

Lymphoprep™

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Lymphoprep™ es una solución lista para su uso, estéril y testada frente a endotoxinas para el aislamiento de suspensiones puras de linfocitos. La solución contiene diatrizoato sódico y polisacárido en las concentraciones siguientes:

Diatrizoato sódico	9,1% (p/v)
Polisacárido	5,7% (p/v)

Características físico-químicas:

Densidad:	1.077 ± 0.001 g/ml
Osmolaridad:	290 ± 15 mOsm

FUNDAMENTO DEL PROCESO DE SEPARACIÓN

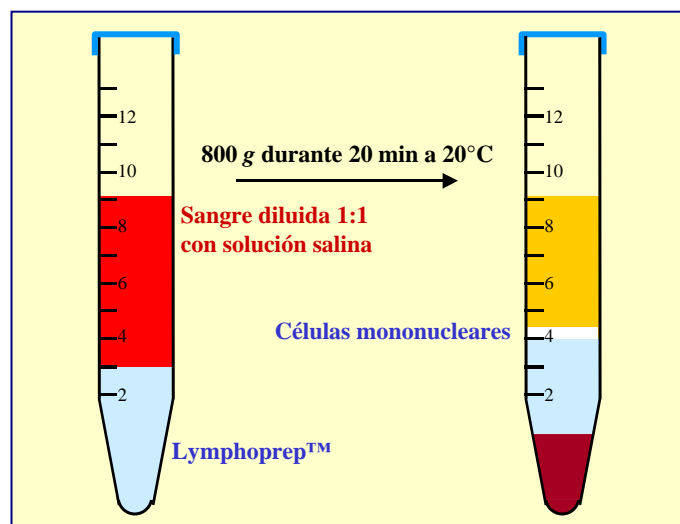
La técnica más común de separación de leucocitos es la de mezclar sangre con un componente el cual agrega los eritrocitos, incrementando de este modo su ratio de sedimentación. La sedimentación de los leucocitos se ve afectada sólo ligeramente y puede ser recogida de la parte superior del tubo cuando los eritrocitos han sedimentado. Usando una mezcla de metrizoato sódico y polisacárido, Bøyum (1968) desarrolló una técnica de centrifugación de un paso para el aislamiento de linfocitos. Thorsby y Bratlie (1970) usaron esta técnica con sólo ligeras modificaciones en la preparación de suspensión pura de linfocitos para tests de citotoxicidad y cultivos de linfocitos. Remarcado también por otros autores, Harris y Ukayiofo (1969), Ting y Morris (1971), éste es un método fidedigno, simple y rápido apropiado para la preparación de las preparaciones de linfocitos en sangre de cadáver y de sangre con anticoagulante conservada a temperatura ambiente hasta un máximo de 6 horas.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Lymphoprep™ es estable durante 3 años si la solución es mantenida estéril y protegida de la luz. Exposiciones prolongadas a la luz solar directa conduce a la liberación de yodo de la molécula de diatrizoato sódico. Este efecto es insignificante cuando se trabaja con esta solución en el día a día. Lymphoprep™ debe ser conservado a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DE SEPARACIÓN (ver imagen)

1. Colectar sangre en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina, ACD) o usar sangre desfibrinada.
2. Diluir la sangre añadiendo el mismo volumen de solución NaCl 0,9%.
3. Añadir cuidadosamente una capa de 6 ml de sangre diluida sobre 3 ml de Lymphoprep™ en un tubo de centrifuga de 12–15 mm. Alternativamente, Lymphoprep™ puede depositarse en una capa por debajo de la sangre diluida. Evitar mezclar la sangre con el fluido de separación. Tapar el tubo para prevenir la formación de aerosoles.
4. Centrifugar a 800 x g durante 20 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) en un rotor oscilante. Si la sangre es almacenada durante más de 2 horas, incrementar el tiempo de centrifugación a 30 minutos.
5. Después de la centrifugación, las células mononucleares forman una banda distinta en la interfase muestra/medio, tal como se indica en la figura. Las células son recogidas mejor de la interfase usando una pipeta Pasteur evitando recoger la capa superior.
6. Diluir la fracción obtenida con solución NaCl 0,9% o un medio para reducir la densidad de la solución y sedimentar la células por centrifugación durante 10 minutos a 250 x g.



PUREZA Y VIABILIDAD

El método descrito ha sido encontrado para ser rápido, simple y fidedigno y da unos resultados excelentes con muestras de sangre en la gran mayoría de individuos normales y de pacientes. La técnica puede ser también usada en la preparación de suspensiones de linfocitos para tests de cultivo mixto de linfocitos. La contaminación de eritrocitos en las suspensiones de linfocitos es usualmente entre 1 - 5% del número total de células. Algunos granulocitos inmaduros pueden seguir a los linfocitos durante terapias inmunosupresoras intensas. Cuando es usada sangre heparinizada, es esencial eliminar la mayoría de las plaquetas, en base a evitar la inhibición en el test de citotoxicidad. El proceso de lavado descrito es usualmente suficiente.

REFERENCIAS

- 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.

INFORMACIÓN CÓDIGOS

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. 1115757	20 x 250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1115758	12 x 500 ml

Fabricante:

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

Empresa certificada ISO 9001 e ISO 13485