale delle cellule. Alcune forme immature di granulociti possono contaminare i linfociti in occasione del trattamento dei pazienti con terapia immunosoppressiva ad alte dosi.

In caso di utilizzo di sangue eparinizzato è importante rimuovere la maggior quantità possibile di piastrine mediante le convenzionali procedure di lavaggio, in modo da evitare interferenze di carattere inibitorio nei test di citotossicità.

BIBLIOGRAFIA

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

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Prod. No. 1019817	30 tubi x 2 ml
Prod. No. 1019818	18 tubi x 10 ml

Fabbricante:

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