Miltenyi Biotec

CliniMACS® Plus-toepassingen

Gebruikershandleiding



De componenten van het CliniMACS-systeem, waaronder reagentia, slangensets, instrumenten en PBS/EDTA-buffer, zijn ontworpen, geproduceerd en getest onder een kwaliteitssysteem volgens ISO 13485. Binnen de EU zijn de componenten van het CliniMACS-systeem verkrijgbaar als medisch hulpmiddel met een CE-markering voor hun desbetreffende beoogde gebruik, tenzij anders vermeld staat. Binnen de VS zijn het CliniMACS CD34 Reagent System, waaronder het instrument CliniMACS Plus, CliniMACS CD34 Reagent, de CliniMACS Tubing Set TS, de CliniMACS-Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer door de FDA goedgekeurd als 'Humanitarian Use Device' (HUD, instrument voor gebruik bij mensen) en op grond van de federale wetgeving van de V.S. erkend voor gebruik bij patiënten met acute myeloïde leukemie (AML) bij aanvankelijke complete remissie. De effectiviteit van het instrument voor die indicatie is niet aangetoond. Andere producten uit de CliniMACS-productreeks zijn uitsluitend verkrijgbaar om te gebruiken voor toepassing op grond van goedkeuring voor een 'Investigational New Drug' (IND, een regeling voor nieuwe onderzoeksgeneesmiddelen in de VS) of een 'Investigational Device Exemption' (IDE, een uitzondering voor medische hulpmiddelen voor onderzoek) of na goedkeuring door de FDA. In Australië zijn de volgende componenten van het CliniMACS Plus-systeem opgenomen in het Australian Register of Therapeutic Goods (ARTG, een register voor producten met therapeutische doeleinden) en zijn daarom goedgekeurd voor levering: CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD34 Reagent, CliniMACS Tubing Set, CliniMACS Tubing Set LS, CliniMACS Depletion Tubing Set en CliniMACS PBS/EDTA Buffer. Alleen producten die in de ARTG zijn opgenomen, mogen in Australië worden gebruikt.

Tenzij dit specifiek anders vermeld staat, zijn de producten en diensten van Miltenyi Biotec uitsluitend bedoeld voor onderzoeksdoeleinden en niet voor therapeutisch of diagnostisch gebruik.

Copyright © 2023 Miltenyi Biotec en/of diens filialen. Alle rechten voorbehouden.

De onderdelen van deze publicatie mogen in geen enkele vorm of op geen enkele wijze worden vermenigvuldigd, opgeslagen op opslagsystemen, overgedragen, gepubliceerd of verspreid, noch elektronisch, noch mechanisch, door middel van fotokopieën, microfilms, opnames of op andere manieren, mits hiervoor geen schriftelijke toestemming is verleend door Miltenyi Biotec; desondanks, niettegenstaande het hiervoor genoemde, mogen eigenaren van het CliniMACS Plus-systeem kopieën maken voor eigen gebruik binnen hun bedrijf of organisatie, voor het trainen van het personeel in het gebruik en onderhoud van de apparatuur.

CliniMACS, MACS, MACSmix, het Miltenyi Biotec-logo en MiniMACS zijn geregistreerde handelsmerken of handelsmerken van Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG en/of diens filialen in verschillende landen wereldwijd. Alle andere handelsmerken die in dit document worden genoemd, zijn eigendom van hun respectievelijke eigenaren en worden uitsluitend ter identificatie gebruikt.

CliniMACS® Plus-toepassingen

Gebruikershandleiding

Software versie 2.4x

Stand: 2023-02
210-003-244/01

MD CE 0123

Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Straße 68
51429 Bergisch Gladbach
Duitsland

Miltenyi Biotec Technical Support
+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com

www.miltenyibiotec.com

Belangrijke informatie

Deze gebruikershandleiding geeft informatie voor gebruik van de CliniMACS Plus-toepassingen. Instructies, waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en andere belangrijke informatie voor het gebruik van het CliniMACS Plus Instrument vindt u in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument.

⚠ WAARSCHUWING

Het CliniMACS Plus-systeem mag alleen worden bediend door hiertoe geschoolde gebruikers. Voordat u het systeem in gebruik neemt, lees zorgvuldig en begrijp de veiligheidsinformatie, waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en instructies voor de juiste bediening van het CliniMACS Plus Instrument, zoals verstrekt in de gebruiksaanwijzing van het CliniMACS Plus-systeem (inclusief, zonder beperkingen, de veiligheidsinformatie in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument en hoofdstuk 3 “Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen” op pagina 27 van deze gebruikershandleiding) en in mogelijk door Miltenyi Biotec gepubliceerde veiligheidsgerelateerde aanbevelingen. Gelieve speciale aandacht te besteden aan alle waarschuwingen op het instrument of die beschikbaar worden gesteld met verbruiksartikelen, toebehoren, aanvullende materialen en benodigdheden. De operator moet tijdens de bediening van het instrument steeds alle instructies en procedures opvolgen en waarborgen dat rekening wordt gehouden met alle veiligheidsinformatie, waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en instructies. Als niet wordt voldaan aan de veiligheidsinformatie, waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en instructies in de gebruiksaanwijzing, kan dit leiden tot storingen van het instrument, materiële schade, verlies van doelcellen, lichamelijk en/of dodelijk letsel.

Inhoudsopgave

1	**Inleiding**	**11**
1.1	Algemene informatie	11
1.2	Labelen van cellen met CliniMACS-reagentia	12
1.3	Hooggradiënte magnetische celscheiding	13
1.4	Scheidingsstrategieën	13
1.4.1	Verrijkingsstrategie	14
1.4.2	Depletiestrategie	15
2	**Verklarende lijst**	**19**
2.1	Grafische weergave	19
2.2	Lijst van symbolen	19
2.3	Lijst van termen	20
3	**Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen**	**27**
3.1	Procesgerelateerd	27
3.2	CliniMACS-reagentia en biotineconjugaten	28
3.3	Omgang met biogevaarlijke materialen	29
3.4	Cellulair beginproduct	30
4	**Het CliniMACS Plus-systeem**	**31**
4.1	CliniMACS Plus Instrument	31
4.2	CliniMACS-reagentia en -biotineconjugaten	31
4.3	CliniMACS-slangensets	31
4.4	CliniMACS PBS/EDTA Buffer	31
4.5	CliniMACS-toebehoren	32
4.6	Vereiste aanvullende materialen	32
4.7	Vereiste apparatuur	33
5	**Overzicht van toepassingen**	**35**
5.1	Vier STAPPEN naar uw doelcellen	35
5.2	Overzichtstabel	37

6	**Toepassingsspecifiek overzicht van STAPPEN 1–4**	**41**
6.1	Verrijking van CD34-positieve cellen	41
6.1.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetisch labeling	41
6.1.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	43
6.1.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	44
6.1.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	44
6.2	Verrijking van CD14-positieve cellen	44
6.2.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	44
6.2.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	47
6.2.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	47
6.2.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	47
6.3	Verrijking/depletie met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent	48
6.3.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	48
6.3.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	52
6.3.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	52
6.3.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	52
6.4	Verrijking van CD56-positieve cellen	53
6.4.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	53
6.4.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	56
6.4.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS slangensets	56
6.4.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	56
6.5	Depletie van CD3-positieve cellen	57
6.5.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	57
6.5.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	61
6.5.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	61
6.5.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	61
6.6	Depletie van CD19-positieve cellen	62
6.6.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	62
6.6.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	64
6.6.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	64
6.6.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	64
6.7	Depletie van CD3-positieve cellen en CD19-positieve cellen	65
6.7.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	65
6.7.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	68

6.7.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	68
6.7.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	68
6.8	Verrijking / depletie van CD8-positieve cellen	68
6.8.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	68
6.8.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	72
6.8.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	72
6.8.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	72
6.9	Verrijking / depletie van CD25-positieve cellen	72
6.9.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	73
6.9.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	77
6.9.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	77
6.9.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	77
6.10	Verrijking / depletie van CD4-positieve cellen	78
6.10.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	78
6.10.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	82
6.10.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	82
6.10.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	82
6.11	Depletie van CD4-positieve cellen en CD8-positieve cellen	82
6.11.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	82
6.11.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	86
6.11.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	86
6.11.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	86
6.12	Verrijking van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen – Deel 1: Depletie van CD19-positieve cellen en labeling van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen	86
6.12.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	87
6.12.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	89
6.12.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	89
6.12.4	STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	89
6.13	Verrijking van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen – Deel 2: Flexible Labeling System	89
6.13.1	STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling	90
6.13.2	STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma	91
6.13.3	STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets	91
6.13.4	STAP 4 CliniMACS Plus-scheidingsprocedure	92
6.14	Verrijking van CD304 (BDCA-4)-positieve cellen	92

6.14.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling 92
6.14.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma 94
6.14.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets 95
6.14.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure 95
6.15 Depletie van TCRα/β-positieve cellen 95
6.15.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling 95
6.15.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma 98
6.15.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets 98
6.15.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure 98
6.16 Depletie van CD45RA-positieve cellen 99
6.16.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling 99
6.16.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma 101
6.16.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets 101
6.16.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure 102
6.17 Verrijking van humane IFN-gamma afscheidende cellen met het CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) 102
6.17.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling 102
6.17.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma 116
6.17.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets 116
6.17.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure 116

7 Gedetailleerde uitleg van STAP 1–4 117

7.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling 117
7.1.1 Eerste vereiste handelingen 117
7.1.2 Magnetische labeling van cellen 118
7.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma 131
7.2.1 Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument 131
7.2.2 CD34 SELECTION 1/2 131
7.2.3 ENRICHMENT 1.1 133
7.2.4 ENRICHMENT 3.2 138
7.2.5 DEPLETION 2.1 140
7.2.6 DEPLETION 3.1 146
7.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets 152
7.3.1 CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS 152

7.3.2 Alternatieve installatie van de CliniMACS-slangensets 168
7.3.3 CliniMACS Depletion Tubing Set 173
7.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure 188
7.4.1 CD34 SELECTION 1/2 188
7.4.2 ENRICHMENT 1.1 192
7.4.3 ENRICHMENT 3.2 196
7.4.4 DEPLETION 2.1 200
7.4.5 DEPLETION 3.1 204

8 Problemen oplossen 209

8.1 Miltenyi Biotec Technical Support 209
8.2 Preparatie van het leukafereseproduct 209
8.3 CliniMACS Plus Instrument en CliniMACS-slangensets 210
8.3.1 Foutmeldingen 210
8.3.2 Laden en voorspoelen van de slangenset 210
8.4 Geautomatiseerde celscheiding 212
8.4.1 Waarschuwingsberichten 212
8.4.2 Onverwachte gebeurtenissen: Alle scheidingsprogramma's 212
8.4.3 Onverwachte gebeurtenissen: Alleen verrijkingsprogramma's 215
8.4.4 Onverwachte gebeurtenissen: CD34 SELECTION 1/2 215
8.4.5 Onverwachte gebeurtenissen: ENRICHMENT 1.1 216
8.4.6 Onverwachte gebeurtenissen: ENRICHMENT 3.2 217
8.4.7 Noodprogramma (mag alleen worden gebruikt voor verrijkingsprogramma's) 218
8.4.8 Onverwachte gebeurtenissen: DEPLETION 2.1 219
8.4.9 Onverwachte gebeurtenissen: DEPLETION 3.1 220
8.5 Celscheidingsprestatie 222
8.5.1 Onverwachte gebeurtenissen: Alleen verrijkingsprogramma's 222
8.5.2 Onverwachte gebeurtenissen: CD34 SELECTION 1/2, ENRICHMENT 1.1 224
8.5.3 Onverwachte gebeurtenissen: CD34 SELECTION 1/2 224
8.5.4 Onverwachte gebeurtenissen: ENRICHMENT 1.1 225
8.5.5 Onverwachte gebeurtenissen: DEPLETION 2.1 en DEPLETION 3.1 225

9 Wettelijke vermeldingen 227
9.5.1 Beperkte garantie 227
9.5.2 Handelsmerken 228

1 Inleiding

1.1 Algemene informatie

Het CliniMACS Plus-systeem biedt een reeks instrumenten welke hoogwaardige, gestandaardiseerde celscheiding beschikbaar maken voor therapeutische toepassingen.

Het CliniMACS Plus-systeem is gebaseerd op de magnetische celscheidingstechnologie (MACS®-technologie) die ontwikkeld werd door Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG. Miltenyi Biotec heeft deze producten beschikbaar gemaakt voor klinische toepassingen die voldoen aan de vereisten van de Europese Regulatorische standaarden.

De CliniMACS-reagentia en biotineconjugaten zijn uitsluitend bedoeld voor *in vitro* gebruik en zijn niet bestemd voor therapeutisch gebruik of rechtstreekse infusie bij patiënten.

De CliniMACS-reagentia in combinatie met het CliniMACS Plus-systeem zijn bedoeld voor de scheiding van humane cellen.

Miltenyi Biotec geeft als fabrikant van het CliniMACS Plus-systeem geen aanbevelingen ten aanzien van het gebruik van gescheiden cellen voor therapeutische doeleinden en doet geen uitspraken ten aanzien van klinische voordelen.

Voor de productie en de toepassing van doelcellen bij mensen, moet de nationale wetgeving en de nationale reglementen worden opgevolgd – voor de EU bijvoorbeeld Richtlijn 2004/23/EG (menselijke weefsels en cellen) of Richtlijn 2002/98/EG (bloed en bloedbestanddelen van menselijke oorsprong). Elke klinische toepassing van de doelcellen valt dan ook uitsluitend onder de verantwoordelijkheid van de gebruiker van een CliniMACS Plus-systeem.

BEPERKTE GARANTIE
Indien het CliniMACS Plus-systeem gebruikt wordt op een wijze die niet expliciet in deze handleiding wordt beschreven, vervallen alle garanties.

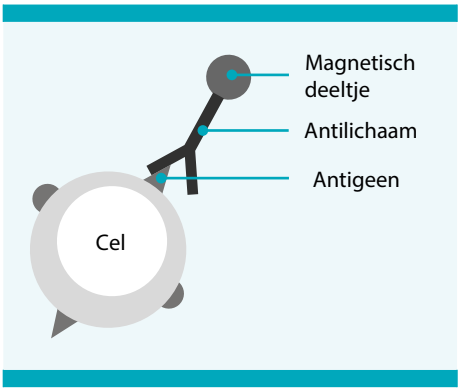
BELANGRIJK
Vóór gebruikmaking van het CliniMACS Plus-systeem of een van de componenten buiten de Europese Economische Gemeenschap, dient de regulatorische goedkeuring van het CliniMACS Plus-systeem of enige CliniMACS-component in dat land te worden bevestigd.

1.2 Labelen van cellen met CliniMACS-reagentia

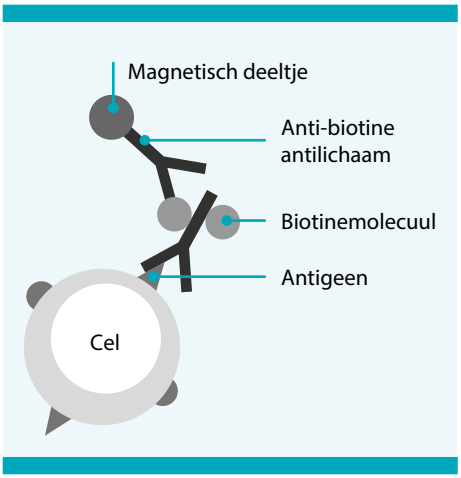
MACS magnetische celsortering is een bewezen krachtige methode voor de scheiding van vele celtypes, in onderzoekslaboratoria en in klinische toepassingen. Celmengsels worden gescheiden in een magnetisch veld met behulp van een immunomagnetisch label voor het betreffende celtype, bijv. humaan CD34-positieve hematopoëtische progenitorcellen van heterogene hematologische celpopulaties.

Met het CliniMACS Plus-systeem kunnen cellen op drie verschillende manieren magnetisch worden gelabeld:

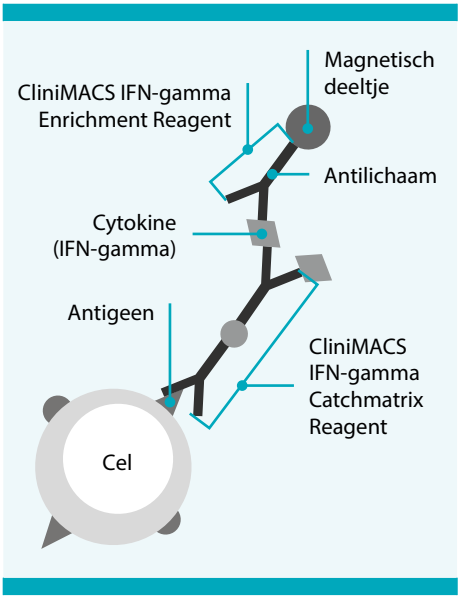
- Direct met een eenstaps procedure voor het labelen door antigeen-specifieke antilichamen die aan super-paramagnetische ijzer-dextraanverbindingen zijn geconjugeerd (zie Afbeelding 1.1).
- Indirect met een tweestaps procedure voor het labelen, het zogenaamde Flexible Labeling System. In de eerste stap worden cellen gelabeld met antigeen-specifieke antilichamen die aan biotine zijn geconjugeerd. In de tweede stap worden deze antilichamen gelabeld met biotine-specifieke antilichamen die zijn geconjugeerd aan super-paramagnetische ijzer-dextraanverbindingen (zie Afbeelding 1.2).
- Indirect met een tweestaps procedure voor het labelen, het zogenaamde CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma). Bij deze procedure worden cellen eerst *in vitro* opnieuw gestimuleerd voor de secretie van de cytokine (bijv. IFN-gamma). In de eerste stap voor het labelen worden de opnieuw gestimuleerde cellen gelabeld door een hybride molecuul bestaande uit een leukocyt-specifiek antilichaam en een cytokine-specifiek antilichaam, het zogenaamde CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent. De cellen worden vervolgens geïncubeerd voor de secretie van de cytokine, die wordt 'opgevangen' door de vangmatrix op het celoppervlak. Vervolgens worden in een tweede stap voor



Afbeelding 1.1: Magnetische labeling van cellen



Afbeelding 1.2: Flexible Labeling System



Afbeelding 1.3: CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma)

het labelen de cytokine afscheidende cellen gelabeld met cytokine-specifieke antilichamen die zijn geconjugeerd aan super-paramagnetische ijzer-dextraanverbindingen (CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent), (zie Afbeelding 1.3).

1.3 Hooggradiënte magnetische celscheiding

De magnetisch gelabelde celsuspensie wordt geladen in het CliniMACS Plus Instrument, waarop al een slangenset is aangesloten. Deze hooggradiënte magnetische celscheidingsunit bestaat uit een specifiek ontwikkelde, krachtige permanente magneet en een scheidingskolom met een ferromagnetische matrix.

Dit hooggradiënte veld genereert sterke magnetische krachten en een snelle demagnetisatie. Wanneer kleine ferromagnetische structuren, zoals de kolommatrix, in het magnetische veld worden geplaatst, wordt de homogeniteit van het veld verstoord. Er worden dan hoge magnetische gradiënten gegenereerd. In hun onmiddellijk omgeving genereren de ferromagnetische structuren magnetische krachten die 10.000 keer sterker zijn dan in conventionele geometrieën. Het hooggradiënte veld hecht gelabelde cellen effectief aan de matrix. Nadat de kolom van de matrix is verwijderd, zorgt de snelle demagnetisatie van de kolommatrix voor de vrijgave van de aangehechte cellen.

1.4 Scheidingsstrategieën

Het CliniMACS Plus-systeem biedt de gebruiker diverse scheidingsprogramma's. De scheidingsprogramma's kunnen in het algemeen worden verdeeld in verrijkingsstrategieën (CD34 SELECTION 1 en 2, ENRICHMENT 1.1 en ENRICHMENT 3.2) en depletiestrategieën (DEPLETION 2.1 en DEPLETION 3.1).

Verrijking van magnetisch gelabelde cellen

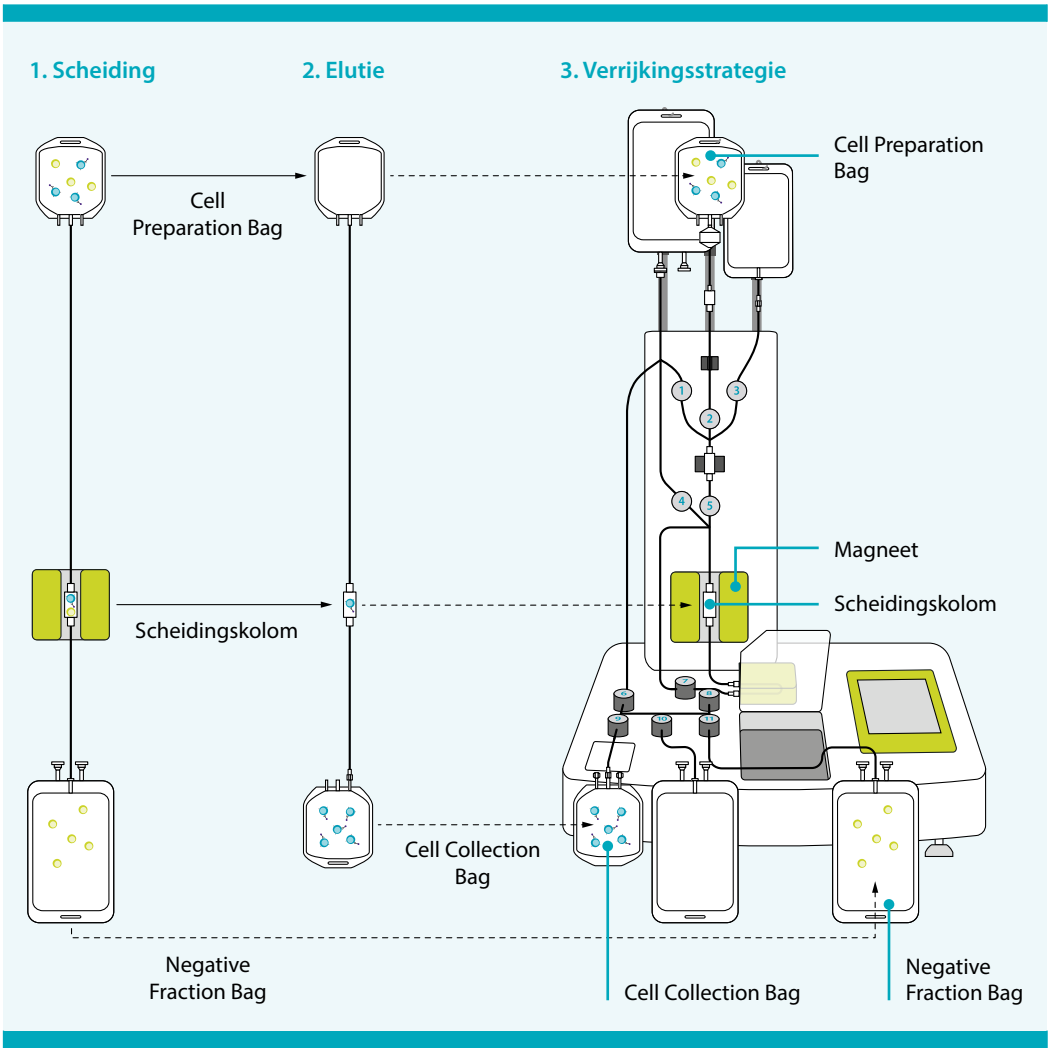
Bij de selectie van een verrijkingsstrategie blijven de magnetisch gelabelde cellen (primair gelabeld met een CliniMACS-reagens) in de scheidingskolom, terwijl de niet-gelabelde cellen verder stromen. De gelabelde cellen (doelcellen) worden verzameld in de Cell Collection Bag en de niet-gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de Negative Fraction Bag (zie Afbeelding 1.4).

Depletie van magnetisch gelabelde cellen

De MACS-technologie werkt ook zeer efficiënt bij de depletie van specifieke celpopulaties. Ongewenste cellen worden specifiek gelabeld met super-paramagnetische deeltjes en van de doelcellen gescheiden wanneer ze door de hooggradiënte magnetische kolom stromen. In tegenstelling tot de verrijkingsstrategie worden de niet-gelabelde cellen (doelcellen) verzameld in de Cell Collection Bag en de gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de Negative Fraction Bag (zie Afbeelding 1.5) of in de Non-Target Cell Bag (zie Afbeelding 1.6 en Afbeelding 1.7).

1.4.1 Verrijkingsstrategie

Verrijking van cellen met de CliniMACS Tubing Set of CliniMACS Tubing Set LS

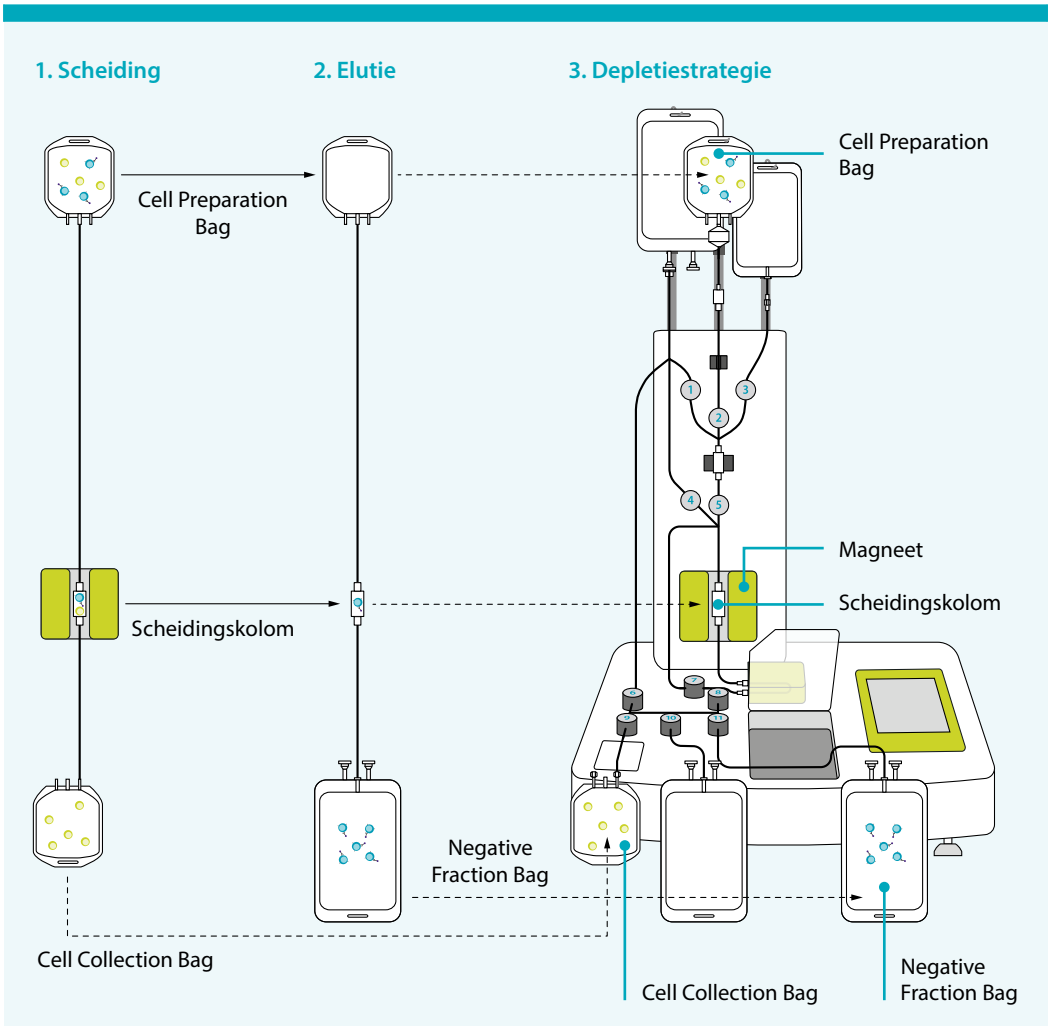


Afbeelding 1.4: Strategie van verrijkingsprogramma's met de CliniMACS Tubing Set of CliniMACS Tubing Set LS

1. De magneet staat in de "ON"-positie. Magnetisch gelabelde cellen blijven in de scheidingskolom, terwijl andere niet-gelabelde cellen (niet-doelcellen) door de kolom stromen en in de Negative Fraction Bag worden verzameld.
2. De magneet staat in de "OFF"-positie. De magnetisch gelabelde cellen (doelcellen) worden vrijgegeven in de scheidingskolom en in de Cell Collection Bag verzameld.
3. Het verrijkingsprogramma zorgt ervoor dat de magnetisch gelabelde cellen in de scheidingskolom blijven, terwijl de niet-gelabelde cellen (niet-doelcellen) door de kolom stromen en in de Negative Fraction Bag worden verzameld. Wanneer de magneet wordt verplaatst naar de "OFF"-positie, worden de magnetisch gelabelde cellen (doelcellen) in de kolom vrijgegeven en in de Cell Collection Bag verzameld. **Noot:** De doelcelfractie wordt altijd verzameld in de Cell Collection Bag.

1.4.2 Depletiestrategie

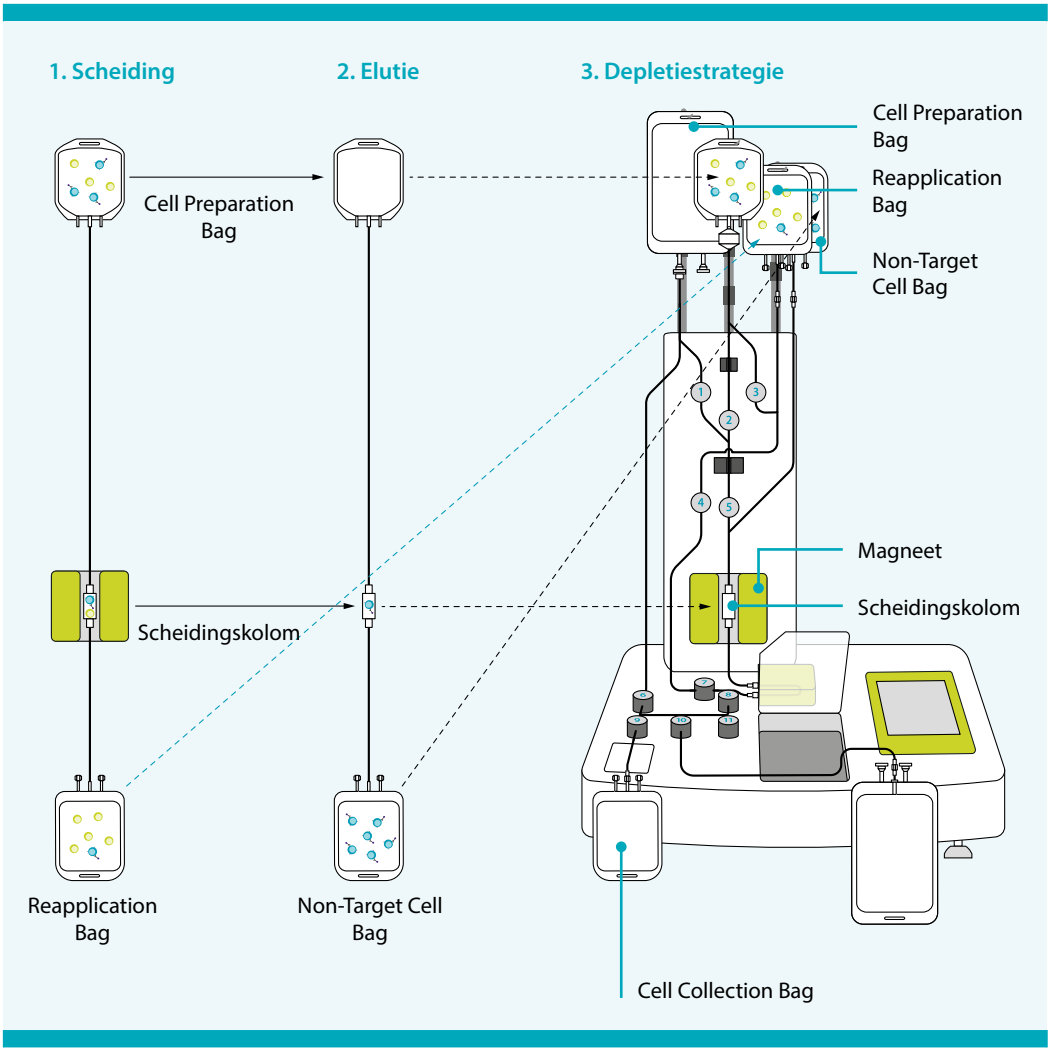
Depletie van cellen met de CliniMACS Tubing Set LS: DEPLETION 2.1



Afbeelding 1.5: Strategie van het depletieprogramma DEPLETION 2.1 met de CliniMACS Tubing Set LS

1. De magneet staat in de “ON”-positie. Magnetisch gelabelde cellen blijven in de scheidingskolom, terwijl andere niet-gelabelde cellen (doelcellen) door de kolom stromen en in de Cell Collection Bag worden verzameld.
2. De magneet staat in de “OFF”-positie. De magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) worden vrijgegeven in de scheidingskolom en in de Negative Fraction Bag verzameld.
3. Het depletieprogramma (DEPLETION 2.1) zorgt ervoor dat de magnetisch gelabelde cellen in de scheidingskolom blijven, terwijl de niet-gelabelde cellen (doelcellen) door de kolom stromen en in de Cell Collection Bag worden verzameld. Wanneer de magneet wordt verplaatst naar de "OFF"-positie, worden de magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de kolom vrijgegeven en in de Negative Fraction Bag verzameld. **Noot:** De doelcelfractie wordt altijd verzameld in de Cell Collection Bag.

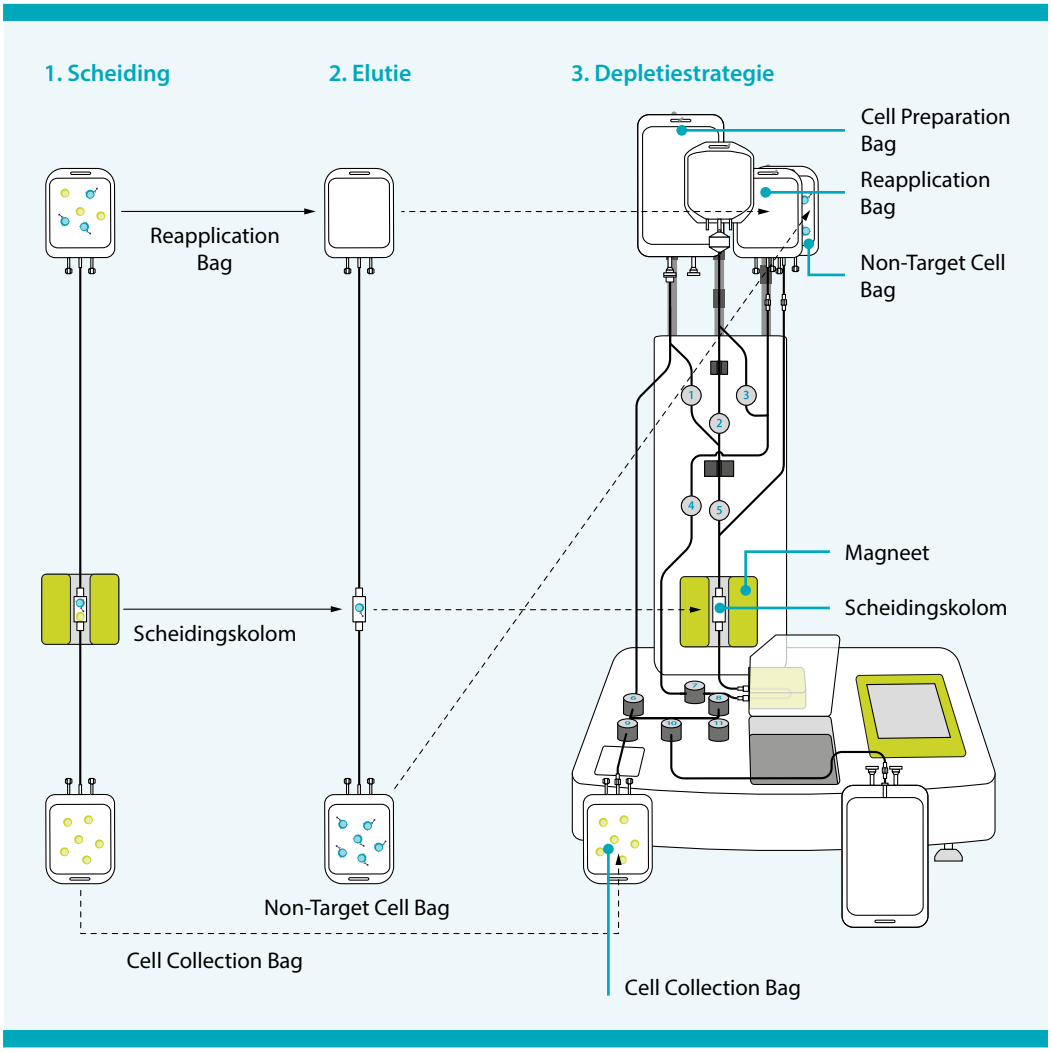
Depletie van cellen met de CliniMACS Depletion Tubing Set: DEPLETION 3.1 (Deel 1: Staged Cell Loading [Bulk Loading Stage])



Afbeelding 1.6: Strategie van het depletieprogramma DEPLETION 3.1 met de CliniMACS Depletion Tubing Set (Deel 1)

1. Staged Cell Loading (Bulk Loading Stage): De magneet staat in de "ON"-positie. Magnetisch gelabelde cellen blijven in de scheidingskolom, terwijl andere niet-gelabelde cellen (doelcellen) door de kolom stromen en in de Reapplication Bag worden verzameld.
2. De magneet staat in de "OFF"-positie. De magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de scheidingskolom worden vrijgegeven en in de Non-Target Cell Bag verzameld.
3. Het depletieprogramma (DEPLETION 3.1) zorgt ervoor dat de magnetisch gelabelde cellen in de scheidingskolom blijven, terwijl de niet-gelabelde cellen (doelcellen) door de kolom stromen en in de Reapplication Bag worden verzameld, waarna ze opnieuw in de scheidingskolom kunnen worden geladen voor een tweede gevoelige depletie (zie Afbeelding 1.7). Wanneer de magneet wordt verplaatst naar de "OFF"-positie, worden de magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de kolom vrijgegeven en in de Non-Target Cell Bag verzameld.

Depletie van cellen met de CliniMACS Depletion Tubing Set: DEPLETION 3.1 (Deel 2: Sensitive Sample Loading [Sensitive Loading Stage])



Afbeelding 1.7: Strategie van het depletieprogramma DEPLETION 3.1 met de CliniMACS Depletion Tubing Set (Deel 2)

4. Sensitive Sample Loading (Sensitive Loading Stage): De magneet staat in de "ON"-positie. De cellen in de Reapplication Bag worden opnieuw in de scheidingskolom geladen. De weinige resterende magnetisch gelabelde cellen blijven in de scheidingskolom, terwijl de niet-gelabelde cellen (doelcellen) door de kolom stromen en in de Cell Collection Bag worden verzameld.
5. De magneet staat in de "OFF"-positie. De magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de scheidingskolom worden vrijgegeven en in de Non-Target Cell Bag verzameld.
6. Aan het eind van het scheidingsproces bevinden de gelabelde cellen (niet-doelcellen) zich in de Non-Target Cell Bag en de niet-gelabelde cellen (doelcellen) in de Cell Collection Bag. **Noot:** De doelcelfractie wordt altijd verzameld in de Cell Collection Bag.

2 Verklarende lijst

2.1 Grafische weergave

In het volgende overzicht staan de afbeeldingen die in deze gebruikershandleiding worden gebruikt om de gebruiker te wijzen op de mogelijke risico's als de beschreven waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen niet worden opgevolgd. Het gevarenniveau geeft de gevaren aan die hieronder beschreven staan. Het gevarenniveau, het type en de bron van het gevaar en de mogelijke consequenties, verboden en maatregelen worden als volgt aangegeven. De symbolen aan de linkerkant geven aan om welk risico het gaat.

⚠ WAARSCHUWING

Geeft een gevaarlijke situatie aan die, als deze niet wordt vermeden, tot dodelijk of ernstig lichamelijk letsel zou kunnen leiden.

⚠ VOORZICHTIG

Geeft een gevaarlijke situatie aan die, als deze niet wordt vermeden, tot licht of matig lichamelijk letsel zou kunnen leiden.

LET OP

Geeft informatie aan die belangrijk wordt geacht, maar geen verband houdt met gevaren (bijv. berichten over materiële schade).

BELANGRIJK

Adviseert de gebruiker over belangrijke handelingen of informatie die geen verband houden met lichamelijk letsel of materiële schade.

2.2 Lijst van symbolen

Een overzicht van de symbolen die voor het CliniMACS Plus-systeem worden gebruikt, kunt u vinden in de CliniMACS Plus Instrument-gebruikershandleiding. In de lijst van symbolen staan de symbolen die in de gebruikershandleidingen worden gebruikt voor het etikettering van de CliniMACS-producten.

2.3 Lijst van termen

Aferese	Een manier om bloed af te nemen waarbij volbloed wordt afgenomen, hiervan een gewenste component wordt geselecteerd en bewaard, waarna het resterende bloed weer wordt ingebracht bij de donor
Afsmelteenheid	Verwarmingsapparaat dat wordt gebruikt voor het steriel afsmelten van PVC-slangen
Anti-biotine antilichaam	Dit antilichaam herkent cellen die eerder zijn gelabeld met een geschikt gebiotinyleerd antilichaam of ligand.
BDCA	Blood Dendritic Cell Antigen (vertakt bloedcelantigeen)
Bevestigingsbeugel	Ondersteuning op het CliniMACS Plus Instrument om de Cell Preparation Bag, Non-Target Cell Bag, Priming Waste Bag, Reapplication Bag en bufferzak aan te bevestigen
Buffer Waste Bag	Afvalzak voor het opvangen van buffer tijdens de celscheiding met het CliniMACS Plus Instrument
CD1c (BDCA-1) antigeen	CD1c is onderdeel van een CD1-gencluster waarvan men vermoedt dat het gerelateerd is aan het MHC. De CD1-genen zijn geclusterd in een 170 000 bp-gebied van humaan chromosoom 1q23.1. De daarin gecodeerde eiwitten (CD1a-e) komen tot expressie als heterodimeren bestaande uit CD1 zware keten die niet-covalent is gekoppeld aan ß2-microglobuline. CD1c is betrokken bij de antigeenpresentatie van microbiële glycolipiden of lipopeptide-antigenen op T-lymfocyten. In humaan perifeer bloed komt CD1c (BDCA-1) tot expressie op myeloïde denditrische cellen type-1 (MDC1) en op een subset van B lymfocyten. Ze zijn te vinden in lymfeklieren, mantelzones en germinale centra, in de marginale zone van de milt en in humaan perifeer bloed in de foetus en bij volwassenen.
CD3-antigeen	Het CD3-antigeen is aanwezig op volgroeide humane T-cellen, thymocyten en een subset van NK-cellen. Het wordt in verband gebracht met de T-celreceptor (TCR) en is verantwoordelijk voor de signaaltransductie van de TCR. Het CD3-antigeen is een complex van vijf onveranderlijke ketens: γ, δ, ε, ζ en η. Het CD3-antilichaam herkent alle T-cellen, d.w.z. het reageert met 70-80% van de lymfocyten in humaan perifeer bloed en met 65-85% van de thymocyten. Het epitoop dat door het antilichaam wordt herkend, bevindt zich op de ε-keten van het CD3-complex.

CD4-antigeen	Het CD4-antigeen komt tot expressie op de meeste thymocyten en ongeveer twee derde van de T-cellen van perifeer bloed; het komt ook tot expressie op monocyten en macrofagen. CD4 is een hulpmolecuul bij de herkenning van lichaamsvreemde antigenen die verband houden met MHC-klasse II. Daarnaast is CD4 een receptor voor HIV-1.
CD8-antigeen	Het CD8-antigeen is een disulfide-gekoppelde dimeer, die aanwezig is als een CD8 α homodimeer of als een CD8 α/β heterodimeer. CD8 komt sterk tot expressie op CD8-positieve T-cellen en thymocyten en op een subset van NK-cellen en CD8-positieve γ/δ T-cellen. CD8 fungeert als een co-receptor met I-beperkte T-celreceptoren uit de MHC-klasse bij de herkenning van antigenen.
CD14-antigeen	Het CD14-antigeen is een 53-55 kD celmembraan glycoproteïne dat op monocyten tot expressie komt. Het CD14-antigeen is bekend als een receptor voor het complex van LPS en LPS-bindende proteïne (LBP).
CD19-antigeen	Het CD19-antigeen is een kritisch signaaltransductiemolecuul dat de ontwikkeling, deactivering en differentiatie van B-lymfocyten regelt. Als een B-cellijnmarker komt CD19 tot expressie van de vroege pro-B-celfase tot de B-cellymfoblastfase, maar de expressie wordt verminderd bij B-celmaturatie op plasmacellen. Het CD19-antigeen komt bovendien tot expressie op de meeste maligne B-cellen en een subset of folliculaire denditrische cellen.
CD25-antigeen	Het CD25-antigeen, de interleukine-2 receptor alfaketen (IL-2Rα) met lage affiniteit, komt tot expressie op geactiveerde T- en B-cellen, NK-cellen en monocyten, alsmede op gereguleerde CD4-positieve T-cellen. Het CD25-antigeen heeft drie epitoopgebieden A, B en C. Het antilichaam van het CliniMACS CD25 Reagent herkent epitoop A van het CD25-molecuul.
CD34-antigeen	Het CD34-antigeen is een sterk geglycosyleerd 115 kDa type 1 integraal membraaneiwit met onbekende functie, dat tot expressie komt bij 1% tot 4% van normale beenmergcellen en bij minder dan 0,2% van de leukocyten in normaal perifeer bloed, op subsets van stromale beenmergcellen en op het endothelium van kleine bloedvaten van diverse weefsels.
CD45RA-antigeen	Het CD45RA-antigeen komt tot expressie op naïeve CD4- en CD8-positieve T-cellen alsmede op subsets van B-cellen, NK-cellen en monocyten. Het is een isoform van het gebruikelijke leukocytantigeen CD45, een transmembraaneiwit -tyrosinefosfatase.

CD56-antigeen	Het CD56-antigeen behoort tot de NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule)-familie en komt tot expressie binnen het hematopoëtische systeem op NK- en NKT-cellen.
CD304 (BDCA-4)-antigeen	Het CD304 (BDCA-4)-antigeen is een 130-140 kDa celoppervlak glycoproteïne dat tot expressie komt in vers bloed en beenmerg, uitsluitend op plasmacytoïde denditrische cellen.
Cell Collection Bag	Zak waarin de gezuiverde doelcellen na scheiding worden opgevangen
Cell Preparation Bag	Zak waarnaar het celproduct wordt vervoerd en waarin de magnetische labeling en het wassen worden uitgevoerd
Cellulaire beginproduct	Celbevattend product, gebruikt als beginmateriaal voor de CliniMACS Plus-scheidingsprocedure, bijv. het verzamelen van stamcellen (leukaferese), PBMC of beenmerg
CliniMACS Anti-Biotin Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die primair zijn gelabeld met gebiotinyleerde antilichamen of liganden.
CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin	Gebiotinyleerd antilichaam voor de labeling van humane cellen die het CD1c (BDCA-1)-antigeen tot expressie brengen vóór de magnetische labeling met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent.
CliniMACS CD3 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD3-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD4 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD4-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD8 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD8-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD14 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD14-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD19 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD19-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD25 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD25-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD34 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD34-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD45RA Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD45RA-antigeen tot expressie brengen

CliniMACS CD56 Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD56-antigeen tot expressie brengen
CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent	Reagens voor de magnetische labeling van cellen die het CD304 (BDCA-4) antigeen tot expressie brengen
CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma)	Combinatie van reagentia, bestaande uit het CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent en het CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent. Met het CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) kunnen IFN-gamma afscheidende cellen worden verrijkt na *in vitro* restimulatie.
CliniMACS Depletion Tubing Set	Set van slangen, connectoren, kolommen en zakken waarmee de magnetisch gelabelde celsuspensie wordt verwerkt en waarin de magnetische celscheiding plaatsvindt, met name ontworpen voor de specifieke depletiebehoeften
CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent	Component van het CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) voor het oppervlaktelabelen van leukocyten met IFN-gammaspecifieke antilichamen
CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent	Component van het CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) voor de magnetische labeling van IFN-gamma gebonden aan het CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent op de IFN-gamma afscheidende cellen
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	Buffer die wordt gebruikt voor het prepareren en scheiden van cellen met behulp van het CliniMACS Plus-systeem: PBS (fosfaat-gebufferde zoutoplossing), aangevuld met 1 mM EDTA, pH 7,2. Voor gebruik moet de CliniMACS PBS/EDTA Buffer worden aangevuld met HSA van farmaceutische kwaliteit, tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume, d.w.z. 5 g HSA per liter buffer).
CliniMACS Plus Instrument	Magnetisch celscheidingsapparaat op basis van de MACS-technologie
CliniMACS TCRα/β-Biotin	Gebiotinyleerd antilichaam voor het labelen van humane cellen die het TCRα/β-antigeen tot expressie brengen vóór de magnetische labeling met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent
CliniMACS Tubing Set, CliniMACS Tubing Set LS	Slangenset, connectoren, kolommen en zakken waarmee de magnetisch gelabelde celsuspensie wordt verwerkt en waarin de magnetische celscheiding plaatsvindt
EDTA	Ethyleendiaminetetra-azijnzuur
×g	Meervouden van de zwaartekrachtversnelling van de aarde

Hematopoëtische progenitorcellen	Progenitorcellen van lymfoïde, myeloïde en erytroïde afkomst
Horizontale menger	Apparaat dat wordt gebruikt voor het mengen van het celproduct tijdens de reactie met CliniMACS-reagentia
Houder voor de scheidingskolom	Voorgevormde geleidingselementen in de magneetbehuizing die de scheidingskolom op zijn plaats houden
Houder voor de selectiekolom	Zie houder voor de scheidingskolom.
Houder voor de voorkolom	Ondersteuning gemonteerd op het CliniMACS Plus Instrument die de voorkolom op zijn plaats houdt
HSA	Humaan serumalbumine
Humaan serumalbumine	HSA van farmaceutische kwaliteit, goedgekeurd in het land van de gebruiker, is noodzakelijk als buffersupplement bij gebruik in combinatie met het CliniMACS Plus-systeem.
IgG	Immunoglobuline G
In-de-zak-procedure	Steriele verwerking en overdracht van de cellen in de gesloten omgeving van transferzakken
Labelen	Binding van cellen met een reagens voor magnetische labeling, zoals CliniMACS CD34 Reagent, aan CD34-positieve cellen
Leukaferese	Methode van aferese waarbij leukocyten worden verzameld
Luer/Spike Interconnector	Transferset met prikpen (spike) en spuitadapter (vrouwelijke luer) voor plasma of vloeistoffen
Luerverbinding	Schroefverbinding, maakt deel uit de slangenset
Magnetisch antilichaam	Een super-paramagnetisch gelabeld antilichaam
MDC	Myeloïde denditrische cellen
Monoklonale antilichamen	Een bepaald type antilichaam dat is gericht tegen een specifieke epitoop (antigeen, antigeendeterminant) en dat wordt aangemaakt door een enkele B-celkloon of een enkele hybridoomcellijn, gevormd door de samensmelting van een lymfocytaire cel met een myeloomcel. Sommige myelomacellen synthetiseren van nature enkelvoudige antilichamen.
Negative Fraction Bag	Zak van de CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS die de niet-doelcelfractie bevat

Non-Target Cell Bag	Zak van de CliniMACS Depletion Tubing Set die de niet-doelcelfractie bevat
Opbergvak voor de zakken	Compartiment van het CliniMACS Plus Instrument waarin de Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag worden geplaatst
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell (mononucleaire perifere bloedcel)
Peristaltische pomp	Slangenpomp gebruikt in het CliniMACS Plus Instrument om de stroomsnelheid in de slangenset te regelen
Plasma-extractor	Apparaat dat wordt gebruikt voor de extractie van vloeistof uit de Cell Preparation Bag na het wassen van de cellen
Plasma-transferset	Transferset met twee prikpennen (spikes) voor plasma of vloeistoffen
Plasma Waste Bag	Afvalzak voor het verzamelen van overtollig plasma voorafgaand aan de procedure voor het labelen.
Priming Waste Bag	Afvalzak waarin buffer van de voorspoelstap wordt verzameld
Reapplication Bag	Hertoepassingszak van de CliniMACS Depletion Tubing Set waarin de niet-gelabelde cellen tijdens de scheiding tijdelijk worden verzameld. De niet-gelabelde cellen in de Reapplication Bag stromen twee keer opnieuw door de scheidingskolom, om een hoge zuiverheid van de doelcellen te waarborgen.
Retentiering	Onderdeel van een slangenset waarmee de pompslang op zijn plaats blijft zitten
Sampling site coupler	Injectiepoort, bijv. voor het verwijderen van monsters of het toevoegen van CliniMACS-reagentia aan de Cell Preparation Bag
Scheidingskolom	Kolom waarin magnetisch gelabelde cellen worden gescheiden bij blootstelling aan het magnetische veld
Scheidingsprogramma	Softwareprogramma ontworpen voor de verrijking of depletie van magnetisch gelabelde celsubsets van een gemengde celpopulatie. Selecteer uit een menu van scheidingsprogramma's, afhankelijk van de beoogde scheiding.
Scheidingsreagens	Reagens voor de magnetische labeling van cellen, bijv. CliniMACS CD34 Reagent
Selectiebuffer	Zie CliniMACS PBS/EDTA Buffer.
Selectiekolom	Zie scheidingskolom.

T-verbinding	T-vormige verbinding van een slangenset waar drie slangen samenkomen
TCRα/β-antigeen	De TCRα/β is de T-celreceptor heterodimeer bestaande uit twee transmembraan-glycoproteïneketens, α en β. Beide ketens maken deel van de Ig-superfamilie en bestaan uit een constant en een polymorf variabel gebied. Het variabele gebied van de TCRα/β is betrokken bij de herkenning van antigeenpeptiden die worden gepresenteerd door het MHC-complex van antigeen-presenterende cellen. Het TCRα/β-antigeen komt tot expressie op de meerderheid van de T-cellen van perifeer bloed.
tpm	Toeren per minuut
Transferzak	Zak met een slang en een spike aan het uiteinde.
Veiligheidsschakelaar van de pomp	Sensor die voorkomt dat de pomp wordt ingeschakeld wanneer de pompdeur geopend is
Vloeistofsensor	Component van het CliniMACS Plus Instrument dat vloeistof in de slangen detecteert
Voorfilter	40 µm filter tussen de Cell Preparation Bag en de voorkolom voor het afvangen van klonten en celafval
Voorkolom	Eerste kolom in de CliniMACS Tubing Set en de CliniMACS Tubing Set LS, dient als filter om cellen met niet-specifieke interacties met de kolommatrix af te vangen
Voorspoelen	Stap die voorafgaat aan de celscheiding, waarbij de slangenset wordt doorgespoeld met buffer
Wash Waste Bag	Opvangzak waarin het wassupernatant wordt opgevangen door scheiding van de gesedimenteerde celsuspensie na de centrifugeerstappen tijdens de monsterpreparatie
WBC	Witte bloedcellen

3 Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

In dit hoofdstuk worden de mogelijke risico's bij het gebruik van het CliniMACS Plus-systeem uitgelegd. De lokale veiligheidsinstructies voor de werkomgeving, beleidsrichtlijnen, normen voor goede productiepraktijken, gezondheid, veiligheid en het voorkomen van ongevallen moeten altijd worden opgevolgd. Raadpleeg de relevante hoofdstukken in de gebruiksaanwijzing van de betreffende componenten voor gebruiksinstructies, zoals waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen over de omgang met biogevaarlijke materialen en het cellulaire beginproduct en de componenten van het CliniMACS Plus-systeem. Gedetailleerde instructies over het gebruik van het CliniMACS Plus Instrument worden beschreven in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument.

Elk ernstig incident dat zich met betrekking tot dit product heeft voorgedaan, moet worden gemeld aan Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG – met gebruikmaking van de verstrekte contactinformatie – en aan de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker van dit product is gevestigd.

3.1 Procesgerelateerd

⚠ WAARSCHUWING

Risico van falen van de procedure of schade aan het instrument. Risico van falen van de procedure of schade aan het instrument bij uitvoering van de procedure door ongeschoolde operators. Alle verwerkingsprocedures mogen uitsluitend door geschoolde operators worden uitgevoerd. Operators zullen worden opgeleid door een gekwalificeerde vertegenwoordiger van Miltenyi Biotec.

⚠ VOORZICHTIG

Risico van verminderde procesprestatie. Temperaturen die lager of hoger zijn dan de kamertemperatuur kunnen leiden tot minder levensvatbaarheid, zuiverheid en opbrengst van de doelcellen. Voer de monsterpreparatie en celscheiding uit bij kamertemperatuur (+19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

⚠ VOORZICHTIG

De veiligheid van de apparatuur kan zijn aangetast. Als het instrument niet wordt gebruikt volgens de instructies van de fabrikant, dan tast dit de veiligheid van de apparatuur aan. Lees en begrijp de veiligheidsinformatie, waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en instructies voor de juiste bediening van het CliniMACS Plus-systeem in de gebruiksanwijzingen voor het CliniMACS Plus-systeem en in mogelijk door Miltenyi Biotec gepubliceerde veiligheidsgerelateerde aanbevelingen.

- Voor de productie en de toepassing van doelcellen bij mensen, moeten de nationale wetgeving en de nationale reglementen worden opgevolgd – voor de EU bijvoorbeeld Richtlijn 2004/23/EG (menselijke weefsels en cellen) of

Richtlijn 2002/98/EG (bloed en bloedbestanddelen van menselijke oorsprong). Elke klinische toepassing van de doelcellen valt dan ook uitsluitend onder de verantwoordelijkheid van de gebruiker van een CliniMACS Plus-systeem.

- Alle materialen die met bloed of bloedproducten in aanraking zijn gekomen, moeten worden behandeld als infectueus materiaal. Volg de richtlijnen voor de hantering van infectueuze materialen op.
- Alle slangen, aansluitingen, ventielen, de voorkolom en de scheidingskolom moeten tijdens het voorspoelen goed worden gecontroleerd op lekkages.
- Alle zakken, waaronder de zakken die voor de monsterpreparatie zijn gebruikt, moeten worden bewaard tot de definitieve analyse van de verzamelde cellen is afgerond en de succesvolle scheiding van de doelcellen is bevestigd.

3.2 CliniMACS-reagentia en biotineconjugaten

- Wanneer de doelcelfractie in patiënten worden geïnfundeerd of geïnjecteerd, kan deze sporen van muriene antilichamen en ijzer-dextraan bevatten.
- Ijzer-dextraanverbindingen en/of muriene antilichamen kunnen leiden tot allergische of anafylactische reacties bij patiënten. Uitrusting en medicatie voor intensieve verzorging dienen aanwezig te zijn.
- De scheiding van cellen met de CliniMACS-reagentia en biotineconjugaten mag alleen worden uitgevoerd door hiertoe geschoolde operators.
- Operators die de CliniMACS-reagentia en biotineconjugaten gebruiken, moeten ervaring hebben met de scheiding van cellen uit beenmerg of perifeer bloed.
- De niet-doelcellen zijn niet bedoeld voor therapeutisch gebruik en mogen niet opnieuw in patiënten worden geïnfundeerd.
- De CliniMACS-reagentia en biotineconjugaten zijn uitsluitend bedoeld voor *in vitro* gebruik en zijn niet bestemd voor therapeutisch gebruik of rechtstreekse infusie bij patiënten.
- De CliniMACS-reagentia en biotineconjugaten worden niet aanbevolen voor gebruik bij patiënten met een gekende of verwachte overgevoeligheid voor muis-immunoglobulines of ijzer-dextraan.
- Patiënten kunnen humane anti-muis antilichamen (HAMA) ontwikkelen.
- Niet gebruiken na de uiterste gebruiksdatum die op het productetiket is vermeld.
- Bij beschadigde verpakking niet gebruiken. Gebruik het reagens alleen als de verpakking onbeschadigd en verzegeld is.

3.3 Omgang met biogevaarlijke materialen

⚠ WAARSCHUWING

Risico van ernstig lichamelijk letsel of overlijden. Afhankelijk van de gebruikte biologische materialen, kan contact tot ernstig lichamelijk letsel of overlijden leiden. Draag altijd persoonlijke beschermingsmiddelen in overeenstemming met de geldende waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, vooral wanneer biogevaarlijke materialen worden of werden gebruikt.

- Om contaminatie van het cellulaire beginproduct te voorkomen, moeten alle preparatiestappen onder steriele omstandigheden en met aseptische technieken worden uitgevoerd (bijv. in de laminaire flowkast).
- De operator die de celscheiding uitvoert, moet zijn geschoold in het juiste gebruik van de apparatuur en in de hantering van bloedproducten en beenmergaspiraat.
- De operator die de celscheiding uitvoert, moet de juiste kleding dragen (d.w.z. laboratoriumjas, handschoenen en een veiligheidsbril) bij het werken met monsters van een patiënt en de hantering van mogelijk biogevaarlijke materialen.
- Alle bloedproducten moeten worden behandeld als potentieel biogevaarlijk. Leukafereseproducten, bloedproducten, beenmergaspiraat, verzamelde cellen, gebruikte buffer, gebruikte slangensets en andere materialen die in aanraking zijn gekomen met deze vloeistoffen, moeten worden behandeld als biogevaarlijke materialen, volgens de standaardvereisten van het ziekenhuis of de instelling.
- Het CliniMACS Plus Instrument moet worden beschouwd als een mogelijk biogevaar na elke scheidingsrun en worden gereinigd met een waterig biocidaal reinigingsmiddel (bijv. Bacillol® plus of Meliseptol®, zie ook 'Reiniging en desinfectie' in de CliniMACS Plus Instrument-gebruikershandleiding) volgens de standaardvereisten van het ziekenhuis of de instelling.
- Wegwerpproducten moeten worden behandeld als biogevaarlijke materialen volgens de standaardvereisten van het ziekenhuis of de instelling.

3.4 Cellulair beginproduct

BELANGRIJK

De labeling en scheiding van cellen moet zo snel mogelijk na verzameling van het cellulaire beginproduct beginnen. Het product mag niet ouder dan 24 uur zijn wanneer de labelings- en scheidingsprocedure begint.

- Het cellulaire beginproduct (bijv. leukafereseproduct) moet worden verzameld volgens standaard ziekenhuis- of instellingsprocedures, in standaard verzamelzakken.
- De verpakking van het cellulaire beginproduct moet worden gelabeld met patiëntidentificatiegegevens, tijd, datum en plaats van verzameling, volgens de gebruiksprocedures die in het klinische protocol zijn gespecificeerd.
- Voor het transport moet het cellulaire beginproduct worden verpakt in geïsoleerde verpakkingen en worden bewaard bij een gecontroleerde kamertemperatuur (+19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]), volgens de standaardprocedures van het ziekenhuis of de instelling voor het verzamelen van bloedproducten die zijn goedgekeurd voor het klinisch protocol. Niet gekoeld bewaren. De celconcentratie mag tijdens het transport niet hoger zijn dan $0{,}2\times10^9$ cellen per mL.
- Voorkom intensieve menging van het cellulaire beginproduct.
- Als het cellulaire beginproduct moet worden opgeslagen, bijv. 's nachts, moet het worden bewaard bij een gecontroleerde kamertemperatuur (+19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]). Tijdens de opslag mag de leukocytenconcentratie nooit hoger zijn dan $0{,}2\times10^9$ cellen per mL.
- Cellen moeten worden bewaard in autoloog plasma. Als de celconcentratie hoger is dan $0{,}2\times10^9$ cellen per mL, verdun het cellulaire beginproduct dan met autoloog plasma.

4 Het CliniMACS Plus-systeem

Het CliniMACS Plus-systeem, bestaande uit de componenten CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS-reagens/-reagentia, CliniMACS Tubing Set, CliniMACS PBS/EDTA Buffer, en andere toebehoren die in combinatie moeten worden gebruikt, is bedoeld voor de *in vitro*-scheiding van specifieke humane cellen voor klinische toepassingen.

BELANGRIJK
Raadpleeg voor de gebruiksaanwijzing ten aanzien van waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen die betrekking hebben op componenten van het CliniMACS Plus-systeem de gebruiksaanwijzing die bij de desbetreffende component wordt geleverd.

4.1 CliniMACS Plus Instrument

Het CliniMACS Plus Instrument is een elektromechanisch instrument met ingebouwde permanente magneet, een peristaltische pomp, ventielen, elektronica en software.

4.2 CliniMACS-reagentia en -biotineconjugaten

De CliniMACS-reagentia zijn donkergekleurde, niet-viskeuze, colloïdale vloeistoffen met daarin gebufferde celspecifieke antilichaamconjugaten. De reagentia bestaan uit de combinatie van een antilichaam dat chemisch verbonden is met super-paramagnetische deeltjes.

CliniMACS-biotineconjugaten zijn heldere, kleurloze oplossingen met gebufferde antilichamen met een covalente binding met biotine. De antilichamen zijn zeer specifiek, waardoor *in vitro* labelen van zeldzame doelcellen mogelijk is.

4.3 CliniMACS-slangensets

De CliniMACS-slangensets zijn gemaakt van steriel, voor eenmalig gebruik geschikt wegwerpmateriaal en ontworpen voor gebruik in combinatie met het CliniMACS Plus Instrument voor de *in vitro*-verrijking of depletie van humane cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

4.4 CliniMACS PBS/EDTA Buffer

De CliniMACS PBS/EDTA Buffer is een was- en transportvloeistof die bedoeld is voor het scheiden van humane cellen.

4.5 CliniMACS-toebehoren

- **plasma-transferset:**
  transferset met twee spikes voor plasma of vloeistoffen, Transfer Set Coupler/Coupler (REF 200-073-902) of gelijkwaardig
- **Luer/Spike Interconnector:**
  transferset met spike en spuitadapter (vrouwelijke luer) voor plasma of vloeistoffen, Luer/Spike Interconnector (REF 200-073-903) of gelijkwaardig

4.6 Vereiste aanvullende materialen

Naast de CliniMACS-producten zijn mogelijk aanvullende materialen nodig voor een CliniMACS Plus-scheidingsprocedure.

- **transferzakken, geschikt voor centrifugering:**
  transferzak 150 mL, Terumo of gelijkwaardig
  transferzak 600 mL, Terumo of gelijkwaardig
  transferzak 1.000 mL, Terumo of gelijkwaardig
- **celcultuurzakken, gasdoorlaatbaar:**
  MACS GMP Cell Differentiation Bag – 100 mL of gelijkwaardig
- **sampling site coupler:**
  sampling site coupler, Terumo of gelijkwaardig
- **voorfilter:**
  bloedtransfusiefilter, Haemonetics® of gelijkwaardig
- **spuiten en naalden:**
  geschikte spuiten (5 mL, 10 mL, 20 mL, 50 mL) en hypodermische 20 gauge naalden
- **slangenklem**
- **monsterbuisjes**
- **humaan serumalbumine (HSA):**
  Gebruik uitsluitend HSA van farmaceutische kwaliteit, dat als goedgekeurd product in het land van de gebruiker verkrijgbaar is.
- **immunoglobuline G van klinische kwaliteit:**
  Gebruik uitsluitend IgG van farmaceutische kwaliteit, dat als goedgekeurd geneesmiddel in het land van de gebruiker verkrijgbaar is, bijv. voor Duitsland: Gamunex® 10% of gelijkwaardig.
- **celcultuurmedium:**
  bijv. RPMI 1640 of gelijkwaardig
- **toepassingsspecifieke materialen:**
  individueel gebiotinyleerd celspecifiek antilichaam of ligand; AB serum of, als alternatief, autoloog serum

4.7 Vereiste apparatuur

- **noodstroomvoorziening (UPS):**
  aanbevolen UPS: APC Smart-UPS 1500VA USB & Serial 230 V, vervaardigd door APC (American Power Conversion) of gelijkwaardig
- **laminaire flowkast**
- **steriele slangaansluiting:**
  Terumo Sterile Connection Device (TSCD®) of gelijkwaardig
- **horizontale menger:**
  platformschudders, Heidolph Instruments of gelijkwaardig
- **centrifuge:**
  centrifuge, Sorvall of gelijkwaardig, en centrifugebakken met aerosolopvangdoppen
- **plasma-extractor:**
  Plasma Separation Stand, Terumo Equipment of gelijkwaardig
- **tafelweegschaal:**
  Laboratory Balance, Mettler Toledo of gelijkwaardig, met een capaciteit van 1 kg; resolutie tot 0,1 g
- **afsmelteenheid voor slangen:**
  Hematron III handsealer, Baxter of gelijkwaardig
- **slangenstripper:**
  Tube Stripper, Baxter of gelijkwaardig
- **opvangbakken voor biogevaarlijk afval**

Aanvullende apparatuur voor het CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma):

- 24-wells petrischaaltje Corning™ Costar™ 24 well culture plate, Sigma Aldrich of gelijkwaardig
- MiniMACS™ -scheidingseenheid, Miltenyi Biotec, (REF 130-042-102)
- MS Columns, Miltenyi Biotec, (REF 130-042-201)
- Voorscheidingsfilter Pre-Separation Filter, Miltenyi Biotec, (REF 130-041-407)
- MACSmix™ Tube Rotator, Miltenyi Biotec, (REF 130-090-753)

5 Overzicht van toepassingen

5.1 Vier STAPPEN naar uw doelcellen

In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van de CliniMACS Plus-scheidingsprocedure. De CliniMACS Plus-scheidingsprocedure wordt uitgevoerd in vier STAPPEN. In de eerste stap worden de cellen geprepareerd en magnetisch gelabeld. In de tweede stap wordt een geschikt scheidingsprogramma geselecteerd. In de derde stap wordt de slangenset op het CliniMACS Plus Instrument geïnstalleerd, en in de vierde stap worden de cellen automatisch gescheiden.

Het kan nodig zijn de toepassingsgerelateerde procesgegevens op te nemen. Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support voor ondersteunende werkbladen.

De gebruikershandleiding van CliniMACS Plus-toepassingen beschrijft verschillende opties voor elke stap (verschillende reagentia, slangensets en programma's). Voordat een toepassing wordt gestart, moeten de toepassingsspecifieke hoofdstukken (hoofdstuk 6) en een gedetailleerde uitleg van STAP 1–4 (hoofdstuk 7) worden geselecteerd met behulp van de overzichtstabel, die op de volgende pagina begint. De overzichtstabel bevat informatie over de toepasselijke paragrafen in de gebruikershandleiding. De overzichtstabel is gebaseerd op de soort en het aantal reagentia, het aantal cellen, de soort slangenset en het relevante scheidingsprogramma dat voor de scheidingsprocedure nodig is.

STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

STAP 1 beschrijft de preparatie van het celproduct en de magnetische labeling van de specifieke cellen, die het betreffende antigeen tot expressie brengen. Volg de instructies in de toepasselijke paragraaf. Ga door met STAP 2.

STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

STAP 2 beschrijft de selectie van een scheidingsprogramma van het CliniMACS Plus Instrument. Afhankelijk van de soort en het aantal te scheiden cellen moeten verschillende programma's worden geselecteerd. Raadpleeg de overzichtstabel op de volgende pagina om te bepalen welk programma van toepassing is. Lees de betreffende paragraaf voor het geselecteerde scheidingsprogramma. Volg de instructies in de toepasselijke paragraaf. Ga door met STAP 3.

STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

In STAP 3 wordt de installatie van de slangenset op het CliniMACS Plus Instrument uitgelegd. Volg de instructies in de toepasselijke paragraaf. Ga door met STAP 4.

STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

STAP 4 beschrijft de geautomatiseerde CliniMACS Plus-scheidingsprocedure. Het CliniMACS Plus Instrument voert de (in STAP 2 geselecteerd) geautomatiseerde celscheidingsprocedure uit. Volg de instructies in de toepasselijke paragraaf.

BELANGRIJK

De overzichtstabel op de volgende pagina's geeft een samenvatting van de informatie over typische toepassingen van de CliniMACS-reagentia. Wanneer een verschillend aantal doelcellen moet worden gescheiden, moeten de instructies in het toepassingsspecifieke overzicht worden geraadpleegd voor informatie over de maximumcapaciteit van de betreffende toepassing. Volg de instructies in de toepassingsspecifieke paragraaf en de gedetailleerde uitleg van STAP 1-4. Zie overzichtstabel.

5.2 Overzichtstabel

Capaciteit van de toepassing	Reagens-flesje(s)	Slangenset	Scheidingspro-gramma	Toepassings-specifieke paragraaf	Paragrafen met gedetailleerde uitleg van STAP 1-4			
					STAP 1	STAP 2	STAP 3	STAP 4
Anti-Biotin (REF 173-01) – Verrijking								
Totaal max. ≤40×10^9 cellen	1× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.3	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
Anti-Biotin (REF 173-01) – Depletie (normale toepassing)								
Totaal max. ≤40×10^9 cellen	1× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.3	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
Anti-Biotin (REF 173-01) – Depletie (grootschalige toepassing)								
Totaal max. >40–80×10^9 cellen	2× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.3	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CCS (REF 279-01) – Verrijking								
IFN-afscheidende cellen van in totaal ≤1×10^9 cellen	1 kit (2 reagens-flesjes)	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.17	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
CD1c (BDCA-1)-Biotin (REF 277-01) – Depletie - Deel 1 van 2								
≤5×10^9 CD19-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen (WBC)	1× CD19 Reagent en 1× CD1c (BDCA-1)-Biotin	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.12	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD1c (BDCA-1)-Biotin (REF 277-01) – Depletie - Deel 2 van 2								
≤0,2×10^9 CD1c (BDCA-1)-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen (WBC)	1× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.13	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
CD3 (REF 273-01) – Depletie (normale toepassing)								
≤15×10^9 CD3-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD3 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.5	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD3 (REF 273-01) – Depletie (grootschalige toepassingen)								
>15–20×10^9 CD3-positieve cellen van in totaal >40–80×10^9 cellen	2× CD3 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.5	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD3 (REF 273-01) – Depletie (normale toepassing)								
≤15×10^9 CD3-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD3 Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.5	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5

Capaciteit van de toepassing	Reagens-flesje(s)	Slangenset	Scheidingspro-gramma	Toepassings-specifieke paragraaf	Paragrafen met gedetailleerde uitleg van STAP 1-4			
					STAP 1	STAP 2	STAP 3	STAP 4
CD3 (REF 273-01) – Depletie (grootschalige toepassingen)								
>15–30×10^9 CD3-positieve cellen van in totaal >40–80×10^9 cellen	2× CD3 Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.5	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5
CD4 (REF 276-01) – Verrijking								
≤5×10^9 CD4-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD4 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.10	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
CD4 (REF 276-01) – Depletie								
≤12×10^9 CD4-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD4 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.10	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD8 (REF 275-01) – Verrijking								
≤4×10^9 CD8-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD8 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.8	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
CD8 (REF 275-01) – Depletie								
≤4×10^9 CD8-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD8 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.8	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD4/CD8-combinatie (REF 276-01/REF 275-01) – Depletie								
≤12×10^9 CD4-positieve cellen en ≤4×10^9 CD8-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD4 Reagent en 1× CD8 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.11	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD14 (REF 272-01) – Verrijking								
≤4×10^9 CD14-positieve cellen van in totaal ≤20×10^9 cellen	1× CD14 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.2	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
CD19 (REF 179-01) – Depletie								
≤5×10^9 CD19-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD19 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.6	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD3/CD19-combinatie (REF 273-01/REF 179-01) – Depletie								
≤15×10^9 CD3-positieve cellen en ≤5×10^9 CD19-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD3 Reagent en 1× CD19 Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.7	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5

Capaciteit van de toepassing	Reagens-flesje(s)	Slangenset	Scheidingspro-gramma	Toepassings-specifieke paragraaf	Paragrafen met gedetailleerde uitleg van STAP 1-4			
					STAP 1	STAP 2	STAP 3	STAP 4
CD25 (REF 274-01) – Verrijking								
≤0,6×10^9 CD25-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen (WBC)	1× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.9	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
CD25 (REF 274-01) – Verrijking								
≤0,6×10^9 CD25-positieve cellen/ cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt van in totaal ≤40×10^9 cellen (WBC)	1× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.9	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
CD25 (REF 274-01) – Depletie (normale toepassing)								
≤6×10^9 CD25-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen (WBC)	1× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.9	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD25 (REF 274-01) – Depletie (grootschalige toepassingen)								
>6–12×10^9 CD25-positieve cellen van in totaal >40–80×10^9 cellen (WBC)	2× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6,9	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD34 (REF 171-01) – Verrijking (normale toepassing)								
≤0,6×10^9 CD34-positieve cellen van in totaal ≤60×10^9 cellen	1× CD34 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	CD34 SELECTION 1	6.1	7.1	7.2.2	7.3.1	7.4.1
CD34 (REF 171-01) – Verrijking (grootschalige toepassing)								
>0,6–1.2×10^9 CD34-positieve cellen van in totaal >60–120×10^9 cellen	2× CD34 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01)	CD34 SELECTION 2	6.1	7.1	7.2.2	7.3.1	7.4.1
CD45RA (REF 701-46) – Depletie								
≤20×10^9 CD45RA-positieve cellen van in totaal ≤50×10^9 cellen	1× CD45RA Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.16	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5
CD56 (REF 271-01) – Verrijking								
≤5×10^9 CD56-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD56 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.4	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
CD304 (BDCA-4) (REF 278-01) – Verrijking								
≤0,2×10^9 CD304 (BDCA-4)-positieve cellen van in totaal ≤40×10^9 cellen	1× CD304 (BDCA-4) Reagent	1× CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.14	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3

Capaciteit van de toepassing	Reagens-flesje(s)	Slangenset	Scheidingspro-gramma	Toepassings-specifieke paragraaf	Paragrafen met gedetailleerde uitleg van STAP 1-4			
					STAP 1	STAP 2	STAP 3	STAP 4
TCRα/β-Biotin (REF 701-48/REF 173-01) – Depletie								
≤24×10^9 TCRα/β-positieve cellen van in totaal ≤60×10^9 cellen	1× TCRα/β-Biotin en 2× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.15	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5

Tabel 5.1: Overzicht van beschikbare toepassingen met bijbehorende slangensets en scheidingsprogramma's

6 Toepassingsspecifiek overzicht van STAPPEN 1–4

6.1 Verrijking van CD34-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD34 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD34 Reagent, de CliniMACS Tubing Set of de CliniMACS Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking van humane CD34-positieve hematopoëtische progenitorcellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.1.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetisch labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

- Normale toepassing: tot $0{,}6\times10^9$ CD34-positieve cellen uit een totaal van maximaal 60×10^9 cellen (WBC)
- Grootschalige toepassing: groter dan $0{,}6\times10^9$ en tot $1{,}2\times10^9$ CD34-positieve cellen uit een totaal van maximaal 120×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal	Scheidingsprogramma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD34 Reagent	171-01	1 flesje (normaal) 2 flesjes (grootschalig)	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset	CD34 SELECTION 1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset	CD34 SELECTION 2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1.000 mL zakken[1]	–

1 Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.1: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD34-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bags:**
  drie 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 150 mL transferzak in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset
- één voorfilter
- slangenklem
- geschikte spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetisch labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Als het gewicht van het cellulaire beginproduct meer dan 200 g is, maar het aantal cellen minder is dan een totaal van 120×10^9 cellen en $1{,}2\times10^9$ CD34 positieve cellen, centrifugeer het monster dan om het volume tot maximaal 200 g te reduceren en ga dan verder met de volgende stappen.

▶ Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g) (normale toepassing) of 190 g (±5 g) (grootschalige toepassing)

1. Verwijder het supernatant om het monster aan te passen met behulp van de volgende vergelijking: Gewicht van het te verwijderen supernatant = Gewicht van het verdunde celproduct – Labelingsvolume
2. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD34 Reagent

1. Voeg 1 of 2 flesjes CliniMACS CD34 Reagent toe (zie Tabel 6.1). Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

▶ Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (200×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan deze waarden, worden in totaal drie wasstappen (in plaats van slechts twee) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5 Vul de Cell Preparation Bag met buffer.
6. Centrifugeer (200×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
7. Verwijder zoveel mogelijk supernatant.
8. Resuspendeer de celpellet.
9. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 150 g (normale toepassing) of 275 g (grootschalige toepassing).

Noot: Neem een monster na verwijdering van overtollig reagens voor latere analyse (optioneel).

6.1.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

▶ Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument

▶ Selectie van scheidingsprogramma CD34 SELECTION 1/2

(gebruik 1 flesje: CD34 SELECTION 1, of gebruik 2 flesjes: CD34 SELECTION 2)

Zie paragraaf 7.2.2 op pagina 131.

6.1.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.1.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.1 op pagina 188.

6.2 Verrijking van CD14-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD14 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD14 Reagent, de CliniMACS Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking van humane CD14-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.2.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 4×10^9 CD14-positieve cellen uit een totaal van maximaal 20×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD14 Reagent	272-01	1 flesje
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1.000 mL zakken[1]

1 Zie Tabel 6.3 en Tabel 6.4. Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.2: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD14-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en één plasma-transferset, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 150 mL of één 600 mL transferzak in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset (zie Tabel 6.4)
- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag en de Buffer Waste Bag noodzakelijk is:**
  twee 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.4)
- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één plasma-transferset voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.4)
- één voorfilter
- slangenklem
- geschikte spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden

Overzicht van vereiste materialen

Celpreparatie		
Totaal aantal cellen (WBC)	20×10^9	20×10^9
Gelabelde cellen	$\leq2\times10^9$	$2\text{-}4\times10^9$
Aantal reagensflesjes	1	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	1.000 mL
Plasma-transferset	1	1

Tabel 6.3: Materiaal dat vereist is voor de celpreparatie van CD14-positieve cellen

Scheiding:		
Gelabelde cellen	≤2×10^9	>2–4×10^9
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–	
Priming Waste Bag	–	–
Cell Collection Bag	150 mL	600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL
Plasma-transferset	–	1

Tabel 6.4: Materiaal dat vereist is voor de verrijking van CD14-positieve cellen

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

▶ Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van het cellulaire beginproduct

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume 50 g (±5 g)

1. Verwijder het supernatant om het monster aan te passen met behulp van de volgende vergelijking: Gewicht van te verwijderen supernatant = Gewicht van het cellulaire beginproduct – Labelingsvolume
2. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD14 Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD14 Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 15 minuten bij KT.

- **Verwijdering van overtollig reagens**

  1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
  2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
  3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder dan 500 g is, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
  4. Resuspendeer de celpellet.
  5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

  Noot: Neem een monster na verwijdering van overtollig reagens voor latere analyse (optioneel).

6.2.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 1.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.3 op pagina 133.

6.2.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.2.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.2 op pagina 192.

6.3 Verrijking/depletie met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent

Het CliniMACS Plus Anti-Biotin System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS Anti-Biotin Reagent, de CliniMACS Tubing Set of de CliniMACS Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking of depletie van humane cellen die eerder met gebiotinyleerde antilichamen zijn gelabeld.

6.3.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

- **Verrijking:** tot in totaal 40×10^9 cellen (WBC)
- **Depletie:**
  Normale toepassing: tot in totaal 40×10^9 cellen (WBC)
  Grootschalige toepassing: meer dan 40 en maximaal 80×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal	Scheidingsprogramma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS Anti-Biotin Reagent	173-01	• 1 flesje (normaal) • 2 flesjes (grootschalig)	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset	ENRICHMENT 1.1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	• 3×1.000 mL zakken[1] (normaal) • 4×1.000 mL zakken[1] (grootschalig)	–

1 De hoeveelheid buffer varieert afhankelijk van het geselecteerde scheidingsprogramma en het aantal gelabelde cellen (zie Tabel 6.6 tot Tabel 6.9). Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.5: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking/depletie met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 600 mL of één 1.000 mL transferzak in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset (zie Tabel 6.7 en Tabel 6.9)
- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag, de Buffer Waste Bag en/of de Priming Waste Bag noodzakelijk is:**
  twee tot drie 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.7 en Tabel 6.9). Vervang de Priming Waste Bag met behulp van de steriele slangaansluiting.
- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één tot twee plasma-transfersets voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.7 en Tabel 6.9)
- één voorfilter
- slangenklem
- geschikte spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes
- individueel gebiotinyleerd celspecifiek antilichaam of ligand

Overzicht van materialen

Celpreparatie (ENRICHMENT 1.1)	
Totaal aantal cellen (WBC)	$\leq 40 \times 10^9$
Aantal reagensflesjes	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	2.000 mL
Plasma-transferset	2

Tabel 6.6: Materialen die vereist zijn voor celpreparatie (ENRICHMENT 1.1)

Scheiding (ENRICHMENT 1.1)		
Gelabelde cellen	≤2×10^9	>2–5×10^9
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–	
Priming Waste Bag	–	–
Cell Collection Bag	600 mL	600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL
Plasma-transferset	–	1

Tabel 6.7: Materialen die vereist zijn voor verrijking (ENRICHMENT 1.1)

Celpreparatie (DEPLETION 2.1)		
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9	>40–80×10^9
Aantal reagensflesjes	1	2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	2.000 mL	2.000 mL
Plasma-transferset	2	2

Tabel 6.8: Materialen die vereist zijn voor celpreparatie (DEPLETION 2.1)

Scheiding (DEPLETION 2.1)			
Gelabelde cellen	<5×10^9	5–13×10^9	>13–20×10^9
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–		
Priming Waste Bag	–	–	
Cell Collection Bag	600 mL	1.000 mL	1.000 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3	4
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL	3.000 mL
Plasma-transferset	–	1	2

Tabel 6.9: Materialen die vereist zijn voor depletie (DEPLETION 2.1)

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

Centrifugeren

1. Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).
2. Verwijder het supernatant om het volume voor de primaire antilichaamlabeling aan te passen zoals aanbevolen door de fabrikant van het primaire antilichaam.
3. Resuspendeer de celpellet.

Labelen van de cellen: incubatie met het primaire antilichaam

Volg de gebruiksaanwijzing van de fabrikant van het primaire antilichaam.

Verwijdering van overtollig conjugaat (1e was)

1. Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van celproduct
2. Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g) (normale toepassing) of 190 g (±5 g) (grootschalige toepassing)

1. Verwijder het supernatant om het monster aan te passen met behulp van de volgende vergelijking: Gewicht van te verwijderen supernatant = Gewicht van het verdunde celproduct – Labelingsvolume

   Noot: Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder dan 500 g is, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
2. Resuspendeer de celpellet.

Magnetische labeling van de cellen: incubatie met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent

1. Voeg 1 of 2 flesjes CliniMACS Anti-Biotin Reagent toe (zie Tabel 6.6 en Tabel 6.8). Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

- **Verwijdering van overtollig reagens (2e was)**

  1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
  2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
  3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan de bovengenoemde waarde, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
  4. Resuspendeer de celpellet.
  5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g (normale toepassing) of 200 g (grootschalige toepassing).

  Noot: Neem een monster na verwijdering van overtollig reagens voor latere analyse (optioneel).

6.3.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 1.1 of DEPLETION 2.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.3 op pagina 133 of 7.2.5 op pagina 140.

6.3.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.3.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.2 op pagina 192 en 7.4.4 op pagina 200.

6.4 Verrijking van CD56-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD56 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD56 Reagent, de CliniMACS Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking van humane CD56-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.4.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 5×10^9 CD56-positieve cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD56 Reagent	271-01	1 flesje
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1.000 mL zakken[1]

1 Zie Tabel 6.11 en Tabel 6.12. Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.10: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD56-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en één plasma-transferset, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 150 mL of één 600 mL transferzak in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset (zie Tabel 6.12)

- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag en de Buffer Waste Bag noodzakelijk is:**
  twee 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.12)
- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één plasma-transferset voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.12)
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

Overzicht van vereiste materialen

Celpreparatie	
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9
Aantal reagensflesjes	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL
Plasma-transferset	1

Tabel 6.11: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD56-positieve cellen

Scheiding:		
Gelabelde cellen	<2×10^9	>2–5×10^9
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–	
Priming Waste Bag	–	–
Cell Collection Bag	150 mL	600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL
Plasma-transferset	–	1

Tabel 6.12: Materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD56-positieve cellen

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

Analyse van het cellulaire beginproduct

Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van het cellulaire beginproduct

Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB = 95 g + Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de cellen.

Incubatie met het CliniMACS CD56 Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD56 Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan 500 g, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 150 g.

Noot: Neem een monster na verwijdering van overtollig reagens voor latere analyse (optioneel).

6.4.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 1.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.3 op pagina 133.

6.4.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.4.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.2 op pagina 192.

6.5 Depletie van CD3-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD3 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD3 Reagent, de CliniMACS Tubing Set LS of de CliniMACS Depletion Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* depletie van humane CD3-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.5.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

- Normale toepassing: tot 15×10^9 CD3-positieve cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set LS of de CliniMACS Depletion Tubing Set
- Grootschalige toepassing: meer dan 15×10^9 en maximaal 20×10^9 CD3-positieve cellen uit een totaal van meer dan 40×10^9 en maximaal 80×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set LS of meer dan 15×10^9 en maximaal 30×10^9 CD3-positieve cellen uit een totaal van meer dan 40×10^9 en maximaal 80×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Depletion Tubing Set

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal	Scheidingsprogramma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	
CliniMACS CD3 Reagent	273-01	• 1 flesje (normaal) • 2 flesjes (grootschalig)	
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset	DEPLETION 2.1
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 slangenset	DEPLETION 3.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Tot 5×1.000 mL zakken[1]	

1 Zie Tabel 6.14 tot Tabel 6.16. Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

2 **Opmerking:** Bij hoge aantallen gelabelde cellen wordt het gebruik van een CliniMACS Depletion Tubing Set aanbevolen om de verwerkingstijd te verkorten (bijv. 20×10 gelabelde cellen worden verwerkt binnen vijf uur met de CliniMACS Tubing Set LS versus twee uur met een CliniMACS Depletion Tubing Set).

Tabel 6.13: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de depletie van CD3-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één tot twee 600 mL transferzakken in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset

  Als voor de scheiding twee Cell Collection Bags nodig zijn, moet een plasma-transferset worden gebruikt voor de aansluiting van beide zakken. Eén 600 mL transferzak is al aangesloten op de CliniMACS Depletion Tubing Set (zie Tabel 6.15 en Tabel 6.16).
- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag, de Buffer Waste Bag en/of de Priming Waste Bag noodzakelijk is:**
  twee tot drie 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.15 en Tabel 6.16)

  Vervang de Priming Waste Bag met behulp van de steriele slangaansluiting.
- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één tot twee plasma-transfersets voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.15 en Tabel 6.16)
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- immunoglobuline G van klinische kwaliteit
- monsterbuisjes

BELANGRIJK
Na invoer van de monsterparameters (STAP 2), berekent de CliniMACS Plus-software de volumes die worden verzameld in de Reapplication Bag, Cell Collection Bag, Non-Target Cell Bag en Buffer Waste Bag. Als het volume van de berekende vloeistof het standaardvolume van 500 mL overschrijdt, moeten de zakken worden vervangen.

Overzicht van vereiste materialen

Celpreparatie		
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9	>40–80×10^9
Gelabelde cellen	≤15×10^9	>15–30×10^9
Aantal reagensflesjes	1	2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	2.000 mL	2.000 mL
Plasma-transferset	2	2
Vullingsvolume van celsuspensie	150 mL	250–300 mL

Tabel 6.14: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD3-positieve cellen

Scheiding (DEPLETION 2.1)			
Gelabelde cellen	≤5×10^9	>5–13×10^9	>13–20×10^9
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–		
Priming Waste Bag	–	–	
Cell Collection Bag	600 mL	1-2×600 mL	2×600 mL
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL	3.000 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3	3
Plasma-transferset	–	1-2	3

Tabel 6.15: Materialen die vereist zijn voor de depletie van CD3-positieve cellen (DEPLETION 2.1)

Scheiding (DEPLETION 3.1)		
Gelabelde cellen	≤29×10^9	>29-30×10^9
Non-Target Cell Bag	Geen zakvervanging nodig	
Buffer Waste Bag		
Reapplication Bag		
Cell Collection Bag	–	1×600 mL (extra)
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	
Plasma-transferset	–	1

Tabel 6.16: Materialen die vereist zijn voor de depletie van CD3-positieve cellen (DEPLETION 3.1)

Noot: De materialen die vereist zijn voor de scheiding kunnen ook worden bepaald door het CliniMACS Plus Instrument in te schakelen, het scheidingsprogramma te selecteren dat moet worden gebruikt (DEPLETION 2.1 voor de CliniMACS Tubing Set LS en DEPLETION 3.1 voor de CliniMACS Depletion Tubing Set) en de monsterparameters in te voeren. De CliniMACS Plus-software berekent de vereiste maten van de zakken die op de slangenset moeten worden aangesloten en het vereiste gewicht van de buffer.

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

Analyse van het cellulaire beginproduct

Bepaal het totaal aantal CD3-gelabelde cellen (waaronder niet-specifieke CD3-binding, niet alleen echte T-cellen). Houd rekening met dit aantal voor de toepassingsspecificaties en bij de invoer van de monsterparameters (zie STAP 2).

Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van het cellulaire beginproduct

Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g) (normale toepassing) of 190 g (±5 g) (grootschalige toepassing)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking (houd rekening met het IgG-gewicht): Streefgewicht van gevulde CPB = Labelingsvolume – IgG-gewicht + Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de celpellet.

Incubatie met immunoglobuline van klinische kwaliteit

1. Voeg IgG toe (1,5 mg/mL).
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 5 minuten bij KT.

Incubatie met het CliniMACS CD3 Reagent

1. Voeg 1 of 2 flesjes CliniMACS CD3 Reagent toe (zie Tabel 6.14). Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

- **Verwijdering van overtollig reagens**

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder dan 500 g is, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 150 g (normale toepassing) of 250-300 g (grootschalige toepassing).

6.5.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**

- **Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 2.1 of DEPLETION 3.1**
  (tijdens het gebruik van de CliniMACS Tubing Set LS of de CliniMACS Depletion Tubing Set)

- **Invoer van monsterparameters**
  (overeenkomstig de analyse van het cellulaire beginproduct (zie STAP 1))

Zie paragraaf 7.2.5 op pagina 140 of 7.2.6 op pagina 146.

6.5.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

of

- **CliniMACS Depletion Tubing Set**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152 of 7.3.3 op pagina 173.

6.5.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**

- **Zakken losmaken en procescode noteren**

- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**

- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.4 op pagina 200 en 7.4.5 op pagina 204.

6.6 Depletie van CD19-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD19 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD19 Reagent, de CliniMACS Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* depletie van humane CD19-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.6.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 5×10^9 CD19-positieve cellen van in totaal 40×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD19 Reagent	179-01	1 flesje
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	2×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.17: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de depletie van CD19-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en één plasma-transferset, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 600 mL transferzak in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset
- één voorfilter
- slangenklem

- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

▶ Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van het cellulaire beginproduct

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB = 95g + Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD19 Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD19 Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

- **Verwijdering van overtollig reagens**

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder dan 500 g is, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

6.6.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 2.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.5 op pagina 140.

6.6.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.6.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.4 op pagina 200.

6.7 Depletie van CD3-positieve cellen en CD19-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD3/CD19 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD3 Reagent, het CliniMACS CD19 Reagent, de CliniMACS Depletion Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de gelijktijdige *in vitro* depletie van humane CD3-positieve cellen en menselijke CD19-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.7.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 15×10^9 CD3-positieve cellen en tot 5×10^9 CD19-positieve cellen van in totaal 40×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD3 Reagent	273-01	1 flesje
CliniMACS CD19 Reagent	179-01	1 flesje
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	4×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.18: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de depletie van CD3-positieve cellen en CD19-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één tot twee 600 mL transferzakken in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- immunoglobuline G van klinische kwaliteit
- monsterbuisjes

BELANGRIJK
Na invoer van de monsterparameters (STAP 2), berekent de CliniMACS Plus-software de volumes die worden verzameld in de Reapplication Bag, Cell Collection Bag, Non-Target Cell Bag en Buffer Waste Bag. Als het volume van de berekende vloeistof het standaardvolume van 500 mL overschrijdt, moeten de zakken worden vervangen.

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

Bepaal het totaal aantal CD3- en CD19-gelabelde cellen (waaronder niet-specifieke CD3- en CD19-bindingen, niet alleen echte T- en B-cellen). Houd rekening met dit aantal voor de toepassingsspecificaties en bij de invoer van de monsterparameters (zie STAP 2).

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van het cellulaire beginproduct

Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

Aanpassen van het volume: labelingsvolume 87,5 g (±5 g)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking (houd rekening met het IgG-gewicht): Streefgewicht van gevulde CPB = 87,5g – IgG-gewicht + Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de celpellet.

Incubatie met immunoglobuline van klinische kwaliteit

1. Voeg IgG toe (1,5 mg/mL).
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 5 minuten bij KT.

Incubatie met het CliniMACS CD3 Reagent en het CliniMACS CD19 Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD3 Reagent en 1 flesje CliniMACS CD19 Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan 500 g, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 150 g.

6.7.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 3.1**
- **Invoer van monsterparameters**
  (overeenkomstig de analyse van het cellulaire beginproduct (zie STAP 1))

Zie paragraaf 7.2.6 op pagina 146.

6.7.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Depletion Tubing Set**

Zie paragraaf 7.3.3 op pagina 173.

6.7.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.5 op pagina 204.

6.8 Verrijking / depletie van CD8-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD8 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD8 Reagent, de CliniMACS Tubing Set of de CliniMACS Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking of depletie van humane CD8-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.8.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

- **Verrijking:** tot 4×10^9 gelabelde cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set

- **Depletie:** tot 4×10^9 gelabelde cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set LS

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal	Scheidingsprogramma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD8 Reagent	275-01	1 flesje	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset	ENRICHMENT 1.1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Tot 4×1.000 mL zakken[1]	–

1 Zie Tabel 6.20 tot Tabel 6.22. Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.19: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking/depletie van CD8-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en één plasma-transferset, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 600 mL transferzak in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset (zie Tabel 6.21 en Tabel 6.22)
- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag en de Buffer Waste Bag noodzakelijk is:**
  twee 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.21 en Tabel 6.22
- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één plasma-transferset voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.21 en Tabel 6.22)
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden

- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

BELANGRIJK

Na invoer van de monsterparameters (STAP 2), berekent de CliniMACS Plus-software de volumes die worden verzameld in de Priming Waste Bag , Cell Collection Bag, Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Als het volume van de berekende vloeistof het standaardvolume van 500 mL overschrijdt, moeten de zakken worden vervangen volgens het volgende overzicht van vereiste materialen.

Overzicht van vereiste materialen

Celpreparatie	
Totaal aantal cellen	≤40×10^9
Gelabelde cellen	≤4×10^9
Aantal reagensflesjes	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL
Plasma-transferset	1
Vullingsvolume van celsuspensie	100 mL

Tabel 6.20: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD8-positieve cellen

Scheiding (ENRICHMENT 1.1)		
Gelabelde cellen	<2×10^9	2-4×10^9
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door de slangenset met 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–	
Priming Waste Bag	–	–
Cell Collection Bag	600 mL	600 mL
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasma-transferset	–	1

Tabel 6.21: Materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD8-positieve cellen

Scheiding (DEPLETION 2.1)	
Gelabelde cellen	≤4×10^9
Negative Fraction Bag	Geen zakvervanging nodig
Buffer Waste Bag	
Priming Waste Bag	
Cell Collection Bag	600 mL
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL
Luer/Spike Interconnector	1

Tabel 6.22: Materialen die vereist zijn voor de depletie van CD8-positieve cellen

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

▶ Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen. Bereken het streefgewicht van de CPB gevuld met verdund celproduct met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB = 95g – Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD8 Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD8 Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

▶ Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).

3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan 500 g, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

6.8.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 1.1 of DEPLETION 2.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.3 op pagina 133 of 7.2.5 op pagina 140.

6.8.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.8.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.2 op pagina 192 of 7.4.4 op pagina 200.

6.9 Verrijking / depletie van CD25-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD25 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD25 Reagent, de CliniMACS Tubing Set of de CliniMACS Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking of depletie van humane CD25-positieve cellen - bij voorkeur cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt - uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.9.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

- **Verrijking:** CD25-positieve cellen of cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt: tot 0,6×10^9 gelabelde cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set
- **Depletie:**
  Normale toepassing: tot 6×10^9 CD25-positieve cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set LS
  Grootschalige toepassing: meer dan 6×10^9 en maximaal 12×10^9 CD25-positieve cellen uit een totaal van meer dan 40×10^9 en maximaal 80×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set LS

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal	Scheidingsprogramma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD25 Reagent	274-01	• 1 flesje (normaal) • 2 flesjes (grootschalig)	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset	ENRICHMENT 3.2
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Tot 4×1.000 mL zakken[1]	–

1 Zie Tabel 6.24 tot Tabel 6.27. Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.23: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking/depletie van CD25-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en één tot twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL (of twee 1.000 mL) transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 150 mL of één tot twee 600 mL transferzakken in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset

Als voor de scheiding twee Cell Collection Bags nodig zijn, moet een plasma-transferset worden gebruikt voor de aansluiting van beide zakken (zie Tabel 6.25 en Tabel 6.27).

- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag en de Buffer Waste Bag noodzakelijk is:**
  twee 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.25 en Tabel 6.27)
- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één plasma-transferset voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.25 en Tabel 6.27)
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

BELANGRIJK

Na invoer van de monsterparameters (STAP 2), berekent de CliniMACS Plus-software de volumes die worden verzameld in de Priming Waste Bag , Cell Collection Bag, Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Als het volume van de berekende vloeistof het standaardvolume van 500 mL overschrijdt, moeten de zakken worden vervangen volgens het volgende overzicht van vereiste materialen.

Overzicht van vereiste materialen

Celpreparatie (ENRICHMENT 3.2)		
Toepassing	**Verrijking van CD25-positieve cellen**	**Verrijking van cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt**
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9	≤40×10^9
Gelabelde cellen	≤$0{,}6\times10^9$	≤$0{,}6\times10^9$
Aantal reagensflesjes	1	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000–2.000 mL	2.000 mL
Plasma-transferset	1-2	2
Labelingsvolume	190 mL	380 mL
Labelingstemperatuur	Kamer-temperatuur	+4 °C tot +8 °C (+39 °F tot +46 °F)

Tabel 6.24: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD25-positieve cellen/cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt (ENRICHMENT 3.2)

Scheiding (ENRICHMENT 3.2)		
Toepassing	**Verrijking van CD25-positieve cellen**	**Verrijking van cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt**
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	1.000 mL
Negative Fraction Bag	Geen zakvervanging nodig	
Buffer Waste Bag		
Priming Waste Bag		
Cell Collection Bag	150 mL	150 mL
Luer/Spike Interconnector	1	1

Tabel 6.25: Materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD25-positieve cellen/cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt (ENRICHMENT 3.2)

Celpreparatie (DEPLETION 2.1)		
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9	>40-80×10^9
Gelabelde cellen	≤6×10^9	>6–12×10^9
Aantal reagensflesjes	1	2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000–2.000 mL	1.000–2.000 mL
Plasma-transferset	1–2	1–2
Labelingsvolume	95 mL	190 mL
Labelingstemperatuur	Kamer-temperatuur	Kamer-temperatuur

Tabel 6.26: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD25-positieve cellen (DEPLETION 2.1)

Scheiding (DEPLETION 2.1)		
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9	>40–80×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL voor <5×10^9 gelabelde cellen	2.000 mL voor 5–12×10^9 gelabelde cellen
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door de slangenset met 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–	
Priming Waste Bag	–	–
Cell Collection Bag	600 mL	2×600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasma-transferset	–	2

Tabel 6.27: Materialen die vereist zijn voor de depletie van CD25-positieve cellen (DEPLETION 2.1)

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

BELANGRIJK

- *Bewaar de buffer voor celpreparatie voor de verrijking of depletie van CD25-positieve cellen bij +19 °C tot +25 °C (+66 °F tot +77 °F).*
- *Magnetische labeling tijdens de celpreparatie voor de verrijking van cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt, moet worden uitgevoerd met een koude buffer (+4 °C tot +8 °C [+39 °F tot +46 °F]). Hogere of lagere temperaturen kunnen resulteren in verminderde zuiverheid en een lagere opbrengst van doelcellen.*

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

▶ Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume voor

verrijking van CD25-positieve cellen: 190 g (±5 g)
verrijking van cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt: 380 g (±5 g)[1]
depletie van CD25-positieve cellen (normale toepassing): 95 g
depletie van CD25-positieve cellen (grootschalige toepassing): 190 g

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB = Labelingsvolume + Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD25 Reagent

1. Voeg 1 of 2 flesjes CliniMACS CD25 Reagent toe (zie Tabel 6.24 en Tabel 6.26). Meng de inhoud voorzichtig.

1 De magnetische labeling voor de verrijking van cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt, moet worden uitgevoerd met een koude buffer (+4 °C tot +8 °C [+39 °F tot +46 °F]).

2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm):
   a) verrijking of depletie van CD25-positieve cellen: 30 minuten bij KT
   b) verrijking van cellen waarin CD25 sterk tot expressie komt: 15 minuten bij +4 °C tot +8 °C (+39 °F tot +46 °F)

▶ **Verwijdering van overtollig reagens**

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan 500 g, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g (normale toepassing) of 200 g (grootschalige toepassing).

6.9.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

▶ **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**

▶ **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 3.2 of DEPLETION 2.1**

▶ **Invoer van monsterparameters**
(niet voor ENRICHMENT 3.2)

Zie paragraaf 7.2.4 op pagina 138 of 7.2.5 op pagina 140.

6.9.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

▶ **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.9.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

▶ **Scheidingsprocedure**

▶ **Zakken losmaken en procescode noteren**

▶ **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**

▶ **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.3 op pagina 196 of 7.4.4 op pagina 200.

6.10 Verrijking / depletie van CD4-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD4 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD4 Reagent, de CliniMACS Tubing Set of de CliniMACS Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking of depletie van humane CD4-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.10.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

- **Verrijking:** tot 5×10^9 gelabelde cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set
- **Depletie:** tot 12×10^9 gelabelde cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC) met de CliniMACS Tubing Set LS

Noot: Als het aantal berekende cellen de capaciteit van de toepassing overschrijdt, moet u het monster splitsen en doorgaan met elk monster afzonderlijk, met een nieuwe slangenset voor elke run met het CliniMACS Plus Instrument.

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal	Scheidingsprogramma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD4 Reagent	276-01	1 flesje	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset	ENRICHMENT 1.1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Tot 4×1.000 mL zakken[1]	–

1 Zie Tabel 6.29 tot Tabel 6.32. Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.28: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking/depletie van CD4-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en één plasma-transferset, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL (of twee 1.000 mL) transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 150 mL of één tot twee 600 mL transferzakken in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset

  Als voor de scheiding twee Cell Collection Bags nodig zijn, moet een plasma-transferset worden gebruikt voor de aansluiting van beide zakken (zie Tabel 6.30 en Tabel 6.32).
- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag, de Buffer Waste Bag en/of de Priming Waste Bag noodzakelijk is:**
  tot drie 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.30 en Tabel 6.32)

  Vervang de Priming Waste Bag met behulp van de steriele slangaansluiting.
- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één tot twee plasma-transfersets voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.30 en Tabel 6.32)
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

BELANGRIJK

Na invoer van de monsterparameters (STAP 2), berekent de CliniMACS Plus-software de volumes die worden verzameld in de Priming Waste Bag , Cell Collection Bag, Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Als het volume van de berekende vloeistof het standaardvolume van 500 mL overschrijdt, moeten de zakken worden vervangen volgens het volgende overzicht van vereiste materialen.

Overzicht van vereiste materialen

Celpreparatie (ENRICHMENT 1.1)	
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9
Gelabelde cellen	≤5×10^9
Aantal reagensflesjes	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL
Plasma-transferset	1

Tabel 6.29: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD4-positieve cellen (ENRICHMENT 1.1)

Scheiding (ENRICHMENT 1.1)		
Gelabelde cellen	≤2×10^9	>2–5×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–	
Priming Waste Bag	–	–
Cell Collection Bag	150 mL	600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasma-transferset	–	1

Tabel 6.30: Materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD4-positieve cellen (ENRICHMENT 1.1)

Celpreparatie (DEPLETION 2.1)	
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9
Gelabelde cellen	≤12×10^9
Aantal reagensflesjes	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL
Plasma-transferset	1

Tabel 6.31: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD4-positieve cellen (DEPLETION 2.1)

Scheiding (DEPLETION 2.1)		
Gelabelde cellen	<5×10^9	5–12×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door de slangenset met 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–	
Priming Waste Bag	–	–
Cell Collection Bag	1×600 mL	1–2×600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasma-transferset	–	1–2

Tabel 6.32: Materialen die vereist zijn voor de depletie van CD4-positieve cellen (DEPLETION 2.1)

Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

Analyse van het cellulaire beginproduct

Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

Centrifugeren

Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)

1. Verwijder het supernatant om het monster aan te passen met behulp van de volgende vergelijking: Gewicht van te verwijderen supernatant = Gewicht van het verdunde celproduct – 95 g
2. Resuspendeer de celpellet.

Incubatie met het CliniMACS CD4 Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD4 Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan 500 g, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

6.10.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 1.1 of DEPLETION 2.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.3 op pagina 133 en 7.2.5 op pagina 140.

6.10.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.10.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.2 op pagina 192 of 7.4.4 op pagina 200.

6.11 Depletie van CD4-positieve cellen en CD8-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD4/CD8 System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD4 Reagent, het CliniMACS CD8 Reagent, de CliniMACS Tubing Set LS en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de gelijktijdige *in vitro* depletie van humane CD4-positieve en CD8-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.11.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 12×10^9 CD4-positieve cellen en tot 4×10^9 CD8-positieve cellen van in totaal 40×10^9 cellen (WBC)

Noot: Als het aantal berekende cellen de capaciteit van de toepassing overschrijdt, moet u het monster splitsen en doorgaan met elk monster afzonderlijk, met een nieuwe slangenset voor elke run met het CliniMACS Plus Instrument.

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD4 Reagent	276-01	1 flesje
CliniMACS CD8 Reagent	275-01	1 flesje
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Tot 4×1.000 mL zakken[1]

1 Zie Tabel 6.34 en Tabel 6.35. Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.33: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de depletie van CD4-positieve cellen en CD8-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak, geschikt voor centrifugering, en één sampling site coupler en één plasma-transferset, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bag en Wash Waste Bag:**
  twee 600 mL (of twee 1.000 mL) transferzakken, geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één tot twee 600 mL transferzakken in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset

  Als voor de scheiding twee Cell Collection Bags nodig zijn, moet een plasma-transferset worden gebruikt voor de aansluiting van beide zakken (zie Tabel 6.35).
- **Als vervanging van de Negative Fraction Bag, de Buffer Waste Bag en/of de Priming Waste Bag noodzakelijk is:**
  tot drie 1.000 mL transferzakken in combinatie met twee Luer/Spike Interconnectors voor de aansluiting van de zakken op de slangenset (zie Tabel 6.35)

  Vervang de Priming Waste Bag met behulp van de steriele slangaansluiting.

- **Als voor de scheiding meer dan één liter buffer nodig is:**
  één tot twee plasma-transfersets voor de aansluiting van de bufferzakken (zie Tabel 6.35)
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

BELANGRIJK
Na invoer van de monsterparameters (STAP 2), berekent de CliniMACS Plus-software de volumes die worden verzameld in de Priming Waste Bag , Cell Collection Bag, Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Als het volume van de berekende vloeistof het standaardvolume van 500 mL overschrijdt, moeten de zakken worden vervangen volgens het volgende overzicht van vereiste materialen.

Overzicht van vereiste materialen

Celpreparatie	
Totaal aantal cellen (WBC)	≤40×10^9
Gelabelde cellen	<12×10^9 CD4-positieve cellen en ≤4×10^9 CD8-positieve cellen
Aantal reagensflesjes	1 flesje CliniMACS CD4 Reagent en 1 flesje CliniMACS CD8 Reagent
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL
Plasma-transferset	1

Tabel 6.34: Materialen die vereist zijn voor de celpreparatie van CD4-positieve CD8-positieve cellen

Scheiding:			
Gelabelde cellen	<5×10^9	5–13×10^9	>13–16×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1.000 mL	2.000 mL	3.000 mL
Negative Fraction Bag	–	Vervang de originele zakken van de slangenset door de slangenset met 1.000 mL transferzakken	Vervang de originele zakken van de slangenset door de slangenset met 1.000 mL transferzakken
Buffer Waste Bag	–		
Priming Waste Bag	–	–	
Cell Collection Bag	1×600 mL	1-2×600 mL	2×600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3	3
Plasma-transferset	–	1-2	3

Tabel 6.35: Materialen die vereist zijn voor de depletie van CD4-positieve CD8-positieve cellen

Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

Analyse van het cellulaire beginproduct

Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

Centrifugeren

Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F])

Aanpassen van het volume: labelingsvolume 88 g (±5 g)

1. Verwijder het supernatant om het monster aan te passen met behulp van de volgende vergelijking: Gewicht van te verwijderen supernatant = Gewicht van het verdunde celproduct – Labelingsvolume
2. Resuspendeer de celpellet.

Incubatie met het CliniMACS CD4 Reagent en het CliniMACS CD8 Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD4 Reagent en 1 flesje CliniMACS CD8 Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan 500 g, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.

4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

6.11.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 2.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.5 op pagina 140.

6.11.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.11.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.4 op pagina 200.

6.12 Verrijking van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen – Deel 1: Depletie van CD19-positieve cellen en labeling van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD1c (BDCA-1)-Biotin System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin, het CliniMACS CD19 Reagent, het CliniMACS Anti-Biotin Reagent, de CliniMACS Tubing Set LS, de CliniMACS Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking van humane CD1c (BDCA-1)-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties na depletie van CD19-positieve cellen.

6.12.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Depletie van tot 5×10^9 CD19-positieve cellen en labeling van tot $0{,}2\times10^9$ CD1c (BDCA-1)-positieve cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin	277-01	1 flesje
CliniMACS CD19 Reagent	179-01	1 flesje
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	2×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.36: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen (Deel 1)

Vereiste aanvullende materialen (voor Deel 1 en Deel 2)

- **Cell Preparation Bag:**
  twee 600 mL transferzakken, geschikt voor centrifugering, en twee sampling site couplers en drie plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedures
- **Plasma Waste Bags en Wash Waste Bags:**
  vijf 600 mL transferzakken geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag (Deel 1):**
  één 600 mL transferzak geschikt voor centrifugering: in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset
- **Cell Collection Bag (Deel 2):**
  één 150 mL transferzak geschikt voor centrifugering in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de transferzak op de slangenset
- twee voorfilters
- slangenklem

- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

Magnetische labeling van cellen (Deel 1)

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

▶ Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume 90 g (±5 g)

1. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
2. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag Deel 1(CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB Deel 1= 90 g + Gewicht van lege CPB
3. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD19 Reagent en het CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD19 Reagent en 1 flesje CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

▶ Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag Deel 1 met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder is dan 500 g, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.

4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

6.12.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 2.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.5 op pagina 140.

6.12.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.12.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.4 op pagina 200.

6.13 Verrijking van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen – Deel 2: Flexible Labeling System

Het CliniMACS Plus CD1c (BDCA-1)-Biotin System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin, het CliniMACS CD19 Reagent, het CliniMACS Anti-Biotin Reagent, de CliniMACS Tubing Set LS, de CliniMACS Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking van humane CD1c (BDCA-1)-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties na depletie van CD19-positieve cellen.

6.13.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 0,2×10^9 CD1c (BDCA-1)-positieve cellen van in totaal 40×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogusnummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS Anti-Biotin Reagent	173-01	1 flesje
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.37: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD1c (BDCA-1)-positieve cellen (Deel 2)

Vereiste aanvullende materialen

Zie Deel 1 voor de vereiste aanvullende materialen.

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen (CD19 gedepleteerd celproduct (Deel 2))

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Transfer van CD19 gedepleteerd cellulair beginproduct naar de Cell Preparation Bag Deel 2

▶ Verdunning van CD19 gedepleteerd cellulair beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van CD19 gedepleteerd cellulair beginproduct

▶ **Centrifugeren**

Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ **Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)**

1. Verwijder het supernatant om het monster aan te passen met behulp van de volgende vergelijking: Gewicht van te verwijderen supernatant = Gewicht van het verdunde celproduct – Labelingsvolume
2. Resuspendeer de celpellet.

▶ **Incubatie met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent**

1. Voeg 1 flesje CliniMACS Anti-Biotin Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

▶ **Verwijdering van overtollig reagens**

1. Vul Cell Preparation Bag Deel 2 met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Vul Cell Preparation Bag Deel 2 met buffer.
6. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
7. Verwijder zoveel mogelijk supernatant.
8. Resuspendeer de celpellet.
9. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

6.13.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

▶ **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**

▶ **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 3.2**

Zie paragraaf 7.2.4 op pagina 138.

6.13.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

▶ **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.13.4 STAP 4 CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.3 op pagina 196.

6.14 Verrijking van CD304 (BDCA-4)-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD304 (BDCA-4) System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent, de CliniMACS Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking van humane CD304 (BDCA-4)-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.14.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot $0{,}2\times10^9$ CD304 (BDCA-4)-positieve cellen uit een totaal van maximaal 40×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent	278-01	1 flesje
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	4×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.38: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking van CD304 (BDCA-4)-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak geschikt voor centrifugering en één sampling site coupler en drie plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedures
- **Plasma Waste Bags en Wash Waste Bags:**
  vijf 600 mL transferzakken geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 150 mL transferzak in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de Cell Collection Bag op de slangenset
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

▶ Verdunning van gedepleteerd cellulair beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = 600 g – Gewicht van het cellulaire beginproduct

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

▶ Herhaal stappen "Verdunning van het cellulaire beginproduct" en "Centrifugeren" twee keer

1. Vul één transferbag tot 600 g
2. Centrifugeer met 300×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).
3. Verwijder het supernatant.

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB = 95 g + Gewicht van lege CPB.
4. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

▶ Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 100 g.

6.14.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

▶ Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument

- **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 3.2**

Zie paragraaf 7.2.4 op pagina 138.

6.14.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.14.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.3 op pagina 196.

6.15 Depletie van TCRα/β-positieve cellen

Het CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, de CliniMACS TCRα/β-Biotin, het CliniMACS Anti-Biotin Reagent, de CliniMACS Depletion Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* depletie van humane TCRα/β-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.15.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 24×10^9 TCRα/β-positieve cellen van in totaal 60×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogusnummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS TCRα/β-Biotin	701-48	1 flesje
CliniMACS Anti-Biotin Reagent	173-01	2 flesjes
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Tot 4×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.39: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de depletie van TCRα/β-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bag:**
  één 600 mL transferzak geschikt voor centrifugering en één sampling site coupler en twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bags en Wash Waste Bags:**
  vier 600 mL (of 1.000 mL) transferzakken geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 600 mL Cell Collection Bag is al aangesloten op de CliniMACS Depletion Tubing Set.
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

Bepaal het percentage/totaal aantal van alle TCRα/β-gelabelde cellen (waaronder niet-specifieke TCRα/β gebonden, niet alleen echte TCRα/β-positieve cellen). Houd rekening met dit aantal voor de toepassingsspecificaties en bij de invoer van de monsterparameters (zie STAP 2).

Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

Centrifugeren

1. Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).
2. Verwijder het supernatant.

Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB = 95 g + Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de celpellet.

Labeling van de cellen: incubatie met de CliniMACS TCRα/β-Biotin

1. Voeg 1 flesje CliniMACS TCRα/β-Biotin toe.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

Verwijder overtollig conjugaat: herhaal deze stap

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant.
4. Resuspendeer de celpellet en pas het gewicht aan tot 190 g na de tweede was.

- **Magnetische labeling van de cellen: incubatie met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent**

  1. Voeg 2 flesjes CliniMACS Anti-Biotin Reagent toe.
  2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

- **Verwijdering van overtollig reagens**

  1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
  2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
  3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder dan 500 g is, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
  4. Resuspendeer de celpellet.
  5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan tot 150 g. Een maximale WBC-concentratie van $0{,}4\times10^9$ WBC's/mL wordt aanbevolen.

6.15.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument**
- **Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 3.1**
- **Invoer van monsterparameters**

Zie paragraaf 7.2.6 op pagina 146.

6.15.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Depletion Tubing Set**

Zie paragraaf 7.3.3 op pagina 173.

6.15.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.5 op pagina 204.

6.16 Depletie van CD45RA-positieve cellen

Het CliniMACS Plus CD45RA System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS CD45RA Reagent, de CliniMACS Depletion Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* depletie van humane CD45RA-positieve cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.16.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

Tot 20×10^9 CD45RA-positieve cellen uit een totaal van maximaal 50×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD45RA Reagent	701-46	1 flesje
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.40: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de depletie van CD45RA-positieve cellen

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bags:**
  één 600 mL transferzak geschikt voor centrifugering en één sampling site coupler en twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedure
- **Plasma Waste Bags en Wash Waste Bags:**
  twee 600 mL transferzakken geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag:**
  één 600 mL Cell Collection Bag is al aangesloten op de CliniMACS Depletion Tubing Set.
- één voorfilter
- slangenklem

- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes

BELANGRIJK

Een alternatieve begincelbron kan de niet-doelcelfractie van een CliniMACS Plus CD34-scheidingsprocedure zijn. Het gebruik van het CliniMACS CD45RA Reagent wordt alleen aanbevolen voor cellulaire beginproducten die CD45RA-positieve cellen bevatten binnen het normale frequentiebereik (tot 80%). Hogere frequenties zijn waargenomen bij enkele donoren waarbij CD45RA tot expressie komt door bijna alle PBMC vanwege een zeldzame mutatie binnen het CD45 gen. In dergelijke gevallen kan de depletie-efficiëntie en/of de terugwinning onvoldoende worden.

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Magnetische labeling van cellen

Raadpleeg paragraaf 7.1 “STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling” op pagina 117 voor een gedetailleerde beschrijving van de volgende stappen.

▶ Analyse van het cellulaire beginproduct

Bepaal het percentage/totaal aantal van alle CD45RA-gelabelde cellen (waaronder niet-specifieke CD45RA gebonden, niet alleen echte CD45RA-positieve cellen). Houd rekening met dit aantal voor de toepassingsspecificaties en bij de invoer van de monsterparameters (zie STAP 2).

▶ Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

▶ Verdunning van gedepleteerd cellulair beginproduct

Voeg buffer toe: Gewicht van toe te voegen buffer = Gewicht van het cellulaire beginproduct × 2

▶ Centrifugeren

Centrifugeer met 200×g, zonder remmen, 15 minuten, kamertemperatuur (KT: +19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

Als de niet-doelcelfractie van een CliniMACS CD34-scheidingsprocedure wordt gebruikt als een alternatieve begincelbron, kan de verdunningsstap worden overgeslagen. Ga door met de centrifugeerstap en centrifugeer met 300×g (zonder remmen) gedurende 15 minuten bij KT.

▶ Aanpassen van het volume: labelingsvolume 95 g (±5 g)

1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet daarbij niet wordt geresuspendeerd.
2. Resuspendeer de celpellet voorzichtig na verwijdering van het supernatant.
3. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) aan door buffer toe te voegen met behulp van de volgende vergelijking: Streefgewicht van gevulde CPB = 95 g + Gewicht van lege CPB
4. Resuspendeer de celpellet.

▶ Incubatie met het CliniMACS CD45RA Reagent

1. Voeg 1 flesje CliniMACS CD45RA Reagent toe. Meng de inhoud voorzichtig.
2. Incubeer in een horizontale menger (25 tpm) gedurende 30 minuten bij KT.

▶ Verwijdering van overtollig reagens

1. Vul Cell Preparation Bag met buffer.
2. Centrifugeer (300×g, zonder remmen, 15 minuten, KT).
3. Verwijder zoveel mogelijk supernatant. **Noot:** Verwijder ten minste 500 g supernatant. Als het verwijderde supernatant minder dan 500 g is, worden in totaal twee wasstappen (in plaats van slechts één) aanbevolen. Anders kan mogelijk onvoldoende niet-gebonden reagens worden verwijderd.
4. Resuspendeer de celpellet.
5. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan. Bereken het gewicht van de buffer die nodig is om het gewicht van de celsuspensie aan te passen tot ongeveer 125 g. De celconcentratie mag niet hoger zijn dan $0{,}4\times10^9$ WBC/mL: Gewicht van de toe te voegen buffer (g) = 125 g – Gewicht van celproduct na de was (g)

6.16.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

▶ Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument

▶ Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 3.1

▶ Invoer van monsterparameters

Zie paragraaf 7.2.6 op pagina 146.

6.16.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

▶ CliniMACS Depletion Tubing Set

Zie paragraaf 7.3.3 op pagina 173.

6.16.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.5 op pagina 204.

6.17 Verrijking van humane IFN-gamma afscheidende cellen met het CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma)

Het CliniMACS Plus CCS (IFN-gamma) System, waaronder het CliniMACS Plus Instrument, het CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma), de CliniMACS Tubing Set en de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, is bedoeld voor de *in vitro* verrijking van humane IFN-gamma afscheidende cellen uit heterogene hematologische celpopulaties.

6.17.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Eerste vereiste handelingen

Capaciteit van de toepassing

IFN-gamma afscheidende cellen uit een totaal van maximaal 1×10^9 cellen (WBC)

⚠ VOORZICHTIG

Risico van onvoldoende scheidingsprestatie van gelabelde cellen. Als de toepassingsspecificaties worden overschreden, bestaat het risico van onvoldoende specifieke labeling. Gebruik het vereiste aantal cellen en reagens zoals voorgeschreven voor de betreffende toepassing.

Vereiste CliniMACS-materialen

Materiaal	Catalogus-nummer	Aantal
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma)	279-01	1 set
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 slangenset
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1.000 mL zakken[1]

1 Vul voor gebruik de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

Tabel 6.41: CliniMACS-materialen die vereist zijn voor de verrijking van IFN-gamma afscheidende cellen

BELANGRIJK

Bewaar de buffer voor celpreparatie koud bij +2 °C tot +8 °C (+36 °F tot +46 °F). Hogere of lagere omgevingstemperaturen kunnen resulteren in verminderde zuiverheid en een lagere opbrengst aan doelcellen.

Vereiste aanvullende materialen

- **Cell Preparation Bags:**
  twee 600 mL transferzakken geschikt voor centrifugering en twee sampling site couplers en twee plasma-transfersets, voor gebruik tijdens de celpreparatieprocedures
- **Plasma Waste Bags en Wash Waste Bags:**
  negen 600 mL transferzakken geschikt voor centrifugering
- **Medium Bag:**
  acht 600 mL transferzakken geschikt voor centrifugering
- **Cell Collection Bag (Deel 2):**
  één 150 mL transferzak geschikt voor centrifugering in combinatie met een Luer/Spike Interconnector voor de aansluiting van de transferzak op de slangenset
- één 100 mL gasdoorlaatbare celcultuurzak
- één voorfilter
- slangenklem
- spuiten (verschillende maten) en hypodermische 20 gauge naalden
- humaan serumalbumine (HSA) moet worden toegevoegd aan de CliniMACS PBS/EDTA Buffer tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)
- monsterbuisjes
- 120 mL AB serum of, als alternatief, autoloog serum, als een supplement voor de gebruikte media
- 1.000 mL celcultuurmedium (RPMI 1640), +4 °C (+39 °F)

- 1.100 mL celcultuurmedium (RPMI 1640), +37 °C (+99 °F) aangevuld met 10% (volume/volume) AB serum of, als alternatief, autoloog serum
- 500 mL celcultuurmedium (RPMI 1640), +4 °C (+39 °F) aangevuld met 2% (volume/volume) AB serum of, als alternatief, autoloog serum

▶ Vereiste apparatuur

Informatie over apparatuur die vereist is voor een CliniMACS Plus-scheidingsprocedure kunt u vinden in paragraaf 4.7.

Aanvullende apparatuur die vereist is voor een toepassing met behulp van het CliniMACS Plus CCS (IFN-gamma) System:

- 24-wells petrischaaltje
- scheidingseenheid MiniMACS Separation Unit
- MS Columns
- voorscheidingsfilter (alleen voor MS Columns)
- MACSmit Tube Rotator

▶ Preparatie van de zakken

Bepaal het gewicht van de lege Cell Collection Bag en Cell Preparation Bag zoals beschreven in paragraaf 7.1.1 op pagina 117.

Noot: Koel de centrifuge voor tot +4 °C (+39 °F). Na de secretiefase is een derde Cell Preparation Bag nodig voor de recombinatie van de celsuspensies. Markeer daarom een van de vier 600 mL transferzakken (geprepareerd met 125 mL medium (RPMI) aangevuld met 10% AB serum) als **Cell Preparation Bag nr. 3 (scheiding)**.

Preparatie van het cellulaire beginproduct

Hieronder wordt de aanbevolen in-de-zak-procedure beschreven voor de preparatie van het cellulaire beginproduct met behulp van de steriele slangaansluiting.

- De operator moet vertrouwd zijn met de werking en het gebruik van de steriele slangaansluiting.
- Voorafgaand aan de cellabelings- en scheidingsprocedure moet u ervoor zorgen dat alle vereiste benodigdheden en apparatuur aanwezig zijn.

Transfer het cellulaire beginproduct in Cell Preparation Bag nr. 1

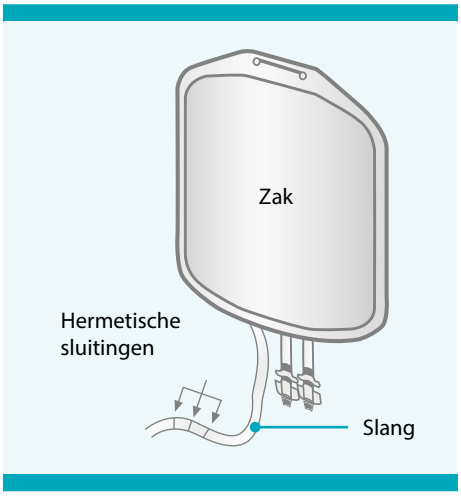
1. Noteer de datum en de starttijd voordat u begint met het prepareren van het cellulaire beginproduct.
2. Bepaal het volume van het oorspronkelijke cellulaire beginproduct. Ga er daarbij vanuit dat 1 mL oorspronkelijk product gelijk is aan 1 g (1 g ≙ 1 mL).

3. Houd de zak met het cellulaire beginproduct met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging.

4. Gebruik de steriele slangaansluiting om de Cell Preparation Bag nr. 1 aan te sluiten op de zak met het cellulaire beginproduct.

5. Open de slangenklem voor de transfer van het gewenste gewicht van het cellulaire beginproduct (met maximaal 1×10^9 cellen, overeenkomstig de eerder bepaalde leukocytenfrequentie) naar Cell Preparation Bag nr. 1. Controleer visueel (kijk naar de weegschaal) of het gewenste gewicht is overgebracht. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag.

6. Smelt de slang af en scheid de zakken. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag nr. 1 zitten voor verdere aansluitingen (zie Afbeelding 6.1). Gebruik de afsmelteenheid om drie aangrenzende afsluitingen in de slang te maken. Zorg dat de afsluitingen goed dicht zijn. Scheid deze in het midden van de afsluiting. Bewaar de zak met het cellulaire beginproduct totdat de scheiding en definitieve analyse van alle cellen zijn voltooid.



Afbeelding 6.1: Een zak afsmelten

7. Tarreer het gewicht. Leg de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1 op de weegschaal, maar laat de slang op de tafel liggen. Noteer het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1.

8. Bereken het gewicht van het cellulaire beginproduct door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag nr. 1 af te trekken van het gewicht van de Cell Preparation Bag nr. 1 gevuld met het oorspronkelijke cellulaire beginproduct. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het cellulaire beginproduct (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1 (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag nr. 1 (g)

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Het cellulaire beginproduct moet worden verdund met cultuurmedium. Verdun het product met koud medium (+2 °C tot +8 °C [+36 °F to +46 °F]) tot een totaalvolume van 500 mL. Bereken het gewicht van het toe te voegen medium met behulp van de volgende vergelijking en noteer dit.

Gewicht van het toe te voegen medium (g)	=	500 g	–	Gewicht van het verdunde cellulaire beginproduct (g)

1. Neem één van de Medium Bags en sluit deze aan op Cell Preparation Bag nr. 1 met behulp van de steriele slangaansluiting.

2. Plaats Cell Preparation Bag nr. 1 op de weegschaal en tarreer het gewicht. Hang de Medium Bag aan een bevestigingsbeugel.
3. Open de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 1. Houd de weegschaal in de gaten en breng dan het berekende mediumgewicht over naar Cell Preparation Bag nr. 1.
4. Na de transfer van het betreffende mediumgewicht sluit u de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 1 om de vloeistofstroom te stoppen.
5. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag nr. 1 zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de Medium Bag los.
6. Houd Cell Preparation Bag nr. 1 met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging. Vermijd intensieve menging van de cellen.
7. Tarreer het gewicht en weeg de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1. Noteer het gewicht.
8. Bereken het gewicht van het verdunde cellulaire beginproduct door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag nr. 1 af te trekken van het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het verdunde cellulaire beginproduct (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1 (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag nr. 1 (g)

⚠ WAARSCHUWING

Risico van contaminatie. Als de zakken niet geschikt zijn voor celpreparatie of niet correct in de centrifugebak worden geplaatst, bestaat het risico van contaminatie wanneer de zakken beschadigd worden. Gebruik geschikte zakken en vouw alle losse delen van de zakken of slangen omlaag. Zorg dat u de integriteit van de zakken niet aantast en plaatst de zakken veilig in de centrifugebak.

⚠ VOORZICHTIG

Risico van lagere celscheidingsprestaties. Als de zakken niet correct in de centrifugebak worden geplaatst, bestaat het risico van celverlies tijdens verwijdering van het supernatant. Vouw alle losse delen van de zakken of slangen omlaag en plaats de zakken dan veilig in de centrifugebak.

Centrifugeren

1. Gebruik de steriele slangaansluiting om de lege Plasma Waste Bag nr. 1 op Cell Preparation Bag nr. 1 aan te sluiten.
2. Vouw alle losse delen van de Cell Preparation Bag nr. 1 of slangen omlaag. Plaats de twee zakken veilig in de centrifugebak.
3. Balanceer de geladen bak uit met een goed afgewogen bak. Het is belangrijk dat de centrifuge goed is uitgebalanceerd.

4. Centrifugeer de cellen met 200×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur (+19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).
5. Verwijder de zakken uit de centrifuge zonder de celpellet te verstoren. Plaats Cell Preparation Bag nr. 1 op de plasma-extractor.
6. Open de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 1. Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet niet wordt geresuspendeerd tijdens de verwijdering van het supernatant. Nadat het supernatant is verwijderd, sluit u de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 1 om de vloeistofstroom te stoppen.
7. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag nr. 1 zitten voor verdere aansluitingen. Koppel Plasma Waste Bag nr. 1 los.
8. Herhaal de verdunning en centrifugering met de tweede Medium Bag die met koud medium en geprepareerd en Plasma Waste Bag nr. 2.
9. Bewaar de Plasma Waste Bags totdat de scheiding en definitieve analyse van alle cellen zijn voltooid.

Aanpassen van het volume

1. Voor de *in vitro* restimulatie van de cellen moet het volume van het celmonster worden aangepast tot 100 mL. Resuspendeer de pellet voorzichtig nadat het supernatant is verwijderd.
2. Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag nr. 1 aan door cultuurmedium toe te voegen. Bereken het gewicht van het toe te voegen medium met behulp van de volgende vergelijking:

Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1 na aanpassen van het volume (g)	=	100 g	+	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag nr. 1 (g)

3. Gebruik de steriele slangaansluiting om Cell Preparation Bag nr. 1 aan te sluiten op de geprepareerde Medium Bag 10% (met 600 mL voorverwarmd cultuurmedium aangevuld met 10% AB serum). Hang de Medium Bag 10% aan een bevestigingsbeugel.
4. Tarreer het gewicht. Plaats Cell Preparation Bag nr. 1 met de celpellet op de weegschaal.
5. Open de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 1. Vul Cell Preparation Bag nr. 1 met medium totdat het berekende 'Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1 na aanpassen van het volume' is bereikt. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag nr. 1 om de vloeistofstroom te stoppen.
6. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de Medium Bag 10% los.

7. Gebruik de steriele slangaansluiting om de gevulde Cell Preparation Bag nr. 1 aan te sluiten op een 100 mL gasdoorlaatbare cultuurzak. Open de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 1 om de gehele inhoud over de brengen.

⚠ VOORZICHTIG

Risico van lagere prestatie. Als de zakken niet geschikt zijn voor celpreparatie, bestaat het risico van contaminatie wanneer de zakken beschadigd worden. Gebruik gasdoorlaatbare cultuurzakken voor celpreparatie.

Labeling van cellen

Eén CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma), bestaande uit twee flesjes (met elk 7,5 mL), is gebruiksklaar en voldoende voor één toepassing zoals hieronder beschreven. De reagentia zijn niet bedoeld voor parenterale toediening.

Doelmonster en controlemonster

Het protocol beschrijft de labelingsprocedure van het 'doelmonster' en het 'controlemonster'. Beide monsters worden parallel verwerkt. Het controlemonster wordt op precies dezelfde manier behandeld als het doelmonster, maar zonder toevoeging van antigeen. Daarom geeft de analyse van het controlemonster informatie op de spontane secretie van cytokine.

In vitro restimulatie

BELANGRIJK

- *Een klein negatief controlemonster (controlemonster), die op precies dezelfde manier is behandeld als het met antigeen gestimuleerde doelmonster, maar zonder toevoeging van antigeen, moet worden gebruikt als een maat voor de spontane cytokinesecretie.*
- *Voor in vitro restimulatie is de optimale dichtheid 0,5–1×10^9 cellen/cm^2 en 1×10^9 cellen/mL.*

1. Neem met een steriele spuit (1 mL) met een 20 gauge naald, een klein aliquot (bijv. 1 mL = ong. 1×10^9 cellen) van de cellen, dat zal dienen als **controlemonster (niet-gestimuleerd)**.
2. Zet het aliquot onder optimale omstandigheden op kweek in één welletje van een 24-wells petrischaaltje.
3. Injecteer het antigeen in de cellen in de gasdoorlaatbare celcultuurzak **(doelmonster)** met de vooraf bepaalde concentratie via een van de poorten met behulp van een spuit.
4. Incubeer beide monsters bij +37 °C (+99 °F) en 5-7,5% CO^2 gedurende de juiste tijd in de incubator. Worden eiwitten of cellysaten als antigenen gebruikt, dan ligt de incubatietijd tussen 4 en 16 uur. Voor peptiden is de incubatietijd 3

tot 6 uur. Omdat de optimale stimulatietijd wordt beïnvloed door specifieke kenmerken van het antigeen, adviseert Miltenyi Biotec om speciale validatieprocedures te gebruiken om het beste resultaat te verkrijgen.

Labeling met het CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent

Noteer het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van het CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent.

Doelmonster

BELANGRIJK

Voor de secretiefase moet het gekozen vak voldoende groot zijn om ten minste 1 volume koude buffer toe te voegen aan het eind van de secretiefase. De celdichtheid mag niet hoger zijn dan 1×10^6 cellen/mL. Daarom moeten 1×10^9 cellen worden geïncubeerd voor secretie van in totaal 1.000 mL warm cultuurmedium.

1. Gebruik de steriele slangaansluiting om de cultuurzak aan te sluiten op Cell Preparation Bag nr. 2 (secretie) en breng de cellen over. Zorg voor een volledige transfer van de cellen in Cell Preparation Bag nr. 2. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag nr. 2 om de vloeistofstroom te stoppen.
2. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag nr. 2 zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de lege cultuurzak los.
3. Gebruik de steriele slangaansluiting om de geprepareerde Medium Bag 2% (met 500 mL koud (+2 tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) cultuurmedium aangevuld met 2% AB serum) aan te sluiten op Cell Preparation Bag nr. 2.
4. Open de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 2. Vul Cell Preparation Bag nr. 2 tot 600 mL. Na de transfer van het betreffende mediumgewicht sluit u de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 2 om de vloeistofstroom te stoppen.
5. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag nr. 2 zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de Medium Bag 2% los.
6. Gebruik de afsmelteenheid om de lege Wash Waste Bag nr. 1 op Cell Preparation Bag nr. 2 aan te sluiten.
7. Vouw alle losse delen van de zak of slang omlaag. Plaats de twee zakken veilig in de centrifugebak.
8. Balanceer de geladen bak uit met een goed afgewogen bak. Het is belangrijk dat de centrifuge goed is uitgebalanceerd.
9. Centrifugeer de cellen met 300×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij +4 °C tot +8 °C(+39 °F tot +46 °F).

10. Plaats Cell Preparation Bag nr. 2 op de plasma-extractor. Open de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 2. Verwijder al het supernatant zonder de celpellet te verstoren. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag nr. 2 om de vloeistofstroom te stoppen.
11. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag nr. 2 zitten voor verdere aansluitingen. Koppel Wash Waste Bag nr. 1 los.
12. Resuspendeer de celpellet in het resterende volume na verwijdering van het supernatant.
13. Bevestig een sampling site coupler aan Cell Preparation Bag nr. 2 en desinfecteer het septum. Gebruik een geschikte steriele spuit en naald om 7,425 mL uit het flesje met CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent te verwijderen. Een 10 mL spuit is voldoende om de inhoud van één reagensflesje te verwijderen. De spuit moet een 20 gauge naald hebben.
14. Houd Cell Preparation Bag nr. 2 met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging.
15. Gebruik de injectiepoort van de sampling site coupler om het gehele volume van het reagens in Cell Preparation Bag nr. 2 te injecteren. Zorg dat u daarbij niet in de zak prikt.
16. Resuspendeer de cellen en incubeer deze gedurende 5 minuten op ijs. Noteer de incubatietijd.

Controlemonster (niet-gestimuleerd)

1. Breng de cellen over naar een 15 mL afsluitbaar buisje.
2. Voeg koud (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) cultuurmedium aangevuld met 2% AB serum toe tot 15 mL.
3. Centrifugeer de cellen met 300×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij +4 °C tot +8 °C(+39 °F tot +46 °F) en verwijder al het supernatant voorzichtig.
4. Resuspendeer de celpellet in 100 µL koud (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) cultuurmedium aangevuld met 2% AB serum.
5. Voeg de resterende 75 µL CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent toe en incubeer de suspensie gedurende 5 minuten op ijs.

Secretiefase

Doelmonster

1. Pak de vier voorgevulde transferzakken (waaronder de geëtiketteerde Cell Preparation Bag nr. 3) met 125 mL warm (+37 °C [+99 °F]) cultuurmedium aangevuld met 10% AB serum.
2. Gebruik de steriele slangaansluiting om Cell Preparation Bag nr. 2 aan te sluiten op de geprepareerde Medium Bag 10% (met voorverwarmd (+37 °C [+99 °F]) cultuurmedium aangevuld met 10% AB serum).

3. Voeg 500 mL van het voorverwarmde cultuurmedium toe aan het celmonster in Cell Preparation Bag nr. 2. Start onmiddellijk met het aftellen van de 45 minuten incubatietijd.

4. Verdeel 125 mL van de verkregen celsuspensie over elk van de vier transferzakken door middel van seriële bevestiging van de transferzakken aan Cell Preparation Bag nr. 2 met behulp van de steriele slangaansluiting. Houd het scherm van de weegschaal in de gaten en breng het gewenste gewicht van de celsuspensie over. Met deze procedure wordt in totaal 250 g celsuspensie naar elk van de vier transferzakken overgebracht. Smelt na de transfer de slangen af om de transferzakken los te koppelen met behulp van de afsmelteenheid.

5. Incubeer de cellen bij +37 °C (+99 °F) gedurende de rest van de 45 minuten met een continue langzame rotatie (max. 50 tpm) tot aan het eind van de incubatietijd. Noteer de incubatietijd.

6. Pak een plasma-transferset en controleer of de klem in de gesloten stand staat. Steek de spike van de plasma-transferset in een poort van de bufferzak.

7. Sluit, na de 45 minuten, de bufferzak aan op Cell Preparation Bag nr. 3 met behulp van de steriele slangaansluiting. Voeg koud (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) buffer toe aan elk van de vier transferzakken (ten minste één volume, d.w.z. elk 250 mL) door seriële bevestiging van de transferzakken aan de bufferzak. Laat de cellen afkoelen door de zakken gedurende 10 minuten op ijs te plaatsen.

8. Gebruik de steriele slangaansluiting om één Wash Waste Bag (Wash Waste Bags nr. 2 t/m 5) aan te sluiten op elk van de vier transferzakken.

9. Centrifugeer de cellen met 300×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij +4 °C (+39 °F). Gebruik de plasma-extractor om het supernatant helemaal uit alle zakken te verwijderen.

10. Smelt de slang van elke zak af met de afsmelteenheid. Koppel de Wash Waste Bags los.

11. Pak een plasma-transferset en controleer of de klem in de gesloten stand staat. Steek de spike van de plasma-transferset in een poort van een bufferzak.

12. Gebruik de steriele slangaansluiting om de bufferzak op Cell Preparation Bag nr. 3 aan te sluiten.

13. Schuif de klem op de plasma-transferset in de open stand en vul Cell Preparation Bag nr. 3 met 200 mL buffer.

14. Nadat het juiste buffergewicht is overgebracht, schuift u de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand om de vloeistofstroom te stoppen.

15. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op Cell Preparation Bag nr. 3 zitten. Koppel de bufferzak los.

16. Gebruik de steriele slangaansluiting om één van de drie andere transferzakken met de cellen aan te sluiten op Cell Preparation Bag nr. 3 en recombineer beide suspensies.

BELANGRIJK

De verdeelde monsters moeten vóór centrifugering worden gerecombineerd in Cell Preparation Bag nr. 3.

17. Herhaal deze procedure totdat de celsuspensies van alle vier transferzakken zijn gerecombineerd in Cell Preparation Bag nr. 3.
18. Nadat de cellen zijn gerecombineerd, moet de bufferzak worden aangesloten op Cell Preparation Bag nr. 3 met behulp van de steriele slangaansluiting.
19. Schuif de klem op de plasma-transferset in de open stand. Vul de Cell Preparation Bag met buffer tot 500 mL.
20. Nadat het juiste buffergewicht is overgebracht, schuift u de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand om de vloeistofstroom te stoppen. Sluit de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 3.
21. Smelt de slang tussen beide klemmen af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op Cell Preparation Bag nr. 3 zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de bufferzak los.
22. Gebruik de steriele slangaansluiting om de lege Wash Waste Bag nr. 6 op Cell Preparation Bag nr. 3 aan te sluiten.
23. Vouw alle losse delen van de Cell Preparation Bag nr. 3 of slangen omlaag. Plaats de twee zakken veilig in de centrifugebak.
24. Balanceer de geladen bak uit met een goed afgewogen bak. Het is belangrijk dat de centrifuge goed is uitgebalanceerd.
25. Centrifugeer de cellen met 300×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij +4 °C (+39 °F).

Controlemonster (niet-gestimuleerd)

1. Voeg warm (+37 °C [+99 °F °F]) cultuurmedium aangevuld met 10% AB serum toe om het monster te verdunnen tot maximaal 1×10^6 cellen/mL, d.w.z. dat een totaal volume van 10 mL moet worden gebruikt voor de 1×10^9 cellen.
2. Incubeer de cellen in een gesloten buisje gedurende 45 minuten bij +37 °C (+99 °F) met een langzame rotatie met behulp van de MACSmix Tube Rotator (max. 50 tpm).
3. Vul het buisje na 45 minuten met koude (+4 °C [+39 °F]) buffer en plaats het buisje gedurende 5-10 minuten op ijs.
4. Centrifugeer de cellen met 300×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij +4 °C tot +8 °C(+39 °F tot +46 °F).

Magnetische labeling met het CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent

Noteer het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van het CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent.

Doelmonster

1. Na de centrifugeerstap moet het supernatant, met behulp van de plasma-extractor, worden verwijderd, zoals hierboven beschreven. Resuspendeer dit dan in het restvolume. Sluit de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 3 na verwijdering.
2. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag nr. 3 zitten voor verdere aansluitingen. Koppel Wash Waste Bag nr. 6 los.
3. Bevestig een sampling site coupler aan Cell Preparation Bag nr. 3 en desinfecteer het septum. Gebruik een geschikte steriele spuit en naald om 7,425 mL uit het flesje met CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent te verwijderen. Een 10 mL spuit is voldoende om de inhoud van één reagensflesje te verwijderen. De spuit moet een 20 gauge naald hebben.
4. Gebruik de injectiepoort van de sampling site coupler om het reagens in Cell Preparation Bag nr. 3 te injecteren. Zorg dat u daarbij niet in de zak prikt. Start onmiddellijk met het aftellen van de incubatietijd van 15 minuten. Noteer de starttijd van de incubatie.
5. Houd de Cell Preparation Bag met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging.
6. Incubeer de cellen gedurende 15 minuten op ijs. Noteer de stoptijd van de incubatie.
7. Gebruik de steriele slangaansluiting om de bufferzak op Cell Preparation Bag nr. 3 aan te sluiten.
8. Open de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 3. Schuif de klem op de plasma-transferset in de open stand. Vul Cell Preparation Bag nr. 3 tot 500 mL met koude (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) buffer.
9. Nadat het juiste buffergewicht is overgebracht, schuift u de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand. Sluit de slangenklem naast Cell Preparation Bag nr. 3. Smelt de slang tussen beide klemmen af met de afsmelteenheid. Koppel de bufferzak los.
10. Gebruik de steriele slangaansluiting om de lege Wash Waste Bag nr. 7 op Cell Preparation Bag nr. 3 aan te sluiten.
11. Vouw alle losse delen van de zak of slang omlaag. Plaats de twee zakken veilig in de centrifugebak.
12. Balanceer de geladen bak uit met een goed afgewogen bak. Het is belangrijk dat de centrifuge goed is uitgebalanceerd.
13. Centrifugeer met 300×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij +4 °C (+39 °F).
14. Verwijder het supernatant zorgvuldig zoals hierboven beschreven en resuspendeer de cellen in 100 mL koude (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) buffer.

15. Desinfecteer het septum van de sampling site coupler. Steek een naald met een passende spuit in de sampling site coupler van de Cell Preparation Bag en verwijder 0,5 mL van het geëtiketteerde product. Zorg dat u daarbij niet in de zak prikt. Breng het monster over naar een monsterbuisje. Plak een etiket op het buisje met de tekst OORSPRONKELIJK DOELMONSTER (dit moet de patiëntidentificatie bevatten).

    BELANGRIJK

    Zorg dat de cellen grondig zijn gemengd voordat u het monster neemt. Om een representatief monster te krijgen, moet u een spuit met een inhoud van ten minste 5 mL gebruiken.

16. Bewaar het celmonster voor celanalyse dat is opgeslagen in de kou (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]).

Controlemonster (niet-gestimuleerd)

1. Verwijder het supernatant voorzichtig na het centrifugeren.
2. Resuspendeer de cellen in 100 µL koude buffer (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]).
3. Voeg 75 µL van het resterende CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent toe.
4. Incubeer de cellen gedurende 15 minuten op ijs.
5. Vul de bak met koude buffer (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) en centrifugeer met 300×g (zonder remmen) gedurende 10 minuten bij +4 °C (+39 °F).
6. Verwijder het supernatant zorgvuldig en resuspendeer de cellen in 1 mL koude (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) buffer.
7. Verwijder een klein monster (ong. 100 µL) van de celsuspensie en breng dit over naar een buisje, waarop een etiket met de tekst OORSPRONKELIJK CONTROLEMONSTER-fractie voor scheiding is aangebracht. Bewaar in de kou tot aan de analyse.

Magnetische scheiding

Doelmonster

De magnetische scheiding van het doelmonster wordt uitgevoerd met het CliniMACS Plus Instrument. Na de scheidingsprocedure moet het controlemonster zoals hieronder beschreven worden verwerkt.

Controlemonster (niet-gestimuleerd)

1. Prepareer twee MS Columns door deze te spoelen met 500 µL koude (+2 °C tot +8 °C [+36 °F tot +46 °F]) buffer en gooi het effluent weg.
2. Plaats de eerste kolom in het magnetisch veld van de MiniMACS Separator.
3. Laat de cellen door een voorscheidingsfilter stromen om klonten te verwijderen.
4. Breng de celsuspensie aan op de kolom.
5. Vang al het effluent op (met daarin de niet-gelabelde celfractie). Was de kolom door toevoeging van 500 µL koude buffer op de kolom. Voer in totaal drie wasstappen uit door achtereenvolgens 500 µL buffer op de kolom aan te brengen, wanneer het kolomreservoir leeg is.
6. Verwijder de kolom uit de separator, plaats de tweede kolom in de separator en plaats de eerste kolom boven op de tweede.
7. Pipetteer 1 mL koude buffer op de eerste kolom. Spoel de fractie onmiddellijk uit met de magnetisch gelabelde cellen door de plunjer, die bij de kolom wordt geleverd, direct op de tweede kolom aan te brengen.
8. Verzamel de niet-gelabelde cellen die doorstromen en was de kolom met 500 µL koude buffer. Voer in totaal drie wasstappen uit door achtereenvolgens 500 µL buffer op de kolom aan te brengen, wanneer het kolomreservoir leeg is.
9. Verwijder de tweede kolom van de separator en plaats de kolom op een geschikt verzamelbuisje met etiket als positieve fractie.
10. Pipetteer 0,5 mL koude buffer op de kolom. Spoel de fractie onmiddellijk uit met de magnetisch gelabelde cellen door de bij de kolom geleverde plunjer stevig in te drukken.
11. Bewaar de doelcelfractie in de kou tot aan de analyse.

6.17.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

- **Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 3.2**

Zie paragraaf 7.2.4 op pagina 138.

6.17.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

- **CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS**

Zie paragraaf 7.3.1 op pagina 152.

6.17.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

- **Scheidingsprocedure**
- **Zakken losmaken en procescode noteren**
- **Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen**
- **Analyse van cellen**

Zie paragraaf 7.4.3 op pagina 196.

7 Gedetailleerde uitleg van STAP 1–4

7.1 STAP 1: Celpreparatie en magnetische labeling

Dit hoofdstuk geeft een gedetailleerde uitleg van de procedures die nodig zijn voor celscheiding met behulp van het CliniMACS Plus-systeem.

7.1.1 Eerste vereiste handelingen

Voor de materialen die vereist zijn voor een bepaalde toepassing, kunt u de toepassingsspecifieke paragraaf raadplegen (zie paragraaf 5.2 op pagina 37).

Preparatie van de CliniMACS PBS/EDTA Buffer

Vul de CliniMACS PBS/EDTA Buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)

Preparatie van de zakken

Raadpleeg de toepassingsspecifieke paragraaf voor de benodigde zakken:

- **Cell Preparation Bag:** Steek een sampling site coupler (of gelijkwaardig) in de externe poort van de Cell Preparation Bag. Plaats een slangenklem op de slang dicht bij de zak en sluit de slangenklem. Weeg de lege Cell Preparation Bag met de slangenklem dicht bij de zak geplaatst en de slang hangend op de tafel naast de weegschaal. Noteer het gewicht.

  BELANGRIJK
  Omdat de lengte van de slang kan variëren tijdens de preparatieprocedure moet u voorzichtig zijn bij het bepalen van het gewicht van de Cell Preparation Bag. Om een goede meetwaarde te krijgen, moet u bevestigen dat de slangenklemmen zich altijd dicht bij de zak bevinden en op de weegschaal liggen, en dat de rest van de slangen op de tafel naast de weegschaal ligt.

- **Cell Collection Bag:**
  - CliniMACS Tubing Set/CliniMACS Tubing Set LS: Steek een Luer/Spike Interconnector (of gelijkwaardig) in de externe poort van de Cell Preparation Bag. Plaats een slangenklem op de slang dicht bij de zak en sluit de slangenklem. Weeg de lege Cell Preparation Bag met de slangenklem dicht bij de zak geplaatst en de slang hangend op de tafel naast de weegschaal. Noteer het gewicht.
  - CliniMACS Depletion Tubing Set: Één Cell Collection Bag is al aan de slangenset bevestigd. Steek een Luer/Spike Interconnector (of gelijkwaardig) in de externe poort van de Cell Preparation Bag. Plaats een slangenklem op

de slang dicht bij de zak en sluit de slangenklem. Weeg de lege Cell Preparation Bag met de slangenklem dicht bij de zak geplaatst en de slang hangend op de tafel naast de weegschaal. Noteer het gewicht

7.1.2 Magnetische labeling van cellen

Hieronder wordt de aanbevolen in-de-zak-procedure beschreven voor de preparatie van het celproduct met behulp van de steriele slangaansluiting.

- De operator moet vertrouwd zijn met de werking en het gebruik van de steriele slangaansluiting.
- Voorafgaand aan de cellabelings- en scheidingsprocedure moet u ervoor zorgen dat alle vereiste benodigdheden en apparatuur aanwezig zijn.

BELANGRIJK

- *Alle handelingen met de zak moeten in een steriele omgeving (bijv. laminaire flowkast) en met aseptische technieken worden uitgevoerd. De aansluiting van de slang met behulp van de steriele slangaansluiting kan buiten de laminaire flowkast worden uitgevoerd.*
- *Voer de monster preparatie en celscheiding uit bij de temperaturen zoals aangegeven in de toepassingsspecifieke paragraaf. Hogere of lagere temperaturen kunnen resulteren in verminderde zuiverheid en een lagere opbrengst aan doelcellen.*

Kort samengevat worden de volgende stappen uitgevoerd bij de magnetische labeling van het celproduct:

1. analyse van het cellulaire beginproduct
2. transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag
3. verdunning van het cellulaire beginproduct
4. centrifugering
5. alleen voor het CliniMACS Plus Anti-Biotin System en CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System: Labelen van de cellen (incubatie met het primaire antilichaam/CliniMACS TCRα/β-Biotin) en verwijdering van overtollig conjugaat (1e was)
6. aanpassen van het volume
7. alleen voor het CliniMACS Plus CD3 System en het CD3/CD19 System: incubatie met immunoglobuline G van klinische kwaliteit
8. magnetische labeling van de cellen (incubatie met CliniMACS-reagens)
9. verwijdering van overtollig reagens
10. aanpassen van het volume voor celscheiding

Analyse van het cellulaire beginproduct

Voordat u begint met de preparatie van het cellulaire beginproduct, moeten de volgende parameters worden bepaald:

- totaal aantal leukocyten
- percentage te labelen cellen
- totaal aantal te labelen leukocyten
- levensvatbaarheid

Werk altijd volgens de toepassingsspecificatie.

Controleer de parameters nogmaals na de labelingsprocedure. Dit is noodzakelijk voor de Staged-Loading-programma's (ENRICHMENT 1.1/DEPLETION 2.1/DEPLETION 3.1), omdat de volgendedrie parameters in de software moeten worden ingevoerd tijdens de configuratie van het CliniMACS Plus Instrument voor de slangenset op het instrument wordt geladen:

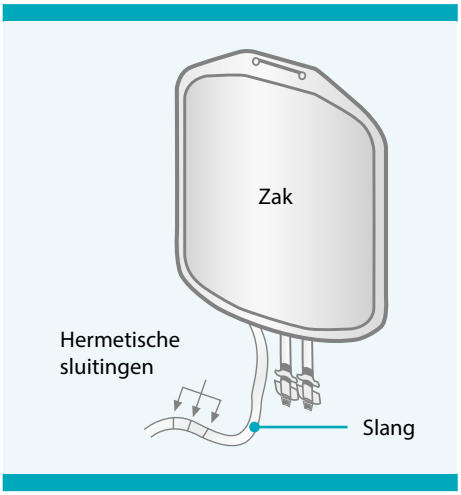
- concentratie leukocyten per mL
- percentage te labelen cellen
- uiteindelijke volume van het celmonster (vullingsvolume van celsuspensie)

Andere tests kunnen noodzakelijk zijn afhankelijk van het beoogde gebruik van de cellen (bijv. aantal T-cellen, fenotype). Noteer alle gegevens.

Transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag

1. Noteer de datum en de starttijd voordat u begint met het prepareren van het cellulaire beginproduct.
2. Bepaal het volume van het cellulaire beginproduct. Ga er daarbij vanuit dat 1 mL cellulaire beginproduct gelijk is aan 1 g (1 g ≙ 1 mL).
3. Houd de zak met het cellulaire beginproduct met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging.
4. Gebruik de steriele slangaansluiting om de Cell Preparation Bag op de oorspronkelijke zak met het cellulaire beginproduct aan te sluiten.
5. Open de slangenklem voor de transfer van het cellulaire beginproduct naar de Cell Preparation Bag. Gebruik een slangstripper om eventueel resterend bloed van de slang te verwijderen. Sluit de slangenklem op de slang zo dicht mogelijk bij de zak.

6. Smelt de slang af en scheid de zakken. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen (zie Afbeelding 7.1). Gebruik de afsmelteenheid om drie aangrenzende afsluitingen in de slang te maken. Zorg dat de afsluitingen goed dicht zijn. Scheid deze in het midden van de afsluiting. Bewaar de zak met de oorspronkelijke leukaferese/het cellulaire beginproduct totdat de scheiding en definitieve analyse van alle cellen zijn voltooid.



Afbeelding 7.1: Een zak afsmelten.

7. Als u een monster wilt nemen, moet u het septum van de sampling site coupler desinfecteren. Meng de inhoud van de zak. Steek een naald met een passende spuit in de sampling site coupler van de Cell Preparation Bag en verwijder een volume van 0,5 mL. Breng het monster over naar een monsterbuisje. Plak een sticker op het buisje met de tekst LEUKAFERESE/CELLULAIR BEGINPRODUCT (dit moet de patiëntidentificatie bevatten) en bewaar het buisje voor celanalyse.

   BELANGRIJK
   Zorg dat het cellulair beginproduct grondig wordt gemengd voordat u het monster neemt. Om een representatief monster te krijgen, moet u een spuit met een inhoud van ten minste 5 mL gebruiken.

8. Tarreer het gewicht. Leg de gevulde Cell Preparation Bag op de weegschaal, maar laat de slang op de tafel liggen. Noteer het gewicht.

9. Bereken het gewicht van het cellulaire beginproduct door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de Cell Preparation Bag gevuld met het cellulaire beginproduct. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het cellulaire beginproduct (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag (g)

Verdunning van het cellulaire beginproduct

Raadpleeg de toepassingsspecifieke paragraaf voor de benodigde verdunningsverhouding.

Vóór de magnetische labeling moet het cellulaire beginproduct worden verdund met CliniMACS PBS/EDTA Buffer (aangevuld met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume)). Bereken het gewicht van de toe te voegen buffer met behulp van een van de volgende vergelijkingen (1 of 2) afhankelijk van de toepassing en noteer dit.

(1) Gewicht van de toe te voegen buffer (g)	=	600 g	−	Gewicht van het cellulaire beginproduct (g)
(2) Gewicht van de toe te voegen buffer (g)	=	Gewicht van het cellulaire beginproduct (g)	×	2

1. Pak een plasma-transferset en controleer of de klem in de gesloten stand staat. Steek de spike van de plasma-transferset in een poort van de bufferzak.
2. Gebruik de steriele slangaansluiting om de bufferzak op de Cell Preparation Bag aan te sluiten. Hang de bufferzak aan een bevestigingsbeugel.
3. Plaats de Cell Preparation Bag op de weegschaal en tarreer het gewicht.
4. Open de slangenklem naast de Cell Preparation Bag. Schuif de klem op de plasma-transferset in de open stand. Houd de weegschaal in de gaten en breng dan het berekende buffergewicht over naar de Cell Preparation Bag.
5. Nadat het juiste buffergewicht is overgebracht, schuift u de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand om de vloeistofstroom te stoppen. Sluit de slangenklem op de slang zo dicht mogelijk bij de zak.
6. Smelt de slang tussen de klem en de slangenklem af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de bufferzak los.
7. Houd de Cell Preparation Bag met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging. Vermijd intensieve menging van de cellen.
8. Tarreer het gewicht en weeg de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het gewicht.
9. Bereken het gewicht van het verdunde cellulaire beginproduct door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het verdunde cellulaire beginproduct (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag (g)	−	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag (g)

Centrifugeren

⚠ WAARSCHUWING

Risico van contaminatie. Als de zakken niet geschikt zijn voor celpreparatie of niet correct in de centrifugebak worden geplaatst, bestaat het risico van contaminatie wanneer de zakken beschadigd worden. Gebruik geschikte zakken en vouw alle losse delen van de zakken of slangen omlaag. Zorg dat u de integriteit van de zakken niet aantast en plaatst de zakken veilig in de centrifugebak.

⚠ VOORZICHTIG

Risico van minder goede celscheiding. Als de zakken niet correct in de centrifugebak worden geplaatst, bestaat het risico van celverlies tijdens verwijdering van het supernatant. Vouw alle losse delen van de zakken of slangen omlaag en plaats de zakken dan veilig in de centrifugebak.

1. Gebruik de steriele slangaansluiting om de lege Plasma Waste Bag op de Cell Preparation Bag aan te sluiten.
2. Vouw alle losse delen van de Cell Preparation Bag of slangen omlaag. Plaats de twee zakken veilig in de centrifugebak.
3. Balanceer de geladen bak uit met een goed afgewogen bak. Het is belangrijk dat de centrifuge goed is uitgebalanceerd.
4. Centrifugeer de cellen bij de omstandigheden zoals aangegeven in de toepassingsspecifieke paragraaf. Noteer de centrifugeeromstandigheden.
5. Verwijder de zakken uit de centrifuge zonder de celpellet te verstoren. Laad de Cell Preparation Bag op de plasma-extractor en de aangesloten Waste Bag op de tafelweegschaal.

Aanpassen van het volume

Voor de magnetische labeling van de cellen is het optimale gewicht van het celproduct afhankelijk van de toepassing. Raadpleeg de toepassingsspecifieke paragraaf voor het labelingsvolume.

Afhankelijk van de toepassing kan het nodig zijn om alleen een bepaalde hoeveelheid supernatant te verwijderen om het labelingsvolume te verkrijgen (aangepaste supernatantverwijdering) of al het supernatant te verwijderen en buffer toe te voegen om het labelingsvolume te verkrijgen (volledige supernatantverwijdering). Raadpleeg de toepassingsspecifieke paragraaf voor de toepasselijke optie en ga dan daarmee door.

BELANGRIJK

- *Bij gebruik van de plasma-extractor moet u constant controle hebben over de extractorhendel en zorgen dat de slangenklem dicht bij de Cell Preparation Bag open voordat u met de transfer begint Laat de extractorhendel langzaam los.*
- *Wees tijdens de verwijdering van supernatant voorzichtig zodat u geen cellen verliest.*

Aangepaste supernatantverwijdering

Bereken het gewicht van het te verwijderen supernatant om het monster aan te passen aan het labelingsvolume met behulp van de volgende vergelijking:

Gewicht van het te verwijderen supernatant (g)	=	Gewicht van het celproduct na de was (g)	–	Labelingsvolume (g)

Noteer het gewicht van het te verwijderen supernatant.

1. Plaats de lege Plasma Waste Bag of Wash Waste Bag nr. 1 op de weegschaal en tarreer het gewicht.
2. Open de slangenklem naast de Cell Preparation Bag. Houd het scherm van de weegschaal in de gaten en verwijder het supernatant met behulp van de plasma-extractor. Druk overtollig supernatant er voorzichtig uit totdat het berekende 'gewicht van het te verwijderen supernatant' is bereikt.
3. Wanneer het juiste supernatantgewicht is verwijderd, sluit u de slangenklem naast de Cell Preparation Bag om de vloeistofstroom te stoppen. Noteer het gewicht van het verwijderde supernatant.
4. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de Plasma Waste Bag of Wash Waste Bag nr. 1 los.
5. Resuspendeer de cellen in de Cell Preparation Bag voorzichtig. Vermijd intensieve menging van de cellen. Zorg dat alle cellen zijn geresuspendeerd.
6. Tarreer het gewicht en weeg de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het gewicht.
7. Bereken het gewicht van het celproduct na het aanpassen van het volume door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het celproduct na aanpassen van het volume (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag (g)

8. Bewaar de Plasma Waste Bag of Wash Waste Bag totdat de scheiding en definitieve analyse van alle cellen zijn voltooid.

Volledige supernatantverwijdering

Verwijder al het supernatant; zorg dat de celpellet niet wordt geresuspendeerd tijdens de verwijdering van het supernatant. Nadat het supernatant is verwijderd, sluit u de slangenklem naast de Cell Preparation Bag om de vloeistofstroom te stoppen. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de Plasma Waste Bag los. Resuspendeer de pellet voorzichtig.

Pas het gewicht van de Cell Preparation Bag aan door buffer toe te voegen. Bereken het streefgewicht van de Cell Preparation Bag (CPB) gevuld met verdund celproduct met behulp van de volgende vergelijking:

Streefgewicht van CPB gevuld met gewassen celproduct (g)	=	Labelingsvolume (g)	+	Gewicht van lege CPB (g)

1. Steek de spike van een plasma-transferset in een poort van een bufferzak. Controleer of de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand staat.
2. Gebruik de steriele slangaansluiting om de bufferzak op de Cell Preparation Bag aan te sluiten. Hang de bufferzak aan een bevestigingsbeugel.
3. Tarreer het gewicht. Plaats de Cell Preparation Bag met de celpellet op de weegschaal.
4. Open de slangenklem naast de Cell Preparation Bag. Schuif de klem op de plasma-transferset in de open stand. Vul de Cell Preparation Bag met buffer totdat het berekende 'Streefgewicht van de Cell Preparation Bag gevuld met gewassen celproduct' is bereikt. Schuif de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand om de vloeistofstroom te stoppen. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag.
5. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de bufferzak los.
6. Resuspendeer de cellen in de Cell Preparation Bag voorzichtig. Vermijd intensieve menging van de cellen. Zorg dat alle cellen zijn geresuspendeerd.
7. Tarreer het gewicht en weeg de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het gewicht.
8. Bereken het gewicht van het celproduct na het aanpassen van het volume door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het celproduct na aanpassen van het volume (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag (g)

9. Bewaar de Plasma Waste Bags totdat de scheiding en definitieve analyse van alle cellen zijn voltooid.

Labeling van de cellen (alleen voor het CliniMACS Plus Anti-Biotin System en het CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System)

Incubatie met de CliniMACS TCRα/β-Biotin

Het flesje met CliniMACS TCRα/β-Biotin is gebruiksklaar en voldoende voor de toepassing zoals hieronder beschreven. Het conjugaat is niet bedoeld voor parenterale toediening.

Bewaar het conjugaat bij +2 °C tot +8 °C (+36 °F tot +46 °F). NIET invriezen. Het conjugaat moet koud, direct uit de koelkast, worden gebruikt. Warm het NIET op vóór gebruik. Het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van het conjugaat zijn op het etiket van het flesje afgedrukt. Gebruik het conjugaat NIET na de uiterste gebruiksdatum.

1. Noteer het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van de CliniMACS TCRα/β-Biotin.
2. Desinfecteer het septum van de sampling site coupler. Gebruik een geschikte steriele spuit en naald om het gehele volume van één flesje (7,5 mL) te verwijderen. Een 10 mL spuit is voldoende om de inhoud van één flesje te verwijderen. De spuit moet een 20 gauge naald hebben.
3. Zoek de injectiepoort op de sampling site coupler en injecteer het gehele conjugaatvolume in de Cell Preparation Bag (als optie kunt u de inhoud van de Cell Preparation Bag naar een nieuwe transferzak overbrengen om een hoge depletie-efficiëntie te garanderen). Start onmiddellijk de incubatietijd van 30 minuten.
4. Houd de Cell Preparation Bag met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging. Noteer de starttijd van de incubatie.
5. Plaats de Cell Preparation Bag plat op de horizontale menger, die is ingesteld op een toerental van ongeveer 25 tpm, en zorg dat de zak niet gekreukt of gebogen is. Incubeer de zak gedurende in totaal 30 minuten bij een gecontroleerde kamertemperatuur (+19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]). Noteer de stoptijd van de incubatie.

Incubatie met het primaire antilichaam (gebiotinyleerd antilichaam van een andere fabrikant)

1. Resuspendeer de celpellet en markeer de cellen met primair gebiotinyleerd antilichaam gedurende de tijd en met de titer die wordt aanbevolen door de fabrikant van het antilichaam. Zorg dat alle cellen zijn geresuspendeerd. (Het primaire antilichaam dient te worden gebruikt met zijn optimale titer, d.w.z. met de optimale kleuringsintensiteit en geen achtergrondkleuring. Volg de gebruiksaanwijzing van de fabrikant van het primaire antilichaam.)
2. Incubeer de Cell Preparation Bag op een horizontale menger bij 25 tpm. Volg de gebruiksaanwijzing van de fabrikant van het primaire antilichaam.

Verwijdering van overtollig conjugaat (1e was) (alleen voor het CliniMACS Plus Anti-Biotin System en het CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System)

Verdun het celproduct tot een totaalgewicht van 600 g. Bereken het gewicht van de toe te voegen buffer met behulp van de volgende vergelijking en noteer het.

Gewicht van de toe te voegen buffer (g)	=	600 g	–	Gewicht van gelabeld celproduct (g)

1. Verdun het celproduct volgens de stappen die zijn beschreven bij de stap ‘Verdunning van het cellulaire beginproduct’ (stap 1-8) tot een totaalgewicht van 600 g.
2. Bereken het gewicht van het celproduct na verwijdering van overtollig conjugaat (1e was) door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het celproduct na verwijdering van overtollig conjugaat (1e was) (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag (g)

3. Gebruik de steriele slangaansluiting om de lege Wash Waste Bag op de Cell Preparation Bag aan te sluiten.
4. Vouw alle losse delen van de Cell Preparation Bag of slangen omlaag. Plaats de twee zakken veilig in de centrifugebak.
5. Balanceer de geladen bak uit met een goed afgewogen bak. Het is belangrijk dat de centrifuge goed is uitgebalanceerd.
6. Centrifugeer de cellen bij omstandigheden zoals aangegeven in de toepassingsspecifieke paragraaf.

7. Verwijder de zakken uit de centrifuge zonder de celpellet te resuspenderen. Laad de Cell Preparation Bag op de plasma-extractor en de aangesloten Waste Bag op de tafelweegschaal.
8. Raadpleeg de toepassingsspecifieke paragraaf voor het vereiste aantal wassen.
9. Pas het gewicht van de celsuspensie aan zoals beschreven in paragraaf 'Aanpassen van het volume' tot ongeveer 190 g, voor magnetische labeling van de cellen met het CliniMACS Anti-Biotin Reagent.

Incubatie met immunoglobuline G van klinische kwaliteit (alleen voor het CliniMACS Plus CD3 System of het CD3/CD19 System)

BELANGRIJK

Denk eraan dat menselijk IgG geen component van het CliniMACS-systeem is. Gebruik alleen menselijk IgG van farmaceutische kwaliteit dat in uw land is goedgekeurd. Lees de bijsluiter van het gebruikte menselijke IgG zorgvuldig, vooral het gedeelte over overgevoeligheidsreacties en het risico van infectie dat menselijk IgG als een van bloed afgeleid product kan hebben voor alle patiënten. Alle risico's die door deze materialen ontstaan, moeten door de gebruiker worden geëvalueerd.

Desinfecteer het septum van de sampling site coupler van de Cell Preparation Bag. Gebruik een geschikte steriele spuit en naald om 1,5 mg menselijk IgG per mL celproduct toe te voegen (bijv. 1,6 mL Gamunex 10% voor 95 mL celproduct). Meng de inhoud grondig. Incubeer gedurende 5 minuten bij een gecontroleerde kamertemperatuur met een voorzichtige ronddraaiende beweging (bijv. 25 tpm op een horizontale menger).

Magnetische labeling van de cellen: incubatie met het CliniMACS-reagens

De flesjes met CliniMACS-reagens zijn gebruiksklaar en voldoende voor de toepassing zoals hieronder beschreven. De reagentia zijn niet bedoeld voor parenterale toediening.

Bewaar de reagentia bij +2 °C tot +8 °C (+36 °F tot +46 °F). NIET invriezen. De reagentia moeten koud, direct uit de koelkast, worden gebruikt. Warm het NIET op vóór gebruik. Het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van de reagentia zijn op het flaconetiket afgedrukt. Gebruik de reagentia NIET na de uiterste gebruiksdatum.

1. Noteer het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van het/de CliniMACS reagens/reagentia.
2. Desinfecteer het septum van de sampling site coupler. Gebruik een geschikte steriele spuit en naald om het gehele volume van a) één flesje of b) twee reagensflesjes (met elk 7,5 mL) te verwijderen. Een 10 mL spuit is voldoende

om de inhoud van één flesje te verwijderen, terwijl een 20 mL spuit voldoende om de inhoud van twee reagensflesjes te verwijderen. De spuit moet een 20 gauge naald hebben.

3. Zoek de injectiepoort op de sampling site coupler en injecteer het gehele reagensvolume in de Cell Preparation Bag (als optie kunt u bij depletietoepassingen de inhoud van de Cell Preparation Bag naar een nieuwe transferzak overbrengen om een hoge depletie-efficiëntie te garanderen). De incubatietijd start op dit moment.
4. Houd de Cell Preparation Bag met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging.
5. Plaats de Cell Preparation Bag plat op de horizontale menger, die is ingesteld op een toerental van ongeveer 25 tpm, en zorg dat de zak niet gekreukt of gebogen is. Incubeer de zak volgens de omstandigheden en de duur die in de toepassingsspecifieke paragraaf zijn aangegeven.

Verwijdering van overtollig reagens

Om het niet-gebonden reagens na afloop van de incubatie te verwijderen, moeten de cellen worden gewassen. Raadpleeg de toepassingsspecifieke paragraaf voor het vereiste aantal wassen.

1. Steek de spike van een plasma-transferset in een poort van een bufferzak met ten minste 500 mL buffer. Controleer of de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand staat.
2. Gebruik de steriele slangaansluiting om de bufferzak op de Cell Preparation Bag aan te sluiten. Hang de bufferzak aan een bevestigingsbeugel.
3. Plaats de Cell Preparation Bag op de weegschaal en tarreer het gewicht.
4. Open de slangenklem naast de Cell Preparation Bag. Schuif de klem op de plasma-transferset in de open stand. Vul de Cell Preparation Bag met buffer tot 600 mL. Schuif de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand om de vloeistofstroom te stoppen. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag. Noteer het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag.
5. Smelt de slang af tussen beide klemmen. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de bufferzak los.
6. Houd de Cell Preparation Bag met beide handen vast en meng de inhoud dan grondig met een voorzichtige ronddraaiende beweging.
7. Gebruik de steriele slangaansluiting om de lege Wash Waste Bag op de Cell Preparation Bag aan te sluiten.
8. Vouw alle losse delen van de zakken of slangen omlaag. Breng de Cell Preparation Bag en Wash Waste Bag op een veilige manier over naar de centrifugebak.
9. Incubeer de cellen volgens de omstandigheden en de duur die in de toepassingsspecifieke paragraaf zijn aangegeven.

10. Verwijder de zakken uit de centrifuge zonder de celpellet te verstoren.
11. Hang de Cell Preparation Bag voorzichtig op de plasma-extractor.
12. Plaats de Wash Waste Bag op de weegschaal en tarreer het gewicht.
13. Open de slangenklem naast de Cell Preparation Bag. Gebruik de plasma-extractor om zoveel mogelijk supernatant uit de Cell Preparation Bag te verwijderen. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag om de vloeistofstroom te stoppen.
14. Smelt de slang af met de afsmelteenheid. Laat daarbij ten minste 15 cm slang op de Cell Preparation Bag zitten voor verdere aansluitingen. Koppel de Wash Waste Bag los.
15. Bewaar de Wash Waste Bag totdat de scheiding en definitieve analyse van alle cellen zijn voltooid.
16. Resuspendeer de celpellet in de Cell Preparation Bag. Vermijd intensieve menging van de cellen. Zorg dat alle cellen zijn geresuspendeerd.
17. Als meer wassen vereist zijn (bijv. voor verrijking van CD34-positieve cellen), herhaal dan stap 1-16.
18. Tarreer het gewicht en weeg de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het gewicht.
19. Bereken het gewicht van het celproduct na de was door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het celproduct na de was (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag (g)

20. Pas het vullingsvolume van de celsuspensie aan: Bereken het buffergewicht dat noodzakelijk is om het gewicht van de celsuspensie aan te passen aan het juiste vullingsvolume van celsuspensie volgens de toepassing met behulp van de volgende vergelijking. Voor het laden van de gelabelde en gewassen cellen op de slangenset, wordt een maximale celconcentratie van $0{,}4\times10^9$ cellen per mL aanbevolen.

Gewicht van de toe te voegen buffer (g)	=	Vullingsvolume van celsuspensie (volgens de toepassing)	–	Gewicht van het celproduct na de was (g)

21. Gebruik de steriele slangaansluiting om de bufferzak op de Cell Preparation Bag aan te sluiten. Hang de bufferzak aan een bevestigingsbeugel.
22. Plaats de Cell Preparation Bag op de weegschaal en tarreer het gewicht.
23. Open de slangenklem naast de Cell Preparation Bag. Schuif de klem op de plasma-transferset in de open stand. Houd de weegschaal in de gaten en breng dan het berekende buffergewicht over naar de Cell Preparation Bag.
24. Nadat het juiste buffergewicht is overgebracht, schuift u de klem op de plasma-transferset in de gesloten stand om de vloeistofstroom te stoppen. Sluit de slangenklem naast de Cell Preparation Bag.

25. Smelt de slang tussen beide klemmen af met de afsmelteenheid. Koppel de bufferzak los.
26. Resuspendeer de celpellet in de Cell Preparation Bag. Vermijd intensieve menging van de cellen. Zorg dat alle cellen zijn geresuspendeerd.
27. Desinfecteer het septum van de sampling site coupler. Steek een naald met een passende spuit in de sampling site coupler van de Cell Preparation Bag en verwijder 0,5 mL van het gelabelde product. Breng het monster over naar een monsterbuisje. Plak een sticker op het buisje met de tekst OORSPRONKELIJK (dit moet de patiëntidentificatie bevatten) en bewaar het buisje voor celanalyse.
28. Tarreer het gewicht en weeg de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het gewicht.
29. Bereken het gewicht van het celproduct na de toevoeging van buffer (vullingsvolume van celsuspensie) door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag. Noteer het berekende gewicht.

Gewicht van het celproduct na toevoeging van buffer (g)	=	Gewicht van de gevulde Cell Preparation Bag (g)	–	Gewicht van de lege Cell Preparation Bag (g)

▶ Ga door naar STAP 2.

Sluit de Cell Preparation Bag PAS aan op de slangenset wanneer die melding op het instrumentendisplay verschijnt.

7.2 STAP 2: Selectie van scheidingsprogramma

7.2.1 Inschakelen van het CliniMACS Plus Instrument

Schakel het CliniMACS Plus Instrument in met de AAN/UIT-schakelaar op het achterpaneel van het instrument. Noteer de starttijd van de instrumentrun.

In het venster verschijnt het hoofdscherm onder 'Installatie' van de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument.

Om terug te keren naar het programmamenu, drukt u op **ENT**.

7.2.2 CD34 SELECTION 1/2

BELANGRIJK

- *CD34 SELECTION 1 mag alleen worden gebruikt in combinatie met de CliniMACS Tubing Set (REF 161-01), terwijl CD34 SELECTION 2 alleen mag worden gebruikt in combinatie met de CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01). Controleer de slangenset zorgvuldig vóór de installatie.*
- *Meldingen op het scherm en diagrammen die als hulpmiddel bij de procedure dienen, verschijnen op het display. Voer elke stap uit en controleer elke stap volgens de instructies in de handleiding voordat u doorgaat naar de volgende stap. Om een fout tijdens de invoer van gegevens te corrigeren, drukt u op de knop 'Ongedaan maken' (zie 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).*

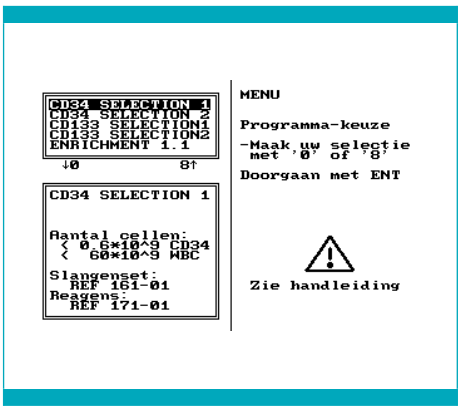
Selectie van scheidingsprogramma CD34 SELECTION 1/2

Nu verschijnt het venster Scherm 7.1.

Afhankelijk van de toepassing selecteert u CD34 SELECTION 1 of CD34 SELECTION 2.

Om het scheidingsprogramma te selecteren, markeert u de naam van het programma met de zwarte balk. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.

Om door te gaan met het gemarkeerde programma, drukt u op **ENT**.



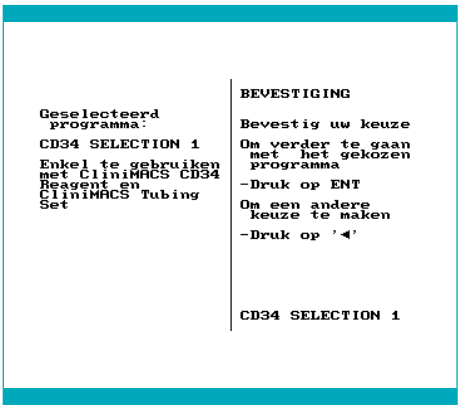
Scherm 7.1: Selectie van het scheidingsprogramma

Bevestiging

Nu verschijnt het venster Scherm 7.2.

Om het scheidingsprogramma te bevestigen en door te gaan, drukt u op **ENT**.

Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.



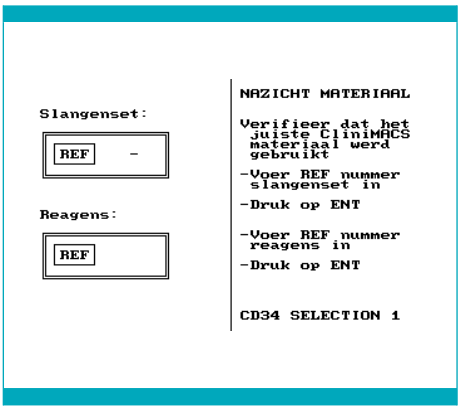
Scherm 7.2: Bevestiging

Materiaalcontrole

Nu verschijnt het venster Scherm 7.3.

CD34 SELECTION 1 en CD34 SELECTION 2 zijn geoptimaliseerd voor de verrijking van CD34-positieve cellen.

Om te bevestigen dat de geschikte slangenset beschikbaar is en het juiste reagens is gebruikt voor de cellabeling, voert u het betreffende catalogusnummer (REF) in het invulvakje in. De instrumentsoftware controleert of de materialen kunnen worden gebruikt in combinatie met het geselecteerde programma.



Scherm 7.3: Materiaalcontrole

1. Voer het catalogusnummer van de slangenset in die moet worden gebruikt voor de geautomatiseerde celscheiding. Om dit te bevestigen en door te gaan, drukt u op **ENT**.
2. Voer het catalogusnummer in van het reagens dat voor de cellabeling is gebruikt. Om dit te bevestigen en door te gaan, drukt u op **ENT**.

Als het ingevoerde catalogusnummer van een slangenset of een reagens niet is gespecificeerd voor het geselecteerde scheidingsprogramma, verschijnt er een melding. Druk op **ENT** om dit te bevestigen en voer dan het juiste catalogusnummer in. Als het ingevoerde nummer nog steeds onjuist is, verschijnt de melding nogmaals. Nadat u op **ENT** hebt gedrukt, keert het programma terug naar het programmamenu (zie Scherm 7.1).

BELANGRIJK

- *CD34 SELECTION 1 mag alleen worden gebruikt in combinatie met de CliniMACS Tubing Set (REF 161-01), terwijl CD34 SELECTION 2 alleen mag worden gebruikt in combinatie met de CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01). Controleer de slangenset zorgvuldig vóór de installatie.*

- *Om een fout tijdens de invoer van gegevens te corrigeren, drukt u op de knop 'Ongedaan maken' (zie 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).*

Als de materiaalcontrole succesvol was, gaat het programma automatisch door met de instructies voor het installeren van de slangenset.

▶ **Ga door naar STAP 3.**

7.2.3 ENRICHMENT 1.1

BELANGRIJK

- *Het scheidingsprogramma ENRICHMENT 1.1 mag alleen worden gebruikt met de CliniMACS Tubing Set (REF 161-01).*
- *Meldingen op het scherm en diagrammen die als hulpmiddel bij de procedure dienen, verschijnen op het display. Voer elke stap uit en controleer elke stap volgens de instructies in de handleiding voordat u doorgaat naar de volgende stap. Om een fout tijdens de invoer van gegevens te corrigeren, drukt u op de knop 'Ongedaan maken' (zie 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).*

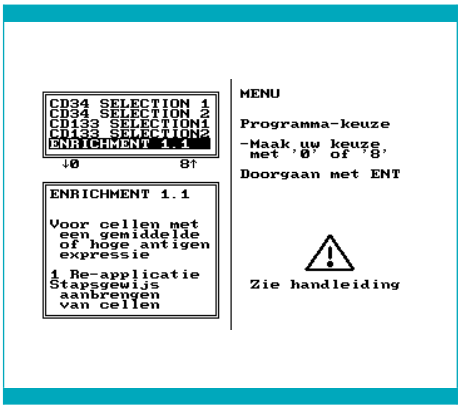
Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 1.1

Nu verschijnt het venster Scherm 7.4.

Selecteer ENRICHMENT 1.1.

Om het scheidingsprogramma te selecteren, markeert u de naam van het programma met de zwarte balk. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.

Om door te gaan met het gemarkeerde programma, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.4: Selectie van het scheidingsprogramma

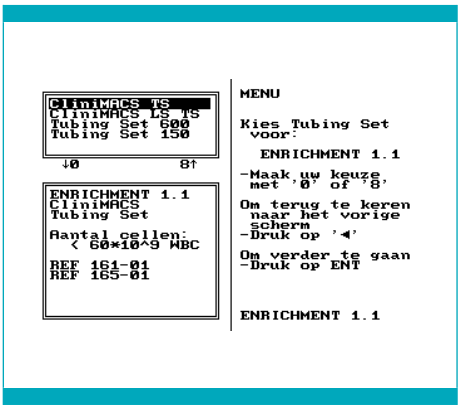
Selectie van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.5.

Controleer of het juiste programma is geselecteerd. Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.

Selecteer de slangenset door deze met de zwarte balk te markeren in het vak linksboven. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.

Het venster eronder toont de relevante gegevens zoals capaciteit en catalogusnummer van de geselecteerde slangenset.



Scherm 7.5: Selectie van de slangenset

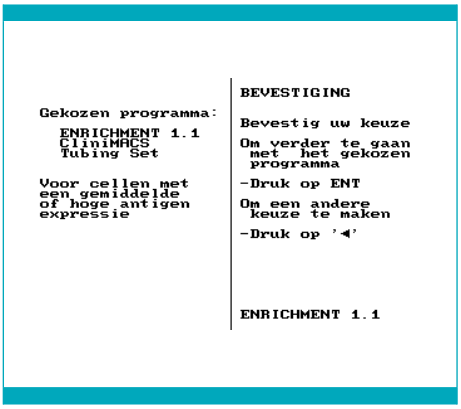
Om door te gaan met de geselecteerde combinatie van scheidingsprogramma en slangenset, drukt u op **ENT**.

Bevestiging

Nu verschijnt het venster Scherm 7.6.

Om de combinatie van scheidingsprogramma en slangenset te bevestigen en door te gaan, drukt u op **ENT**.

Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.



Scherm 7.6: Bevestiging

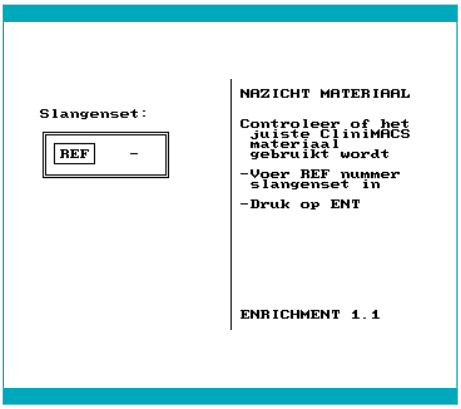
Materiaalcontrole

Nu verschijnt het venster Scherm 7.7.

De vraag naar het catalogusnummer (REF) van de slangenset dient als een beveiligingscontrole of de geselecteerde slangenset kan worden gebruikt met het geselecteerde programma.

Voer het catalogusnummer van de geselecteerde slangenset in en druk op **ENT** om door te gaan.

Als een niet bijbehorend catalogusnummer is ingevoerd, verschijnt er een melding. Om dit te bevestigen, drukt u op **ENT** en voert u het juiste catalogusnummer in. Als het ingevoerde



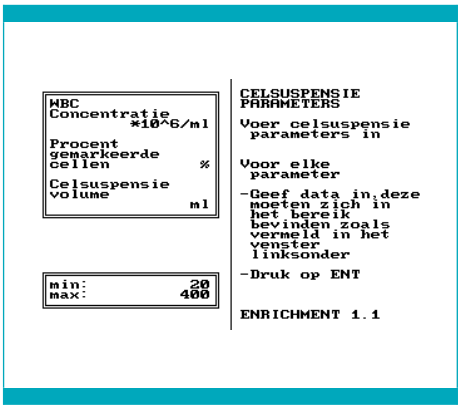
Scherm 7.7: Materiaalcontrole

nummer nog steeds onjuist is, verschijnt de melding nogmaals. Nadat u op ENT hebt gedrukt, keert het programma terug naar het programmamenu (zie Scherm 7.4).

Invoer van monsterparameters

Als de materiaalcontrole succesvol was, gaat het programma automatisch door en vraagt naar de monsterparameters die noodzakelijk zijn voor het aanpassen van de scheiding voor elk afzonderlijk monster. Ook krijgt de operator belangrijke informatie over de vereiste buffer- en zakvolumes.

Nu verschijnt het venster Scherm 7.8.



Scherm 7.8: Invoer van monsterparameters

1. Voer eerst de WBC-concentratie van het monster in. Het toegestane bereik wordt weergegeven in het vak linksonder. Druk op ◄ om een verkeerde invoer te corrigeren.

   Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn. Om de volgende gegevens in te voeren, drukt u op ENT.

   BELANGRIJK
   Alle vereiste monsterparameters verwijzen naar het monster na de cellabelings- en -wasprocedure. Het toegestane bereik dat in het vak linksonder wordt weergegeven houdt altijd rekening met de vorige invoer. Na elke invoer berekent de software het aanvaarde bereik van de volgende vraag en past dit aan..

   ⚠ VOORZICHTIG

   Het specificeren van verkeerde parameters kan leiden tot niet-optimale monsterverwerking en kan het risico van doelcelverlies vergroten. Het invoeren van waarden voor WBC-concentratie en/of percentage van gelabelde cellen die lager zijn dan de werkelijke monsterwaarden, kan leiden tot celverlies vanwege overbelasting van het systeem. Het invoeren van een lager monstervolume kan leiden tot celverlies vanwege overbelasting of zelfs onvolledige monsterverwerking. Als de specificatie van een van de drie parameters te hoog is, zal dit leiden tot een langere verwerkingstijd en een verhoogd volume van de doelcelfractie. Zorg dat u altijd de juiste parameters invoert.

2. Voer het percentage gelabelde cellen in. Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn (zie 'Belangrijk'). Om de volgende gegevens in te voeren, drukt u op ENT.

3. Voer het uiteindelijke volume van het celmonster in. Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn (zie 'Belangrijk').

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Berekening

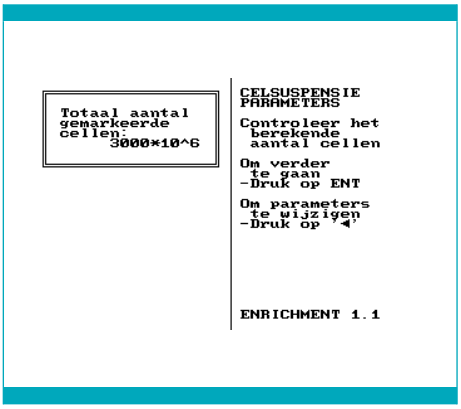
De CliniMACS Plus-software berekent het totaal aantal gelabelde cellen om te controleren of de scheidingscapaciteit voldoende is.

Het resultaat wordt weergegeven op een van twee mogelijke schermen:

- Het resultaat van de berekening wordt weergegeven op een scherm dat lijkt op Scherm 7.9. Zorg dat het berekende aantal gelabelde cellen juist is.

  Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

  Correctie van de gegevens is mogelijk. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige scherm voor de correctie.

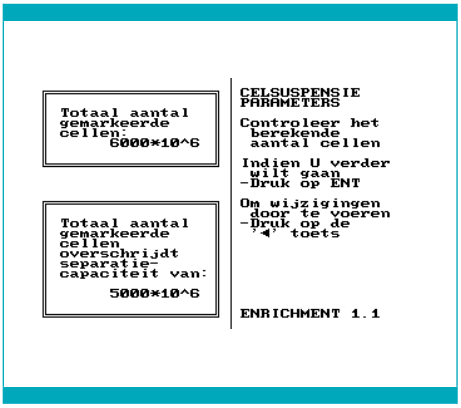


Scherm 7.9: Berekening

- Als het berekende aantal gelabelde cellen groter is dan de scheidingscapaciteit van het CliniMACS Plus-systeem, wordt een scherm dat lijkt op Scherm 7.10 weergegeven. Zorg dat de juiste monsterparameters zijn ingevoerd en dat het berekende aantal cellen juist is. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige Scherm 7.8 en om de monsterparameters te corrigeren.

  Om overbelasting te voorkomen, splitst u het monster en bepaalt het volume van elke portie. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige Scherm 7.8. Voer de monsterparameters voor het eerste aliquot van het monster in en ga door met de scheiding van deze portie. Nadat de scheiding is voltooid, start u een tweede scheiding met het tweede aliquot met behulp van een nieuwe slangenset.

  Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.10: Berekening: Aantal cellen overschrijdt scheidingscapaciteit

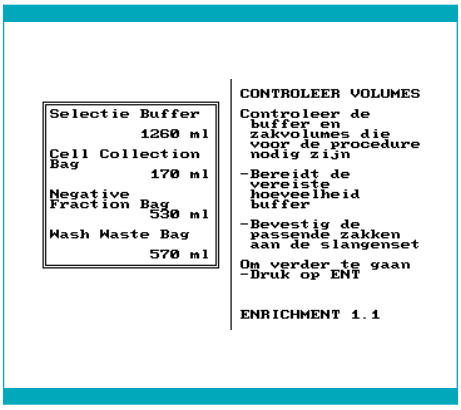
Volume-informatie

Op basis van het totaal aantal gelabelde cellen (zie onder 'Berekening') berekent de software het aantal scheidingsstappen, de hoeveelheid buffer die nodig is voor de gehele scheiding en de vloeistofvolumes die worden verzameld in de Negative Fraction Bag, Buffer Waste Bag en Cell Collection Bag.

De standaardwaarden zijn als volgt:

- CliniMACS PBS/EDTA Buffer: 1000 mL
- Negative Fraction Bag: 500 mL
- Buffer Waste Bag: 500 mL
- Cell Collection Bag: 150 mL

Als een van de berekende waarden deze standaardwaarden overschrijdt, verschijnt Scherm 7.11 met informatie over de hoeveelheid vloeistof die nodig is en zal worden verzameld tijdens de scheidingsprocedure. Vervang de zakken die bij de slangenset werden geleverd (inhoud ongeveer 500 mL) door alternatieve zakken van de juiste afmeting, indien vervanging nodig is. De oorspronkelijk aan de slangenset bevestigde zakken zijn verbonden met luerverbindingen. Zakken die de oorspronkelijke zakken vervangen, moeten een vrouwelijke luerverbinding hebben. Standaardzakken kunnen worden aangesloten met behulp van een Luer/Spike Interconnector.



Scherm 7.11: Volumes controleren

1. Controleer of de gevraagde bufferhoeveelheid beschikbaar is. Bevestig niet meer dan drie liter buffer aan de bevestigingsbeugel.

   LET OP

   Risico van beschadiging van het instrument. Door overbelasting van de bevestigingsbeugels kan het instrument worden beschadigd. Het draagvermogen van een enkele bevestigingsbeugel is 3 kg. Voorkom overbelasting van de bevestigingsbeugels.

2. Open de tray van de slangenset onder steriele omstandigheden en vervang, indien nodig, de oorspronkelijke zakken door de grotere zakken. Zorg dat de stroming naar deze zakken niet beperkt is.

3. Bevestig een voldoende grote Cell Collection Bag aan de vrije luerverbinding. Als dit niet is gespecificeerd op Scherm 7.11, is het maximale elutievolume van de doelcelfractie 150 mL. Zorg dat onbeperkte stroming naar de Cell Collection Bag mogelijk is.

BELANGRIJK

- *Zorg dat de vereiste bufferhoeveelheid beschikbaar is en dat het volume van de zakken die op Scherm 7.11 wordt vermeld, voldoende is. Anders kan de prestatie van de scheidingsprocedure worden beïnvloed.*
- *Elke wijziging van de CliniMACS-slangensets moet onder steriele omstandigheden worden uitgevoerd, d.w.z. in de laminaire flowkast.*
- *Voor de verdere analyse of celverwerking dient u er rekening mee te houden dat de volumes op Scherm 7.11 geen exacte volumes zijn, maar volumes binnen de veiligheidseisen.*

4. Controleer de luerlockverbindingen op de kolommen. De luerlock-verbindingen moeten goed worden gesloten.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Het programma gaat automatisch door met de instructies voor de installatie van de slangenset op het instrument.

▶ **Ga door naar STAP 3.**

7.2.4 ENRICHMENT 3.2

BELANGRIJK

- *Het scheidingsprogramma ENRICHMENT 3.2 mag alleen worden gebruikt met de CliniMACS Tubing Set (REF 161-01).*
- *Meldingen op het scherm en diagrammen die als hulpmiddel bij de procedure dienen, verschijnen op het display. Voer elke stap uit en controleer elke stap volgens de instructies in de handleiding voordat u doorgaat naar de volgende stap. Om een fout tijdens de invoer van gegevens te corrigeren, drukt u op de knop 'Ongedaan maken' (zie 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).*

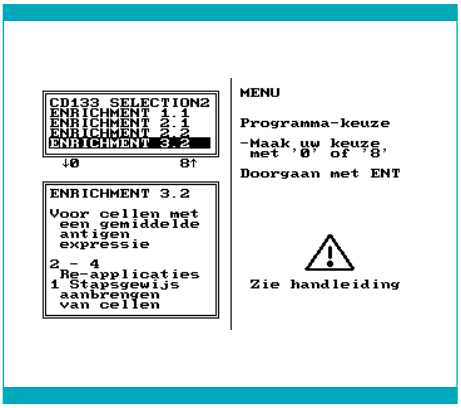
Selectie van scheidingsprogramma ENRICHMENT 3.2

Nu verschijnt het venster Scherm 7.12.

Selecteer ENRICHMENT 3.2.

Om het scheidingsprogramma te selecteren, markeert u de naam van het programma met de zwarte balk. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.

Om door te gaan met het gemarkeerde programma, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.12: Selectie van het scheidingsprogramma

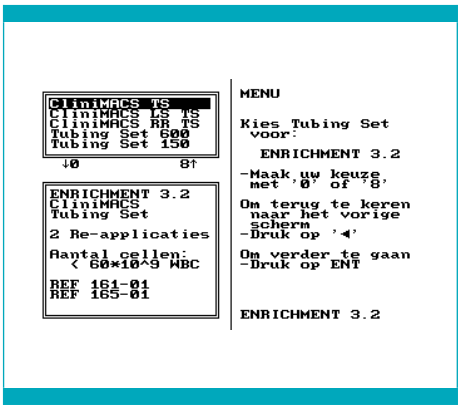
Selectie van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.13.

Controleer of u het juiste programma hebt geselecteerd. Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.

Selecteer de slangenset door deze met de zwarte balk te markeren in het vak aan de linkerkant. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.

Het venster eronder toont de relevante gegevens zoals capaciteit en catalogusnummer van de geselecteerde slangenset.



Scherm 7.13: Selectie van de slangenset

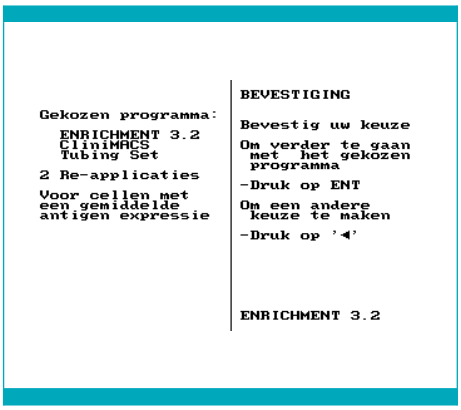
Om door te gaan met de geselecteerde combinatie van scheidingsprogramma en slangenset, drukt u op **ENT**.

Bevestiging

Nu verschijnt het venster Scherm 7.14.

Om de combinatie van scheidingsprogramma en slangenset te bevestigen en door te gaan, drukt u op **ENT**.

Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.



Scherm 7.14: Bevestiging

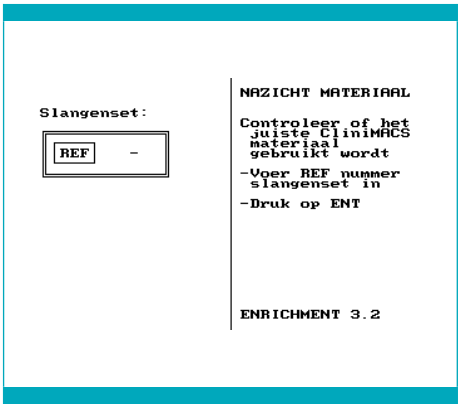
Materiaalcontrole

Nu verschijnt het venster Scherm 7.15.

De vraag naar het catalogusnummer (REF) van de slangenset dient als een beveiligingscontrole of de geselecteerde slangenset kan worden gebruikt met het geselecteerde programma.

Voer het catalogusnummer van de geselecteerde slangenset in en druk op **ENT** om door te gaan.

Als een niet bijbehorend catalogusnummer is ingevoerd, verschijnt er een melding.



Scherm 7.15: Materiaalcontrole

Om dit te bevestigen, drukt u op ENT en voert u het juiste catalogusnummer in. Als het ingevoerde nummer nog steeds onjuist is, verschijnt de melding nogmaals. Nadat u op ENT hebt gedrukt, keert het programma terug naar het programmamenu (zie Scherm 7.12).

Als de materiaalcontrole succesvol was, gaat het programma automatisch door met de instructies voor het installeren van de slangenset.

▶ **Ga door naar STAP 3.**

7.2.5 DEPLETION 2.1

BELANGRIJK

- *Het scheidingsprogramma DEPLETION 2.1 mag alleen worden gebruikt met de CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01).*
- *Meldingen op het scherm en diagrammen die als hulpmiddel bij de procedure dienen, verschijnen op het display. Voer elke stap uit en controleer elke stap volgens de instructies in de handleiding voordat u doorgaat naar de volgende stap. Om een fout tijdens de invoer van gegevens te corrigeren, drukt u op de knop 'Ongedaan maken' (zie 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).*

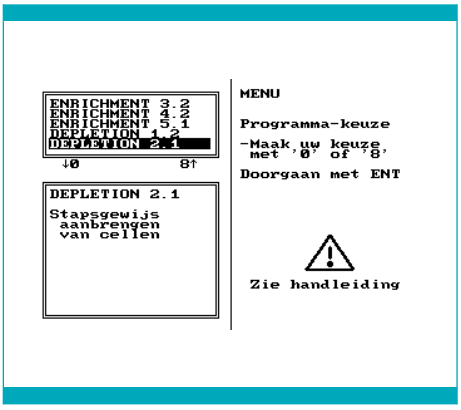
Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 2.1

Nu verschijnt het venster Scherm 7.16.

Selecteer DEPLETION 2.1.

Om het scheidingsprogramma te selecteren, markeert u de naam van het programma met de zwarte balk. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen 0 en 8.

Om door te gaan met het gemarkeerde programma, drukt u op ENT.



Scherm 7.16: Selectie van het scheidingsprogramma

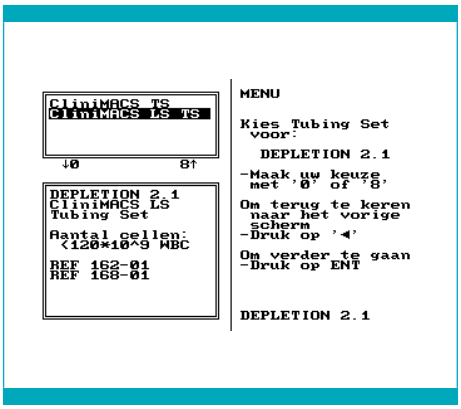
Selectie van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.17.

Controleer of het juiste programma is geselecteerd.

Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.

Selecteer de slangenset door deze met de zwarte balk te markeren in het vak linksboven. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.



Scherm 7.17: Selectie van de slangenset

Het venster eronder toont de relevante gegevens zoals capaciteit en catalogusnummer van de geselecteerde slangenset.

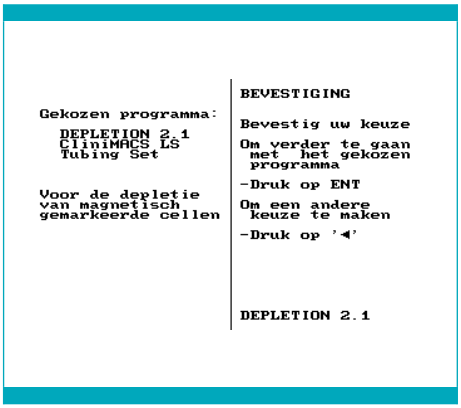
Om door te gaan met de geselecteerde combinatie van scheidingsprogramma en slangenset, drukt u op **ENT**.

Bevestiging

Nu verschijnt het venster Scherm 7.18.

Om de combinatie van scheidingsprogramma en slangenset te bevestigen en door te gaan, drukt u op **ENT**.

Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.

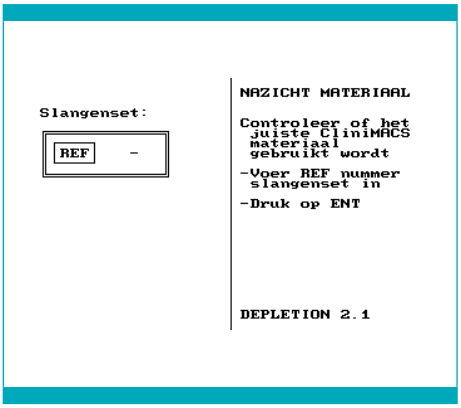


Scherm 7.18: Bevestiging

Materiaalcontrole

Nu verschijnt het venster Scherm 7.19.

De vraag naar het catalogusnummer (REF) van de slangenset dient als een beveiligingscontrole of de slangenset die door de operator is geselecteerd, kan worden gebruikt.



Scherm 7.19: Materiaalcontrole

Voer het catalogusnummer van de geselecteerde slangenset in en druk op **ENT** om door te gaan.

Als een niet bijbehorend catalogusnummer is ingevoerd, verschijnt er een melding.

Om dit te bevestigen, drukt u op **ENT** en voert u het juiste catalogusnummer in. Als het ingevoerde nummer nog steeds onjuist is, verschijnt de melding nogmaals. Nadat u op **ENT** hebt gedrukt, keert het programma terug naar het programmamenu (zie Scherm 7.16).

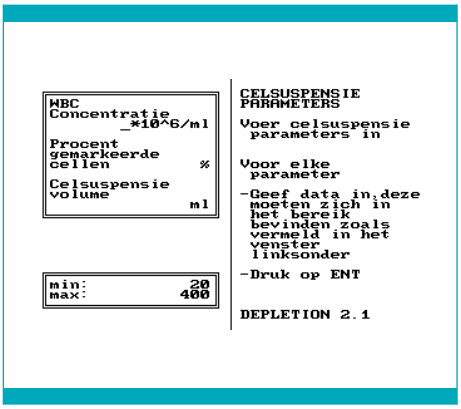
Invoer van monsterparameters

Als de materiaalcontrole succesvol was, gaat het programma automatisch door en vraagt naar de monsterparameters die noodzakelijk zijn voor het aanpassen van de scheiding voor elk afzonderlijk monster. Ook krijgt de operator belangrijke informatie over de vereiste buffer- en zakvolumes.

Nu verschijnt het venster Scherm 7.20.

1. Voer eerst de WBC-concentratie van het monster in. Het toegestane bereik wordt weergegeven in het vak linksonder. Druk op ◄ om een verkeerde invoer te corrigeren.

   Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn.



Scherm 7.20: Invoer van monsterparameters

BELANGRIJK

Alle vereiste monsterparameters verwijzen naar het monster na de cellabelings- en -wasprocedure. Het toegestane bereik dat in het vak linksonder wordt weergegeven houdt altijd rekening met de vorige invoer. Na elke invoer berekent de software het aanvaarde bereik van de volgende vraag en past dit aan.

⚠ VOORZICHTIG

Het specificeren van verkeerde parameters kan leiden tot niet-optimale monsterverwerking en kan het risico van doelcelverlies vergroten. Het invoeren van waarden voor WBC-concentratie en/of percentage van gelabelde cellen die lager zijn dan de werkelijke monsterwaarden, kan leiden tot celverlies vanwege overbelasting van het systeem. Het invoeren van een lager monstervolume kan leiden tot celverlies vanwege overbelasting of zelfs onvolledige monsterverwerking. Als de specificatie van een van de drie parameters te hoog is, zal dit leiden tot een langere verwerkingstijd en een verhoogd volume van de doelcelfractie. Zorg dat u altijd de juiste parameters invoert.

Om de volgende gegevens in te voeren, drukt u op **ENT**.

2. Voer het percentage gelabelde cellen in. Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn (zie 'Belangrijk').

   Om de volgende gegevens in te voeren, drukt u op **ENT**.

3. Voer het uiteindelijke volume van het celmonster in. Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn (zie 'Belangrijk').

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Berekening

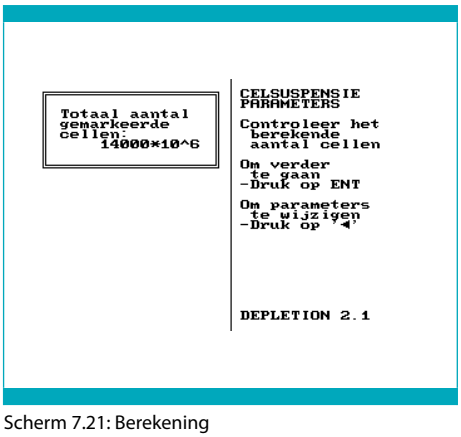
De CliniMACS Plus-software berekent het totaal aantal gelabelde cellen om te controleren of de scheidingscapaciteit voldoende is.

Het resultaat wordt weergegeven op een van twee mogelijke schermen:

- Het resultaat van de berekening wordt weergegeven op een scherm dat lijkt op Scherm 7.21. Zorg dat het berekende aantal gelabelde cellen juist is.

  Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

  Correctie van de gegevens is mogelijk. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige scherm voor de correctie.

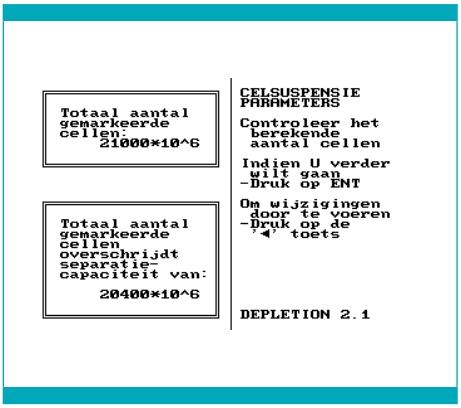


Scherm 7.21: Berekening

- Als het berekende aantal gelabelde cellen groter is dan de scheidingscapaciteit van het CliniMACS Plus-systeem, wordt een scherm dat lijkt op Scherm 7.22 weergegeven. Zorg dat de juiste monsterparameters zijn ingevoerd en dat het berekende aantal cellen juist is. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige scherm om de monsterparameters te corrigeren.

  Om overbelasting te voorkomen, splitst u het monster en bepaalt het volume van elke portie. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige Scherm 7.20. Voer de monsterparameters voor het eerste aliquot van het monster in en ga door met de scheiding van deze portie. Nadat de scheiding is voltooid, start u een tweede scheiding met het tweede aliquot met behulp van een nieuwe slangenset.

  Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



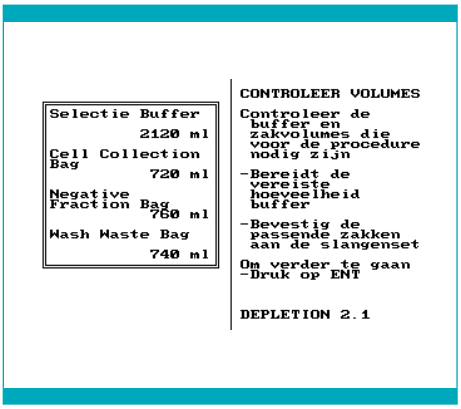
Scherm 7.22: Berekening: Aantal cellen overschrijdt scheidingscapaciteit

Volume-informatie

Op basis van het totaal aantal gelabelde cellen (zie onder 'Berekening') berekent de software het aantal scheidingsstappen, de hoeveelheid buffer die nodig is voor de gehele scheiding en de vloeistofvolumes die worden verzameld in de Negative Fraction Bag, Buffer Waste Bag en Cell Collection Bag.
De standaardwaarden zijn als volgt:

- CliniMACS PBS/EDTA Buffer 1.000 mL
- Negative Fraction Bag 500 mL
- Buffer Waste Bag 500 mL
- Cell Collection Bag 150 mL

Als een van de berekende waarden deze standaardwaarden overschrijdt, verschijnt Scherm 7.23 met informatie over de hoeveelheid vloeistof die nodig is en zal worden verzameld tijdens de scheidingsprocedure. Vervang de zakken die bij de slangenset werden geleverd (inhoud ongeveer 500 mL) door alternatieve zakken van de juiste afmeting, indien vervanging nodig is. De oorspronkelijk aan de slangenset bevestigde zakken, zijn verbonden met luerverbindingen. Zakken die de oorspronkelijke zakken vervangen, moeten een vrouwelijke luerverbinding hebben. Standaardzakken kunnen worden aangesloten met behulp van een Luer/Spike Interconnector.



Scherm 7.23: Volumes controleren

1. Controleer of de gevraagde bufferhoeveelheid beschikbaar is. Bevestig niet meer dan drie liter buffer aan de bevestigingsbeugel.

   LET OP

   Risico van beschadiging van het instrument. Door overbelasting van de bevestigingsbeugels kan het instrument worden beschadigd. Het draagvermogen van een enkele bevestigingsbeugel is 3 kg. Voorkom overbelasting van de bevestigingsbeugels.

2. Open de tray van de slangenset onder steriele omstandigheden en vervang, indien nodig, de oorspronkelijke zakken door de grotere zakken. Zorg dat de stroming naar deze zakken niet beperkt is.

3. Bevestig een voldoende grote Cell Collection Bag aan de vrije luerverbinding. Als dit niet is gespecificeerd op Scherm 7.23, is het maximale elutievolume van de doelcelfractie 150 mL. Zorg dat onbeperkte stroming naar de Cell Collection Bag mogelijk is.

   BELANGRIJK

   - *Zorg dat de vereiste bufferhoeveelheid beschikbaar is en dat het volume van de zakken die op Scherm 7.23 wordt vermeld, voldoende is. Anders kan de prestatie van de scheidingsprocedure worden beïnvloed.*
   - *Elke wijziging van de CliniMACS-slangensets moet onder steriele omstandigheden worden uitgevoerd, d.w.z. in de laminaire flowkast.*
   - *Voor de verdere analyse of celverwerking dient u er rekening mee te houden dat de volumes op Scherm 7.23 geen exacte volumes zijn, maar volumes binnen de veiligheidseisen.*

4. Controleer de luerlockverbindingen op de kolommen. De luerlockverbindingen moeten goed worden gesloten.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Het programma gaat automatisch door met de instructies voor de installatie van de slangenset op het instrument.

▶ **Ga door naar STAP 3.**

7.2.6 DEPLETION 3.1

BELANGRIJK

- *Het scheidingsprogramma ENRICHMENT 3.1 mag alleen worden gebruikt met de CliniMACS Depletion Tubing Set (REF 261-01).*
- *Meldingen op het scherm en diagrammen die als hulpmiddel bij de procedure dienen, verschijnen op het display. Voer elke stap uit en controleer elke stap volgens de instructies in de handleiding voordat u doorgaat naar de volgende stap. Om een fout tijdens de invoer van gegevens te corrigeren, drukt u op de knop 'Ongedaan maken' (zie 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).*

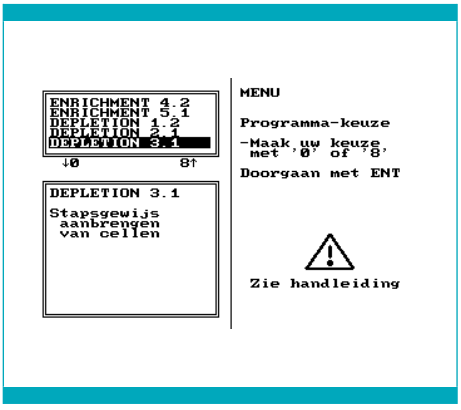
Selectie van scheidingsprogramma DEPLETION 3.1

Nu verschijnt het venster Scherm 7.24.

Selecteer DEPLETION 3.1.

Om het scheidingsprogramma te selecteren, markeert u de naam van het programma met de zwarte balk. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.

Om door te gaan met het gemarkeerde programma, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.24: Selectie van het scheidingsprogramma

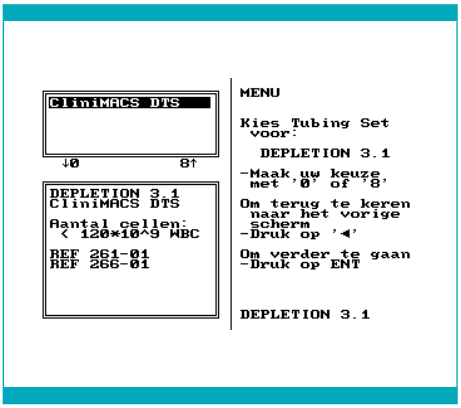
Selectie van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.25.

Controleer of het juiste programma is geselecteerd. Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.

Selecteer de slangenset door deze met de zwarte balk te markeren in het vak linksboven. Beweeg de balk omhoog en omlaag met de toetsen **0** en **8**.

Het venster eronder toont de relevante gegevens zoals capaciteit en catalogusnummer van de geselecteerde slangenset.



Scherm 7.25: Selectie van de slangenset

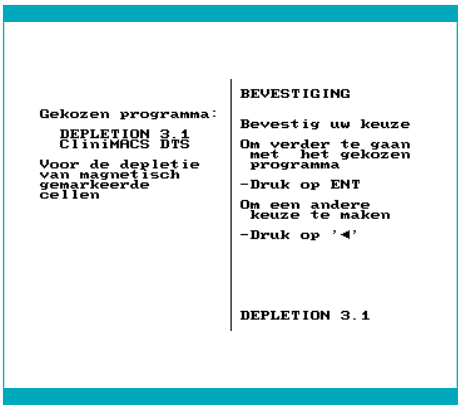
Om door te gaan met de geselecteerde combinatie van scheidingsprogramma en slangenset, drukt u op **ENT**.

Bevestiging

Nu verschijnt het venster Scherm 7.26.

Om de combinatie van scheidingsprogramma en slangenset te bevestigen en door te gaan, drukt u op ENT.

Zo niet, dan drukt u op ◄ om terug te keren naar de vorige stap en de selectie aan te passen.



Scherm 7.26: Bevestiging

Materiaalcontrole

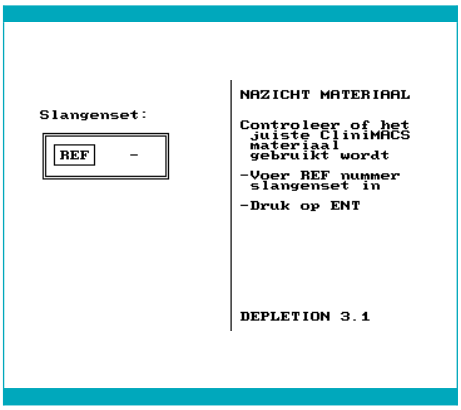
Nu verschijnt het venster Scherm 7.27.

De vraag naar het catalogusnummer (REF) van de slangenset dient als een beveiligingscontrole of de slangenset die door de operator is geselecteerd, kan worden gebruikt.

Voer het catalogusnummer van de geselecteerde slangenset in en druk op ENT om door te gaan.

Als een niet bijbehorend catalogusnummer is ingevoerd, verschijnt er een melding.

Om dit te bevestigen, drukt u op ENT en voert u het juiste catalogusnummer in. Als het ingevoerde nummer nog steeds onjuist is, verschijnt de melding nogmaals. Nadat u op ENT hebt gedrukt, keert het programma terug naar het programmamenu (zie Scherm 7.25).

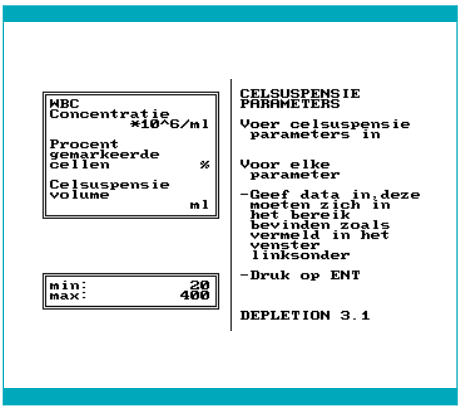


Scherm 7.27: Materiaalcontrole

Invoer van monsterparameters

Als de materiaalcontrole succesvol was, gaat het programma automatisch door en vraagt naar sommige monsterparameters die noodzakelijk zijn voor het aanpassen van de scheiding voor elk afzonderlijk monster. Ook krijgt de operator belangrijke informatie over de vereiste buffer- en zakvolumes.

Nu verschijnt het venster Scherm 7.28.



Scherm 7.28: Invoer van monsterparameters

1. Voer eerst de WBC-concentratie van het monster in. Het toegestane bereik wordt weergegeven in het vak linksonder. Druk op ◄ om een verkeerde invoer te corrigeren.

   Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn.

BELANGRIJK

Alle vereiste monsterparameters verwijzen naar het monster na de cellabelings- en -wasprocedure. Het toegestane bereik dat in het vak linksonder wordt weergegeven houdt altijd rekening met de vorige invoer. Na elke invoer berekent de software het aanvaarde bereik van de volgende vraag en past dit aan.

⚠ VOORZICHTIG

Het specificeren van verkeerde parameters kan leiden tot niet-optimale monsterverwerking en kan het risico van doelcelverlies vergroten. Het invoeren van waarden voor WBC-concentratie en/of percentage van gelabelde cellen die lager zijn dan de werkelijke monsterwaarden, kan leiden tot celverlies vanwege overbelasting van het systeem. Het invoeren van een lager monstervolume kan leiden tot celverlies vanwege overbelasting of zelfs onvolledige monsterverwerking. Als de specificatie van een van de drie parameters te hoog is, zal dit leiden tot een langere verwerkingstijd en een verhoogd volume van de doelcelfractie. Zorg dat u altijd de juiste parameters invoert.

   Om de volgende gegevens in te voeren, drukt u op **ENT**.

2. Voer het percentage gelabelde cellen in. Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn (zie ‘Belangrijk’).

   Om de volgende gegevens in te voeren, drukt u op **ENT**.

3. Voer het uiteindelijke volume van het celmonster in. Controleer of de ingevoerde waarde overeenkomt met de waarde van het monster. Anders kan de monsterverwerking niet optimaal zijn (zie ‘Belangrijk’).

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Berekening

De CliniMACS Plus-software berekent het totaal aantal gelabelde cellen om te controleren of de scheidingscapaciteit voldoende is.

Het resultaat wordt weergegeven op een van twee mogelijke schermen:

- Het resultaat van de berekening wordt weergegeven op een scherm dat lijkt op Scherm 7.29. Zorg dat het berekende aantal gelabelde cellen juist is.

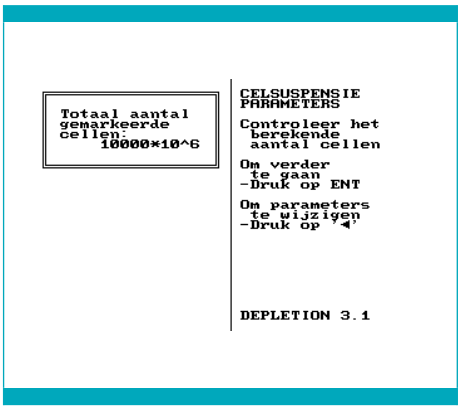
  Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

  Correctie van de gegevens is mogelijk. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige scherm voor de correctie.

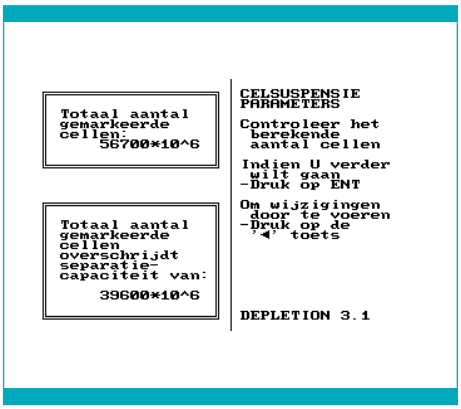
- Als het berekende aantal gelabelde cellen groter is dan de scheidingscapaciteit van het CliniMACS Plus-systeem, wordt een scherm dat lijkt op Scherm 7.30 weergegeven. Zorg dat de juiste monsterparameters zijn ingevoerd en dat het berekende aantal cellen juist is. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige scherm om de monsterparameters te corrigeren.

  Om overbelasting te voorkomen, splitst u het monster en bepaalt het volume van elke portie. Druk op ◄ om terug te keren naar het vorige Scherm 7.28. Voer de monsterparameters voor het eerste aliquot van het monster in en ga door met de scheiding van deze portie. Nadat de scheiding is voltooid, start u een tweede scheiding met het tweede aliquot met behulp van een nieuwe slangenset.

  Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.29: Selectie van de slangenset



Scherm 7.30: Berekening: Aantal cellen overschrijdt scheidingscapaciteit

Volume-informatie

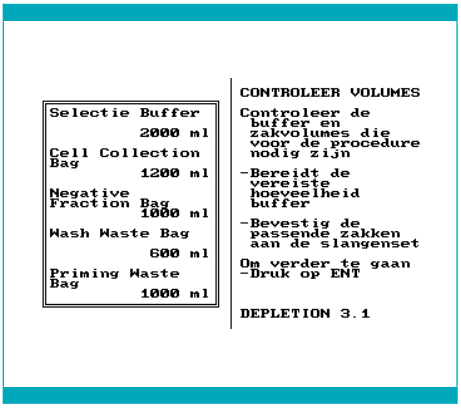
Op basis van het totaal aantal gelabelde cellen (zie onder 'Berekening') berekent de software het aantal scheidingsstappen, de hoeveelheid buffer die nodig is voor de gehele depletie en de vloeistofvolumes die worden verzameld in de Cell Collection Bag, Non-Target Cell Bag en Reapplication Bag.

BELANGRIJK

- *De Negative Fraction Bag komt overeen met de Non-Target Cell Bag.*
- *De Priming Waste Bag komt overeen met de Reapplication Bag.*

-

Als een van de berekende waarden deze standaardwaarden overschrijdt, verschijnt er een scherm dat lijkt op Scherm 7.31 met informatie over de hoeveelheid vloeistof die nodig is en zal worden verzameld tijdens de scheidingsprocedure. Vervang de zakken die bij de slangenset werden geleverd door alternatieve zakken van de juiste afmeting, indien vervanging nodig is. De oorspronkelijk aan de slangenset bevestigde zakken, zijn verbonden met luerverbindingen. Zakken die de oorspronkelijke zakken vervangen, moeten een vrouwelijke luerverbinding hebben. Standaardzakken kunnen worden aangesloten met behulp van een Luer/Spike Interconnector.



Scherm 7.31: Volumes controleren

1. Controleer of de gevraagde bufferhoeveelheid beschikbaar is. Bevestig niet meer dan drie liter buffer aan de bevestigingsbeugel.

   LET OP

   Risico van beschadiging van het instrument. Door overbelasting van de bevestigingsbeugels kan het instrument worden beschadigd. Het draagvermogen van een enkele bevestigingsbeugel is 3 kg. Voorkom overbelasting van de bevestigingsbeugels.

2. Open de tray van de slangenset onder steriele omstandigheden en vervang, indien nodig, de oorspronkelijke zakken door de grotere zakken. Zorg dat de stroming naar deze zakken niet beperkt is.

3. Is vervanging nodig, dan moet de Cell Collection Bag van de slangenset worden vervangen door een voldoende grote transferzak. Bereken het gewicht van de nieuwe, lege Cell Collection Bag en noteer dit. Zorg dat onbeperkte stroming naar de Cell Collection Bag mogelijk is. Als alternatief kunt u een extra 600 mL transferzak aan de eerste Cell Collection Bag bevestigen, bijv. door een plasma-transferset te gebruiken.

BELANGRIJK

- *Zorg dat de vereiste bufferhoeveelheid beschikbaar is en dat het volume van de zakken die op Scherm 7.31 wordt vermeld, voldoende is. Anders kan de prestatie van de scheidingsprocedure worden beïnvloed.*
- *Elke wijziging van de CliniMACS-slangensets moet onder steriele omstandigheden worden uitgevoerd, d.w.z. in de laminaire flowkast.*
- *Voor de verdere analyse of celverwerking dient u er rekening mee te houden dat de volumes op Scherm 7.31 geen exacte volumes zijn, maar volumes binnen de veiligheidseisen.*

4. Controleer de luerlockverbindingen op de kolommen. De luerlock-verbindingen moeten goed gesloten zijn.

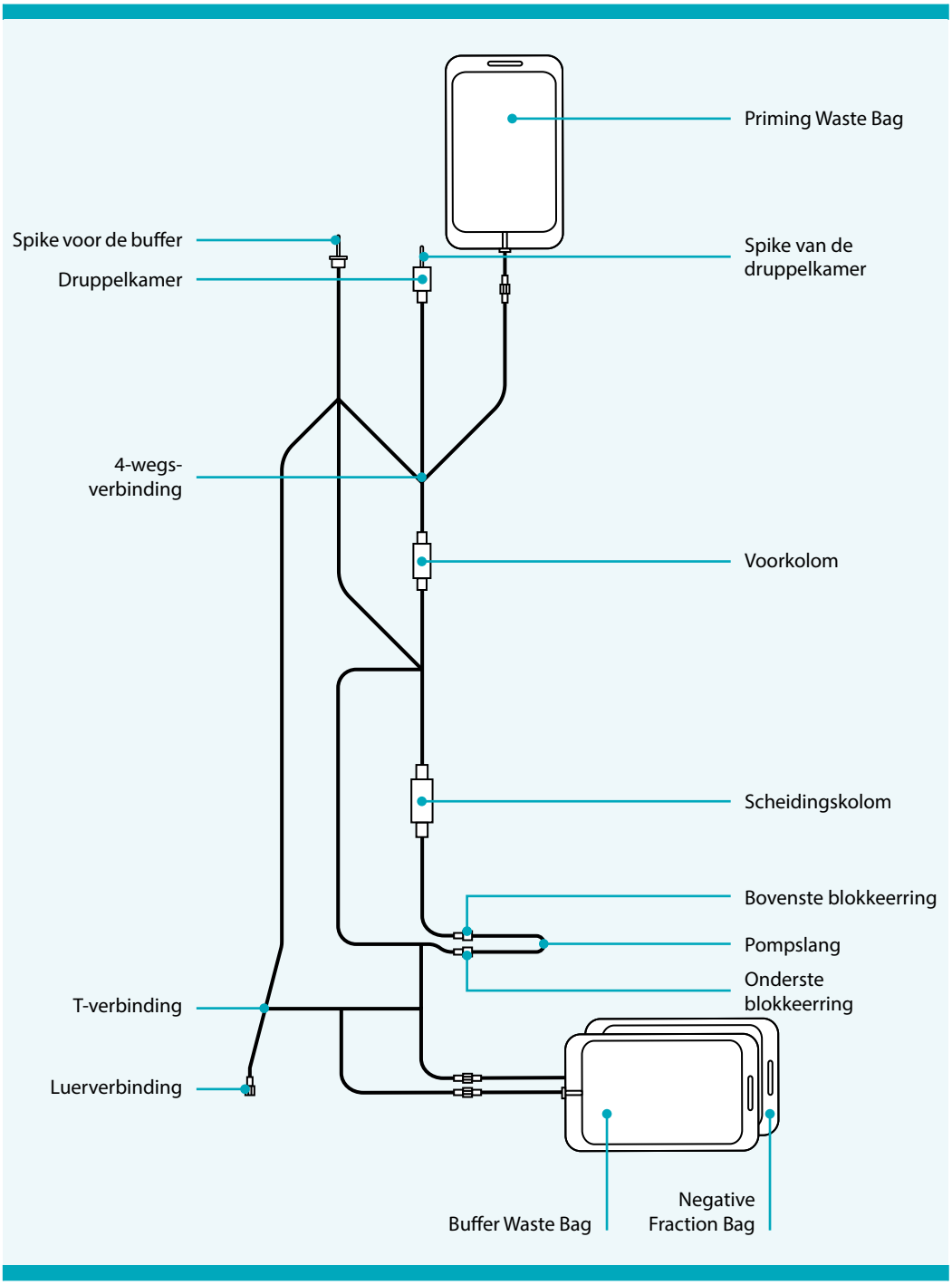
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Het programma gaat automatisch door met de instructies voor de installatie van de slangenset op het instrument.

▶ **Ga door naar STAP 3.**

7.3 STAP 3: Installatie van CliniMACS-slangensets

7.3.1 CliniMACS Tubing Set en CliniMACS Tubing Set LS

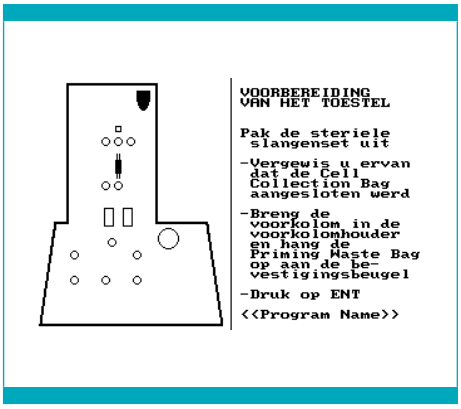


Afbeelding 7.2: Algemene opbouw van een CliniMACS-slangenset (bijv. CliniMACS Tubing Set)

Voorbereiding op de installatie van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.32.

Rechts op het scherm wordt de instructie weergegeven en links een schema dat overeenkomt met de instructie. De knipperende functies op het scherm geven de aandachtsgebieden aan.



Scherm 7.32: Slangenset uitpakken

Zowel de CliniMACS Tubing Set als de CliniMACS Tubing Set LS wordt geleverd in afgedichte, gesteriliseerde verpakkingen. Elke slangenset bevat vooraf bevestigde slangen en kolommen voor één celscheidingsprocedure (zie Afbeelding 7.2). Als de verpakking onbeschadigd is, ontstaat een steriel vloeistoftraject.

⚠ WAARSCHUWING

Risico van contaminatie. Een beschadigde verpakking geeft aan dat de slangenset mogelijk niet meer steriel is en daarom niet mag worden gebruikt. Controleer de verpakking zorgvuldig op schade, doorprikken of scheuren. Gebruik het product alleen als de verpakking onbeschadigd en afgedicht is.

Noot: Het CliniMACS Plus Instrument toont de naam van het geselecteerde programma, bijv. CD34 SELECTION 1, op de onderste regel van het instrumentscherm. Bij elke installatiestap van de slangenset kunt u op de toets 'Ongedaan maken' (zie onder 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument) drukken om terug te keren naar de vorige stap.

1. Noteer het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van de slangenset.

   Haal de steriele slangenset onder steriele omstandigheden (bijv. in de laminaire flowkast) uit de verpakking. Verwijder de knijpklem die is gebruikt voor de verpakking van de CliniMACS Tubing Set LS voordat u de slangenset gebruikt. De klem is voorzien van de tekst 'Remove before assembly to CliniMACS Plus Instrument' (Verwijderen vóór bevestiging aan het CliniMACS Plus Instrument).

2. Controleer de luerlockverbindingen van de zakken. De luerlockverbindingen moeten goed worden gesloten.

Cell Collection Bag bevestigen

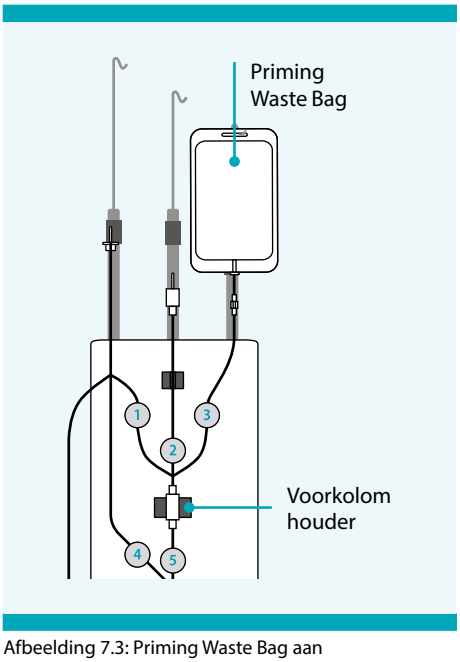
1. Noteer het gewicht van de lege Cell Collection Bag.
2. Verwijder de doppen onder aseptische omstandigheden en bevestig de steriele Cell Collection Bag die is voorzien van een Luer/Spike Interconnector aan de slangenset voordat u met slangenset op het CliniMACS Plus Instrument verbindt. Zorg dat de oorspronkelijke slang van de Cell Collection Bag is vastgeklemd of afgesmolten.

   Als voor de scheiding meer dan één Cell Collection Bag nodig is, moeten de zakken worden aangesloten met behulp van een plasma-transferset. Zorg dat alle verbindingen goed vastzitten.
3. Zorg dat onbeperkte stroming naar de Cell Collection Bag mogelijk is.
4. Ga door met de installatie van de slangenset, hetzij met de hieronder beschreven procedure, hetzij met de 'Alternatieve installatie van de CliniMACS-slangensets'.

Priming Waste Bag bevestigen en voorkolom aanbrengen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.32.

1. Bevestig de Priming Waste Bag aan de rechter bevestigingsbeugel van het instrument (zie Afbeelding 7.3).
2. Pas de hoogte van de bevestigingsbeugel aan. Verhoog of verlaag de bevestigingsbeugel zodat de hoogte overeenkomt met de afmeting van de Priming Waste Bag. Zorg dat de beugel hoog genoeg staat om buiging van de slang te voorkomen waardoor de stroming zou kunnen worden beperkt. Ook moet de beugel laag genoeg staan om te voorkomen dat de slang of verbindingen worden uitgerekt.
3. Plaats de voorkolom in de houder (zie Afbeelding 7.4).



Afbeelding 7.3: Priming Waste Bag aan bevestigingsbeugel bevestigen

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Plaats de scheidingskolom en laad ventielnr. 5

Nu verschijnt het venster Scherm 7.33.

De ventielen die op het scherm zwart worden aangegeven, worden automatisch geopend om het inbrengen van de slang te vergemakkelijken.

1. Plaats de scheidingskolom in de houder voor de scheidingskolom (zie Afbeelding 7.4).

   ⚠ WAARSCHUWING

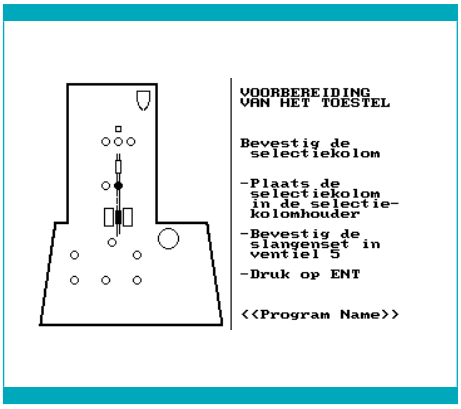
   Risico op letsel. Als de scheidingskolom wordt geplaatst of verwijderd terwijl de magneeteenheid is ingeschakeld, bestaat het risico van persoonlijk letsel. Plaats of verwijder de scheidingskolom alleen wanneer de magneeteenheid is uitgeschakeld.

2. Laad de slang in ventielnr. 5.

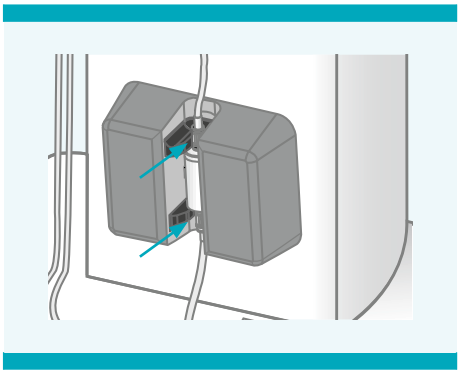
BELANGRIJK

- *Controleer tijdens elke stap alle slangen en aansluitingen op knikken of ernstige buiging waardoor de stroming van de vloeistof door de slang zou kunnen worden beperkt. Controleer alle ventielen om te garanderen dat de slang goed vastzit.*
- *Plaats de slangenset alleen in open ventielen (wanneer de knop naar binnen wordt geduwd). De slang kan niet goed worden aangebracht in een gesloten ventiel.*
- *Als de slang moet worden aangepast nadat een ventiel is gesloten, mag u niet aan de slang trekken zonder de ventielknop in te drukken om het ventiel te openen (zie Afbeelding 7.5).*

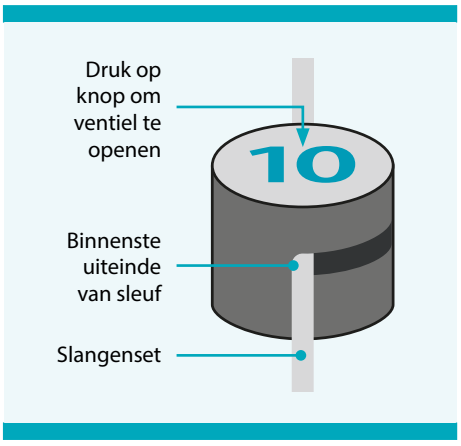
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.33: Scheidingskolom plaatsen en ventielnr. 5 laden



Afbeelding 7.4: Scheidingskolom in houder voor de scheidingskolom



Afbeelding 7.5: Correct aangebrachte slang

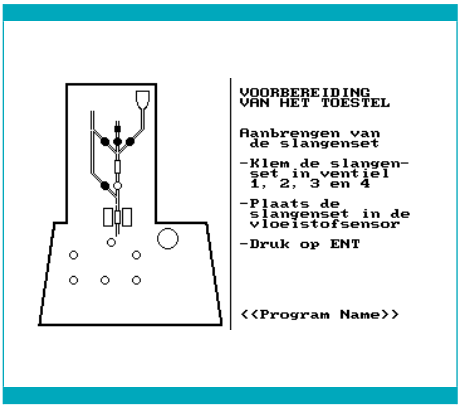
Laad ventielnrs. 1, 2, 3 en 4

Nu verschijnt het venster Scherm 7.34.

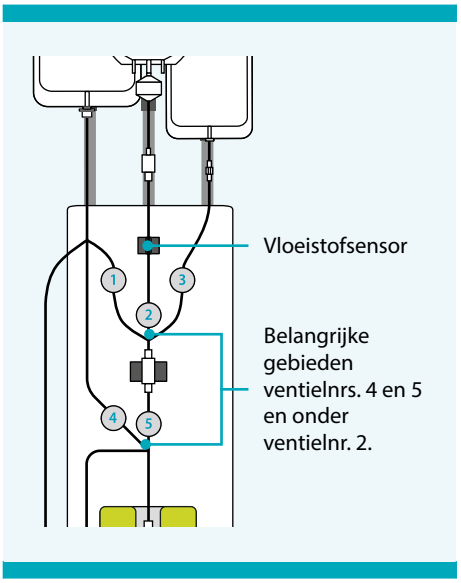
1. Laad de slang in ventielnr. 4. Controleer dat de slang veilig in de ventielopening zit (zie Afbeelding 7.5). Let met name op het gebied tussen ventielnrs. 4 en 5 (zie Afbeelding 7.6) en houd de 4-wegsverbinding rechtop.
2. Plaats de slang in ventielnr. 1.
3. Plaats de 4-wegsverbinding net onder ventielnr. 2. Let met name op het gebied onder ventielnr. 2.
4. Plaats de slang in ventielnrs. 2 en 3.
5. Bevestig de slang tussen ventielnr. 2 en de druppelkamer in de vloeistofsensor. Controleer dat de slang correct in de sensorhouder is geplaatst.

   BELANGRIJK
   Om de juiste werking te garanderen, moet zowel de vloeistofsensor als de slang droog worden geplaatst. Controleer beide zorgvuldig. Als vocht aanwezig is, moet de plek met een zachte, pluisvrije doek worden gedroogd.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.34: Ventielnrs. 1, 2, 3, 4 en vloeistofsensor laden

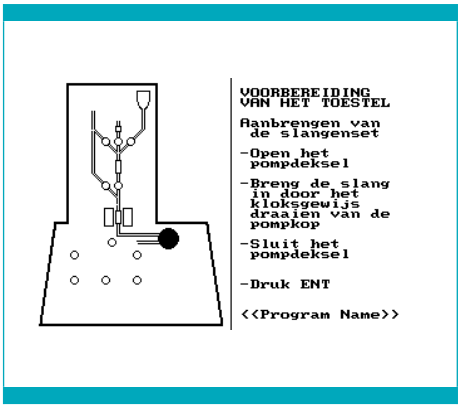


Afbeelding 7.6: Slang in ventielen

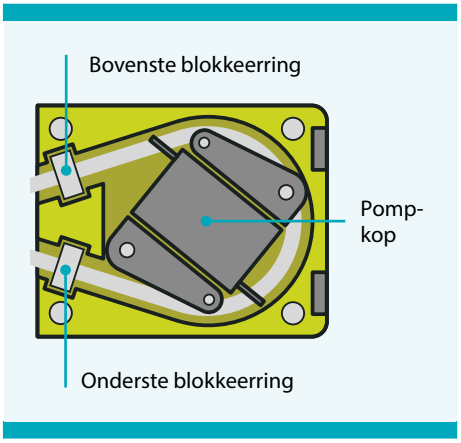
Breng de pompslang aan

Nu verschijnt het venster Scherm 7.35.

1. Open de pompdeur door de linkerrand op te tillen.
2. Plaats de bovenste blokkeerring van de pompslang in de groef van de blokkeerring op de pompbehuizing (zie Afbeelding 7.7).
3. Draai de pompkop rechtsom totdat de slang zich tussen beide slanggeleide-pennen bevindt en de slang goed om de pompkop vastzit. Zorg dat de slang niet wordt bekneld aan het uiteinde van de geleidepennen. Als aanpassing van de slang in de pomp nodig is, kan de slang worden verwijderd door het onderste uiteinde op te tillen en de pompkop linksom te draaien.
4. Plaats de onderste blokkeerring van de pompslang in de groef van de blokkeerring op de pompbehuizing.
5. Draai de pomp rechtsom en linksom om te controleren of de pompkop vrij kan bewegen.
6. Sluit de pompdeur.



Scherm 7.35: Pompslang aanbrengen



Afbeelding 7.7: Pompslang aanbrengen

BELANGRIJK

Tijdens het celscheidingsprogramma stopt de pomp onmiddellijk telkens wanneer de pompbehuizing wordt geopend. Als deze langer dan 600 seconden open wordt gelaten, onderbreekt het instrument de run die op dat moment wordt uitgevoerd.

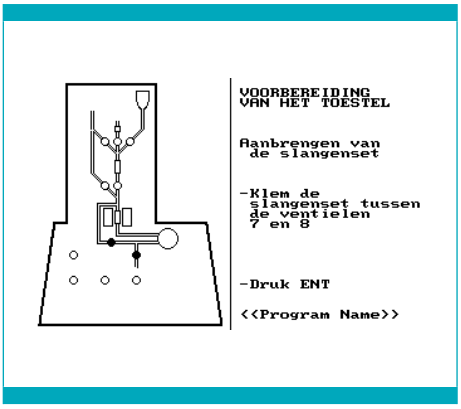
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Laad ventielnrs. 7 en 8

Nu verschijnt het venster Scherm 7.36.

1. Laad de slang in ventielnr. 7.
2. Laad de slang in ventielnr. 8.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



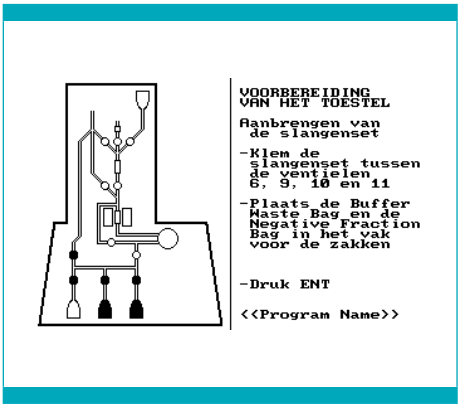
Scherm 7.36: Ventielnrs. 7 en 8 laden

Laad ventielnrs. 6, 9, 10 en 11

Nu verschijnt het venster Scherm 7.37.

1. Laad de slang in ventielnrs. 6, 9, 10 en 11.
2. Plaats de Negative Fraction Bag en de Buffer Waste Bag in het opbergvak voor de zakken. Zorg dat de slang niet wordt samengedrukt onder het deksel van het opbergvak voor de zakken.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.37: Ventielnrs. 6, 9, 10 en 11 laden

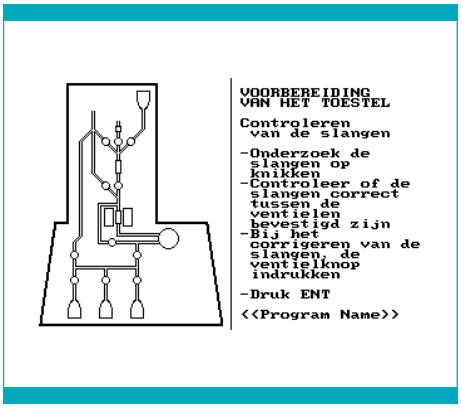
Controleer nogmaals alle slangen en aansluitingen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.38.

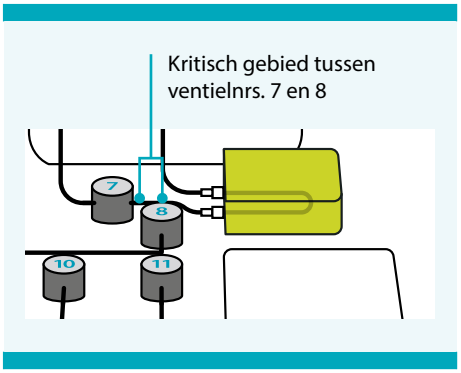
Voordat u de celscheidingsprocedure start, moet u alle slangen en aansluitingen nogmaals controleren.

Noot: Controleer bij alle ventielen of de slangen goed zijn geplaatst. Controleer of de slangen uniform zijn aangebracht en of de slangen geen knikken hebben of worden uitgerekt. Let vooral op de voorkolom en het gebied tussen de pomp en ventielnrs. 7 en 8 (zie Afbeelding 7.8) en tussen ventielnrs. 4 en 5 (zie Afbeelding 7.6). Als de slang moet worden aangepast nadat een ventiel is gesloten, mag u niet aan de slang trekken zonder de ventielknop in te drukken om het ventiel te openen. Nadat een slang is aangepast, is het absoluut noodzakelijk om twee keer stevig op de bijbehorende ventielen te drukken.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.38: Alle slangen en verbindingen nogmaals controleren



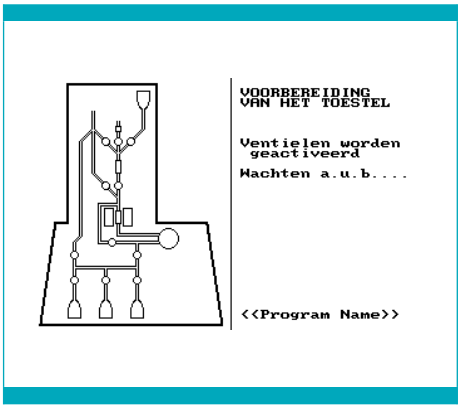
Afbeelding 7.8: Slang in ventielen

Positie van ventielen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.39.

Om te zorgen dat de slangen goed in de ventielen zitten, activeert het instrument alle ventielen achtereenvolgens twee keer. Kijk en luister om te zien of alle ventielen goed werken. Als een ventiel niet goed werkt, raadpleegt u hoofdstuk 8 “Problemen oplossen” op pagina 209. Deze stap kan worden herhaald door op ◄ te drukken gevolgd door **ENT** (zie ‘Beschrijving’ in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).

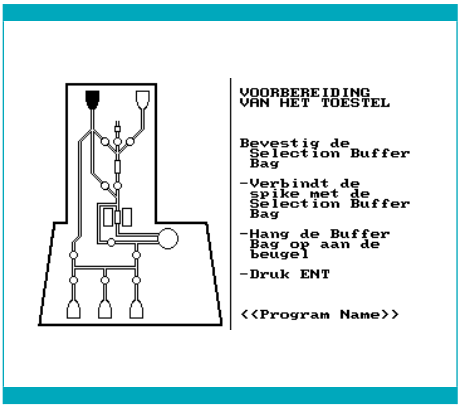
Tijdens de controlereeks wordt ook de magneetaandrijving getest.



Scherm 7.39: Positie van ventielen

CliniMACS PBS/EDTA Buffer bevestigen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.40.



Scherm 7.40: Bufferzak bevestigen

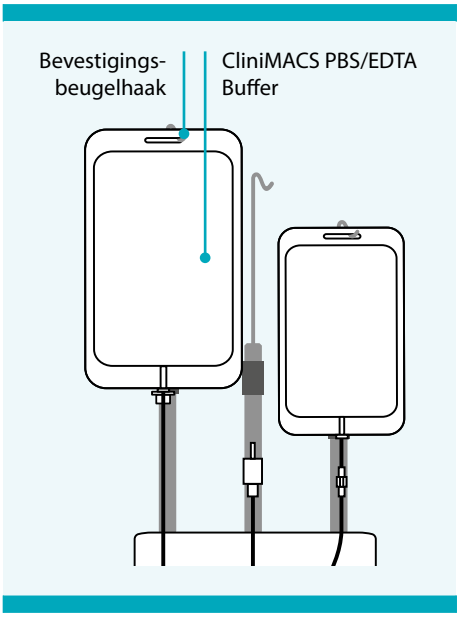
De voorgeschreven buffer voor CliniMACS Plus-scheidingsprocedures is CliniMACS PBS/EDTA Buffer aangevuld met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

1. Verwijder met een aseptische techniek de dop van de bufferspike op de slangenset (zie Afbeelding 7.2 op pagina 152) en verbind deze met de bufferzak. Zorg dat het septum wordt doorgeprikt, zodat de vloeistof vrij kan stromen. Knijp voorzichtig in de zak om te bevestigen dat de spike in de zak is doorgedrongen.

   Als voor een scheidingsprocedure meer dan één liter buffer nodig is, moet u twee bufferzakken aansluiten met behulp van een plasma-transferset.

2. Bevestig de bufferzak aan de bufferzakhaak van de bevestigingsbeugel (zie Afbeelding 7.9).

3. Pas de hoogte van de bevestigingsbeugel aan. Verhoog of verlaag de bevestigingsbeugel zodat de hoogte overeenkomt met de afmeting van de bufferzak. Zorg dat de beugel hoog genoeg staat om buiging van de slang te voorkomen waardoor de stroming zou kunnen worden beperkt. Ook moet de beugel laag genoeg staan om te voorkomen dat de slang of verbindingen worden uitgerekt.



Afbeelding 7.9: Bufferzak bevestigen

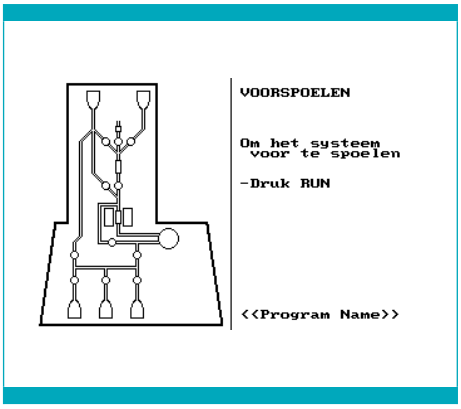
LET OP

Risico van beschadiging van het instrument. Door overbelasting van de bevestigingsbeugels kan het instrument worden beschadigd. Het draagvermogen van een enkele bevestigingsbeugel is 3 kg. Voorkom overbelasting van de bevestigingsbeugels.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Voorspoelen starten

Nu verschijnt het venster Scherm 7.41.



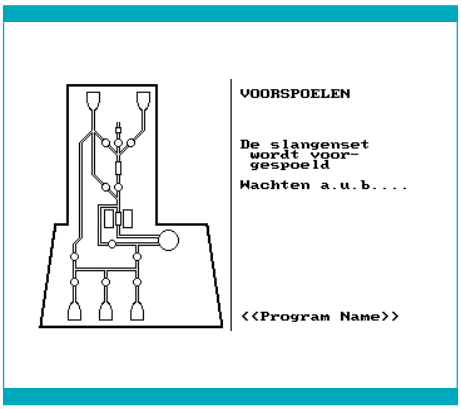
Scherm 7.41: Voorspoelen starten

Om het voorspoelen te starten, drukt u op **RUN**.

Nu verschijnt het venster Scherm 7.42.

Tijdens de voorspoelfase wordt de slangenset gevuld met buffer. De buffer circuleert door de slangenset, waaronder zowel de voorkolom als de scheidingskolom. Voorspoelafval wordt verzameld in de Priming Waste Bag en de Buffer Waste Bag (zie Afbeelding 7.2 op pagina 152). Tijdens de voorspoelcycli worden een reeks stappen herhaald. De voorspoelfase duurt ongeveer 1 minuut. De voorspoelstatus wordt bijgewerkt op het display.

Controles tijdens het voorspoelen



Scherm 7.42: Bezig met voorspoelen

Controleer tijdens de voorspoelfase alle slangen, verbindingen, ventielen en kolommen op eventuele lekkage of de aanwezigheid van vouwen die de vloeistofstroom kunnen blokkeren.

Bij lekkage of storingen drukt u op **STOP** om de run te stoppen.

De operator heeft 600 seconden om het probleem op te lossen.

Hervat de procedure door op **RUN** te drukken.

Na 600 seconden wordt de scheidingsprocedure afgebroken. Als de operator het probleem niet kan oplossen of als de slangenset defect is, moet de slangenset worden verwijderd en door een nieuwe worden vervangen.

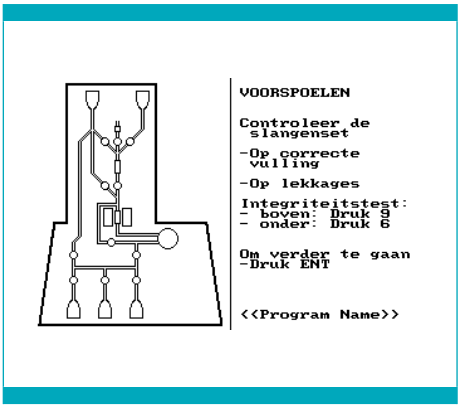
Noot: Nadat het voorspoelen is gestart, kunt u niet meer terugkeren naar de instelprocedure voor het instrument.

Definitieve controle van alle slangen en aansluitingen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.43.

Voordat het programma wordt voortgezet, moet u het volgende controleren:

- vloeistof aanwezig in alle delen van de slangenset (behalve het voorfilter)
- geen overtollige lucht in de slangenset
- vloeistof aanwezig in de Priming Waste Bag en de Buffer Waste Bag
- geen vloeistof aanwezig in de Negative Fraction Bag of in de Cell Collection Bag



Scherm 7.43: Definitieve controle van slangen

Druk nog niet op ENT.

Integriteitstest

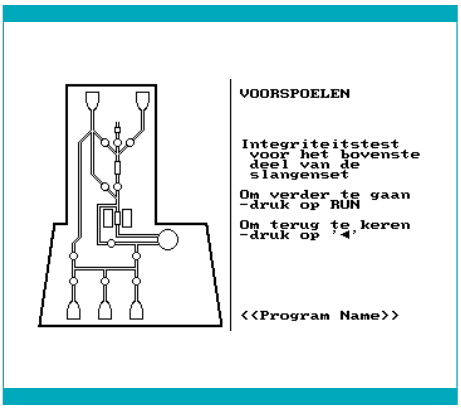
Voor extra veiligheid moet een integriteitstest worden uitgevoerd, waarbij de slangenset op lekkage wordt getest. De testreeks bestaat uit twee geautomatiseerde subreeksen, waarbij zowel het bovenste als het onderste deel van de slangenset afzonderlijk onder druk wordt gezet en geobserveerd.

Integriteitstest voor het bovenste deel van de slangenset

1. Wanneer de operator de 'Definitieve controle van alle slangen en aansluitingen' uitvoert verschijnt Scherm 7.43.
2. Na afloop van de 'Definitieve controle van alle slangen en aansluitingen' gaat u door met de uitvoering van de integriteitstest. Druk **niet** op ENT.
3. Om de integriteitstest voor het bovenste deel uit te voeren, drukt u op 9.

   Nu verschijnt het venster Scherm 7.44.
4. Om de testreeks uit te voeren, drukt u op RUN.

   Om terug te keren naar Scherm 7.43, drukt u op ◄.



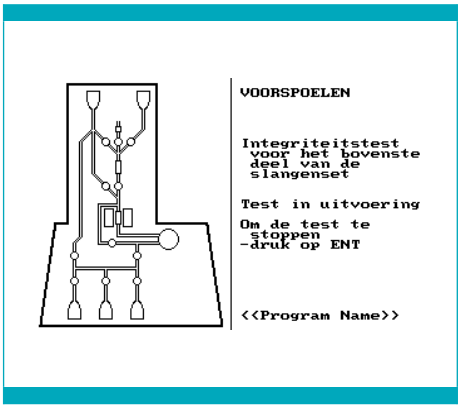
Scherm 7.44: Integriteitstest voor het bovenste deel starten

5. Nadat RUN is ingedrukt, start het instrument de geautomatiseerde testreeks voor het bovenste deel van de slangenset.

   Nu verschijnt het venster Scherm 7.45.

   Er wordt een overdruk gegenereerd, die twee minuten wordt aangehouden. In die tijd moet de operator alle aansluitingen boven de bovenste pompslangaansluiting in de gaten houden.

   De testreeks kan op elk moment worden afgesloten door op ENT te drukken.



Scherm 7.45: Integriteitstest voor het bovenste deel wordt uitgevoerd

6. Na twee minuten wordt de druk automatisch verlaagd, waarna Scherm 7.43 verschijnt.

   Controleer of er lekkage is ontstaan tijdens de testreeks. Als bij een verbinding van de slangenset een lekkage is vastgesteld, moet de slangenset worden verwijderd en door een nieuw worden vervangen. Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support voor instructies over het retourneren van de defecte slangenset.

7. Als geen lekkage werd gevonden, gaat u door met de integriteitstest van het onderste deel van de slangenset.

Integriteitstest voor het onderste deel van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.46.

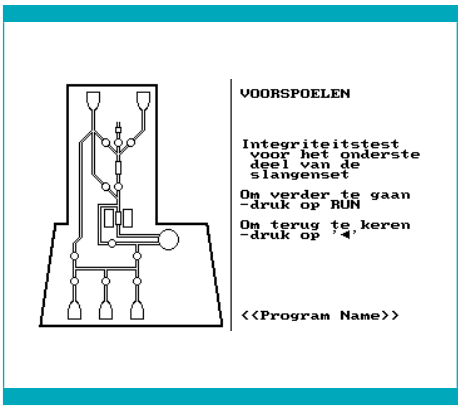
1. Om de integriteitstest voor het onderste deel uit te voeren, drukt u op 6.
   Druk **niet** op ENT.

   Nu verschijnt het venster Scherm 7.46.

2. Om de testreeks te starten, drukt u op RUN.

   Om terug te keren naar Scherm 7.43, drukt u op ◄.

3. Nadat RUN is ingedrukt, start het instrument de geautomatiseerde testreeks voor het onderste deel van de slangenset.

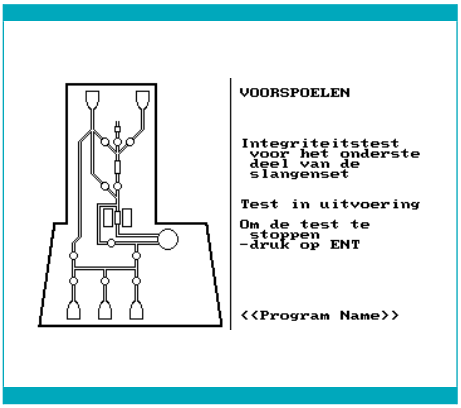


Scherm 7.46: Integriteitstest voor het onderste deel starten

Nu verschijnt het venster Scherm 7.47.

Er wordt een overdruk gegenereerd, die 30 seconden wordt aangehouden. In die tijd moet de operator de onderste pompslangverbinding in de gaten houden en de T-verbindingen tussen ventielnrs. 6, 8, 9, 10 en 11.

De testreeks kan op elk moment worden afgesloten door op **ENT** te drukken.



Scherm 7.47: Integriteitstest voor het onderste deel wordt uitgevoerd

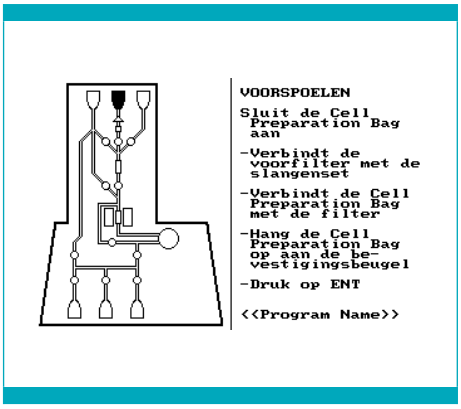
4. Na 30 seconden wordt de druk automatisch verlaagd, waarna Scherm 7.43 verschijnt.

   Controleer of er lekkage is ontstaan tijdens de testreeks. Als bij een verbinding van de slangenset een lekkage is vastgesteld, moet de slangenset worden verwijderd en door een nieuw worden vervangen. Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support voor instructies over het retourneren van de defecte slangenset.

5. Is geen lekkage vastgesteld, dan kan de operator nu doorgaan met de volgende stap door op **ENT** te drukken.

Cell Preparation Bag aansluiten

Nu verschijnt het venster Scherm 7.48.



Scherm 7.48: Cell Preparation Bag aansluiten

Sluit de Cell Preparation Bag aan die het reeds gelabelde celproduct bevat:

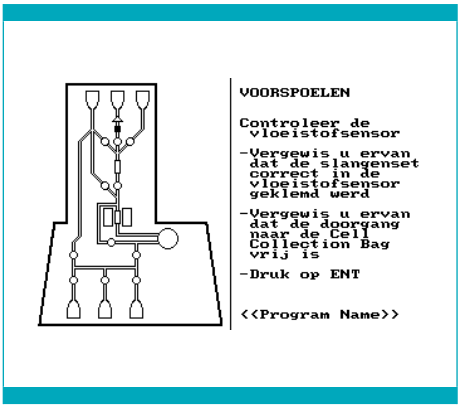
1. Verwijder de dop van de spike van de druppelkamer van de slangenset (zie Afbeelding 7.2).
2. Verwijder de dop van het stompe uiteinde van het voorfilter (zie Afbeelding 7.10). Steek de spike stevig in het voorfilter.
3. Verwijder de dop van de spike van het voorfilter.
4. Steek de spike van het voorfilter in een niet-gebruikte poort van de Cell Preparation Bag. Zorg er daarbij voor dat het septum wordt doorgeprikt, zodat de vloeistof vrij kan stromen. Knijp voorzichtig in de zak om te bevestigen dat de spike in de zak is doorgedrongen.
5. Controleer de verbinding tussen het voorfilter en de slangenset zorgvuldig om te zien of de verbinding goed vastzit.
6. Hang de Cell Preparation Bag aan de middelste bevestigingsbeugel.
7. Pas de bevestigingsbeugel voor de Cell Preparation Bag aan zodat de Cell Preparation Bag rechtop staat.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Definitieve controle van de vloeistofsensor

Nu verschijnt het venster Scherm 7.49.

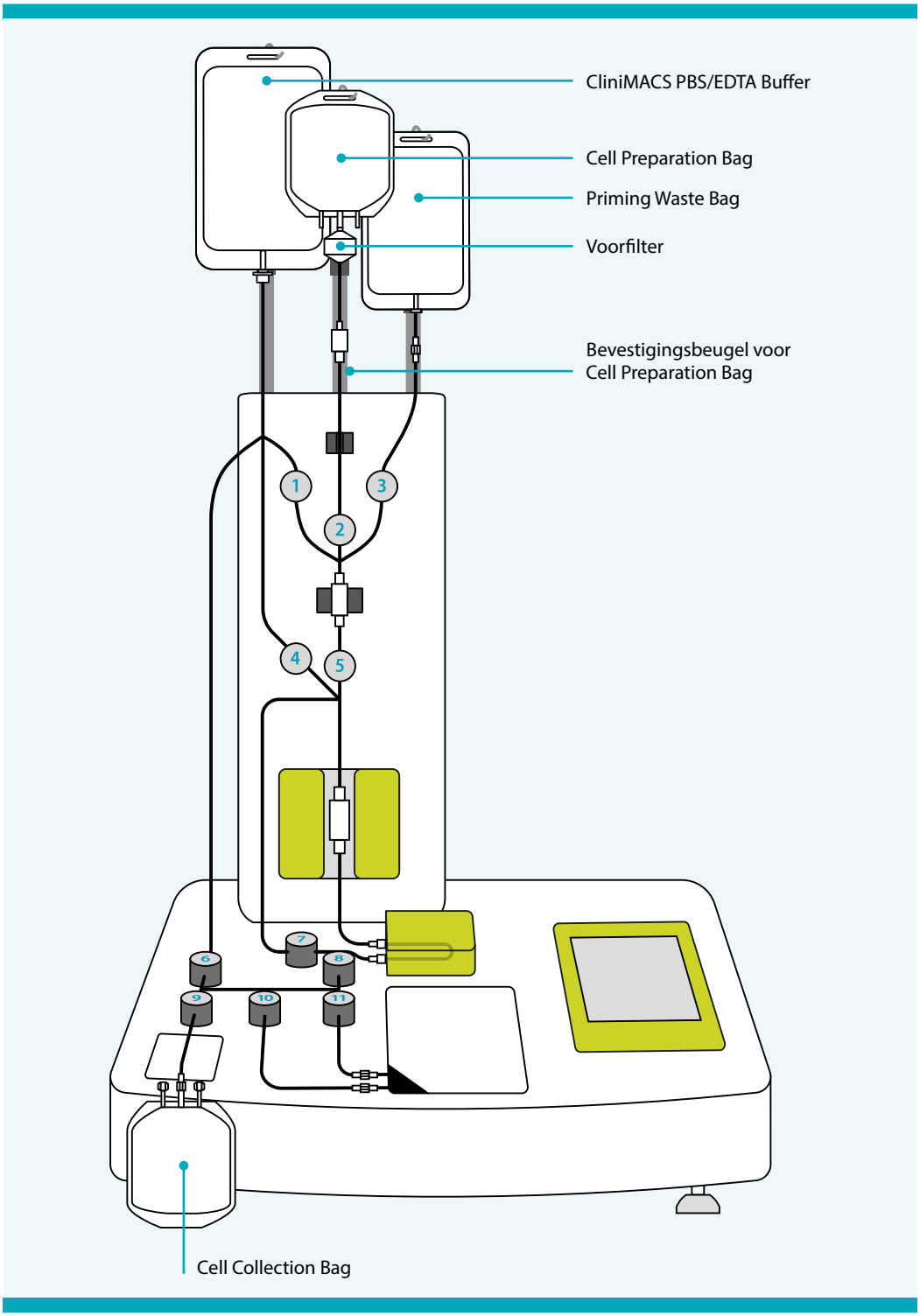
1. Controleer de slang van de vloeistofsensor. Zorg dat de slang goed erin is gestoken, dat er geen externe vloeistof aanwezig is en dat deze tijdens het laden niet is losgeraakt.
2. Controleer of de stroming naar de Cell Collection Bag niet kan worden belemmerd (bijv. open de klem onder ventielnr. 9).



Scherm 7.49: Definitieve controle van de vloeistofsensor

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

▶ **Ga door naar STAP 4.**



Afbeelding 7.10: CliniMACS Plus Instrument met CliniMACS Tubing Set, CliniMACS PBS/EDTA Buffer, Cell Preparation Bag en Cell Collection Bag

7.3.2 Alternatieve installatie van de CliniMACS-slangensets

De instructies in STAP 3 en de schermen op het CliniMACS Plus Instrument beschrijven de installatie van de CliniMACS-slangensets onder steriele omstandigheden (cleanroom).

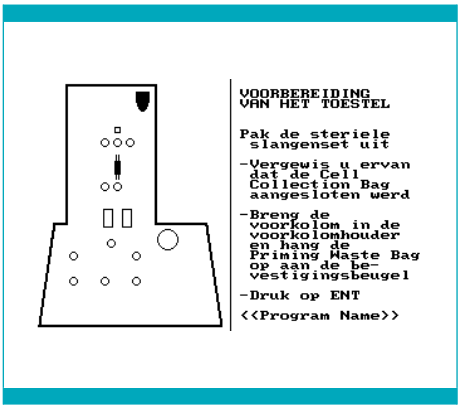
Het CliniMACS Plus-systeem zelf is een gesloten systeem dat niet noodzakelijkerwijs in een cleanroom hoeft te worden gebruikt. Als het echter buiten een cleanroom wordt gebruikt, moet de installatieprocedure van de slangenset worden aangepast om de steriliteit van de celscheidingsprocedure te garanderen.

De steriliteit van de celscheidingsprocedure kan echter worden aangetast tijdens de aansluiting van de Cell Collection Bag, de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, het voorfilter en de Cell Preparation Bag. Om te zorgen dat het systeem steriel blijft, moeten deze componenten onder steriele omstandigheden (bijv. in een laminaire flowkast) op de slangenset worden aangesloten. Worden de componenten op de slangenset aangesloten voordat ze op het CliniMACS Plus Instrument worden geïnstalleerd, dan moet de volgorde van de instructies voor het instrument en de instructies in STAP 3 worden veranderd en zijn aanvullende handelingen nodig.

Als u het CliniMACS Plus Instrument buiten een cleanroom gebruikt, moeten de volgende aanvullende instructies worden opgevolgd, die afwijken van de instructies in STAP 3.

Voorbereiding op de installatie van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.50.



Scherm 7.50: Slangenset uitpakken

Zoals hierboven beschreven, moeten de Cell Collection Bag, de CliniMACS PBS/EDTA Buffer, het voorfilter en de Cell Preparation Bag op de slangenset worden aangesloten voordat de slangenset onder steriele omstandigheden op het instrument wordt aangesloten.

Haal de slangenset onder steriele omstandigheden uit de verpakking en sluit de volgende componenten aan onder steriele omstandigheden:

- **Cell Collection Bag bevestigen**

  Zie pagina 154.

Aansluiting van de CliniMACS PBS/EDTA Buffer

BELANGRIJK

Voordat de CliniMACS PBS/EDTA Buffer op de slangenset wordt aangesloten, moet de slang onder de bufferspike met een slangenklem wordt vastgeklemd om te voorkomen dat de buffer in de slangenset stroomt voorafgaand aan de installatie (zie klem 1, Afbeelding 7.11 op pagina 172).

Verwijder met een aseptische techniek de dop van de bufferspike op de slangenset en verbind deze met de bufferzak. Zorg dat het septum wordt doorgeprikt, zodat de vloeistof vrij kan stromen. Knijp voorzichtig in de zak om te zien of de spike in de zak is doorgedrongen.

Aansluiting van het voorfilter

Verwijder de dop van de spike van de druppelkamer. Verwijder de dop uit de onderste opening van het voorfilter.
Steek de spike stevig in het voorfilter. Verwijder NIET de bovenste dop van het voorfilter. Sluit de slang net onder de druppelkamer met behulp van een slangenklem (zie klem 2, Afbeelding 7.11 op pagina 172). Dit voorkomt dat de geprepareerde celsuspensie in de Cell Preparation Bag naar in het voorfilter en de slangenset terechtkomt.

Aansluiting van de Cell Preparation Bag

Sluit de Cell Preparation Bag met de magnetisch gelabelde en gewassen cellen aan op de slangenset. Steek de spike van het voorfilter in de Cell Preparation Bag. Zorg dat het septum wordt doorgeprikt, zodat de vloeistof vrij kan stromen. Knijp voorzichtig in de zak om te zien of de spike in de zak is doorgedrongen.

Installatie van het CliniMACS Plus Instrument

Hang de bufferzak aan de linker bevestigingsbeugel, de Cell Preparation Bag aan de middelste bevestigingsbeugel en de Priming Waste Bag aan de rechter bevestigingsbeugel van het instrument.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

- **Priming Waste Bag bevestigen en voorkolom aanbrengen**

  Zie pagina 154.

- **Plaats de scheidingskolom en laad ventielnr. 5**

  Zie pagina 155.

- **Laad ventielnrs. 1, 2, 3 en 4**

  Zie pagina 156.

▶ Breng de pompslang aan

Zie pagina 157.

▶ Laad ventielnrs. 7 en 8

Zie pagina 158.

▶ Laad ventielnrs. 6, 9, 10 en 11

Zie pagina 158.

▶ Controleer nogmaals alle slangen en aansluitingen

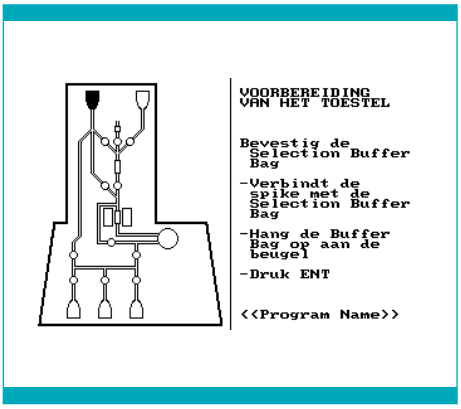
Zie pagina 159.

▶ Positie van ventielen

Zie pagina 159.

CliniMACS PBS/EDTA Buffer bevestigen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.51.



Scherm 7.51: Bufferzak bevestigen

1. De bufferzak werd aangesloten tijdens de ‘Voorbereiding op de installatie van de slangenset’. Daarom hoeft mogelijk alleen de hoogte van de bevestigingsbeugel van de bufferzak worden aangepast. Verhoog of verlaag de bevestigingsbeugel overeenkomstig de afmeting van de bufferzak. Zorg dat de geselecteerde hoogte voldoende is om te voorkomen dat de slang sterk wordt gebogen waardoor de vloeistofstroom zou kunnen worden beperkt. Zorg ook dat de beugel laag genoeg staat om uitrekking van de slangen of verbindingen te voorkomen.
2. Verwijder de slangenklem van de slang net onder de bufferspike.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

▶ Voorspoelen starten

Zie pagina 161.

▶ Controles tijdens het voorspoelen

Zie pagina 161.

▶ Definitieve controle van alle slangen en aansluitingen

Zie pagina 162.

▶ Integriteitstest

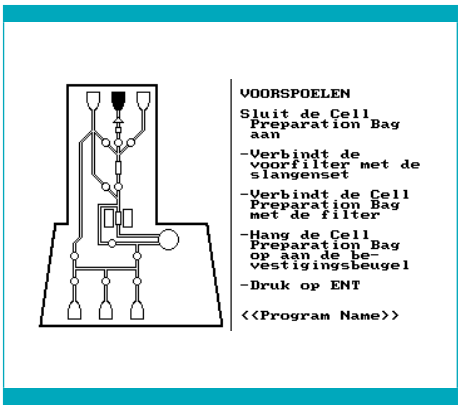
Zie pagina 162.

Cell Preparation Bag aansluiten (& voorfilter)

Nu verschijnt het venster Scherm 7.52.

1. De Cell Preparation Bag en het voorfilter werden aangesloten tijdens de 'Voorbereiding op de installatie van de slangenset'.
2. Verwijder de slangenklem onder de druppelkamer.

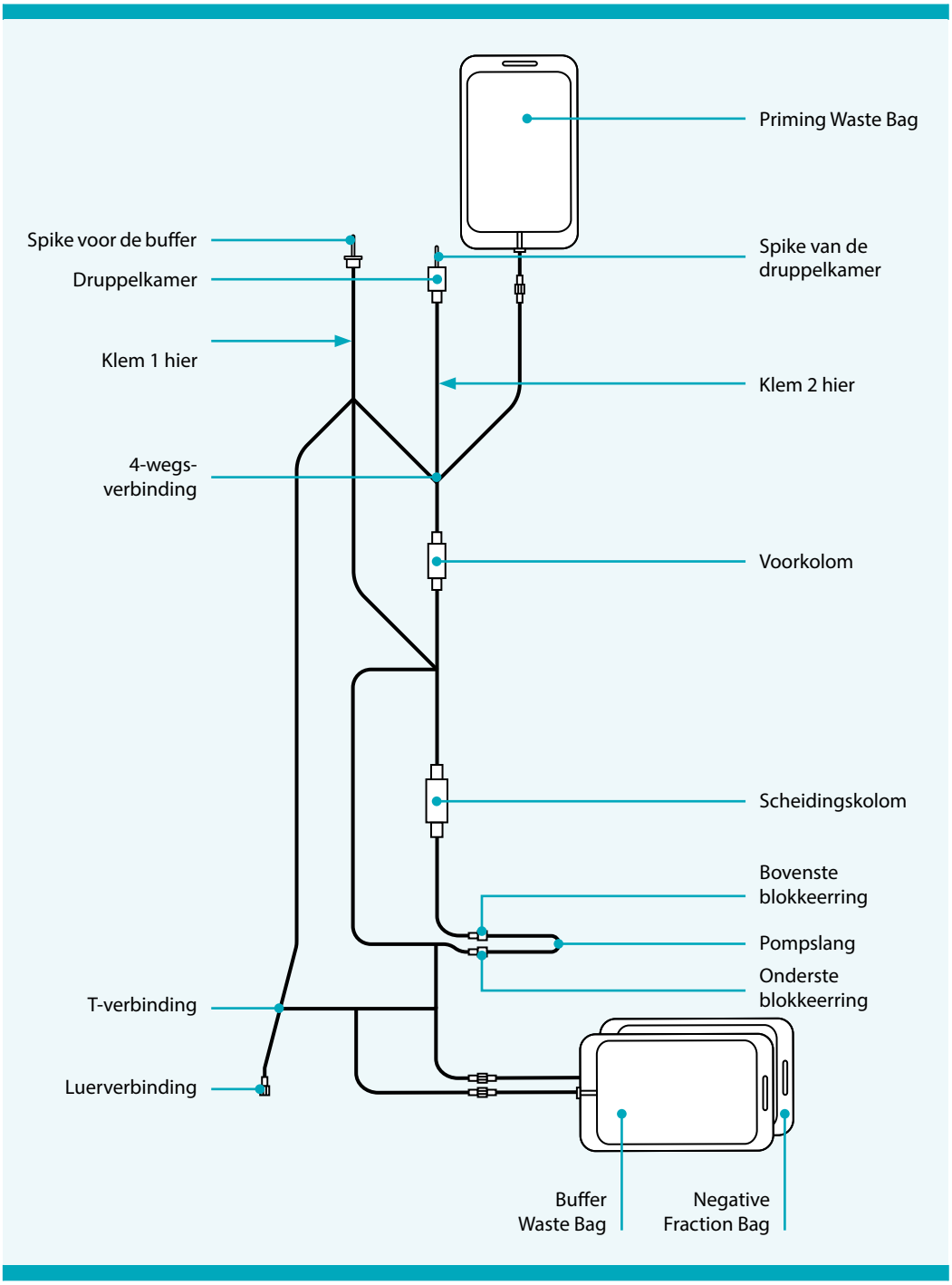
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.52: Cell Preparation Bag aansluiten

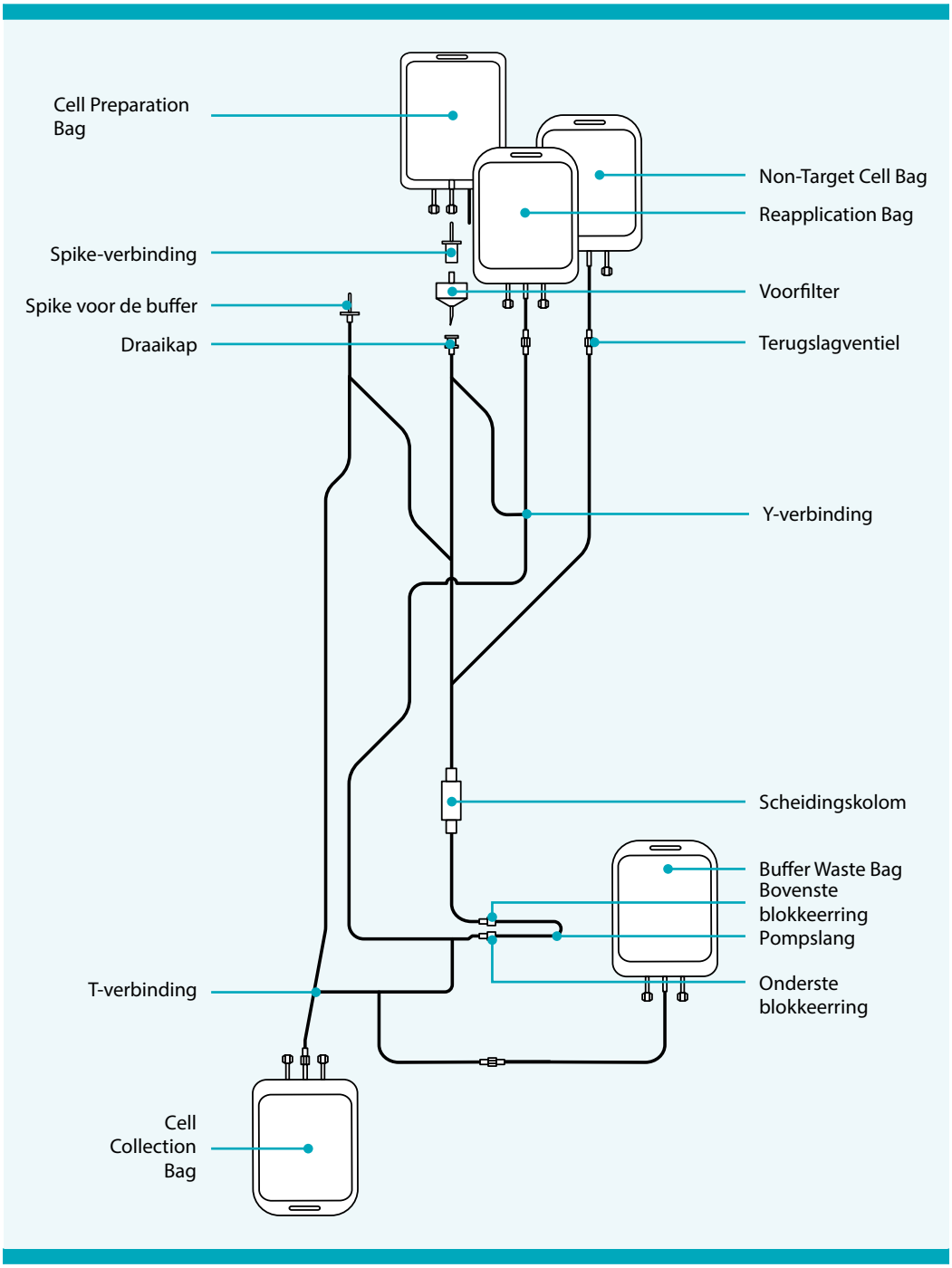
▶ Definitieve controle van de vloeistofsensor

Zie pagina 166.



Afbeelding 7.11: Algemene opbouw van een CliniMACS Tubing Set (bijv. CliniMACS Tubing Set) met klemposities 1 en 2

7.3.3 CliniMACS Depletion Tubing Set

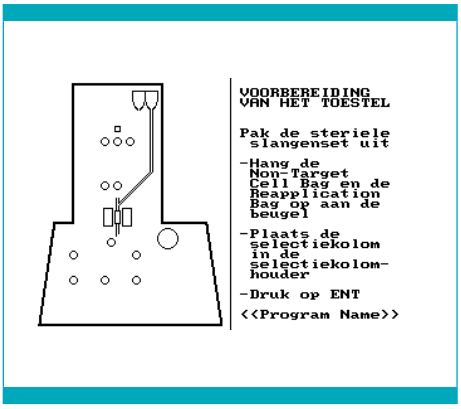


Afbeelding 7.12: Algemene opbouw van een CliniMACS Depletion Tubing Set

Voorbereiding op de installatie van de slangenset

Nu verschijnt het venster Scherm 7.53.

Rechts wordt de instructie weergegeven en links een schema dat overeenkomt met de instructie. De knipperende functies op het scherm geven de aandachtsgebieden aan.



Scherm 7.53: Slangenset uitpakken

De CliniMACS Depletion Tubing Set wordt geleverd in een afgedichte, gesteriliseerde verpakking. Elke slangenset bevat vooraf bevestigde slangen, kolom en zakken voor één celscheidingsprocedure (zie Afbeelding 7.12). Als de verpakking onbeschadigd is, ontstaat een steriel vloeistoftraject.

Noot: Het CliniMACS Plus Instrument toont de naam van het geselecteerde programma, bijv. DEPLETION 3.1, op de onderste regel. Bij elke installatiestap van de slangenset kunt u op de toets 'Ongedaan maken' (zie onder 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument) drukken om terug te keren naar de vorige stap.

1. Noteer het lotnummer en de uiterste gebruiksdatum van de slangenset.

   Haal de steriele slangenset onder steriele omstandigheden (bijv. in de laminaire flowkast) uit de verpakking. Verwijder de knijpklem die is gebruikt voor de verpakking voordat u de slangenset gebruikt. De klem is voorzien van de tekst 'Remove before assembly to CliniMACS Plus Instrument' (Verwijderen vóór bevestiging aan het CliniMACS Plus Instrument).

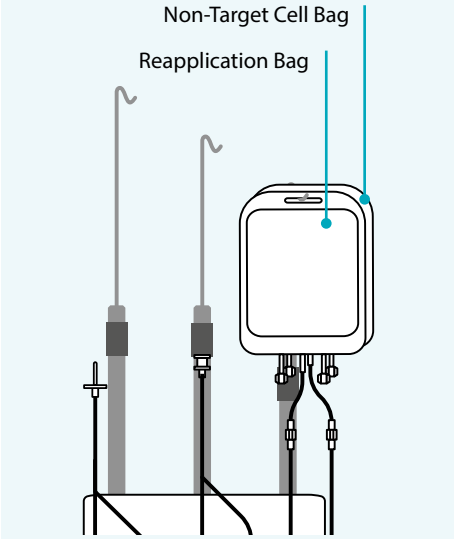
2. Controleer de luerlockverbindingen van de zakken. De luerlockverbindingen moeten goed worden gesloten.

Cell Collection Bag

De CliniMACS Depletion Tubing Set wordt geleverd met een aangesloten Cell Collection Bag. Noteer het gewicht van de lege Cell Collection Bag. Als voor de scheiding meer dan één Cell Collection Bag nodig is, moeten de zakken worden aangesloten met behulp van een plasma-transferset. Zorg dat alle verbindingen goed vastzitten. Noteer het gewicht van de lege Cell Collection Bag(s).

Sluit de Non-Target Cell Bag en de Reapplication Bag aan en plaats de scheidingskolom

1. Bevestig de Non-Target Cell Bag en de Reapplication Bag aan de rechter bevestigingsbeugel van het instrument (zie Afbeelding 7.13).



Afbeelding 7.13: Non-Target Cell Bag en Reapplication Bag aansluiten

2. Pas de hoogte van de bevestigingsbeugels aan. Verhoog of verlaag de bevestigingsbeugels zodat de hoogte overeenkomt met de afmeting van de Non-Target Cell Bag en de Reapplication Bag. Zorg dat de beugel hoog genoeg staat om buiging van de slang te voorkomen waardoor de stroming zou kunnen worden beperkt. Ook moet de beugel laag genoeg staan om te voorkomen dat de slang of verbindingen worden uitgerekt.

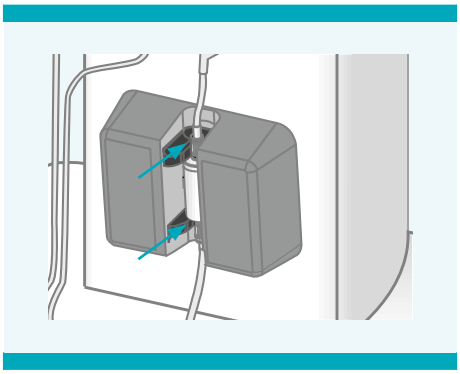
LET OP

Risico van beschadiging van het instrument. Door overbelasting van de bevestigingsbeugels kan het instrument worden beschadigd. Het draagvermogen van een enkele bevestigingsbeugel is 3 kg. Voorkom overbelasting van de bevestigingsbeugels.

3. Plaats de scheidingskolom in de houder voor de scheidingskolom (zie Afbeelding 7.14).

⚠ WAARSCHUWING

Risico op letsel. Als de scheidingskolom wordt geplaatst of verwijderd terwijl de magneeteenheid is ingeschakeld, bestaat het risico van persoonlijk letsel. Plaats of verwijder de scheidingskolom alleen wanneer de magneeteenheid is uitgeschakeld.


Afbeelding 7.14: Scheidingskolom in houder voor de scheidingskolom

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Laad ventielnrs. 1, 2, 3, 4 en 5

Nu verschijnt het venster Scherm 7.54.

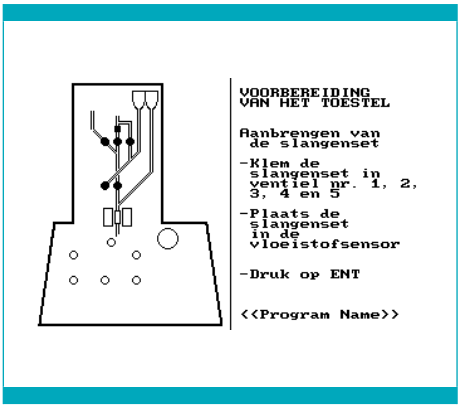
De op het scherm weergegeven ventielen worden automatisch geopend.

1. Plaats de slang in ventielnrs. 1, 2, 3, 4 en 5.
2. Steek de slang boven ventielnr. 2 in de vloeistofsensor (zie Afbeelding 7.15).

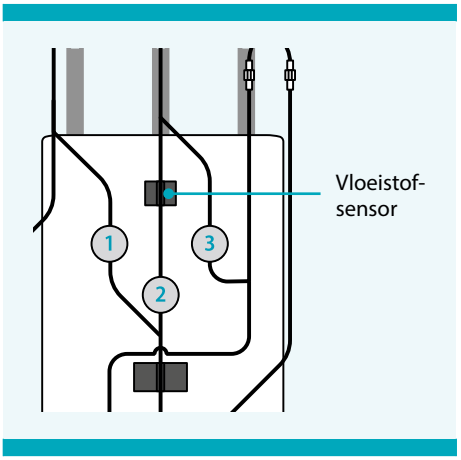
BELANGRIJK

- *Om de juiste werking te garanderen, moet zowel de vloeistofsensor als de slang droog worden geplaatst. Controleer beide zorgvuldig. Als vocht aanwezig is, moet de plek met een zachte, pluisvrije doek worden gedroogd.*
- *Controleer tijdens elke stap alle slangen en aansluitingen op knikken of ernstige buiging waardoor de stroming van de vloeistof door de slang zou kunnen worden beperkt. Controleer alle ventielen om te garanderen dat de slang goed vastzit.*
- *Plaats de slangenset alleen in de open ventielen (wanneer de knop naar binnen wordt geduwd). De slang kan niet goed worden aangebracht in een gesloten ventiel.*
- *Als de slang moet worden aangepast nadat een ventiel is gesloten, mag u niet aan de slang trekken zonder de ventielknop in te drukken om het ventiel te openen (zie Afbeelding 7.16)*

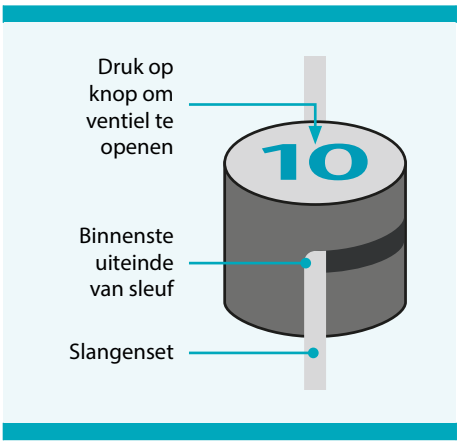
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.54: Laad ventielnrs. 1, 2, 3, 4 en 5



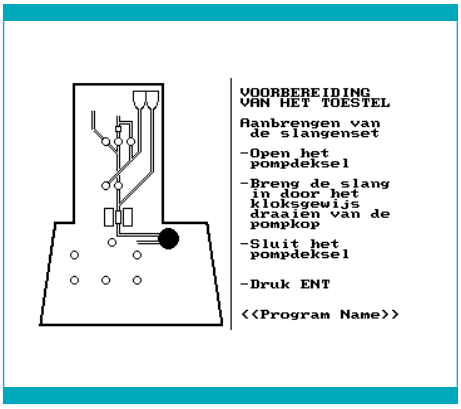
Afbeelding 7.15: Slang in ventielen



Afbeelding 7.16: Correct aangebrachte slang

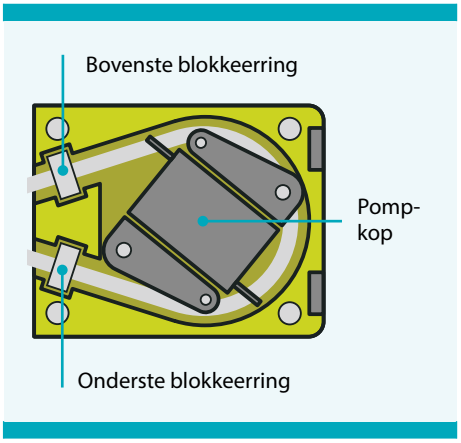
Pompslang aanbrengen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.55.



Scherm 7.55: Breng de pompslang aan

1. Open de pompdeur door de linkerrand op te tillen.
2. Plaats de bovenste blokkeerring van de pompslang in de groef van de blokkeerring op de pompbehuizing (zie Afbeelding 7.17).
3. Draai de pompkop rechtsom totdat de slang zich tussen beide slanggeleidepennen bevindt en de slang goed om de pompkop vastzit. Zorg dat de slang niet wordt bekneld aan het uiteinde van de geleidepennen. (Als aanpassing van de slang in de pomp nodig is, kan de slang worden verwijderd door het onderste uiteinde op te tillen en de pompkop linksom te draaien.)
4. Plaats de onderste blokkeerring van de pompslang in de groef van de blokkeerring op de pompbehuizing.
5. Blijf de pompkop rechtsom draaien om er zeker van te zijn dat de pompkop vrij beweegt.
6. Sluit de pompdeur.



Afbeelding 7.17: Pompslang aanbrengen

BELANGRIJK

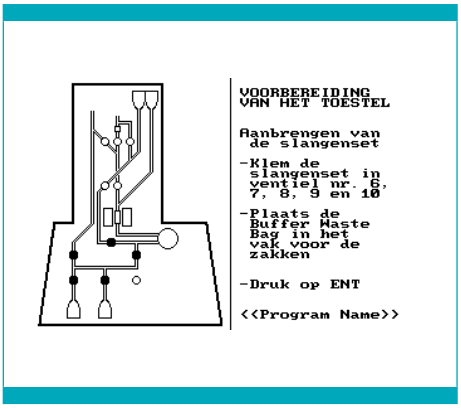
Tijdens de celscheidingsprocedure stopt de pomp onmiddellijk telkens wanneer de pompbehuizing wordt geopend. Als deze langer dan 600 seconden open wordt gelaten, onderbreekt het instrument de run die op dat moment wordt uitgevoerd.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Laad ventielnrs. 6, 7, 8, 9 en 10

Nu verschijnt het venster Scherm 7.56.

1. Laad de slang in ventielnrs. 6, 7, 8, 9 en 10. Zorg dat de slang veilig in de ventielopening zit.
2. Plaats de Buffer Waste Bag in het opbergvak voor de zakken. Zorg dat de slang niet wordt samengedrukt onder het deksel van het opbergvak voor de zakken.
3. Zorg dat onbeperkte stroming naar de Cell Collection Bag mogelijk is.



Scherm 7.56: Laad ventielnrs. 6, 7, 8, 9 en 10

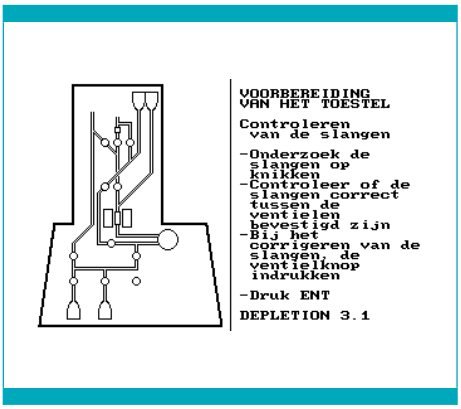
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Controleer nogmaals alle slangen en aansluitingen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.57.

1. Begin bij ventielnr. 1 en controleer of de slang goed vastzit en correct in elk ventiel is geplaatst.

   Controleer nogmaals de slang in elk ventiel. Controleer of de slang elk ventiel via de vergroting aan het binnenste uiteinde van de sleuf binnenkomt en verlaat (zie Afbeelding 7.16).
2. Controleer of de slang niet geknikt of verdraaid is.



Scherm 7.57: Alle slangen en verbindingen nogmaals controleren

Noot: Als de slang moet worden aangepast nadat een ventiel is gesloten, mag u niet aan de slang trekken zonder de ventielknop in te drukken om het ventiel te openen.

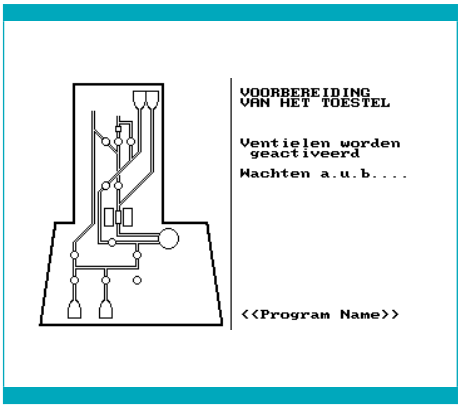
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Positie van ventielen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.58.

Om te zorgen dat de slangen goed in de ventielen zitten, activeert het instrument alle ventielen achtereenvolgens twee keer. Kijk en luister om te zien of alle ventielen goed werken. Als een ventiel niet goed werkt, raadpleegt u hoofdstuk 8 “Problemen oplossen” op pagina 209. Deze stap kan worden herhaald door op ◄ te drukken gevolgd door **ENT** (zie ‘Beschrijving’ in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).

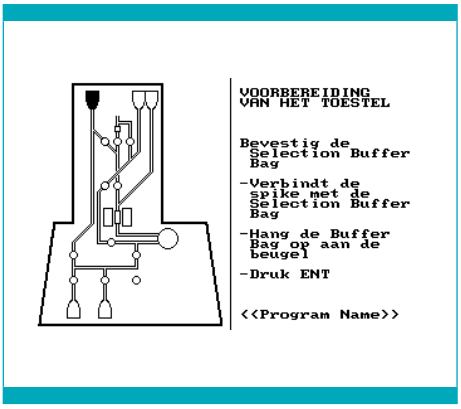
Tijdens de controlereeks wordt ook de magneetaandrijving getest.



Scherm 7.58: Positie van ventielen

CliniMACS PBS/EDTA Buffer bevestigen

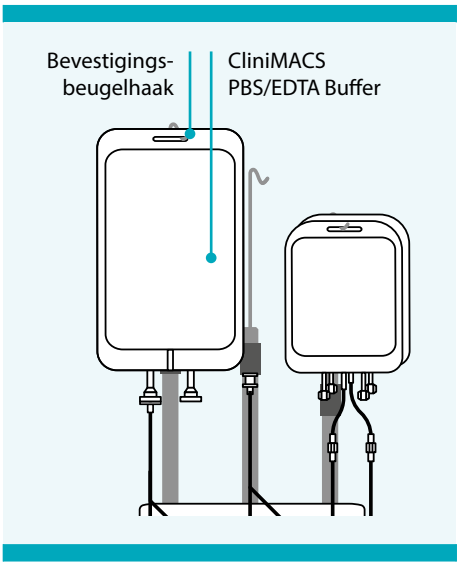
Nu verschijnt het venster Scherm 7.59.



Scherm 7.59: Bufferzak bevestigen

De voorgeschreven buffer voor CliniMACS Plus-scheidingsprocedures is CliniMACS PBS/EDTA Buffer aangevuld met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume).

1. Verwijder met een aseptische techniek de dop van de bufferspike (zie Afbeelding 7.12 op pagina 173) op de slangenset en verbind deze met de bufferzak. Zorg dat het septum wordt doorgeprikt, zodat de vloeistof vrij kan stromen. Knijp voorzichtig in de zak om te zien of de spike in de zak is doorgedrongen, zonder externe lekkage.
2. Bevestig de bufferzak aan de bufferzakhaak van de bevestigingsbeugel (zie Afbeelding 7.18).
3. Pas de hoogte van de bevestigingsbeugel voor de bufferzak aan. Verhoog of verlaag de bevestigingsbeugel zodat de hoogte overeenkomt met de afmeting van de bufferzak. Zorg dat de beugel hoog genoeg staat om buiging van de slang te voorkomen waardoor de stroming zou kunnen worden beperkt. Ook moet de beugel laag genoeg staan om te voorkomen dat de slang of verbindingen worden uitgerekt.



Afbeelding 7.18: Bufferzak bevestigen

BELANGRIJK

Vanwege diverse gravimetrische voorspoel- en spoelstappen is het essentieel dat de bufferzak zo hoog mogelijk wordt geplaatst. Deze moet vooral hoger zijn dan de Reapplication Bag en de Non-Target Cell Bag (zie Afbeelding 7.20 op pagina 185).

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

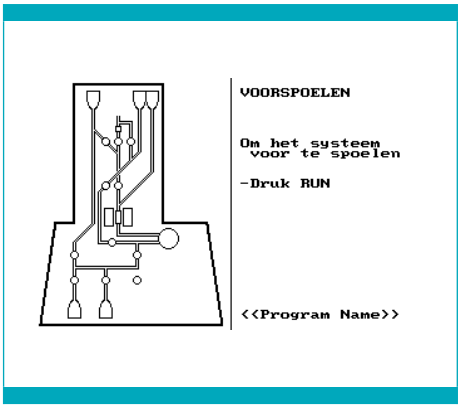
Voorspoelen starten

Nu verschijnt het venster Scherm 7.60.

Om het voorspoelen te starten, drukt u op **RUN**.

Nu verschijnt het venster Scherm 7.61.

Tijdens de voorspoelfase wordt de slangenset gevuld met CliniMACS PBS/EDTA Buffer. De buffer circuleert door de slangenset, waaronder de scheidingskolom. Voorspoelvloeistof wordt opgevangen in de Buffer Waste Bag, Reapplication Bag en Non-Target Cell Bag, terwijl de Cell Collection Bag leeg blijft (zie Afbeelding 7.12 op pagina 173). Tijdens de voorspoelcycli worden een reeks stappen herhaald.



Scherm 7.60: Voorspoelen starten

De voorspoelfase duurt ongeveer 2,5 minuten. De voorspoelstatus wordt bijgewerkt op het display.

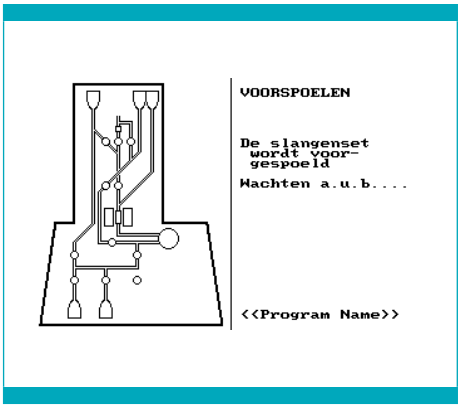
Controles tijdens het voorspoelen

Controleer tijdens de voorspoelfase alle slangen, verbindingen, ventielen en de scheidingskolom op eventuele lekkage of de aanwezigheid van vouwen die de vloeistofstroom kunnen blokkeren.

Bij lekkage of storingen drukt u op **STOP** om de run te stoppen.

De operator heeft 600 seconden om het probleem op te lossen.

Hervat de procedure door op **RUN** te drukken.



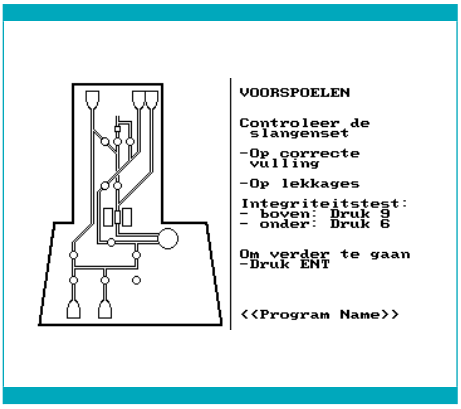
Scherm 7.61: Bezig met voorspoelen

Na 600 seconden wordt de scheidingsprocedure afgebroken. Als de operator het probleem niet kan oplossen of als de slangenset defect is, moet de slangenset worden verwijderd en door een nieuwe worden vervangen.

Noot: Nadat het voorspoelen is gestart, kunt u niet meer terugkeren naar de instelprocedure voor het instrument

Definitieve controle van alle slangen en aansluitingen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.62.



Scherm 7.62: Definitieve controle van slangen en aansluitingen

Voordat u de run uitvoert, moet u het volgende controleren:

- vloeistof aanwezig in alle delen van de slangenset behalve de slang boven ventielnrs. 2 en 3
- geen overtollige lucht in de slangenset
- vloeistof aanwezig in de Reapplication Bag, Buffer Waste Bag en Non-Target Cell Bag
- geen vloeistof aanwezig in de Cell Collection Bag

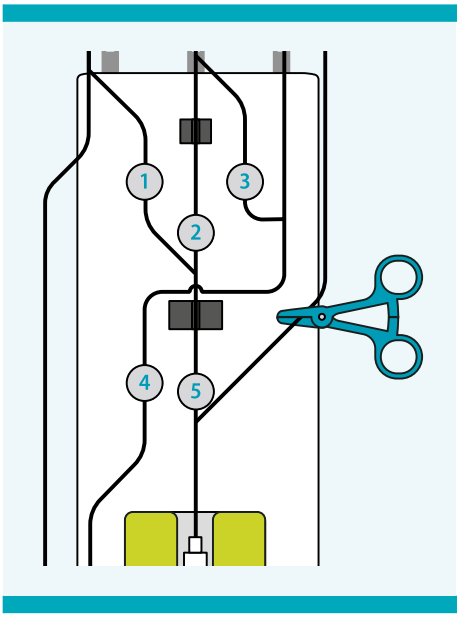
Druk nog niet op **ENT**.

Integriteitstest

Voor extra veiligheid moet een integriteitstest worden uitgevoerd, waarbij de slangenset op lekkage wordt getest. De testreeks bestaat uit twee geautomatiseerde subreeksen, waarbij zowel het bovenste als het onderste deel van de slangenset afzonderlijk onder overdruk wordt gezet en getest.

⚠ VOORZICHTIG

Risico van vertraging van de procedure. Als de klem onder de Non-Target Cell Bag niet is verwijderd na afloop van de integriteitstest, konden de (gelabelde) niet-doelcellen tijdens de elutie niet uit de scheidingskolom worden verwijderd. Verder behoud van niet-doelcellen is dan onmogelijk. De scheidingsprocedure moet dan worden herhaald. Verwijder de klem na afloop van de integriteitstest.



Afbeelding 7.19: Voorbereiding op integriteitstest

BELANGRIJK

De integriteitstest werk alleen goed als de slang onder de Non-Target Cell Bag wordt vastgeklemd. Klem de slang onder de Non-Target Cell Bag af voordat u de integriteitstest start. Verwijder de klem nadat de integriteitstest is voltooid.

Integriteitstest voor het bovenste deel van de slangenset

1. Wanner de operator de 'Definitieve controle van alle slangen en aansluitingen' uitvoert verschijnt Scherm 7.63.
2. Druk na de 'Definitieve controle van alle slangen en aansluitingen' **niet** op ENT.
3. Om de integriteitstest voor het bovenste deel uit te voeren, drukt u op 9.

   Nu verschijnt het venster Scherm 7.64.

   BELANGRIJK

   Klem de slang af onder het terugslagventiel van de Non-Target Cell Bag.
4. Om de testreeks uit te voeren, drukt u op RUN.

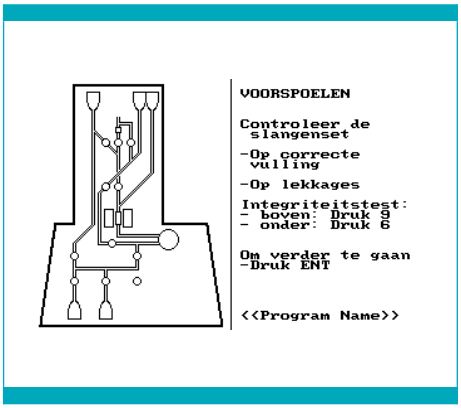
   Om terug te keren naar Scherm 7.63, drukt u op ◄.
5. Nadat RUN is ingedrukt, start het instrument de geautomatiseerde testreeks voor het bovenste deel van de slangenset.

   Nu verschijnt het venster Scherm 7.65.

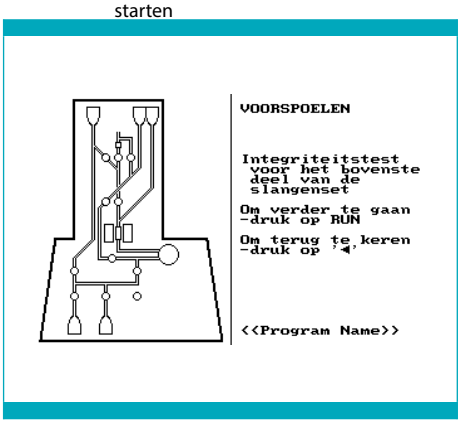
   Er wordt een overdruk gegenereerd, die twee minuten wordt aangehouden. In die tijd moet de operator alle aansluitingen boven de bovenste pompslangaansluiting in de gaten houden.

   De testreeks kan op elk moment worden afgesloten door op ENT te drukken.
6. Na twee minuten wordt de druk automatisch verlaagd, waarna Scherm 7.63 verschijnt.

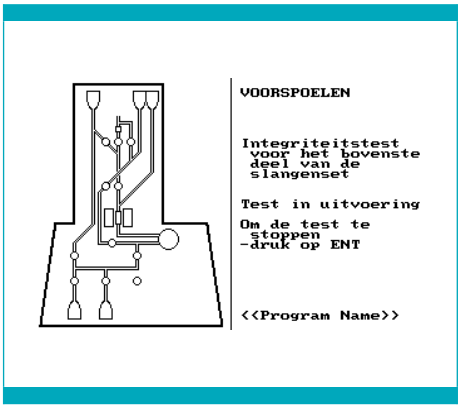
   Controleer of er lekkage is ontstaan tijdens de testreeks. Als bij een verbinding van de slangenset een lekkage is vastgesteld, moet de slangenset worden verwijderd en door een nieuw worden vervangen.



Scherm 7.63: Integriteitstest voor het bovenste deel starten



Scherm 7.64: Integriteitstest voor het bovenste deel starten



Scherm 7.65: Integriteitstest voor het bovenste deel starten

Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support voor instructies over het retourneren van de defecte slangenset.

7. Als geen lekkage werd gevonden, gaat u door met de integriteitstest van het onderste deel van de slangenset.

Integriteitstest voor het onderste deel van de slangenset

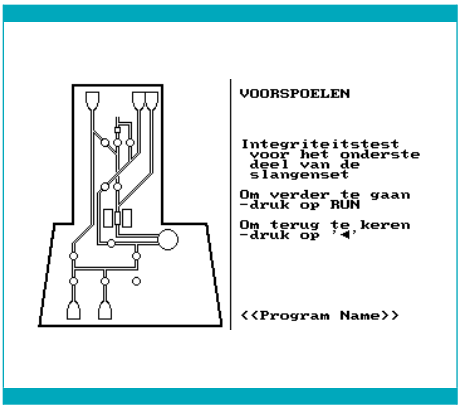
Nu verschijnt het venster Scherm 7.63.

1. Om de integriteitstest uit te voeren, drukt u op 6.
   Druk niet op ENT.

   Nu verschijnt het venster Scherm 7.66.

2. Om de testreeks uit te voeren, drukt u op RUN.

   Om terug te keren naar Scherm 7.63, drukt u op ◄.



Scherm 7.66: Integriteitstest voor het onderste deel starten

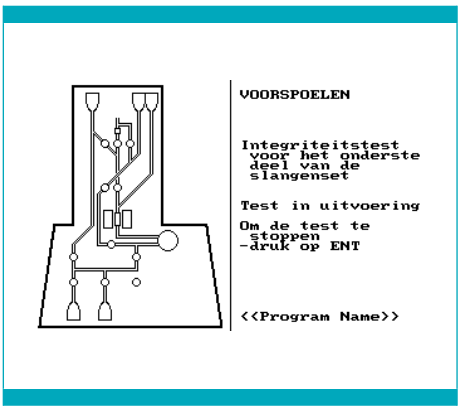
3. Nadat RUN is ingedrukt, start het instrument de geautomatiseerde testreeks voor het onderste deel van de slangenset.

   Nu verschijnt het venster Scherm 7.67.

   Er wordt een overdruk gegenereerd, die 30 seconden wordt aangehouden.

   In die tijd moet de operator de onderste pompslangverbinding in de gaten houden en de T-verbindingen tussen ventielnrs. 6, 8, 9 en 10.

   De testreeks kan op elk moment worden afgesloten door op ENT te drukken.



Scherm 7.67: Integriteitstest voor het onderste deel wordt uitgevoerd

4. Na 30 seconden wordt de druk automatisch verlaagd, waarna Scherm 7.63 verschijnt.

   De operator moet controleren of lekkage is ontstaan tijdens de testreeks. Als bij een verbinding van de slangenset een lekkage is vastgesteld, moet de slangenset worden verwijderd en door een nieuw worden vervangen.

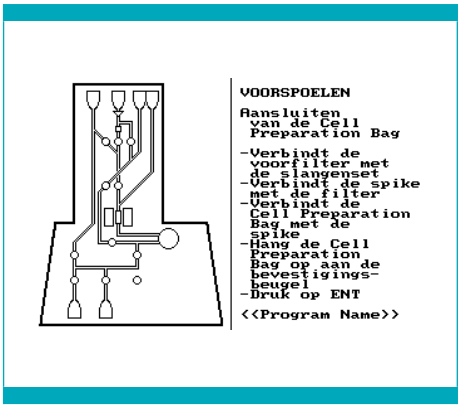
   Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support voor instructies over het retourneren van de defecte slangenset.

5. **Open het traject naar de Non-Target Cell Bag door de klem onder het terugslagventiel te verwijderen.**

6. Is geen lekkage vastgesteld, dan kan de operator nu doorgaan met de volgende stap door op ENT te drukken.

Aansluiting van de Cell Preparation Bag

Nu verschijnt het venster Scherm 7.68.



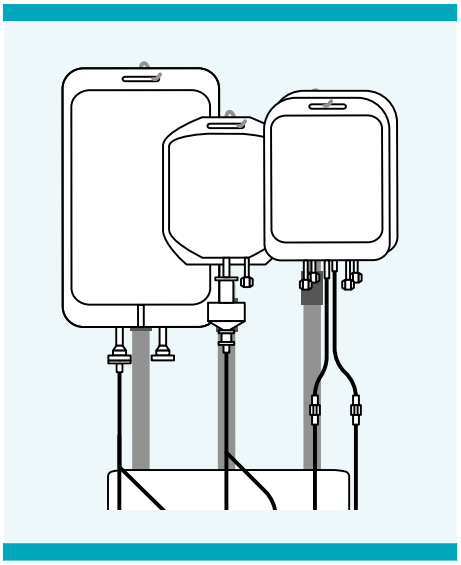
Scherm 7.68: Cell Preparation Bag aansluiten

Sluit de Cell Preparation Bag (met de magnetisch gelabelde cellen) aan op de slangenset:

1. Verwijder de draaikap (zie Afbeelding 7.12 op pagina 173) van de slangenset.
2. Verwijder de dop van de spike van het voorfilter. Steek de spike van het voorfilter stevig in de slangenset. Zorg er daarbij voor dat het septum wordt doorgeprikt.
3. Verwijder de doppen van het voorfilter en het stompe uiteinde van de spike-verbinding en verbind beide met elkaar.
4. Verwijder de andere dop van de spike-verbinding en verbind de spike met de Cell Preparation Bag. Zorg dat het septum wordt doorgeprikt, zodat de vloeistof vrij kan stromen. Knijp voorzichtig in de zak om te zien of de spike in de zak is doorgedrongen.
5. Controleer de verbinding tussen de Cell Preparation Bag, de spike-verbinding, het voorfilter en de slangenset om te zien of de verbinding goed vastzit.
6. Hang de Cell Preparation Bag aan de bevestigingsbeugel (zie Afbeelding 7.21).
7. Zorg dat de zakken en slangen die aan de bevestigingsbeugel zijn bevestigd, niet zijn uitgerekt of gebogen.

   Vanwege de gravimetrische voorspoel- en spoelstappen tijdens de geautomatiseerde scheidingsprocedure is het zeer belangrijk dat de zakken op de juiste hoogte hangen. Bovendien is het voor de volledige monsterverwerking van cruciaal belang dat de Reapplication Bag en Non-Target Cell Bag hoger hangen dan de Cell Preparation Bag (zie Afbeelding 7.20):

   - **Hoogste positie:** bufferzak
   - **Middelste positie:** Reapplication Bag en Non-Target Cell Bag
   - **Laagste positie:** Cell Preparation Bag



Afbeelding 7.20: Juiste hoogte van de zakken

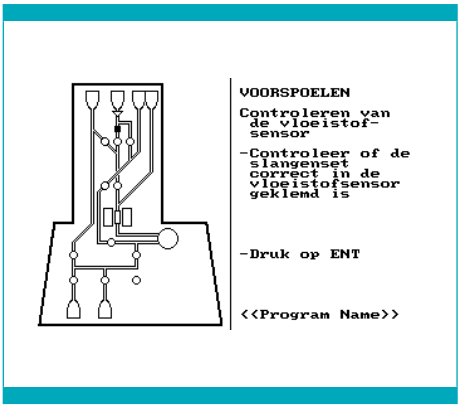
Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Definitieve controle van de vloeistofsensor

Nu verschijnt het venster Scherm 7.69.

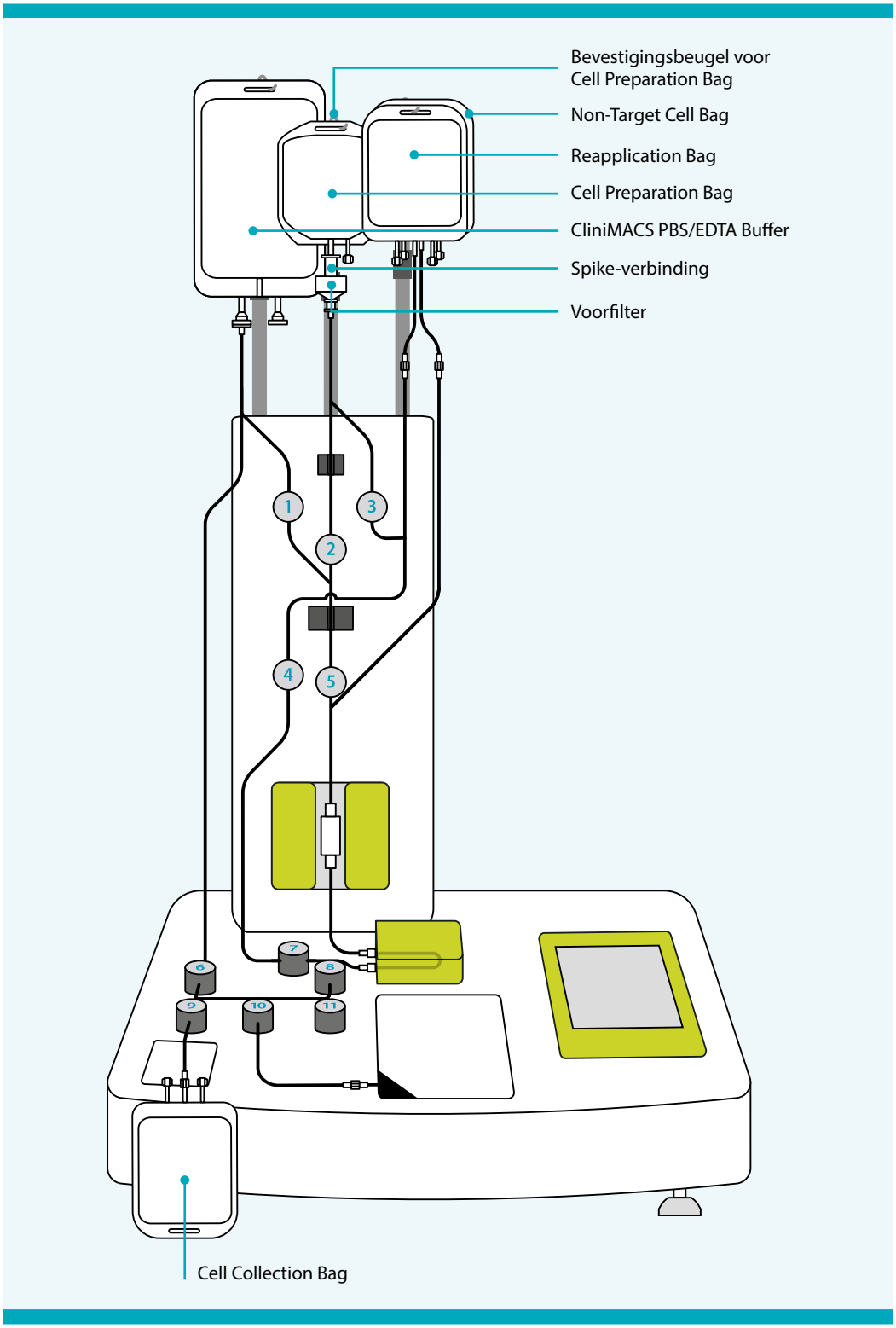
1. Controleer de slang van de vloeistofsensor. Zorg dat de slang goed erin is gestoken, dat er geen externe vloeistof aanwezig is en dat deze tijdens het laden niet is losgeraakt.
2. Controleer of vloeistof onbeperkt naar elke zak kan stromen.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.



Scherm 7.69: Definitieve controle van de vloeistofsensor

▶ **Ga door naar STAP 4.**

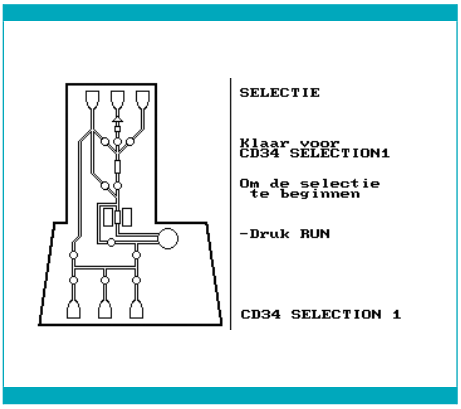


Afbeelding 7.21: CliniMACS Plus Instrument met CliniMACS Depletion Tubing Set, CliniMACS PBS/EDTA Buffer, Cell Preparation Bag en Cell Collection Bag

7.4 STAP 4: CliniMACS Plus-scheidingsprocedure

7.4.1 CD34 SELECTION 1/2

Nadat de definitieve controle is voltooid, kan het CliniMACS Plus Instrument beginnen met de scheidingsprocedure. Nu verschijnt het venster Scherm 7.70.

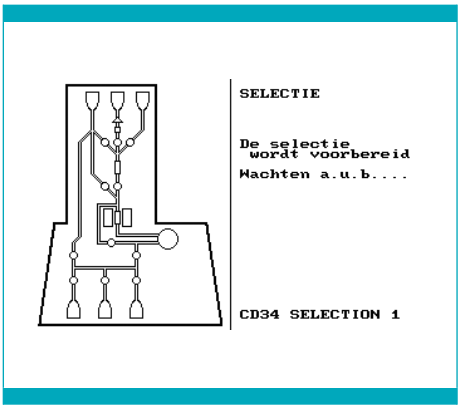


Scherm 7.70: Scheidingsprocedure starten

Om door te gaan, drukt u op **RUN**.

Nadat u op **RUN** hebt gedrukt, voert het instrument automatisch de geselecteerde scheidingsprocedure uit.

In elke fase verschijnt er een scherm dat lijkt op Scherm 7.71 met daarop de status van de scheidingsprocedure.



Scherm 7.71: Bezig met scheiding

De magneetpositie-indicator wordt weergegeven als twee zwarte vakken naast de scheidingskolom wanneer de magneet "ON" is, d.w.z. hij is verplaatst naar de voorkant om de scheidingskolom te magnetiseren. Is de magneetpositie-indicator transparant (bijv. Scherm 7.70), dan is de magneet 'OFF", d.w.z. hij is verplaatst naar de achterkant van het instrument. Wanneer de magneet is teruggetrokken, bevindt de kolom zich buiten het magnetisch veld en wordt niet meer gemagnetiseerd.

Noot: Op het scherm kan een andere programmanaam worden weergegeven afhankelijk van het geselecteerde scheidingsprogramma (CD34 SELECTION 1 or 2).

Scheidingsprocedure

Cellen laden

De scheidingsprocedure begint met het vullen van het voorfilter om resterende lucht uit het voorfilter te verwijderen.

Daarna begint de scheiding van de gelabelde cellen. De pomp zuigt de inhoud van de Cell Preparation Bag in de slangenset en laadt het celproduct via de voorkolom op de scheidingskolom. De magnetisch gelabelde cellen (doelcellen) blijven in de scheidingskolom, worden in het magnetisch veld geplaatst, terwijl de niet-gelabelde cellen (niet-doelcellen) verder stromen en in de Negative Fraction Bag

worden verzameld. Wanneer de Cell Preparation Bag leeg is (automatisch gedetecteerd door de vloeistofsensor), wordt het voorfilter twee keer gespoeld met buffer.

Kolomwas I

De voorkolom en de scheidingskolom worden grondig gewassen om alle niet-gelabelde cellen te verwijderen. Wasbuffer wordt verzameld in de Buffer Waste Bag. Wanneer 'Kolomwas I' start, wordt de totale resterende tijd tot het eind van de scheidingsprocedure weergegeven.

BELANGRIJK
Aan het begin van de scheidingsprocedure wordt buffer omhoog naar de Cell Preparation Bag gepompt om het voorfilter te vullen. Tik voorzichtig enkele keren tegen de zijkant van het filter om eventuele luchtbellen te verwijderen die in het filter zijn opgesloten.

Vrijgave van cellen I

De magneet wordt verplaatst naar de achterkant van het instrument ("OFF"-positie). De vastgehouden cellen worden met hoge snelheid vrijgegeven, maar de cellen blijven in een interne slangcyclus.

Opnieuw laden van cellen I

De magneet wordt weer verplaatst naar de "ON"-positie om de scheidingskolom te magnetiseren en de cellen worden opnieuw op de scheidingskolom aangebracht.

Kolomwas II

Het opnieuw laden van de cellen wordt gevolgd door een tweede wasstap om de resterende niet-gelabelde cellen te verwijderen. Ook worden alle slangen meerdere malen gespoeld.

Vrijgave van cellen II, opnieuw laden van cellen II, kolomwas III

De cellen worden voor een tweede keer vrijgegeven en op de scheidingskolom aangebracht om alle niet-gelabelde cellen te verwijderen die niet-specifiek aan de kolommatrix vastzitten. Daarna wordt de scheidingskolom nogmaals gewassen.

Vrijgave van cellen III, opnieuw laden van cellen III, kolomwas IV

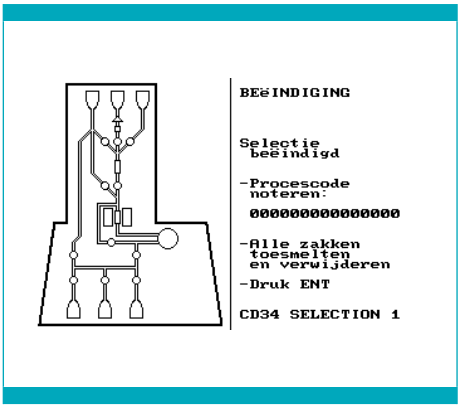
Bovendien bevat het scheidingsprogramma CD34 SELECTION 2 een derde stap met vrijgave en opnieuw aanbrengen.

Definitieve elutie van de cellen

De magneet gaat naar de "OFF"-positie en de magnetisch gelabelde cellen worden uit de scheidingskolom vrijgegeven en verzameld in de aangesloten Cell Collection Bag.

Zakken losmaken en procescode noteren

Wanneer de run is voltooid, verschijnt Scherm 7.72.

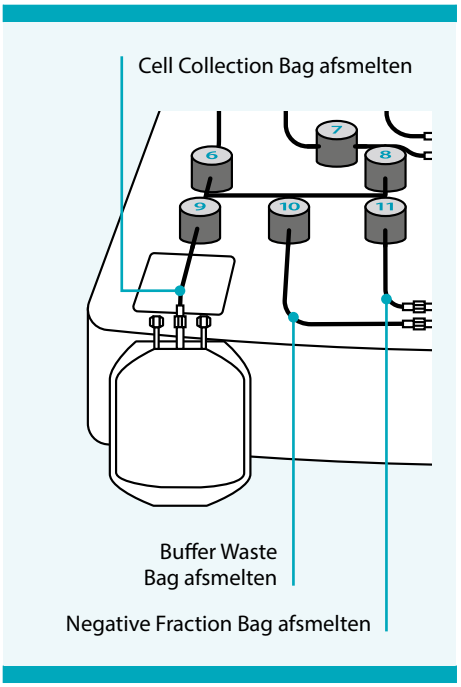


Scherm 7.72: Zakken losmaken en procescode noteren

1. Noteer de procescode.
2. Klem of smelt de slang af boven de luerlockverbinding waarmee de Cell Collection Bag is bevestigd aan de slangenset (zie Afbeelding 7.22).

   Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af direct onder ventielnr. 9. Scheid de middelste afsluiting voorzichtig om de Cell Collection Bag van de slangenset los te maken.
3. Weeg de gevulde Cell Collection Bag. Noteer het gewicht.

   Bereken het gewicht van de doelcelfractie door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de Cell Preparation Bag met de doelcellen. Noteer het gewicht.
4. Meng de doelcelsuspensie grondig door de zak rond te draaien. Neem een geschikte hoeveelheid, bijv. 0,5 mL, en bewaar deze voor de analyse.
5. Gebruik de afsmelteenheid om de slang boven de luerlockverbinding van de Negative Fraction Bag af te smelten. Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af. Scheid de middelste afsluiting om de Negative Fraction Bag los te maken.
6. Maak de Buffer Waste Bag op dezelfde manier los.



Afbeelding 7.22: Zakken losmaken

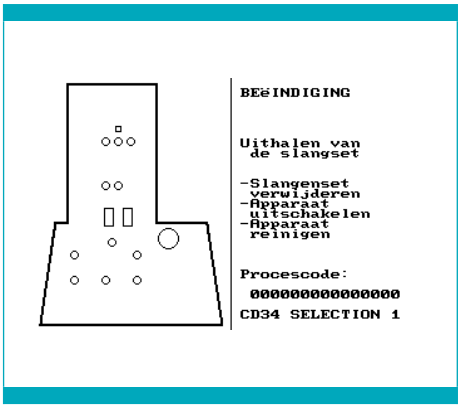
7. Verwijder de Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Bewaar alle zakken totdat de definitieve analyse van alle cellen is voltooid.

De doelcellen kunnen nu worden verwerkt in overeenstemming met de klinische protocollen.

Om door te gaan, drukt u op **RUN**.

Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.73.



Scherm 7.73: Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

1. Verwijder de slangenset: begin met ventielnrs. 6, 9, 10 en 11. Werk omhoog en verwijder de slang van de vloeistofsensor en van de ventielen door op de ventielknoppen te drukken. Verwijder de kolommen van de houders voor de kolom. Gooi de slangenset als een biogevaarlijk product af volgens de standaardprocedures van het ziekenhuis.
2. Schakel het CliniMACS Plus Instrument uit.
3. Reinig het instrument volgens de reinigingsinstructies, zie 'Reiniging en desinfectie' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument. Volg de standaardprocedures voor de behandeling van infectueus materiaal.

Analyse van cellen

BELANGRIJK

- *De CliniMACS PBS/EDTA Buffer hoeft niet worden verwijderd voordat de gescheiden doelcellen worden toegediend als het volume niet groter is dan 100 mL per transplantaat met geschikte infusiesnelheden. Men dient rekening te houden met de nierstatus van de patiënt en de effecten op bloedelektrolyten. Vooral bij kinderen moeten de infusiesnelheden overeenkomstig worden aangepast.*
- *Als het volume van de doelcelfractie 100 mL overschrijdt, moet het op passende wijze worden verlaagd, bijv. door centrifugering of wisseling van buffer, tot een infusieoplossing die is goedgekeurd in het land van de gebruiker.*

⚠ VOORZICHTIG

Risico van verminderde kwaliteit van doelcellen. De doelcellen moeten worden geanalyseerd en voldoen aan de vereisten van de gebruiker, anders kan de geschiktheid voor klinische toepassing aangetast zijn. Onderzoek de geschiktheid van doelcellen met betrekking tot kwaliteit en kwantiteit ten aanzien van hun beoogde gebruik.

Daartoe behoren de volgende parameters:

- totaal aantal leukocyten
- levensvatbaarheid en totaal aantal doelcellen
- zuiverheid en terugwinning van doelcellen

Het is ook raadzaam om het totaal aantal leukocyten en de levensvatbaarheid van de niet-doelcelfractie te bepalen. De lijst is een voorbeeld en andere tests moeten worden opgenomen op basis van het beoogde gebruik en klinische protocollen. Noteer de analysegegevens.

7.4.2 ENRICHMENT 1.1

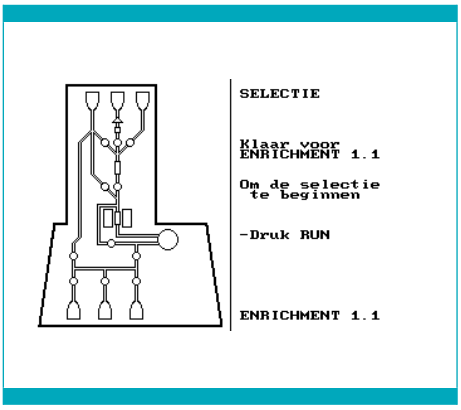
Nadat de definitieve controle is voltooid, kan het CliniMACS Plus Instrument beginnen met de scheidingsprocedure. Nu verschijnt het venster Scherm 7.74.

Om door te gaan, drukt u op **RUN**.

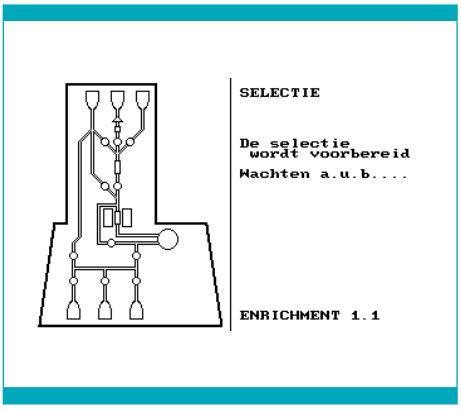
Nadat u op **RUN** hebt gedrukt, voert het instrument automatisch de geselecteerde scheidingsprocedure uit.

In elke fase verschijnt er een scherm dat lijkt op Scherm 7.75 met daarop de status van de scheidingsprocedure.

De magneetpositie-indicator wordt weergegeven als twee zwarte vakken naast de scheidingskolom wanneer de magneet "ON" is, d.w.z. hij is verplaatst naar de voorkant om de scheidingskolom te magnetiseren. Is de magneetpositie-indicator transparant (bijv. Scherm 7.74), dan is de magneet 'OFF", d.w.z. hij is verplaatst naar de achterkant van het instrument. Wanneer de magneet is teruggetrokken, bevindt de kolom zich buiten het magnetisch veld en wordt niet meer gemagnetiseerd.



Scherm 7.74: Scheidingsprocedure starten



Scherm 7.75: Bezig met scheiding

Scheidingsprocedure

Cellen laden

De scheidingsprocedure begint met het vullen van het voorfilter om resterende lucht uit het voorfilter te verwijderen. Daarna begint de scheiding van de gelabelde cellen. De pomp zuigt de inhoud van de Cell Preparation Bag in de slangenset en laadt het celproduct via de voorkolom op de scheidingskolom. De magnetisch gelabelde cellen (doelcellen) blijven in de scheidingskolom, worden in het magnetisch veld geplaatst, terwijl de niet-gelabelde cellen (niet-doelcellen) verder stromen en in de Negative Fraction Bag worden verzameld.

BELANGRIJK

Aan het begin van de scheidingsprocedure wordt buffer omhoog naar de Cell Preparation Bag gepompt om het voorfilter te vullen. Tik voorzichtig enkele keren tegen de zijkant van het filter om eventuele luchtbellen te verwijderen die in het filter zijn opgesloten.

Noot:

- Als het aantal magnetisch gelabelde cellen (zoals berekend door de CliniMACS Plus-software) de bindingscapaciteit van de scheidingskolom overschrijdt, laadt het scheidingsprogramma automatisch het celmonster en scheidt het in geschikte porties ('staged loading' - stapsgewijs laden).
- Het laden wordt gestopt wanneer de capaciteit van de scheidingskolom is bereikt, en het scheidingsprogramma gaat door naar de volgende stap van de scheidingsprocedure. Nadat de laatste stap (definitieve elutie van de cellen) is voltooid, wordt de volgende portie van het monster op de kolom geladen en overeenkomstig verwerkt.

Kolomwas I

De voorkolom en de scheidingskolom worden grondig gewassen om alle niet-gelabelde cellen te verwijderen. Wasbuffer wordt verzameld in de Buffer Waste Bag.

Vrijgave van cellen

De magneet wordt verplaatst naar de achterkant van het instrument ("OFF"-positie). De vastgehouden cellen worden met hoge snelheid vrijgegeven, maar de cellen blijven in een interne slangcyclus.

Opnieuw laden van cellen

De magneet wordt weer verplaatst naar de "ON"-positie om de scheidingskolom te magnetiseren en de cellen worden opnieuw op de scheidingskolom aangebracht.

Kolomwas II

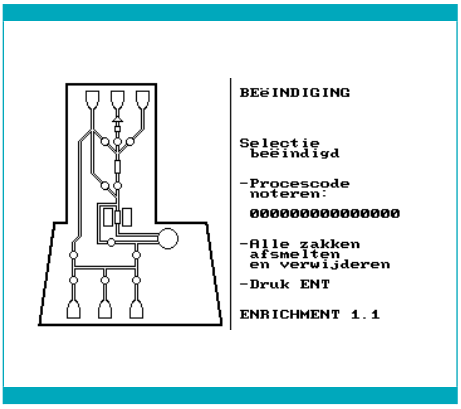
Het opnieuw laden van de cellen wordt gevolgd door een tweede wasreeks om de resterende niet-gelabelde cellen te verwijderen. Ook worden alle slangen meerdere malen gespoeld.

Definitieve elutie van de cellen

De magneet wordt verplaatst naar de "OFF"-positie en de magnetisch gelabelde cellen (doelcellen) in de scheidingskolom worden vrijgegeven en in de Cell Collection Bag verzameld.

Zakken losmaken en procescode noteren

Wanneer de run is voltooid, verschijnt Scherm 7.76.

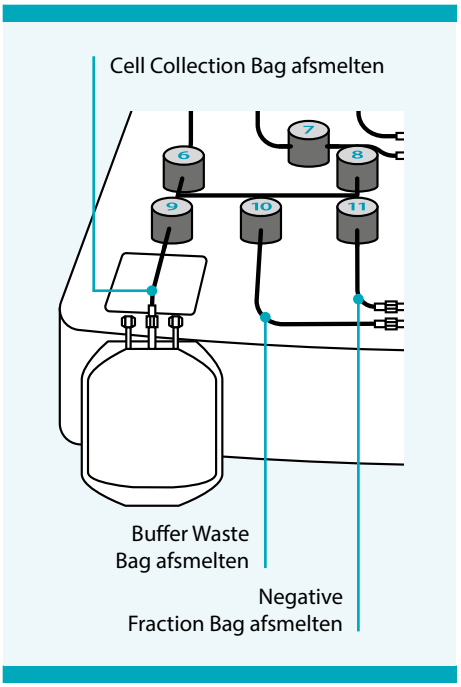


Scherm 7.76: Zakken losmaken en procescode noteren

1. Noteer de procescode.
2. Klem of smelt de slang af boven de luerlockverbinding waarmee de Cell Collection Bag is bevestigd aan de slangenset (zie Afbeelding 7.23).

   Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af direct onder ventielnr. 9. Scheid de middelste afsluiting voorzichtig om de Cell Collection Bag van de slangenset los te maken.
3. Weeg de gevulde Cell Collection Bag. Noteer het gewicht.

   Bereken het gewicht van de doelcelfractie door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de Cell Preparation Bag met de doelcellen. Noteer het gewicht.
4. Meng de doelcelsuspensie grondig door de zak rond te draaien. Neem een geschikte hoeveelheid, bijv. 0,5 mL, en bewaar deze voor de analyse.
5. Gebruik de afsmelteenheid om de slang boven de luerlockverbinding van de Negative Fraction Bag af te smelten. Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af. Scheid de middelste afsluiting om de Negative Fraction Bag los te maken.
6. Maak de Buffer Waste Bag op dezelfde manier los.
7. Verwijder de Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Bewaar alle zakken totdat de definitieve analyse van alle cellen is voltooid.



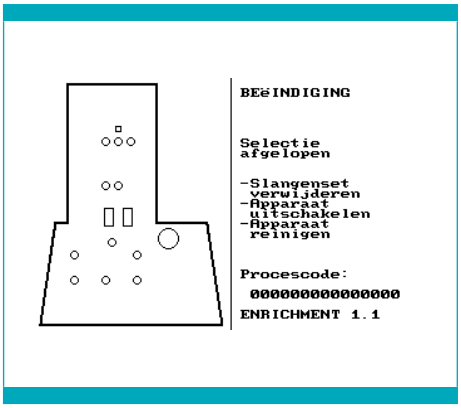
Afbeelding 7.23: Zakken losmaken

De doelcellen kunnen nu worden verwerkt in overeenstemming met de klinische protocollen.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.77.



Scherm 7.77: Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

1. Verwijder de slangenset: begin met ventielnrs. 6, 9, 10 en 11. Werk omhoog en verwijder de slang van de vloeistofsensor en van de ventielen door op de ventielknoppen te drukken. Verwijder de kolommen van de houders voor de kolom. Gooi de slangenset als een biogevaarlijk product af volgens de standaardprocedures van het ziekenhuis.
2. Schakel het CliniMACS Plus Instrument uit.
3. Reinig het instrument volgens de reinigingsinstructies, zie 'Reiniging en desinfectie' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument. Volg de standaardprocedures voor de behandeling van infectueus materiaal.

Analyse van cellen

BELANGRIJK

- *De CliniMACS PBS/EDTA Buffer hoeft niet worden verwijderd voordat de gescheiden doelcellen worden toegediend als het volume niet groter is dan 100 mL per transplantaat met geschikte infusiesnelheden. Men dient rekening te houden met de nierstatus van de patiënt en de effecten op bloedelektrolyten. Vooral bij kinderen moeten de infusiesnelheden overeenkomstig worden aangepast.*
- *Als het volume van de doelcelfractie 100 mL overschrijdt, moet het op passende wijze worden verlaagd, bijv. door centrifugering of wisseling van buffer, tot een infusieoplossing die is goedgekeurd in het land van de gebruiker.*

⚠ VOORZICHTIG

Risico van verminderde kwaliteit van doelcellen. De doelcellen moeten worden geanalyseerd en voldoen aan de vereisten van de gebruiker, anders kan de geschiktheid voor klinische toepassing aangetast zijn. Onderzoek de geschiktheid van doelcellen met betrekking tot kwaliteit en kwantiteit ten aanzien van hun beoogde gebruik.

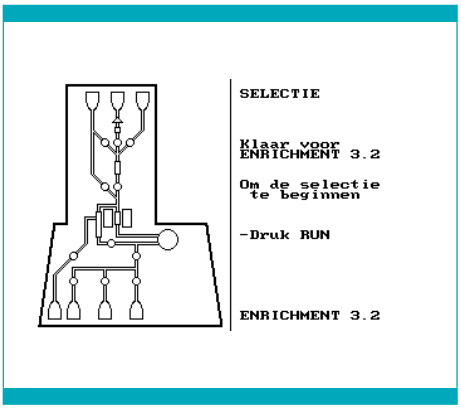
Daartoe behoren de volgende parameters:

- totaal aantal leukocyten
- levensvatbaarheid en totaal aantal doelcellen
- zuiverheid (depletie-efficiëntie) en terugwinning van doelcellen

Het is ook raadzaam om het totaal aantal leukocyten en de levensvatbaarheid van de niet-doelcelfractie te bepalen. De lijst is een voorbeeld en andere tests moeten worden opgenomen op basis van het beoogde gebruik en klinische protocollen. Noteer de analysegegevens.

7.4.3 ENRICHMENT 3.2

Nadat de definitieve controle is voltooid, kan het CliniMACS Plus Instrument beginnen met de scheidingsprocedure. Nu verschijnt het venster Scherm 7.78.

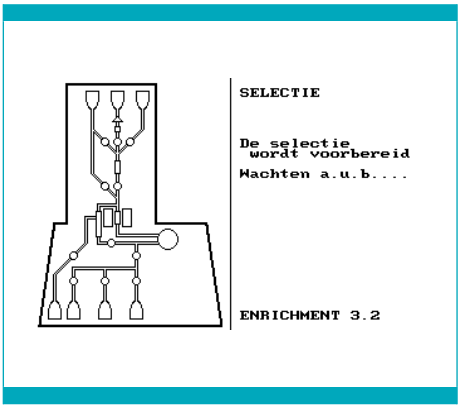


Scherm 7.78: Scheidingsprocedure starten

Om door te gaan, drukt u op **RUN**.

Nadat u op **RUN** hebt gedrukt, voert het instrument automatisch de geselecteerde scheidingsprocedure uit.

In elke fase verschijnt er een scherm dat lijkt op Scherm 7.79 met daarop de status van de scheidingsprocedure.



Scherm 7.79: Bezig met scheiding

De magneetpositie-indicator wordt weergegeven als twee zwarte vakken naast de scheidingskolom wanneer de magneet "ON" is, d.w.z. hij is verplaatst naar de voorkant om de scheidingskolom te magnetiseren. Is de magneetpositie-indicator transparant (bijv. Scherm 7.78), dan is de magneet "OFF", d.w.z. hij is verplaatst naar de achterkant van het instrument. Wanneer de magneet is teruggetrokken, bevindt de scheidingskolom zich buiten het magnetisch veld en wordt niet meer gemagnetiseerd.

Scheidingsprocedure

Cellen laden

De scheidingsprocedure begint met het vullen van het voorfilter om resterende lucht uit het voorfilter te verwijderen. Daarna begint de scheiding van de gelabelde cellen. De pomp zuigt de inhoud van de Cell Preparation Bag in de slangenset en laadt het celproduct via de voorkolom op de scheidingskolom. De magnetisch gelabelde cellen (doelcellen) blijven in de scheidingskolom, worden in het magnetisch veld geplaatst, terwijl de niet-gelabelde cellen (niet-doelcellen) verder stromen en in de Negative Fraction Bag worden verzameld. Wanneer de Cell Preparation Bag leeg is (automatisch gedetecteerd door de vloeistofsensor), wordt het voorfilter twee keer gespoeld met buffer.

BELANGRIJK

Aan het begin van de scheidingsprocedure wordt buffer omhoog naar de Cell Preparation Bag gepompt om het voorfilter te vullen. Tik voorzichtig enkele keren tegen de zijkant van het filter om eventuele luchtbellen te verwijderen die in het filter zijn opgesloten.

Kolomwas I

De voorkolom en de scheidingskolom worden grondig gewassen om alle niet-gelabelde cellen te verwijderen. Wasbuffer wordt verzameld in de Buffer Waste Bag.

Vrijgave van cellen I

De magneet wordt verplaatst naar de achterkant van het instrument ("OFF"-positie). De vastgehouden cellen worden met hoge snelheid vrijgegeven, maar de cellen blijven in een interne slangcyclus.

Opnieuw laden van cellen I

De magneet wordt weer verplaatst naar de "ON"-positie om de scheidingskolom te magnetiseren en de cellen worden opnieuw op de scheidingskolom aangebracht.

Kolomwas II

Het opnieuw laden van de cellen wordt gevolgd door een tweede wasstap om de resterende niet-gelabelde cellen te verwijderen. Ook worden alle slangen meerdere malen gespoeld.

Vrijgave van cellen II, opnieuw laden van cellen II, kolomwas III

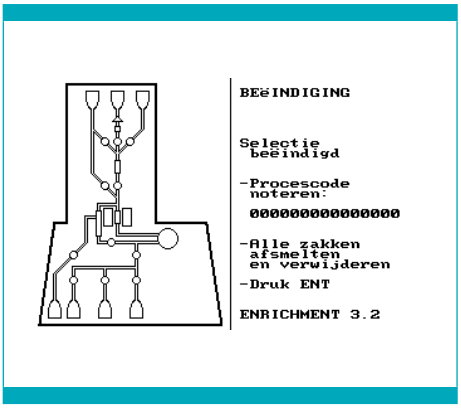
De cellen worden voor een tweede keer vrijgegeven en op de scheidingskolom aangebracht om alle niet-gelabelde cellen te verwijderen die niet-specifiek aan de kolommatrix vastzitten. Daarna wordt de scheidingskolom nogmaals gewassen.

Definitieve elutie van cellen

De magneet wordt verplaatst naar de "OFF"-positie en de magnetisch gelabelde cellen (doelcellen) worden vrijgegeven en in de Cell Collection Bag verzameld.

Zakken losmaken en procescode noteren

Wanneer de run is voltooid, verschijnt Scherm 7.80.

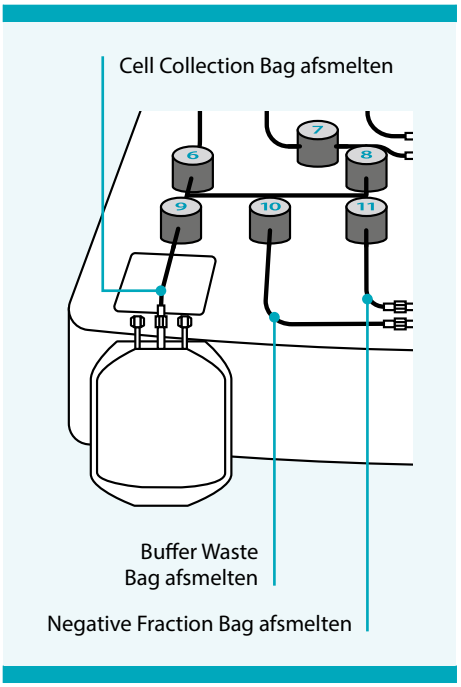


Scherm 7.80: Zakken losmaken en procescode noteren

1. Noteer de procescode.
2. Klem of smelt de slang af boven de luerlockverbinding waarmee de Cell Collection Bag is bevestigd aan de slangenset (zie Afbeelding 7.24).

   Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af direct onder ventielnr. 9. Scheid de middelste afsluiting voorzichtig om de Cell Collection Bag van de slangenset los te maken.
3. Weeg de gevulde Cell Collection Bag. Noteer het gewicht.

   Bereken het gewicht van de doelcelfractie door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de Cell Preparation Bag met de doelcellen. Noteer het gewicht.
4. Meng de doelcelsuspensie grondig door de zak rond te draaien. Neem een geschikte hoeveelheid, bijv. 0,5 mL, en bewaar deze voor de analyse.
5. Gebruik de afsmelteenheid om de slang boven de luerlockverbinding van de Negative Fraction Bag af te smelten. Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af. Scheid de middelste afsluiting om de Negative Fraction Bag los te maken.
6. Maak de Buffer Waste Bag op dezelfde manier los.
7. Verwijder de Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Bewaar alle zakken totdat de definitieve analyse van alle cellen is voltooid.



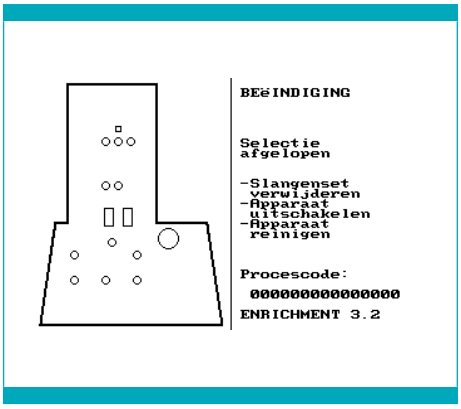
Afbeelding 7.24: Zakken losmaken

De doelcellen kunnen nu worden verwerkt in overeenstemming met de klinische protocollen.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.81.



Scherm 7.81: Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

1. Verwijder de slangenset: begin met ventielnrs. 6, 9, 10 en 11. Werk omhoog en verwijder de slang van de vloeistofsensor en van de ventielen door op de ventielknoppen te drukken. Verwijder de kolommen van de houders voor de kolom. Gooi de slangenset als een biogevaarlijk product weg volgens de standaardprocedures van het ziekenhuis.
2. Schakel het CliniMACS Plus Instrument uit.
3. Reinig het instrument volgens de reinigingsinstructies, zie 'Reiniging en desinfectie' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument. Volg de standaardprocedures voor de behandeling van infectueus materiaal.

Analyse van cellen

BELANGRIJK

- *De CliniMACS PBS/EDTA Buffer hoeft niet worden verwijderd voordat de gescheiden doelcellen worden toegediend als het volume niet groter is dan 100 mL per transplantaat met geschikte infusiesnelheden. Men dient rekening te houden met de nierstatus van de patiënt en de effecten op bloedelektrolyten. Vooral bij kinderen moeten de infusiesnelheden overeenkomstig worden aangepast.*
- *Als het volume van de doelcelfractie 100 mL overschrijdt, moet het op passende wijze worden verlaagd, bijv. door centrifugering of wisseling van buffer, tot een infusieoplossing die is goedgekeurd in het land van de gebruiker.*

⚠ VOORZICHTIG

Risico van verminderde kwaliteit van doelcellen. De doelcellen moeten worden geanalyseerd en voldoen aan de vereisten van de gebruiker, anders kan de geschiktheid voor klinische toepassing aangetast zijn. Onderzoek de geschiktheid van doelcellen met betrekking tot kwaliteit en kwantiteit ten aanzien van hun beoogde gebruik.

Daartoe behoren de volgende parameters:

- totaal aantal leukocyten
- levensvatbaarheid en totaal aantal doelcellen
- zuiverheid en terugwinning van doelcellen

Het is ook raadzaam om het totaal aantal leukocyten en de levensvatbaarheid van de niet-doelcelfractie te bepalen. De lijst is een voorbeeld en andere tests moeten worden opgenomen op basis van het beoogde gebruik en klinische protocollen. Noteer de analysegegevens.

7.4.4 DEPLETION 2.1

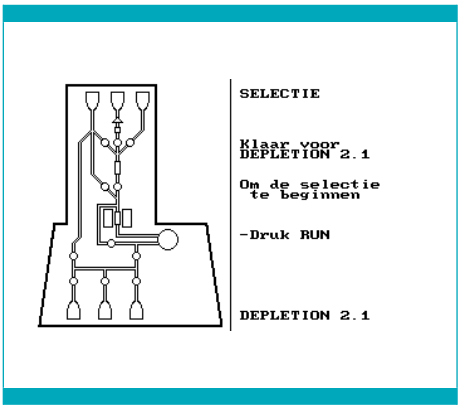
Nadat de definitieve controle is voltooid, kan het CliniMACS Plus Instrument beginnen met de scheidingsprocedure. Nu verschijnt het venster Scherm 7.82.

Om door te gaan, drukt u op **RUN**.

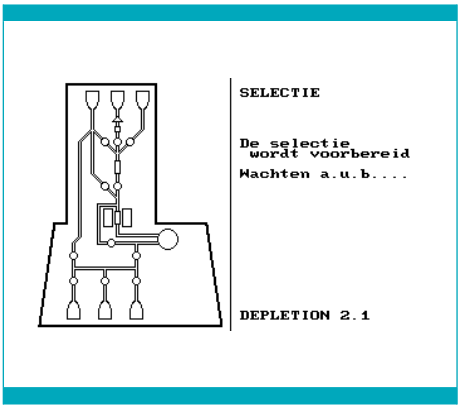
Nadat u op **RUN** hebt gedrukt, voert het instrument automatisch de gekozen scheidingsprocedure uit.

In elke fase verschijnt er een scherm dat lijkt op Scherm 7.83 met daarop de status van de scheidingsprocedure.

De magneetpositie-indicator wordt weergegeven als twee zwarte vakken naast de scheidingskolom wanneer de magneet "ON" is, d.w.z. hij is verplaatst naar de voorkant om de scheidingskolom te magnetiseren. Is de magneetpositie-indicator transparant (bijv. Scherm 7.82), dan is de magneet "OFF", d.w.z. hij is verplaatst naar de achterkant van het instrument. Wanneer de magneet is teruggetrokken, bevindt de kolom zich buiten het magnetisch veld en wordt niet meer gemagnetiseerd.



Scherm 7.82: Scheidingsprocedure starten



Scherm 7.83: Bezig met scheiding

Scheidingsprocedure

Cellen laden

De scheidingsprocedure begint met het vullen van het voorfilter om het voorspoelen van het systeem te voltooien. Daarna begint de scheiding van de gelabelde cellen. De pompt zuigt de inhoud van de Cell Preparation Bag in de slangenset. De magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) blijven in de scheidingskolom, worden in het magnetisch veld geplaatst, terwijl de niet-gelabelde cellen (doelcellen) verder stromen en in de Cell Collection Bag worden verzameld.

BELANGRIJK

Aan het begin van de scheidingsprocedure wordt buffer omhoog naar de Cell Preparation Bag gepompt om het voorfilter te vullen. Tik voorzichtig enkele keren tegen de zijkant van het filter om eventuele luchtbellen te verwijderen die in het filter zijn opgesloten.

Voorfilter spoelen

Nadat het celmonster volledig op de slangenset is geladen, wordt het voorfilter twee keer gespoeld met buffer om het celverlies in het filter te verminderen.

Noot:

- Als het aantal magnetisch gelabelde cellen (zoals berekend door de CliniMACS Plus-software) de bindingscapaciteit van de scheidingskolom overschrijdt, laadt het scheidingsprogramma automatisch het celmonster en scheidt het in geschikte porties ('staged loading' - stapsgewijs laden).
- Het laden wordt gestopt wanneer de capaciteit van de scheidingskolom is bereikt en het scheidingsprogramma gaat door naar de volgende stap van de scheidingsprocedure. Nadat de laatste stap (definitieve elutie van de cellen) is voltooid, wordt de volgende portie van het monster op de kolom geladen.

Kolomwas

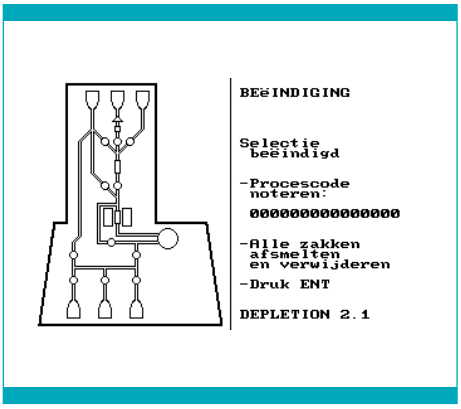
De voorkolom en de scheidingskolom worden grondig gewassen om alle niet-gelabelde cellen te verwijderen. Wasbuffer wordt verzameld in de Buffer Waste Bag.

Definitieve elutie van de cellen

De magneet wordt verplaatst naar de "OFF"-positie. Eerst worden de magnetisch gelabelde cellen geëludeerd naar de Priming Waste Bag. Pas nadat de laatste laadfase is voltooid, worden alle magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de scheidingskolom vrijgegeven en in de Negative Fraction Bag verzameld om de overdracht van gelabelde cellen in de pompslang te verminderen.

Zakken losmaken en procescode noteren

Wanneer de run is voltooid, verschijnt Scherm 7.84.

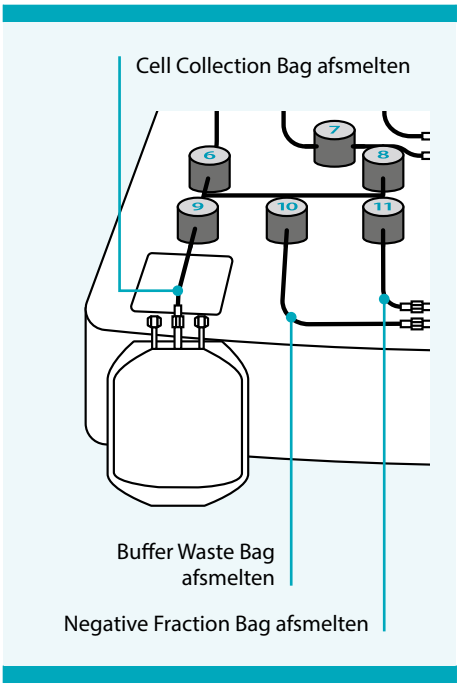


Scherm 7.84: Zakken losmaken en procescode noteren

1. Noteer de procescode.
2. Klem of smelt de slang af boven de luerlockverbinding waarmee de Cell Collection Bag is bevestigd aan de slangenset (zie Afbeelding 7.25).

   Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af direct onder ventielnr. 9. Scheid de middelste afsluiting voorzichtig om de Cell Collection Bag van de slangenset los te maken.
3. Weeg de gevulde Cell Collection Bag. Noteer het gewicht.

   Bereken het gewicht van de doelcelfractie door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de Cell Preparation Bag met de doelcellen. Noteer het gewicht.
4. Meng de doelcelsuspensie grondig door de zak rond te draaien. Neem een geschikte hoeveelheid, bijv. 0,5 mL, en bewaar deze voor analyse.
5. Gebruik de afsmelteenheid om de slang boven de luerlockverbinding van de Negative Fraction Bag af te smelten. Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af. Scheid de middelste afsluiting om de Negative Fraction Bag los te maken.
6. Maak de Buffer Waste Bag op dezelfde manier los.



Afbeelding 7.25: Zakken losmaken

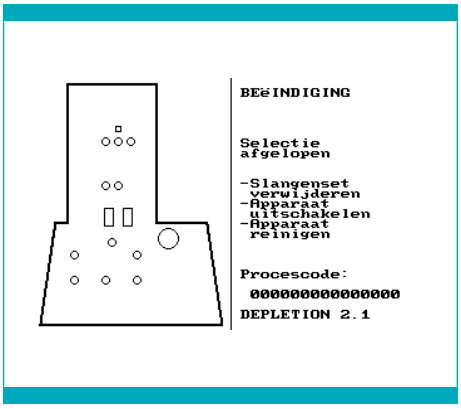
7. Verwijder de Negative Fraction Bag en Buffer Waste Bag. Bewaar alle zakken totdat de definitieve analyse van alle cellen is voltooid.

De doelcellen kunnen nu worden verwerkt in overeenstemming met de klinische protocollen.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.85.



Scherm 7.85: Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

1. Verwijder de slangenset: begin met ventielnrs. 6, 9 en 10. Werk omhoog en verwijder de slang van de vloeistofsensor en van de ventielen door op de ventielknoppen te drukken. Verwijder de kolom van de houder voor de kolom. Gooi de slangenset als een biogevaarlijk product weg volgens de standaardprocedures van het ziekenhuis.
2. Schakel het CliniMACS Plus Instrument uit.
3. Reinig het instrument volgens de reinigingsinstructies, zie 'Reiniging en desinfectie' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument. Volg de standaardprocedures voor de behandeling van infectueus materiaal.

Analyse van cellen

BELANGRIJK

- *De CliniMACS PBS/EDTA Buffer hoeft niet worden verwijderd voordat de gescheiden doelcellen worden toegediend als het volume niet groter is dan 100 mL per transplantaat met geschikte infusiesnelheden. Men dient rekening te houden met de nierstatus van de patiënt en de effecten op bloedelektrolyten. Vooral bij kinderen moeten de infusiesnelheden overeenkomstig worden aangepast.*
- *Als het volume van de doelcelfractie 100 mL overschrijdt, moet het op passende wijze worden verlaagd, bijv. door centrifugering of wisseling van buffer, tot een infusieoplossing die is goedgekeurd in het land van de gebruiker.*

⚠ VOORZICHTIG

Risico van verminderde kwaliteit van doelcellen. De doelcellen moeten worden geanalyseerd en voldoen aan de vereisten van de gebruiker, anders kan de geschiktheid voor klinische toepassing aangetast zijn. Onderzoek de geschiktheid van doelcellen met betrekking tot kwaliteit en kwantiteit ten aanzien van hun beoogde gebruik.

Daartoe behoren de volgende parameters:

- totaal aantal leukocyten
- levensvatbaarheid en totaal aantal doelcellen
- depletie-efficiëntie

Het is ook raadzaam om het totaal aantal leukocyten en de levensvatbaarheid van de niet-doelcelfractie te bepalen. De lijst is een voorbeeld en andere tests moeten worden opgenomen op basis van het beoogde gebruik en klinische protocollen. Noteer de analysegegevens.

7.4.5 DEPLETION 3.1

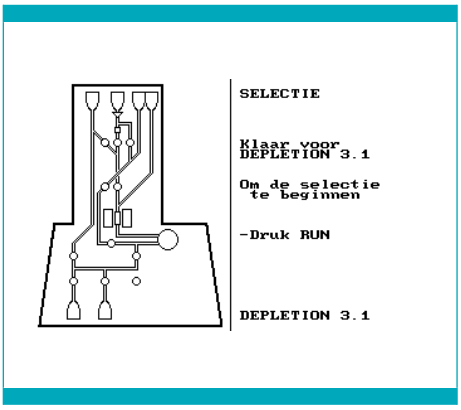
Nadat de definitieve controle is voltooid, kan het CliniMACS Plus Instrument beginnen met de scheidingsprocedure. Nu verschijnt het venster Scherm 7.86.

Om door te gaan, drukt u op **RUN**.

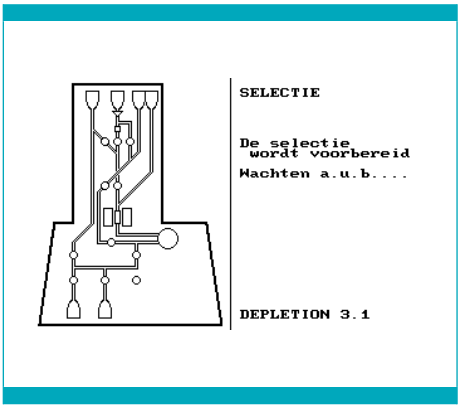
Nadat u op **RUN** hebt gedrukt, voert het instrument automatisch de gekozen scheidingsprocedure uit.

In elke fase verschijnt er een scherm dat lijkt op Scherm 7.87 met daarop de status van de scheidingsprocedure.

De magneetpositie-indicator wordt weergegeven als twee zwarte vakken naast de scheidingskolom wanneer de magneet "ON" is, d.w.z. hij is verplaatst naar de voorkant om de scheidingskolom te magnetiseren. Is de magneetpositie-indicator transparant (bijv. Scherm 7.86), dan is de magneet "OFF", d.w.z. hij is verplaatst naar de achterkant van het instrument. Wanneer de magneet is teruggetrokken, bevindt de scheidingskolom zich buiten het magnetisch veld en wordt niet meer gemagnetiseerd



Scherm 7.86: Scheidingsprocedure starten



Scherm 7.87: Bezig met scheiding

Scheidingsprocedure

Depletion 3.1 is een tweestaps depletieprogramma, d.w.z. de cellen worden twee keer op de scheidingskolom aangebracht.

In het eerste deel van het proces vindt depletie van het grootste deel van de gelabelde cellen plaats (Staged Cell Loading [Bulk Loading Stage]). In het tweede deel van het proces vindt depletie van de enkele resterende gelabelde cellen plaats (Sensitive Sample Loading [Sensitive Loading Stage]).

BELANGRIJK

Aan het begin van de scheidingsprocedure wordt buffer omhoog naar de Cell Preparation Bag gepompt om het voorfilter te vullen. Tik voorzichtig enkele keren tegen de zijkant van het filter om eventuele luchtbellen te verwijderen die in het filter zijn opgesloten.

Noot: Als het aantal magnetisch gelabelde cellen (zoals berekend door de CliniMACS Plus-software) de bindingscapaciteit van de scheidingskolom overschrijdt, laadt het scheidingsprogramma automatisch het celmonster en scheidt het in geschikte porties ('staged loading' - stapsgewijs laden). Tussen elke laadfase wordt de scheidingskolom gewassen om alle gelabelde cellen te verwijderen. De gelabelde cellen worden geëludeerd en in de Non-Target Cell Bag bewaard. De wasbuffer wordt opgevangen in de Reapplication Bag.

Staged Cell Loading (Bulk Loading Stage)

De scheidingsprocedure begint met het vullen van het voorfilter om het voorspoelen van het systeem te voltooien. Daarna begint de scheiding van de gelabelde cellen. De pompt zuigt de inhoud van de Cell Preparation Bag in de slangenset. De magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) blijven in de scheidingskolom, worden in het magnetisch veld geplaatst, terwijl de niet-gelabelde cellen (doelcellen) verder stromen en in de Reapplication Bag worden verzameld.

Sensitive Sample Loading (Sensitive Loading Stage)

Voor verdere depletie worden de cellen in de Reapplication Bag opnieuw, maar met een lagere snelheid op de scheidingskolom geladen. Terwijl de enkele resterende gelabelde cellen nu op de kolom worden bewaard, stromen de niet-gelabelde cellen (doelcellen) door het magnetisch veld en worden verzameld in de Cell Collection Bag.

Spoelen van het voorfilter en de Reapplication Bag

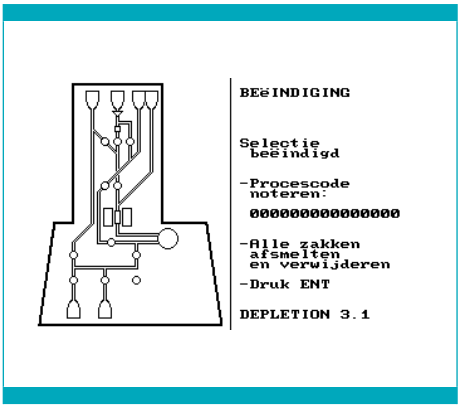
Nadat zowel de bulk- als gevoelige depletie van het celmonster is voltooid, worden het voorfilter en de Reapplication Bag twee keer gespoeld met buffer om celverlies in het systeem te verminderen.

Verwijdering van niet-doelcellen

De magneet wordt verplaatst naar de "OFF"-positie. Na elke laadfase worden de magnetisch gelabelde cellen (niet-doelcellen) in de scheidingskolom vrijgegeven en in de Non-Target Cell Bag verzameld.

Zakken losmaken en procescode noteren

Wanneer de run is voltooid, verschijnt Scherm 7.88.

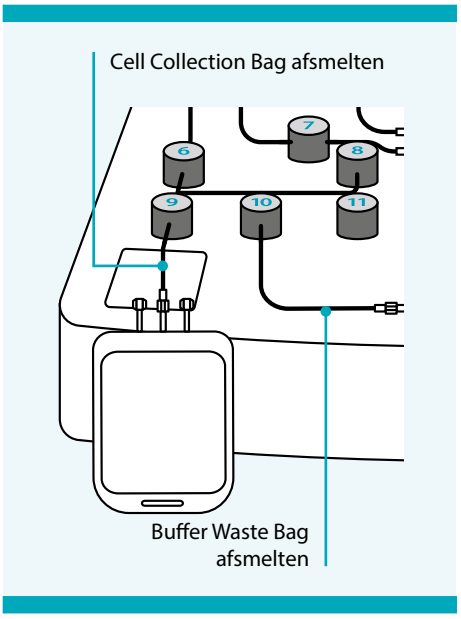


Scherm 7.88: Zakken losmaken en procescode noteren

1. Noteer de procescode.
2. Klem of smelt de slang af boven de luerlockverbinding waarmee de Cell Collection Bag is bevestigd aan de slangenset (zie Afbeelding 7.26).

   Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af direct onder ventielnr. 9. Scheid de middelste afsluiting voorzichtig om de Cell Collection Bag van de slangenset los te maken.
3. Weeg de gevulde Cell Collection Bag. Noteer het gewicht.

   Bereken het gewicht van de doelcelfractie door het gewicht van de lege Cell Preparation Bag af te trekken van het gewicht van de Cell Preparation Bag met de doelcellen. Noteer het gewicht.
4. Meng de doelcelsuspensie grondig door de zak rond te draaien. Neem een geschikte hoeveelheid, bijv. 0,5 mL, en bewaar deze voor de analyse.
5. Gebruik de afsmelteenheid om de slang boven de luerlockverbinding van de Buffer Waste Bag af te smelten. Smelt de slang op drie plaatsen hermetisch af. Scheid de middelste afsluiting om de Buffer Waste Bag los te maken.
6. Maak de Non-Target Cell Bag op dezelfde manier los.



Afbeelding 7.26: Zakken losmaken

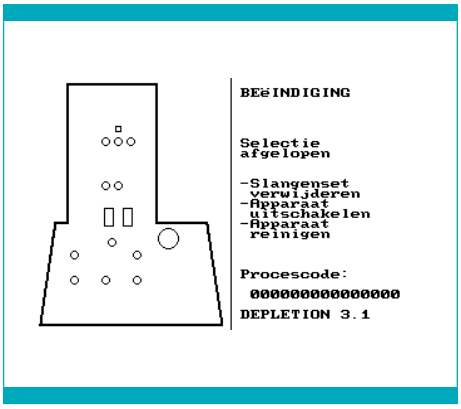
7. Verwijder de Non-Target Cell Bag en de Buffer Waste Bag. Bewaar alle zakken totdat de definitieve analyse van alle cellen is voltooid.

De doelcellen kunnen nu worden verwerkt in overeenstemming met de klinische protocollen.

Om door te gaan, drukt u op **ENT**.

Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

Nu verschijnt het venster Scherm 7.89.



Scherm 7.89: Slangenset verwijderen en instrument uitschakelen

1. Verwijder de slangenset: begin met ventielnrs. 6, 9 en 10. Werk omhoog en verwijder de slang van de vloeistofsensor en van de ventielen door op de ventielknoppen te drukken. Verwijder de kolom van de houder voor de kolom. Gooi de slangenset als een biogevaarlijk product weg volgens de standaardprocedures van het ziekenhuis.
2 Schakel het CliniMACS Plus Instrument uit.
3. Reinig het instrument volgens de reinigingsinstructies, zie 'Reiniging en desinfectie' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument. Volg de standaardprocedures voor de behandeling van infectueus materiaal.

Analyse van cellen

BELANGRIJK

- *De CliniMACS PBS/EDTA Buffer hoeft niet worden verwijderd voordat de gescheiden doelcellen worden toegediend als het volume niet groter is dan 100 mL per transplantaat met geschikte infusiesnelheden. Men dient rekening te houden met de nierstatus van de patiënt en de effecten op bloedelektrolyten. Vooral bij kinderen moeten de infusiesnelheden overeenkomstig worden aangepast.*
- *Als het volume van de doelcelfractie 100 mL overschrijdt, moet het op passende wijze worden verlaagd, bijv. door centrifugering of wisseling van buffer, tot een infusieoplossing die is goedgekeurd in het land van de gebruiker.*

⚠ VOORZICHTIG

Risico van verminderde kwaliteit van doelcellen. De doelcellen moeten worden geanalyseerd en dienen te voldoen aan de vereisten van de gebruiker, anders kan de geschiktheid voor klinische toepassing aangetast zijn. Onderzoek de geschiktheid van doelcellen met betrekking tot kwaliteit en kwantiteit ten aanzien van hun beoogde gebruik.

Daartoe behoren de volgende parameters:

- totaal aantal leukocyten
- levensvatbaarheid en totaal aantal doelcellen
- depletie-efficiëntie

Het is ook raadzaam om het totaal aantal leukocyten en de levensvatbaarheid van de niet-doelcelfractie te bepalen. De lijst is een voorbeeld en andere tests moeten worden opgenomen op basis van het beoogde gebruik en klinische protocollen. Noteer de analysegegevens.

8 Problemen oplossen

Dit hoofdstuk is bedoeld als referentie en bevat informatie over mogelijke onverwachte gebeurtenissen die zouden kunnen ontstaan en om passende corrigerende actie te suggereren. Neem zo snel mogelijk contact op met Miltenyi Biotec Technical Support voor informatie die u niet in dit hoofdstuk kunt vinden.

Noot: De indeling van dit hoofdstuk volgt de werkelijke volgorde van een scheidingsprocedure.

8.1 Miltenyi Biotec Technical Support

Neem contact op met het team van Miltenyi Biotec Technical Support bij storingen van het instrument of falen van de procedure die niet door de operator kunnen worden gecorrigeerd (foutmeldingen):

+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com

Ga naar www.miltenyibiotec.com voor contactinformatie voor plaatselijke Miltenyi Biotec Technical Support.

8.2 Preparatie van het leukafereseproduct

Het ontvangen monster is verdund

Idealiter wordt magnetische labeling uitgevoerd met een verdund leukafereseproduct. Pas het leukafereseproduct aan tot een uiteindelijke verdunning van ongeveer 1:3. Als het ontvangen monster meer verdund is dan 1:3 of als de operator niet precies de plasmaconcentratie van het monster weet, moet immunoglobuline aan het monster worden toegevoegd voordat het reagens wordt toegevoegd (aanbevolen immunoglobulineconcentratie van het labelingsvolume: 1,5 mg/mL). Het is belangrijk om tijdens de labeling een bepaalde hoeveelheid immunoglobuline in het monster te hebben om de niet-specifieke binding van het reagens tot een minimum te beperken.

Het leukafereseproduct heeft een laag aantal doelcellen

De mobilisatie van de stamcellen was onvoldoende. Controleer de analyse van het leukafereseproduct.

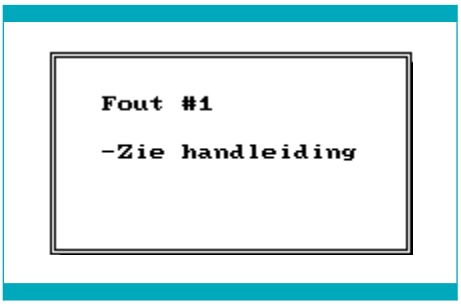
■ Slechte levensvatbaarheid van de cellen in het leukafereseproduct

Het leukafereseproduct kan op een onjuiste manier zijn geoogst, opgeslagen of getransporteerd. Om een betere monsterkwaliteit te garanderen, moeten de preparatie en scheiding van het leukafereseproduct onmiddellijk na de leukaferese worden uitgevoerd. Zorg dat de leukocytenconcentratie van het leukafereseproduct minder dan $0{,}2 \times 10^9$ per mL is. Verdun het leukafereseproduct, indien nodig, met autoloog plasma. Het leukafereseproduct mag niet ouder zijn dan 24 uur aan het begin van de labelings- en scheidingsprocedure. Als het leukafereseproduct moet worden opgeslagen, bijv. 's nachts, moet het worden bewaard bij een gecontroleerde kamertemperatuur (+19 °C tot +25 °C [+66 °F tot +77 °F]).

8.3 CliniMACS Plus Instrument en CliniMACS-slangensets

8.3.1 Foutmeldingen

Er zijn een aantal mogelijke storingen van het instrument of software. Deze worden als zodanig gemarkeerd en op het scherm weergegeven. Zij verwijzen naar interne factoren die niet door de operator kunnen worden gecorrigeerd. Noteer het foutnummer en neem zo snel mogelijk contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.



Scherm 8.1: Foutmelding nr. 1

Een mogelijke foutmelding wordt getoond in Scherm 8.1.

Naast foutmeldingen worden storingen die door de operator kunnen worden verholpen, aangeduid als 'Waarschuwingsberichten' (zie paragraaf 8.4.1).

8.3.2 Laden en voorspoelen van de slangenset

■ Ventiel opent niet wanneer de operator de instructie krijgt om de slang in een bepaald ventiel te steken

De ventielen zijn zo ontworpen dat ze goed werken wanneer de slang erin is gestoken. Druk handmatig op het ventiel om het te openen. Houd het ventiel goed in de gaten tijdens het testen van het ventiel. Als het ventiel niet kan worden ingedrukt tijdens het testen van het ventiel, raadpleegt u "Ventiel kan niet worden ingedrukt tijdens het testen van het ventiel".

- Ventiel kan niet worden ingedrukt tijdens het testen van het ventiel

  Controleer of de slang correct erin is gestoken. Controleer of de ventielen grondig zijn gereinigd. Elk ventiel dat met vloeistof is gecontamineerd, moet worden vervangen. Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.

- Buffer lekt uit slangenset tijdens voorspoelen

  Slangenset is defect. Schakel het CliniMACS Plus Instrument uit en start het voorspoelen opnieuw met een nieuw geïnstalleerde slangenset en voldoende nieuwe buffer.

- Overmatige hoeveelheid lucht in slangenset na voorspoelen

  De bufferzak is niet goed met de spike doorgeprikt. Gebruik een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer en start de CliniMACS Plus-scheidingsprocedure opnieuw. Controleer of het septum van de bufferzak goed is doorgeprikt.

- Onverwacht buffervolume in zakken na voorspoelen. Na het voorspoelen mag vloeistof alleen in de Priming Waste Bag en de Buffer Waste Bag aanwezig zijn

  De slangenset is niet goed aangebracht. Vloeistof kan achter de ventielen lekken als de slangenset niet correct is geïnstalleerd of de ventielen niet goed werken. Verwijder de slangenset en vervang deze door een nieuwe. Start de voorspoelprocedure opnieuw met voldoende nieuwe buffer. De CliniMACS Plus-scheidingsprocedure kan een slecht resultaat opleveren als de slangenset niet goed is aangebracht.

- Pompmotor komt tot stilstand tijdens voorspoelen

  De pompslang is niet correct aangebracht. Druk op **STOP** om het voorspoelen te onderbreken en schakel het instrument dan 'UIT' en weer 'IN'. Klem de bufferlijn af met een slangenklem tijdens de installatieprocedure, corrigeer de positie van de pompslang en verwijder de slangenklem voordat u de voorspoelprocedure opnieuw start.

8.4 Geautomatiseerde celscheiding

8.4.1 Waarschuwingsberichten

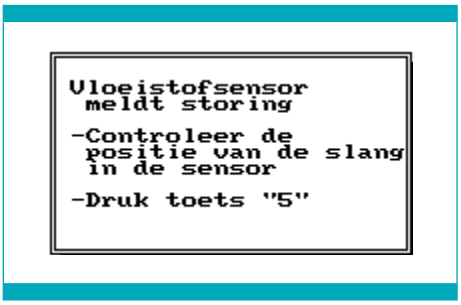
In tegenstelling tot foutmeldingen (zie paragraaf 8.3.1), verschijnen waarschuwingsberichten op het scherm wanneer het interne besturingssysteem van het CliniMACS Plus Instrument een storing herkent die door de operator kan worden verholpen. Meestal verschijnt een waarschuwingsbericht in combinatie met een geluidssignaal ('pieptoon'). Als tijdens de CliniMACS Plus-scheidingsprocedure een waarschuwingsbericht verschijnt, moet u de instructies op het scherm volgen om door te gaan met de celscheiding. Normaal gesproken verschijnen waarschuwingsberichten wanneer de knop **STOP** wordt ingedrukt, wanneer de pompdeur wordt geopend, wanneer de pomp tot stilstand komt of wanneer de vloeistofsensor een fout herkent.

Omdat verschillende soorten onverwachte gebeurtenissen kunnen voorkomen tijdens verschillende scheidingsprogramma's, is de volgende paragraaf overeenkomstig onderverdeeld.

8.4.2 Onverwachte gebeurtenissen: Alle scheidingsprogramma's

■ Fout gedetecteerd door vloeistofsensor

Waarschuwingsberichtnr. 1 verschijnt tijdens de startfase van de cellaadprocedure als de vloeistofsensor geen vloeistof in de slang detecteert. Als het voorfilter wordt gespoeld met buffer voordat de cel wordt geladen, moet er op dat moment vloeistof in de slang zitten.



Afbeelding 8.1: Waarschuwingsberichtnr. 1

Controleer de volgende punten:

1. Is de slang correct in de vloeistofsensor aangebracht? Zo niet, breng de slang dan correct aan.
2. Is de slang gevuld met buffer? Zo niet, zie punt 3.
3. Als de slang niet is gevuld met buffer, controleer de slang dan op knikken die de opwaartse stroming van de buffer naar het voorfilter en de Cell Preparation Bag blokkeren. Pas de positie van de slangenset aan. Indien nodig, verhoog of verlaag de bevestigingsbeugels met behulp van de klemmen op de bevestigingsbeugel. Pas de positie van de slangen in de ventielen aan. Om de positie van de slangen te wijzigen, moet het ventiel worden geopend door met de hand op de knop te drukken. Controleer of de slang niet geknikt, verdraaid of strak gespannen is.

4. Is de Cell Preparation Bag correct met de spike doorgeprikt? Controleer of de spike van het voorfilter het septum van de poort van de Cell Preparation Bag heeft doorgeprikt.

5. Als de slangenset niet helemaal met buffer is gevuld: Is de bufferspike van de slangenset door de bufferzak geprikt? Om dit te corrigeren, raadpleeg "Overmatige hoeveelheid lucht in slangenset na voorspoelen" in paragraaf 8.3.2.

Nadat het probleem is verholpen, gaat u door met de scheidingsprocedure en drukt u op **5**. Als waarschuwingsberichtnr. 1 wederom verschijnt nadat alle mogelijke, hierboven aangegeven oorzaken zijn uitgesloten, kan de vloeistofsensor defect zijn. Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.

Cellen gaan naar het verkeerde deel van de slangenset. Vloeistof lekt voorbij het (de) ventiel(en)

- De slangenset is niet goed aangebracht. Als de instrumentrun wordt uitgevoerd, drukt u op **STOP** en klemt u de lijn af met een slangenklem. Pas de slang aan door eerst de betreffende ventielknop in te drukken. Verwijder de slangenklem en druk op **RUN** om de scheidingsprocedure te hervatten. De celscheidingsprocedure wordt afgebroken als **RUN** niet binnen 600 seconden wordt ingedrukt.
- De ventiel werkt niet goed. Druk op **STOP**. Klem de lijn af met een slangenklem. Druk meerdere malen met de hand op de ventielknop om het vastzittende ventiel los te maken. Verwijder de slangenklem en druk op **RUN** om door te gaan. De celscheidingsprocedure wordt afgebroken als **RUN** niet binnen 600 seconden wordt ingedrukt. Als de gebruiker het ventiel niet kan losmaken, moet contact worden opgenomen met Miltenyi Biotec Technical Support.
- Verkeerde softwareprogramma gebruikt. Controleer op het display de naam van het momenteel gebruikte programma. Breek de run af door op **STOP** te drukken en neem onmiddellijk contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.

Magneet beweegt niet

Magneetaandrijving werkt niet. Er is een storing van de magneetaandrijving opgetreden. Er verschijnt een foutmelding (zie paragraaf 8.3.1). Noteer het nummer van de foutmelding en neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.

Pompmotor komt tot stilstand tijdens celscheiding

De pompslang is niet correct aangebracht zodat de pomp niet kan ronddraaien. In dat geval verschijnt waarschuwingsberichtnr. 2 op het scherm. De operator heeft dan 600 seconden om de positie van de pompslang te corrigeren.



Scherm 8.2: Waarschuwingsberichtnr. 2

1. Verwijder de pompslang voorzichtig van de pomp.
2. Controleer of de pompslang niet is beschadigd door het verkeerd inbrengen. Als de pompslang lekt, moet de slang boven en onder de scheidingskolom worden afgeklemd om de cellen op de kolom te bewaren. Neem vervolgens contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.
3. Als de pompslang niet is beschadigd, dan kan deze opnieuw in de pompbehuizing worden ingebracht.
4. Druk op **RUN** om de scheidingsprocedure binnen 600 seconden opnieuw te starten; anders wordt de scheidingsprocedure afgebroken.

Als de pompslang plat en ingeklapt is, wijst dit op een verstopte kolom. Neem in dat geval contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.

Het laden van het monster stopt niet hoewel de Cell Preparation Bag en het voorfilter leeg zijn

De vloeistofsensor werkt niet goed, bijv. omdat het oppervlak van de slang in de vloeistofsensor nat is. Druk op **STOP** om de scheidingsprocedure te onderbreken. Verwijder de slang van de vloeistofsensor. Droog de slang en het contactvlak met een papieren handdoek of absorberend materiaal. Breng de slang weer aan in de vloeistofsensor en druk op **RUN**. Onderbreek de procedure niet langer dan 600 seconden, anders wordt de celscheidingsprocedure beëindigd.

Als de vloeistofsensor niet op deze manier kan worden geactiveerd, drukt u op **STOP**, dan op **2** . Bevestig met **ENT** dat u het laden van het monster wilt overslaan en wilt doorgaan met de scheidingsprocedure.

8.4.3 Onverwachte gebeurtenissen: Alleen verrijkingsprogramma's

■ De run wordt afgebroken voordat het celscheidingsprogramma is voltooid

- Pompdeur geopend: Om veiligheidsredenen zal de scheidingsprocedure automatisch stoppen als tijdens de instrumentrun de pompdeur wordt geopend. In dat geval verschijnt waarschuwingsberichtnr. 5 op het scherm.

  Sluit de pompdeur en druk op **RUN**.

  Als, zoals in dit geval, **RUN** niet binnen 600 seconden wordt ingedrukt, wordt de scheidingsprocedure afgebroken en wordt de celscheidingsprocedure niet voltooid. Probeer zoveel mogelijk monster in de slangenset terug te winnen door het NOODPROGRAMMA uit te voeren.



Scherm 8.3: Waarschuwingsberichtnr. 5

- Stroomstoring: een stroomstoring leidt tot beëindiging van de CliniMACS Plus-scheidingsprocedure. De celscheiding wordt niet voltooid na herstel van de stroomvoorziening. Probeer zoveel mogelijk monster in de slangenset terug te winnen door het NOODPROGRAMMA uit te voeren.

8.4.4 Onverwachte gebeurtenissen: CD34 SELECTION 1/2

■ Laden gestopt voordat het hele monster op de kolommen is geladen

Het voorfilter is verstopt vanwege een grote hoeveelheid celafval of omdat het filter niet volledig is gevuld. Omdat de pomp bleef pompen, is een vacuüm ontstaan wat heeft geleid tot luchtbellen die de vloeistofsensor hebben geactiveerd. Daarom is de scheidingsprocedure voortgezet met de wassen van de kolom voordat het hele monster kon worden geladen. Het is niet mogelijk om het laden van het monster opnieuw te starten nadat de laadprocedure is gestopt.

Laat het CliniMACS Plus Instrument het scheidingsprogramma voltooien. Breek het lopende programma niet af; dit kan leiden tot onnodig celverlies. Nadat de scheidingsprocedure is voltooid, moet het resterende monster worden gefilterd met een 200 µm bloedlijnfilter en worden overgebracht naar een nieuwe transferzak. Voer onmiddellijk een tweede scheidingsprocedure uit met een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer.

■ Pompslang ingeklapt en/of overmatige hoeveelheid lucht in de slangenset onder de voorkolom tijdens het laden van de cellen

De voorkolom is verstopt vanwege een grote hoeveelheid celafval in de Cell Preparation Bag. Het is noodzakelijk om het handmatig laden van het resterende monster over te slaan en door te gaan met de scheiding van de cellen die al in het systeem zijn geladen.

1. Druk op **STOP** om het laden van cellen te onderbreken. Waarschuwingsberichtnr. 3 verschijnt.
2. Druk op **2** om het laden van cellen over te slaan.

   Waarschuwingsberichtnr. 4 verschijnt, waarna de operator de beslissing kan bevestigen of wijzigen omdat het overslaan van het laden van het monster onomkeerbaar is.
3. Druk op **ENT** en het scheidingsprogramma stopt het laden van het monster en gaat door met het wassen van de kolommen.



Scherm 8.4: Waarschuwingsberichtnr. 3



Scherm 8.5: Waarschuwingsberichtnr. 4

Klem de slang onder het voorfilter af om te voorkomen dat cellen vanuit de Cell Preparation Bag in de slangenset lekken. Nadat de scheidingsprocedure is voltooid, moet het resterende monster worden gefilterd met een 200 µm bloedlijnfilter en worden overgebracht naar een nieuwe transferzak.

Voer onmiddellijk een tweede scheidingsprocedure uit met een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer.

8.4.5 Onverwachte gebeurtenissen: ENRICHMENT 1.1

■ Laden gestopt voordat het hele monster op de kolommen is geladen

Het voorfilter is verstopt vanwege een grote hoeveelheid celafval of omdat het filter niet volledig is gevuld. Omdat de pomp bleef pompen, is een vacuüm ontstaan wat heeft geleid tot luchtbellen. Daardoor is de vloeistofsensor geactiveerd en is de scheidingsprocedure direct doorgegaan naar de eindfase van het laden van het monster. Een deel van het monster kan in de Cell Preparation Bag blijven nadat de scheidingsprocedure is voltooid.

Laat het CliniMACS Plus Instrument het scheidingsprogramma voltooien. Breek het lopende programma niet af; dit kan leiden tot onnodig celverlies.

Bepaal het totaal aantal cellen, het percentage doelcellen en het resterende vullingsvolume van celsuspensie in de Cell Preparation Bag. Voer dan de werkelijke monsterparameters in tijdens het instellen van het instrument (STAP 2), Nadat de scheidingsprocedure is voltooid, moet het resterende monster worden gefilterd met een 200 µm bloedlijnfilter en worden overgebracht naar een nieuwe transferzak. Voer onmiddellijk een tweede scheidingsprocedure uit met een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer.

- Verkeerde monsterparameters ingevoerd

  Het ingevoerde vullingsvolume van celsuspensie was lager dan het werkelijke volume in de aangesloten Cell Preparation Bag. Het is niet mogelijk om het laden van het monster opnieuw te starten nadat dit is gestopt.

  Laat het CliniMACS Plus Instrument het scheidingsprogramma voltooien. Breek het lopende programma niet af; dit kan leiden tot onnodig celverlies.

  Bepaal het totaal aantal cellen, het percentage doelcellen en het resterende vullingsvolume van celsuspensie in de Cell Preparation Bag. Voer dan de werkelijke monsterparameters in tijdens het instellen van het instrument (STAP 2), Verwerk het resterende monster met een nieuwe slangenset, een nieuw voorfilter en voldoende nieuwe buffer.

- Pompmotor komt tot stilstand tijdens elutie van doelcellen in de Cell Collection Bag

  De slangenklem naast de Cell Collection Bag is niet open tijdens de elutie. Daarom is het traject naar de Cell Collection Bag geblokkeerd.

  Druk op **STOP** en open de slangenklem naast de Cell Collection Bag. Open de pompdeur en controleer of de pompslang correct is aangebracht. Sluit de pompdeur en druk op **RUN** om de elutie binnen 600 seconden opnieuw te starten.

8.4.6 Onverwachte gebeurtenissen: ENRICHMENT 3.2

- Laden gestopt voordat het hele monster op de kolommen is geladen

  Het voorfilter is verstopt vanwege een grote hoeveelheid celafval of omdat het filter niet volledig is gevuld. Omdat de pomp bleef pompen, is een vacuüm ontstaan wat heeft geleid tot luchtbellen. Daardoor is de vloeistofsensor geactiveerd en de scheidingsprocedure is doorgegaan met het wassen van de kolommen voordat het hele monster werd geladen. Het is niet mogelijk om het laden van het monster opnieuw te starten nadat de laadprocedure is gestopt.

  Laat het CliniMACS Plus Instrument het scheidingsprogramma voltooien. Breek het lopende programma niet af; dit kan leiden tot onnodig celverlies.

Nadat de scheidingsprocedure is voltooid, moet het resterende monster worden gefilterd met een 200 µm bloedlijnfilter en worden overgebracht naar een nieuwe transferzak. Voer onmiddellijk een tweede scheidingsprocedure uit met een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer.

- Pompmotor komt tot stilstand tijdens elutie van doelcellen in de Cell Collection Bag

  De slangenklem naast de Cell Collection Bag is niet open tijdens de elutie. Daarom is het traject naar de Cell Collection Bag geblokkeerd.

  Druk op **STOP** en open de slangenklem naast de Cell Collection Bag. Open de pompdeur en controleer of de pompslang correct is aangebracht. Sluit de pompdeur en druk op **RUN** om de elutie binnen 600 seconden opnieuw te starten.

8.4.7 Noodprogramma (mag alleen worden gebruikt voor verrijkingsprogramma's)

Als een run om welke reden dan ook onomkeerbaar is beëindigd voorafgaand aan de elutie van de doelcellen uit de scheidingskolom, kan het noodprogramma worden uitgevoerd voor de elutie van de cellen uit de scheidingskolom. Dit programma is uitsluitend ontworpen voor alle verrijkingsprogramma's samen met een CliniMACS Tubing Set (REF 161-01) of een CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01).

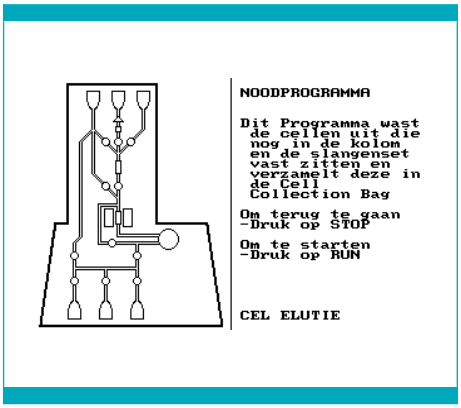
Het noodprogramma mag niet worden gebruikt met depletieprogramma's.

Noot: Het noodprogramma eludeert ongeveer 75 mL vloeistof. Controleer of een geschikte Cell Collection Bag aan de slangenset is bevestigd.

1. Om te controleren of de scheidingskolom niet is gemagnetiseerd, moet u het instrument uitschakelen, 5 seconden wachten en het instrument dan weer inschakelen. De magneet wordt teruggetrokken van de magnetische scheidingseenheid (zie 'Beschrijving' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument). Controleer dit door een klein magnetiseerbaar voorwerp tegen de magnetische scheidingseenheid aan te houden. Neem contact op met Miltenyi Biotec Technical Support als de magneet niet is teruggetrokken of bij een aanhoudende stroomstoring.

2. Wacht totdat het hoofdscherm verschijnt (zie 'Installatie' in de gebruikershandleiding van het CliniMACS Plus Instrument).

   Om het noodprogramma op te roepen, drukt u op **4**. Nu verschijnt het venster Scherm 8.6.



Scherm 8.6: Noodprogramma

3. Om door te gaan met de elutie van de opgesloten cellen, drukt u op **RUN**.

   Noot: Om het noodprogramma te verlaten zonder de elutie van de opgesloten cellen te starten, drukt u op **STOP**.

4. Breng de geëludeerde cellen in de Cell Collection Bag over naar een nieuwe 600 mL transferzak. Combineer uiteindelijk de resterende cellen in de Cell Preparation Bag met de cellen die door het noodprogramma zijn geëludeerd. Start een nieuwe scheidingsprocedure met een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer.

8.4.8 Onverwachte gebeurtenissen: DEPLETION 2.1

■ Doelcellen bereiken de Cell Collection Bag niet

De pomp kan het product niet vanuit de Cell Preparation Bag laden omdat de klem naast de Cell Collection Bag niet open is tijdens het laden van de cellen. Druk op **STOP** en open de klem naast de Cell Collection Bag. Ga door met de depletieprocedure door op **RUN** te drukken.

Laat het CliniMACS Plus Instrument het scheidingsprogramma voltooien. Breek het lopende programma niet af omdat dit kan leiden tot onnodig celverlies. Als een gedeelte van het product in de Cell Preparation Bag blijft zitten nadat de depletieprocedure is voltooid, moet u de resterende cellen verwerken met een nieuwe slangenset, een nieuw voorfilter en voldoende nieuwe buffer.

Bepaal het totaal aantal cellen, het percentage gelabelde cellen en het vullingsvolume van de celsuspensie. Voer dan de werkelijke monsterparameters in tijdens het instellen van het instrument (STAP 2) en start de nieuwe depletie.

■ Laden gestopt voordat het hele monster op de kolommen is geladen

Luchtbellen uit het monster en/of voorfilter hebben de vloeistofsensor geactiveerd voordat het hele monster werd geladen. Breek het lopende programma af en controleer het totaal aantal cellen en de depletie-efficiëntie van de cellen in de Cell Collection Bag. Verwerk indien nodig het resterende monster met een nieuwe slangenset, een nieuw voorfilter en voldoende nieuwe buffer.

Bepaal het totaal aantal cellen, het percentage gelabelde cellen en het vullingsvolume van de celsuspensie. Voer dan de werkelijke monsterparameters in tijdens het instellen van het instrument (STAP 2) en start de nieuwe depletie.

8.4.9 Onverwachte gebeurtenissen: DEPLETION 3.1

Laden gestopt tijdens Staged Cell Loading, voordat het hele monster op de kolommen werd geladen

- Het voorfilter werd omgekeerd ingebracht. Daarom is de druppelkamer-functie niet beschikbaar en kunnen luchtbellen direct de vloeistofsensor bereiken. Daardoor wordt het laden van het monster beëindigd voordat het hele monster is aangebracht. Het instrument zet de depletieprocedure voort door direct met de volgende stap te beginnen. Het is niet mogelijk om het laden van het monster opnieuw te starten nadat dit is gestopt.
- Het voorfilter is verstopt vanwege een grote hoeveelheid celafval of omdat het filter niet volledig is gevuld. Omdat de pomp bleef pompen, is een vacuüm ontstaan wat heeft geleid tot luchtbellen. Daardoor is de vloeistofsensor geactiveerd en is de scheidingsprocedure direct doorgegaan naar de eindfase van het laden van het monster. Een deel van het monster kan in de Cell Preparation Bag blijven nadat de scheidingsprocedure is voltooid.

Breek het lopende programma af en combineer de inhoud van de Reapplication Bag en de Cell Preparation Bag. Verwerk de resterende cellen met een nieuwe slangenset, een nieuw voorfilter en voldoende nieuwe buffer.

Laden gestopt tijdens Sensitive Sample Loading (Sensitive Loading Stage)

De Reapplication Bag hangt lager dan de Cell Preparation Bag. Tijdens de Sensitive Loading Stage loopt de Cell Preparation Bag leeg voordat het volledige volume van de Reapplication Bag is geladen. Het is dan mogelijk dat een luchtbel de vloeistofsensor activeert voordat het hele monster vanuit de Reapplication Bag is geladen, nadat de depletieprocedure is voltooid. Het laden van het monster kan niet opnieuw worden gestart nadat dit is gestopt.

Laat het CliniMACS Plus Instrument het scheidingsprogramma voltooien. Breek het lopende programma niet af omdat dit kan leiden tot onnodig celverlies. Verwerk het resterende monster met een nieuwe slangenset, een nieuw voorfilter en voldoende nieuwe buffer.

Bepaal het totaal aantal cellen, het percentage gelabelde cellen en het vullingsvolume van de celsuspensie. Voer dan de werkelijke monsterparameters in tijdens het instellen van het instrument (STAP 2). Denk aan de vereiste drie grote bevestigingsbeugels voor het programma DEPLETION 3.1 en raadpleeg de instructies voor de juiste ophanghoogte van de zakken (zie paragraaf 7.3.3).

Doelcellen (niet-gelabelde cellen) bereiken de Reapplication Bag niet tijdens Staged Cell Loading Bulk (Loading Stage)

De verkeerde slang is in ventielnr. 3 gestoken (rechter aftakking van de slang van de Reapplication Bag in plaats van de linker aftakking (Y-verbinding) van de slang). Druk op **STOP** en verwijder de verkeerde slang van ventielnr. 3. Steek met de hand de juiste slang (linker aftakking van de slang van de Reapplication Bag) in ventielnr. 3 zoals beschreven in de installatie-instructies. Druk op **RUN** om binnen 600 seconden door te gaan met de depletieprocedure.

Laat het CliniMACS Plus Instrument het scheidingsprogramma voltooien. Breek het lopende programma niet af; dit kan leiden tot onnodig celverlies. Controleer de depletie-efficiëntie van de doelfractie in de Cell Collection Bag. Als de depletie-efficiëntie onvoldoende is, moet de depletieprocedure worden herhaald met een nieuwe slangenset, een nieuw voorfilter en voldoende nieuwe buffer.

Bepaal het totaal aantal cellen, het percentage gelabelde cellen en het vullingsvolume van de celsuspensie. Voer dan de werkelijke monsterparameters in tijdens het instellen van het instrument (STAP 2) en start de nieuwe depletie.

Cellen stromen in bufferzak tijdens gravimetrische spoelstappen

De bufferzak hangt te laag (lager dan de Cell Preparation Bag). Druk op **STOP** en zet de bevestigingsbeugel van de bufferzak in de juiste positie. Controleer of drie grote bevestigingsbeugels zijn geïnstalleerd voor het programma DEPLETION 3.1 en raadpleeg de installatie-instructies voor de juiste zakhoogte (zie paragraaf 7.3.3).

- Als de cellen de bufferzak nog niet hebben bereikt, is het voldoende om ventielnrs. 1 en 2 met de hand te openen zodat de cellen snel naar de Cell Preparation Bag kunnen terugstromen. Is de bufferzakslang weer leeg, dan moet u ventielnrs. 1 en 2 sluiten en op **RUN** drukken om binnen 600 seconden door te gaan met de depletieprocedure.
- Als de cellen de bufferzak wel hebben bereikt, moet u de bufferzak vervangen, ventielnrs. 1 en 2 met de hand openen om de bufferzakslang kort te spoelen en dan op **RUN** drukken om binnen 600 seconden door te gaan met de depletieprocedure. Verwerk indien nodig het resterende monster in de bufferzak met een nieuwe slangenset, een nieuw voorfilter en voldoende nieuwe buffer (als het volume meer is dan 300 mL, moet het monster eerst in een centrifugeerbare zak voor volumevermindering worden overgebracht).

Pompmotor komt tot stilstand tijdens eerste elutie van gelabelde cellen in de Non-Target Cell Bag

- Na de integriteitstest is de slangenklem niet verwijderd. Druk op **STOP** en verwijder de slangenklem. Open de pompdeur en controleer of de pompslang correct is aangebracht. Sluit de pompdeur en druk op **RUN** om de elutie binnen 600 seconden opnieuw te starten.
- De verkeerde slang is in ventielnr. 3 gestoken (slang van de Non-Target Cell Bag in plaats van de linker aftakking (Y-verbinding) van de slang van de Reapplication Bag). Druk op **STOP** en verwijder de slang van de Non-Target Cell Bag van ventielnr. 3. Steek met de hand de juiste slang (linker aftakking van de slang van de Reapplication Bag) in ventielnr. 3 zoals beschreven in de installatie-instructies. Druk op **RUN** om de elutie binnen 600 seconden opnieuw te starten.

8.5 Celscheidingsprestatie

8.5.1 Onverwachte gebeurtenissen: Alleen verrijkingsprogramma's

Lage opbrengst van doelcellen

- De doelcellen werden slecht gelabeld met het reagens.
  - De uiterste gebruiksdatum van het reagens is verstreken. Controleer de uiterste gebruiksdatum. Gebruik geen reagens na de uiterste gebruiksdatum.
  - Het reagens werd niet goed opgeslagen. Controleer de opslaagtemperatuur. Gebruik geen reagens dat niet goed is opgeslagen (raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het reagens).
  - De aanbevolen labelingsprocedure werd niet opgevolgd. Raadpleeg de paragrafen in de gebruikershandleiding over de preparatie- en scheidingsprocedures.
- Tijdens de preparatiestappen gingen cellen verloren.
  - Cellen werden verwijderd met het supernatant in de Plasma Waste Bag en Wash Waste Bags vanwege onvolledige sedimentatie of te vroege resuspensie van de cellen, bijv. omdat de zak uit de centrifuge werd verwijderd. Vergelijk de leukocyteninhoud van het niet-gelabelde celproduct met die van het gelabelde celproduct. Controleer of de centrifuge goed is ingesteld. Bepaal het aantal cellen van alle afvalzakken.
  - Buffer bevatte geen HSA. Vul de buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume), (zie paragraaf 'Vereiste CliniMACS-materialen' van de betreffende toepassing).
  - De centrifuge-instellingen waren niet optimaal. Controleer de centrifuge-instellingen.
  - Centrifuge niet goed uitgebalanceerd, remmen werden gebruikt of asymmetrische belasting van de centrifuge.
- Analyse was onjuist.
  - Er is een bemonsteringsfout opgetreden. Controleer de celsuspensie op klonterige of neergeslagen cellen. Controleer of representatieve monsters zijn genomen en herhaal de analyse.
  - Er is een kleuringsfout opgetreden. Controleer de flowcytometriereagentia. Herhaal de kleuring.
  - De flowcytometer is verkeerd ingesteld. Controleer de instrumentinstellingen.

Lage zuiverheid van doelcellen

- Het celproduct werd niet goed opgeslagen. De preparatie en scheiding van het celproduct moeten onmiddellijk na de leukaferese plaatsvinden. Bewaar het celproduct bij een leukocytenconcentratie van minder dan $0{,}2\times10^9$ per mL. Verdun het celproduct, indien nodig, met autoloog plasma. Het celproduct mag niet ouder zijn dan 24 uur aan het begin van de labelings- en scheidingsprocedure. Als het celproduct moet worden opgeslagen, bijv. 's nachts, moet het worden bewaard bij een gecontroleerde kamertemperatuur (+19°C tot +25 °C [+66°F tot +77°F]).
- De magnetische labelingsprotocol is niet opgevolgd (bijv. onjuiste volumes tijdens magnetische labeling). Volg de instructies voor de magnetische labeling (zie STAP 1 in het gedeelte van de betreffende toepassing). Om problemen op te lossen, moet u de subsets van leukocyten bepalen (B-cellen, T-cellen, monocyten, granulocyten en bloedplaatjes) die contaminatie van de doelcelfractie hebben veroorzaakt. Neem vervolgens contact op met Miltenyi Biotec Technical Support.
- Hoge aantallen granulocyten hebben het beginproduct gecontamineerd (suboptimale aferese-instelling). Afstervende granulocyten zorgen dan voor een niet-specifieke binding van het CliniMACS-reagens, waardoor de zuiverheid van de doelcellen kan worden verminderd.
- Er is een ventielstoring opgetreden. De geëludeerde doelcelfractie is gecontamineerd door een deel van de niet-doelcelfractie of de bufferafvalfractie. Controleer de positie van de slangen in de ventielen om te zien of ze goed werken. Beoordeel de doelcelinhoud van de niet-doelcelfractie en het bufferafval. Combineer indien nodig de doel- en niet-doelcelfractie, verminder het geschikte volume en herhaal de scheidingsprocedure met een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer.

Niet-specifieke retentie van dode cellen van celproduct of hoge niet-specifieke celverliezen gedurende de gehele procedure

- Buffer bevat geen HSA. Vul de buffer aan met HSA tot een uiteindelijke concentratie van 0,5% (gewicht/volume), (zie paragraaf 'Vereiste CliniMACS-materialen' van de betreffende toepassing).
- Het celproduct is mogelijk niet goed opgeslagen. De preparatie en scheiding van het celproduct moeten onmiddellijk na de leukaferese plaatsvinden. Bewaar het celproduct bij een leukocytenconcentratie van minder dan $0{,}2\times10^9$ per mL. Verdun het leukafereseproduct, indien nodig, met autoloog plasma. Het celproduct mag niet ouder zijn dan 24 uur aan het begin van de labelings- en scheidingsprocedure. Als het celproduct moet worden opgeslagen, bijv. 's nachts, moet het worden bewaard bij een gecontroleerde kamertemperatuur (+19°C tot +25 °C [+66°F tot +77°F]).
- Onvolledig laden van het monster door verstopping van de scheidingskolom, het voorfilter of de voorkolom. Controleer het totaal aantal cellen en de depletie-efficiëntie van de resterende cellen.

8.5.2 Onverwachte gebeurtenissen: CD34 SELECTION 1/2, ENRICHMENT 1.1

Lage zuiverheid van doelcellen

De elutie in de scheidingskolom was onvolledig.

- Het scheidingsprogramma werd afgebroken. Controleer het scherm op een foutmelding. Ga door met "De run wordt afgebroken voordat het celscheidingsprogramma is voltooid" (zie paragraaf 8.4.3 op pagina 215).
- Pomp- of ventielstoring. Win cellen terug uit de slangenset na afloop van het noodprogramma zoals beschreven in paragraaf 8.4.7. Controleer het volume van alle fracties. Beoordeel de doelcelinhoud van de Buffer Waste Bag en Negative Fraction Bag.
- Slang naar Cell Collection Bag is geblokkeerd. Controleer de slangenset op gesloten klemmen, verstoppingen of knikken.
- De capaciteit van het reagens en/of de slangenset werd overschreden. Raadpleeg de maximumcapaciteit van de betreffende toepassing.
- De slang is niet goed aangebracht. Controleer bij alle ventielen of de slangen goed zijn geplaatst.

8.5.3 Onverwachte gebeurtenissen: CD34 SELECTION 1/2

Lage zuiverheid van doelcellen

Niet-doelcellen bleven achter.

- Slechte mobilisatie van de doelcellen. Het aantal doelcellen was zeer laag. Daarom kan een laag aantal comtaminerende niet-doelcellen (bijv. granulocyten, monocyten, bloedplaatjes) tot een verminderde zuiverheid leiden.
- Onvoldoende plasma of immunoglobulines aanwezig tijdens magnetische labeling. Volg de instructies voor de magnetische labeling (zie STAP 1 van de betreffende toepassing).

  Als een uiteindelijke concentratie van ongeveer 30% autoloog plasma in het monster tijdens magnetische labeling niet kan worden gegarandeerd, moet immunoglobuline aan het monster worden toegevoegd. Een uiteindelijke concentratie van 1,5 mg/mL wordt aanbevolen voor de efficiënte blokkering van niet-specifieke reagensbinding tijdens magnetische labeling.

8.5.4 Onverwachte gebeurtenissen: ENRICHMENT 1.1

- Lage rendement van doelcellen

  Verkeerde monsterparameters ingevoerd. Vergelijk de ingevoerde parameters met de analyseresultaten.

8.5.5 Onverwachte gebeurtenissen: DEPLETION 2.1 en DEPLETION 3.1

- Lage depletie-efficiëntie

  Als de depletie-efficiëntie onvoldoende is, moet het resterende monster worden verwerkt met een nieuwe slangenset en voldoende nieuwe buffer. Overweeg een nieuwe labeling van de cellen die gedepleteerd moeten worden. Bepaal het totaal aantal cellen en het percentage cellen die moeten worden gedepleteerd. Voer dan de werkelijke monsterparameters in tijdens het instellen van het instrument (STAP 2). Als klonten zichtbaar zijn, kan het verstandig zijn om de cellen vóór een nieuwe run te filteren. Denk eraan dat cellen verloren kunnen gaan vanwege klonteren en aanvullende filtratie.

  - De capaciteit van het reagens en/of de slangenset werd overschreden. Raadpleeg de maximumcapaciteit van de betreffende toepassing.
  - Onjuiste bepaling van cellen die door het reagens moeten worden gelabeld.
  - Verkeerde monsterparameters ingevoerd. Vergelijk de ingevoerde parameters met de analyseresultaten.
  - Verminderde levensvatbaarheid van de cellen. Dode cellen kunnen niet-specifiek binden aan de scheidingskolom, waardoor de labelingscapaciteit van de kolom vermindert en de depletie-efficiëntie mogelijk lager wordt. Zorg voor een kwalitatief beter celproduct en verwerk een zo vers mogelijk product. Langer dan 24 uur bewaarde producten mogen niet worden gebruikt. Als opslag noodzakelijk is, moet het product worden bewaard bij een gecontroleerde kamertemperatuur (+19°C tot +25 °C [+66°F tot +77°F]). De celconcentratie mag niet hoger zijn dan $0{,}2\times10^{9}$/mL. Verdun het celproduct indien nodig met autoloog plasma om de optimale celconcentratie te bereiken.

9 Wettelijke vermeldingen

9.5.1 Beperkte garantie

Afgezien van de uitspraken in een specifieke garantieverklaring die mogelijk bij uw product is meegeleverd of tenzij anderszins schriftelijk overeengekomen met een daartoe aangewezen, gemachtigde vertegenwoordiger van Miltenyi Biotec, geldt de garantie van Miltenyi Biotec op producten die direct zijn aangeschaft bij Miltenyi Biotec op grond van de algemene voorwaarden voor de verkoop waaronder het product aan u ter beschikking is gesteld door de desbetreffende verkooporganisatie van Miltenyi Biotec. De toepasselijke algemene voorwaarden kunnen per land en regio verschillen. Deze algemene voorwaarden kunnen op verzoek worden toegestuurd of zijn in te zien op www.miltenyibiotec.com. Niets wat hierin vermeld staat moet worden gezien als een extra garantie.

Op producten die zijn aangeschaft via derden, zoals detailhandelaren of wederverkopers (bijv. aanschaf via een goedgekeurde plaatselijke Miltenyi Biotec service provider) kunnen afwijkende algemene voorwaarden van toepassing zijn.

Raadpleeg uw pakbon, factuur, kwitantie, recept of andere verkoopdocumentatie om te bepalen welke garantie er geldt voor het product dat u ontvangen heeft. Sommige componenten van een door u aangeschafte productcombinatie hebben mogelijk een kortere garantie dan op uw pakbon, factuur, kwitantie of andere verkoopdocumentatie vermeld staat (bijv. producten met een houdbaarheidsdatum of componenten die verouderd zijn).

De garantie van Miltenyi Biotec voor dit product geldt alleen voor productkwesties die betrekking hebben op materiaaldefecten of fabricagefouten tijdens normaal gebruik. Hij geldt niet voor productkwesties als gevolg van andere redenen, waaronder, maar niet beperkt tot productkwesties door het gebruik van het product op een andere manier dan specifiek omschreven staat in deze gebruikershandleiding, bijvoorbeeld: onoordeelkundig of verkeerd gebruik; onjuiste montage of installatie door een operator of derde; normaal gebruik en slijtage; nalatige of verkeerde bediening, hantering, opslag, reparaties of onderhoud; niet opvolgen van de bedieningsinstructies; ongeoorloofde aanpassingen van of aan een van de onderdelen van dit product; of het gebruik van onjuiste verbruiksmaterialen, toebehoren of werkmaterialen.

De garantie van Miltenyi Biotec geldt niet voor producten die zijn verkocht 'IN DE HUIDIGE STAAT' of 'MET ALLE GEBREKEN' of voor verbruiksmaterialen. Niets wat hierin vermeld staat moet worden gezien als een extra garantie.

Neem onmiddelijk contact op met Miltenyi Biotec als er een beroep wordt gedaan op een dergelijke garantie. Als er materiaalfouten of fabricagefouten optreden binnen de garantieperiode, neemt Miltenyi Biotec de juiste stappen om het instrument weer volledig bruikbaar te maken.

Beperking ten aanzien van schade. Miltenyi Biotec kan niet aansprakelijk worden gesteld voor incidentele of gevolgschade die terug te voeren is op inbreuk op expliciete of impliciete garanties of uitspraken ten aanzien van de toestand van dit product.

In sommige landen/(deel)staten is het wettelijk niet toegestaan om incidentele of gevolgschade uit te sluiten of te beperken, dus mogelijk gelden de bovenstaande beperkingen niet voor u. Deze garantieverklaring geeft u specifieke wettelijke rechten en u heeft daarnaast mogelijk nog andere rechten, die per land en per rechtssysteem verschillen.

9.5.2 Handelsmerken

CliniMACS, MACS, MACSmix, het Miltenyi Biotec-logo en MiniMACS zijn geregistreerde handelsmerken of handelsmerken van Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG en/of diens filialen in verschillende landen wereldwijd. Alle andere handelsmerken die in dit document worden genoemd, zijn eigendom van hun respectievelijke eigenaren en worden alleen gebruikt voor identificatiedoeleinden.

Miltenyi Biotec

Duitsland/Oostenrijk
Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Straße 68
51429 Bergisch Gladbach
Duitsland
+49 2204 8306-0
+49 2204 85197
macsde@miltenyi.com

VS/Canada
Miltenyi Biotec Inc.
2303 Lindbergh Street
Auburn, CA 95602
VS
800 FOR MACS
+1 530 888 8871
+1 877 591 1060
macsus@miltenyi.com

Australië
Miltenyi Biotec
Australia Pty. Ltd.
Unit 11, 2 Eden Park Drive
Macquarie Park NSW 2113
Australië
+61 2 8877 7400
+61 2 9889 5044
macsau@miltenyi.com

Benelux
Miltenyi Biotec B.V.
Dellaertweg 9C
2316 WZ Leiden
Nederland
macsnl@miltenyi.com
Klantenservice Nederland
0800 4020120
0800 4020100
Klantenservice België
0800 94016
0800 99626
Klantenservice Luxemburg
800 24971
800 24984

China
Miltenyi Biotec Technology &
Trading (Shanghai) Co., Ltd.
Room A401, 4/F
No. 1077, Zhangheng Road
Pudong New Area
201203 Shanghai
P.R. China
+86 21 6235 1005
+86 21 6235 0953
macscn@miltenyi.com.cn

Frankrijk
Miltenyi Biotec SAS
10 rue Mercoeur
75011 Paris
Frankrijk
+33 1 56 98 16 16
macsfr@miltenyi.com

Hong Kong
Miltenyi Biotec Hong Kong Ltd.
Unit 301, Lakeside 1
No. 8 Science Park West Avenue
Hong Kong Science Park
Pak Shek Kok, New Territories
Hong Kong
+852 3751 6698
+852 3619 5772
macshk@miltenyi.com.hk

Italië
Miltenyi Biotec S.r.l.
Via Paolo Nanni Costa, 30
40133 Bologna
Italië
+39 051 6 460 411
+39 051 6 460 499
macsit@miltenyi.com

Japan
Miltenyi Biotec K.K.
NEX-Eitai Building 5F
16-10 Fuyuki, Koto-ku,
Tokyo 135-0041
Japan
+81 3 5646 8910
+81 3 5646 8911
macsjp@miltenyi.com

Scandinavië en Baltische staten
Miltenyi Biotec Norden AB
Medicon Village
Scheeletorget 1
223 81 Lund
Zweden
macsse@miltenyi.com
Klantenservice Zweden
0200 111 800
+46 280 72 99
Klantenservice Denemarken
80 20 30 10
+46 46 280 72 99
Klantenservice
Noorwegen, Finland, IJsland,
en Baltische staten
+46 46 280 72 80
+46 46 280 72 99

Singapore
Miltenyi Biotec Asia Pacific Pte Ltd
438B Alexandra Road, Block B
Alexandra Technopark
#06-01
Singapore 119968
+65 6238 8183
+65 6238 0302
macssg@miltenyi.com

Spanje
Miltenyi Biotec S.L.
C/Luis Buñuel 2
Ciudad de la Imagen
28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid)
Spanje
+34 91 512 12 90
+34 91 512 12 91
macses@miltenyi.com

Verenigd Koninkrijk
Miltenyi Biotec Ltd.
Almac House, Church Lane
Bisley, Surrey GU24 9DR
Verenigd Koninkrijk
+44 1483 799 800
+44 1483 799 811
macsuk@miltenyi.com

Zuid-Korea
Miltenyi Biotec Korea Co., Ltd.
Donggeuk 7F
562 Nonhyeon-ro
Gangnam-gu
Seoul 06136
Zuid-Korea
+82 2 555 1988
+82 2 555 8890
macskr@miltenyi.com

Zwitserland
Miltenyi Biotec Swiss AG
Gibelinstrasse 27
4500 Solothurn
Zwitserland
+41 32 623 08 47
+49 2204 85197
macsch@miltenyi.com

www.miltenyibiotec.com

Miltenyi Biotec levert producten en diensten over de hele wereld. Ga naar **www.miltenyibiotec.com/local** voor uw dichtstbijzijnde contactadres voor Miltenyi Biotec.

CliniMACS, MACS, MACSmix, het Miltenyi Biotec-logo en MiniMACS zijn geregistreerde handelsmerken of handelsmerken van Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG en/of diens filialen in verschillende landen wereldwijd. Copyright © 2023 Miltenyi Biotec en/of diens filialen. Alle rechten voorbehouden.

210-003-244/01 | Stand: 2023-02