Miltenyi Biotec

CliniMACS® Plus -sovellukset

Käyttäjän opas



CliniMACS-järjestelmän komponenttien, mukaan lukien reagenssit, letkusarjat, laitteet ja PBS/EDTA-puskurit, suunnittelussa, valmistuksessa ja testauksessa on noudatettu ISO 13485 -standardin mukaisesti sertifioitua laatujärjestelmää. EU-maissa CliniMACS-järjestelmän komponentit ovat saatavilla CE-merkittyinä lääkinnällisinä laitteina niiden asianmukaiseen käyttötarkoitukseen, ellei muuta mainita. Yhdysvalloissa CliniMACS CD34 Reagent -järjestelmän, mukaan lukien CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD34 Reagent, CliniMACS Tubing Set TS ja CliniMACS Tubing Set LS sekä CliniMACS PBS/EDTA Buffer, ovat FDA:n ihmiskäyttöön hyväksymiä laitteita (Humanitarian Use Device, HUD) ja liittovaltion lain mukaan hyväksyttyjä akuuttia myelooista leukemiaa (AML) sairastavien potilaiden hoitoon täydellisessä ensimmäisessä remissiossa. Laitteen tehoa tässä käyttöaiheessa ei ole osoitettu. Muita CliniMACS-tuotelinjan tuotteita voidaan käyttää vain hyväksyttyä tutkittavaa lääkettä (IND) koskevaan sovellukseen tai tutkimuslaitteita koskevan poikkeuksen tai FDA:n hyväksynnän nojalla. Seuraavat CliniMACS Plus -järjestelmän komponentit on hyväksytty Australiassa lääkevalmisteiden rekisteriin (ARTG, Australian Register of Therapeutic Goods), minkä nojalla niiden käyttö on sallittua: CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD34 Reagent, CliniMACS Tubing Set, CliniMACS Tubing Set LS, CliniMACS Depletion Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer. Vain ARTG-rekisteriin hyväksyttyjä tuotteita saa käyttää Australiassa.

Ellei muuta ole erikseen mainittu, Miltenyi Biotecin tuotteet ja palvelut on tarkoitettu ainoastaan tutkimuskäyttöön, ei terapeuttiseen tai diagnostiseen käyttöön.

Copyright © 2023 Miltenyi Biotec ja/tai sen osakkuusyhtiöt. Kaikki oikeudet pidätetään.

Tätä julkaisua eikä mitään sen osia saa kopioida tai säilyttää tiedonhakujärjestelmissä, eikä niitä saa siirtää, julkaista tai jakaa missään muodossa tai millään välineillä, elektronisesti, mekaanisesti, valokopioimalla, mikrofilmaamalla, nauhoittamalla tai millään muulla tavalla, ilman Miltenyi Biotecin etukäteen myöntämää kirjallista lupaa. Sen estämättä, mitä edellä kuvataan, CliniMACS Plus -järjestelmän omistajat voivat ottaa kopioita yksinomaan henkilökunnan koulutustarkoituksiin, käytettäväksi omassa yrityksessään tai organisaatiossaan.

CliniMACS, MACS, MACSmix, Miltenyi Biotec -logo ja MiniMACS ovat rekisteröityjä tuotemerkkejä tai Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG:n ja/tai sen osakkuusyhtiöiden tuotemerkkejä eri maissa ympäri maailmaa. Kaikki tässä asiakirjassa mainitut tavaramerkit ovat omistajiensa omaisuutta, ja niitä käytetään ainoastaan tunnistamistarkoituksissa.

CliniMACS® Plus -sovellukset

Käyttäjän opas

Ohjelmistoversio 2.4x

Myönnetty: 2023-05
210-003-232/01

MD CE 0123

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

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

www.miltenyibiotec.com

Tärkeitä tietoja

Tässä käyttäjän oppaassa on tärkeitä tietoja CliniMACS Plus -sovelluksista. CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän opas sisältää ohjeita, varoituksia, varotoimia ja muuta tärkeää tietoa CliniMACS Plus Instrument -laitteesta.

⚠ VAROITUS

Vain koulutetut ammattilaiset saavat käyttää CliniMACS Plus -järjestelmää. Varmista, että olet lukenut ja ymmärtänyt CliniMACS Plus -järjestelmän käyttöohjeiden sisältämät CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttöön liittyvät turvallisuustiedot, varoitukset, varotoimet ja ohjeet (mukaan lukien mm. CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan turvallisuustiedot ja tämän käyttäjän oppaan luvussa 3 ”Varoitukset ja varotoimet” sivulla 27 ”Tärkeitä turvallisuustietoja” kuvatut tiedot) sekä Miltenyi Biotecin myöntämät turvallisuuteen liittyvät suositukset ennen kuin käytät järjestelmää. Kiinnitä erityistä huomiota kaikkiin laitteen näyttämiin sekä kulutustarvikkeissa, lisävarusteissa ja muissa materiaaleissa oleviin varoituksiin. Käyttäjän on noudatettava kaikkia turvallisuustietoja, varoituksia, varotoimia ja ohjeita aina, kun laitetta käytetään, ja varmistettava, että kaikki turvallisuustiedot, varoitukset, varotoimet ja ohjeet on huomioitu. Mikäli käyttöohjeen sisältämiä turvallisuustietoja, varoituksia, varotoimia ja ohjeita ei noudateta, seurauksena voi olla laitteen toimintahäiriö, omaisuusvahinko, kohdesolujen menettäminen, henkilövahinko ja/tai kuolema.

Sisällysluettelo

1	**Johdanto**	**11**
1.1	Perustietoa	11
1.2	Solujen leimaus CliniMACS-reagensseilla	12
1.3	Solujen vahvamagneettinen erottelu	13
1.4	Erottelumenetelmät	13
1.4.1	Rikastamismenetelmät	14
1.4.2	Delpeetiomenetelmät	15
2	**Sanasto**	**19**
2.1	Graafinen kuvaus	19
2.2	Symbolien selitykset	19
2.3	Sanasto	20
3	**Varoitukset ja varotoimet**	**27**
3.1	Prosesseihin liittyen	27
3.2	CliniMACS-reagenssit ja -biotiinikonjugaatit	28
3.3	Biovaarallisen materiaalin käsittely	29
3.4	Solujen aloitusnäyte	30
4	**CliniMACS Plus -järjestelmä**	**31**
4.1	CliniMACS Plus Instrument	31
4.2	CliniMACS-reagenssit ja -biotiinikonjugaatit	31
4.3	CliniMACS-letkusarjat	31
4.4	CliniMACS PBS/EDTA Buffer	31
4.5	CliniMACS-lisävarusteet	32
4.6	Vaadittavat lisämateriaalit	32
4.7	Vaadittavat laitteet	33
5	**Yleiskatsaus sovelluksista**	**35**
5.1	Neljä VAIHETTA kohdesoluihin	35
5.2	Yleistaulukko	37

6	**Sovelluskohtainen yleiskatsaus VAIHEISTA 1–4**	**41**
6.1	CD34-positiivisten solujen rikastaminen	41
6.1.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	41
6.1.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	43
6.1.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	44
6.1.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	44
6.2	CD14-positiivisten solujen rikastaminen	44
6.2.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	44
6.2.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	47
6.2.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	47
6.2.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	48
6.3	Rikastus/depleetio CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssilla	48
6.3.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	48
6.3.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	52
6.3.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	52
6.3.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	53
6.4	CD56-positiivisten solujen rikastaminen	53
6.4.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	53
6.4.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	56
6.4.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	56
6.4.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	56
6.5	CD3-positiivisten solujen depleetio	57
6.5.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	57
6.5.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	61
6.5.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	61
6.5.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	61
6.6	CD19-positiivisten solujen depleetio	62
6.6.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	62
6.6.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	64
6.6.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	64
6.6.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	64

6.7	CD3- ja CD19-positiivisten solujen depleetio	65
6.7.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	65
6.7.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	68
6.7.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	68
6.7.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	68
6.8	CD8-positiivisten solujen rikastus/depleetio	69
6.8.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	69
6.8.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	72
6.8.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	72
6.8.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	73
6.9	CD25-positiivisten solujen rikastus/depleetio	73
6.9.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	73
6.9.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	78
6.9.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	78
6.9.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	78
6.10	CD4-positiivisten solujen rikastus/depleetio	79
6.10.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	79
6.10.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	83
6.10.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	83
6.10.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	83
6.11	CD4- ja CD8-positiivisten solujen depleetio	83
6.11.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	83
6.11.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	87
6.11.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	87
6.11.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	87
6.12	CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen rikastus – Osa 1: CD19-positiivisten solujen depleetio ja CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen leimaus	87
6.12.1	VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus	87
6.12.2	VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen	90
6.12.3	VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen	90
6.12.4	VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen	90

6.13 CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen rikastus – Osa 2: Flexible Labeling System 90
6.13.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus 91
6.13.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen 92
6.13.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen 92
6.13.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen 93
6.14 CD304-positiivisten (BDCA-4) solujen rikastus 93
6.14.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus 93
6.14.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen 96
6.14.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen 96
6.14.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen 96
6.15 TCRα/β-positiivisten solujen depleetio 96
6.15.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus 96
6.15.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen 99
6.15.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen 99
6.15.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen 100
6.16 CD45RA-positiivisten solujen depleetio 100
6.16.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus 100
6.16.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen 103
6.16.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen 103
6.16.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen 103
6.17 Ihmisen IFN-gammaa erittävien solujen rikastaminen CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) -järjestelmässä 103
6.17.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus 104
6.17.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen 116
6.17.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen 116
6.17.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen 116

7 VAIHEIDEN 1–4 yksityiskohtainen kuvaus 117

7.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus 117
7.1.1 Ensimmäiset toimenpiteet 117
7.1.2 Solujen magneettileimaus 118
7.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen 130
7.2.1 Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle 130
7.2.2 CD34 SELECTION 1/2 130

7.2.3 ENRICHMENT 1.1 132
7.2.4 ENRICHMENT 3.2 137
7.2.5 DEPLETION 2.1 139
7.2.6 DEPLETION 3.1 144
7.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen 149
7.3.1 CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat 149
7.3.2 CliniMACS-letkusarjojen vaihtoehtoinen asentaminen 164
7.3.3 CliniMACS Depletion Tubing Set 169
7.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen 183
7.4.1 CD34 SELECTION 1/2 183
7.4.2 ENRICHMENT 1.1 187
7.4.3 ENRICHMENT 3.2 191
7.4.4 DEPLETION 2.1 195
7.4.5 DEPLETION 3.1 199

8 Vianmääritys 203

8.1 Miltenyi Biotec Technical Support 203
8.2 Leukafereesituotteen valmisteleminen 203
8.3 CliniMACS Plus Instrument ja CliniMACS-letkusarjat 204
8.3.1 Virheilmoitukset 204
8.3.2 Letkusarjan lataaminen ja alustaminen 204
8.4 Automaattinen solujen erottelu 205
8.4.1 Varoitusviestit 205
8.4.2 Odottamattomat tapahtumat. Kaikki erotteluohjelmat 206
8.4.3 Odottamattomat tapahtumat: Vain rikastusohjelmat 208
8.4.4 Odottamattomat tapahtumat: CD34 SELECTION 1/2 208
8.4.5 Odottamattomat tapahtumat: ENRICHMENT 1.1 209
8.4.6 Odottamattomat tapahtumat: ENRICHMENT 3.2 210
8.4.7 Hätäohjelma (voidaan käyttää vain rikastusohjelmien kanssa) 211
8.4.8 Odottamattomat tapahtumat: DEPLETION 2.1 212
8.4.9 Odottamattomat tapahtumat: DEPLETION 3.1 213
8.5 Solujen erottelun suorituskyky 215
8.5.1 Odottamattomat tapahtumat: Vain rikastusohjelmat 215
8.5.2 Odottamattomat tapahtumat: CD34 SELECTION 1/2 ja ENRICHMENT 1.1 217

8.5.3 Odottamattomat tapahtumat: CD34 SELECTION 1/2 217
8.5.4 Odottamattomat tapahtumat: ENRICHMENT 1.1 218
8.5.5 Odottamattomat tapahtumat: DEPLETION 2.1 ja DEPLETION 3.1 218

9 Oikeudelliset huomautukset 219
9.1 Rajattu takuu 219
9.2 Tuotemerkit 220

1 Johdanto

1.1 Perustietoa

CliniMACS Plus -järjestelmä tarjoaa työkaluja korkealaatuiseen ja standardoituun solujen erotteluun erilaisia terapeuttisia sovelluksia varten.

CliniMACS Plus -järjestelmä perustuu Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG:n kehittämään magneettiseen solujen erottamisteknologiaan (MACS®-teknologia). Miltenyi Biotec tuo nämä tuotteet eurooppalaisten säätelystandardien vaatimukset täyttävien sovellusten käyttöön.

CliniMACS-reagenssit ja -biotiinikonjugaatit on tarkoitettu ainoastaan *in vitro* -käyttöön, ei terapeuttiseen käyttöön eikä infusoitavaksi suoraan potilaisiin.

CliniMACS-reagenssit on tarkoitettu ihmissolujen erotteluun yhdessä CliniMACS Plus -järjestelmän kanssa.

CliniMACS Plus -järjestelmän valmistajana Miltenyi Biotec ei anna terapeuttisiin tarkoituksiin erotettujen solujen käyttöä koskevia suosituksia eikä tee kliinisiä hyötyjä koskevia väitteitä.

Kohdesolujen valmistamisessa ja käytössä ihmisille on noudatettava kansallisia lakeja ja määräyksiä – esim. EU-direktiiviä 2004/23/EY (ihmiskudokset ja -solut) tai direktiiviä 2002/98/EY (ihmisveri ja veren komponentit). Näin ollen kohdesolujen kaikki kliiniset sovellukset ovat yksinomaan CliniMACS Plus -järjestelmän käyttäjän vastuulla.

RAJATTU TAKUU
Jos CliniMACS Plus -järjestelmää käytetään muilla kuin tässä käyttöohjeessa nimenomaisesti kuvatuilla tavoilla, kaikki takuut raukeavat.

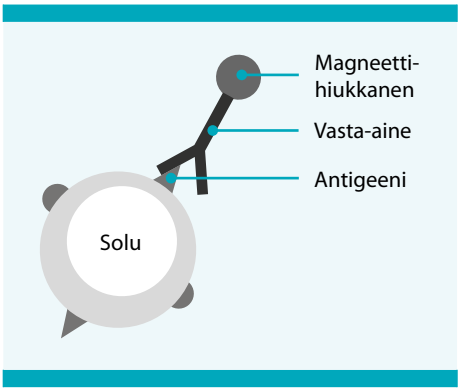
TÄRKEÄÄ
CliniMACS Plus -järjestelmää tai sen komponentteja ei saa käyttää Euroopan talousalueen ulkopuolella, elleivät kyseisen maan sääntelyviranomaiset ole hyväksyneet CliniMACS Plus -järjestelmää tai CliniMACS-komponentteja.

1.2 Solujen leimaus CliniMACS-reagensseilla

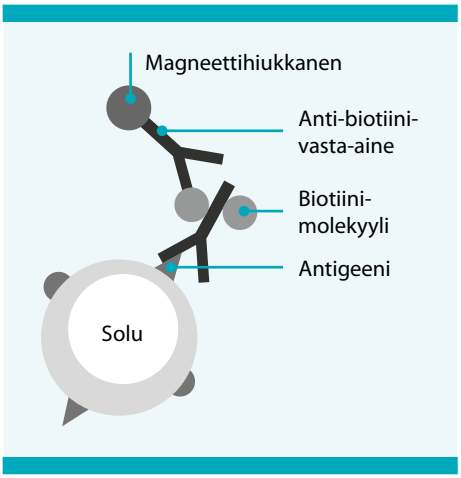
MACS Magnetic Cell Sorting on tunnettu ja tehokas työkalu monien eri solutyyppien erotteluun niin tutkimuslaboratorioissa kuin monissa kliinisissä sovelluksissakin. Soluseokset leimataan immunomagneettisesti spesifisti halutun solutyypin mukaan ja erotellaan magneettikentässä, esim. ihmisen CD34-positiiviset hematopoieettiset esisolut heterogeenisestä solupopulaatiosta.

CliniMACS Plus -järjestelmässä solut voidaan magneettileimata kolmella eri tavalla:

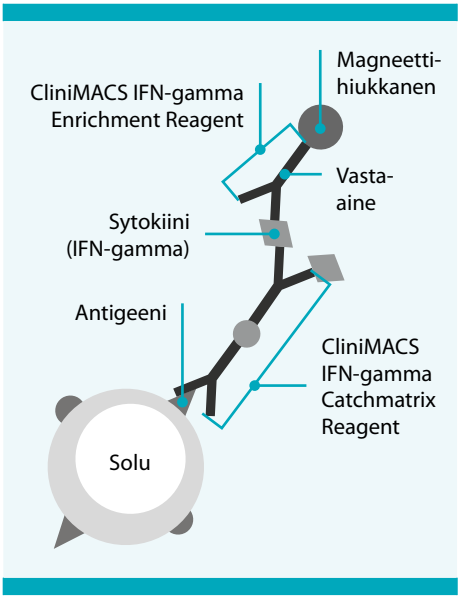
- Suoraan yksisuuntaisessa leimaustoimenpiteessä superparamagneettisiin rautadekstraanihelmiin konjugoitujen antigeenispesifien vasta-aineiden avulla (katso Kuva 1.1).
- Epäsuoraan kaksivaiheisessa leimaustoimenpiteessä, jota kutsutaan nimellä Flexible Labeling System. Ensimmäisessä vaiheessa solut leimataan biotiiniin konjugoidulla antigeenispesifillä vasta-aineella. Seuraavassa vaiheessa nämä vasta-aineet leimataan superparamagneettisiin rautadekstraanihelmiin konjugoiduilla biotiinispesifeillä vasta-aineilla (katso Kuva 1.2).
- Epäsuoraan kaksivaiheisessa leimaustoimenpiteessä, jota kutsutaan nimellä CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma). Ensin soluja stimuloidaan *in vitro* erittämään sytokiiniä (esim. IFN-gamma). Ensimmäisessä leimaamisvaiheessa uudelleenstimuloidut solut leimataan CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent -hybridimolekyylillä, joka koostuu leukosyyttispesifistä vasta-aineesta ja sytokiinispesifistä vasta-aineesta. Tämän jälkeen solut inkuboidaan erittämään sytokiiniä, joka "pidätetään" solukalvolla olevassa matriisissa (catchmatrix). Seuraavassa leimaamisvaiheessa sytokiiniä erittävät solut leimataan superparamagneettisiin rautadekstraanihelmiin konjugoidulla sytokiinispesifillä vasta-aineella (CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent), (katso Kuva 1.3).



Kuva 1.1: Solujen magneettileimaus



Kuva 1.2: Flexible Labeling System



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

1.3 Solujen vahvamagneettinen erottelu

Magneettileimattu solususpensio syötetään letkusarjalla varustettuun CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen. Tämä vahvamagneettinen solujen erotteluyksikkö koostuu pysyvästä ja voimakkaasta magneetista, joka on suunniteltu solujen erotteluun, sekä erottelupylväästä, jossa on ferromagneettinen matriisi.

Suuren gradientin kentässä voidaan käyttää voimakasta magneettia ja poistaa magneettisuus nopeasti. Kun pienet ferromagneettiset rakenteet, kuten pylvään matriisi, asetetaan magneettikenttään, kentän homogeenisuus tuhoutuu. Tämä johtaa suurten magneettigradienttien syntymiseen. Ferromagneettisten rakenteiden välittömässä läheisyydessä syntyvät magneettivoimat ovat 10 000 kertaa tavanomaisissa rakenteissa syntyviä voimakkaampia. Suuren gradientin kenttä vetää leimattuja soluja matriisiin ja pitää ne siellä tehokkaasti. Kun pylväs poistetaan magneetista, pylväsmatriisin magneettisuuden nopea poistuminen mahdollistaa pidätettyjen solujen vapautumisen.

1.4 Erottelumenetelmät

CliniMACS Plus -järjestelmä tarjoaa käyttäjille useita erilaisia erotteluohjelmia. Erottelutavat voidaan jakaa yleisesti ottaen rikastamiseen (CD34 SELECTION 1 ja 2, ENRICHMENT 1.1 sekä ENRICHMENT 3.2) ja depleetioon (DEPLETION 2.1 ja DEPLETION 3.1) perustuviin.

Magneettileimattujen solujen rikastaminen

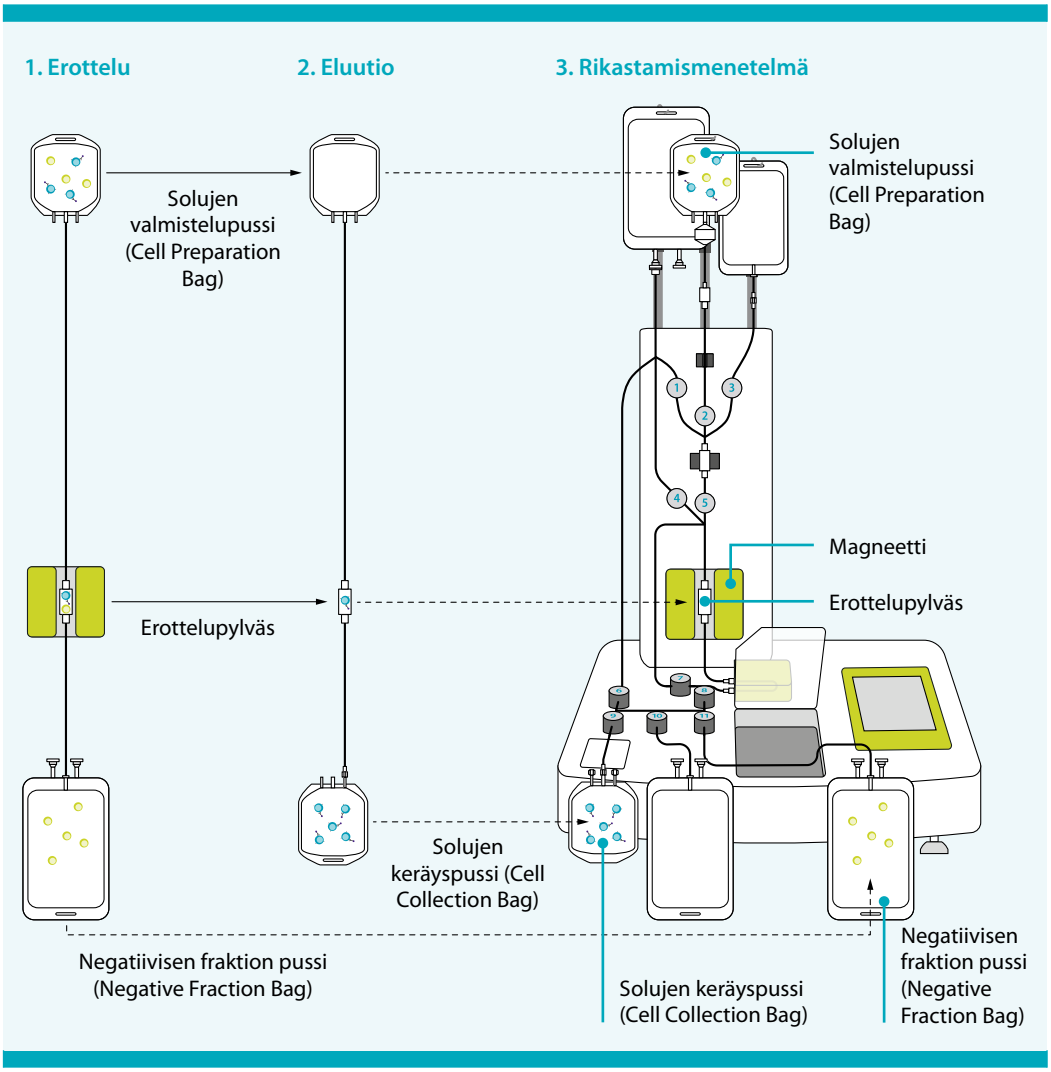
Rikastamisessa magneettileimatut solut (leimattu CliniMACS-reagenssilla) pysyvät erottelupylväässä, kun taas leimaamattomat solut kulkevat sen läpi. Leimatut solut (kohdesolut) kerätään solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) ja leimaamattomat solut (muut kuin kohdesolut) negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag) (katso Kuva 1.4).

Magneettileimattujen solujen depleetio

MACS-teknologia on erittäin tehokas spesifien solupopulaatioiden depleetiossa. Solut, joita ei tarvita, leimataan superparamagneettisesti ja erotellaan kohdesoluista, kun ne kulkevat suuren gradientin magneettisessa pylväässä. Toisin kuin rikastuksen yhteydessä, leimaamattomat solut (kohdesolut) kerätään solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) ja leimatut solut (muut kuin kohdesolut) kerätään negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag) (katso Kuva 1.5) tai muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag) (katso Kuva 1.6 ja Kuva 1.7).

1.4.1 Rikastamismenetelmät

Solujen rikastaminen CliniMACS Tubing Set- tai CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan avulla



Kuva 1.4: Rikastusohjelmat CliniMACS Tubing Set- tai CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan avulla

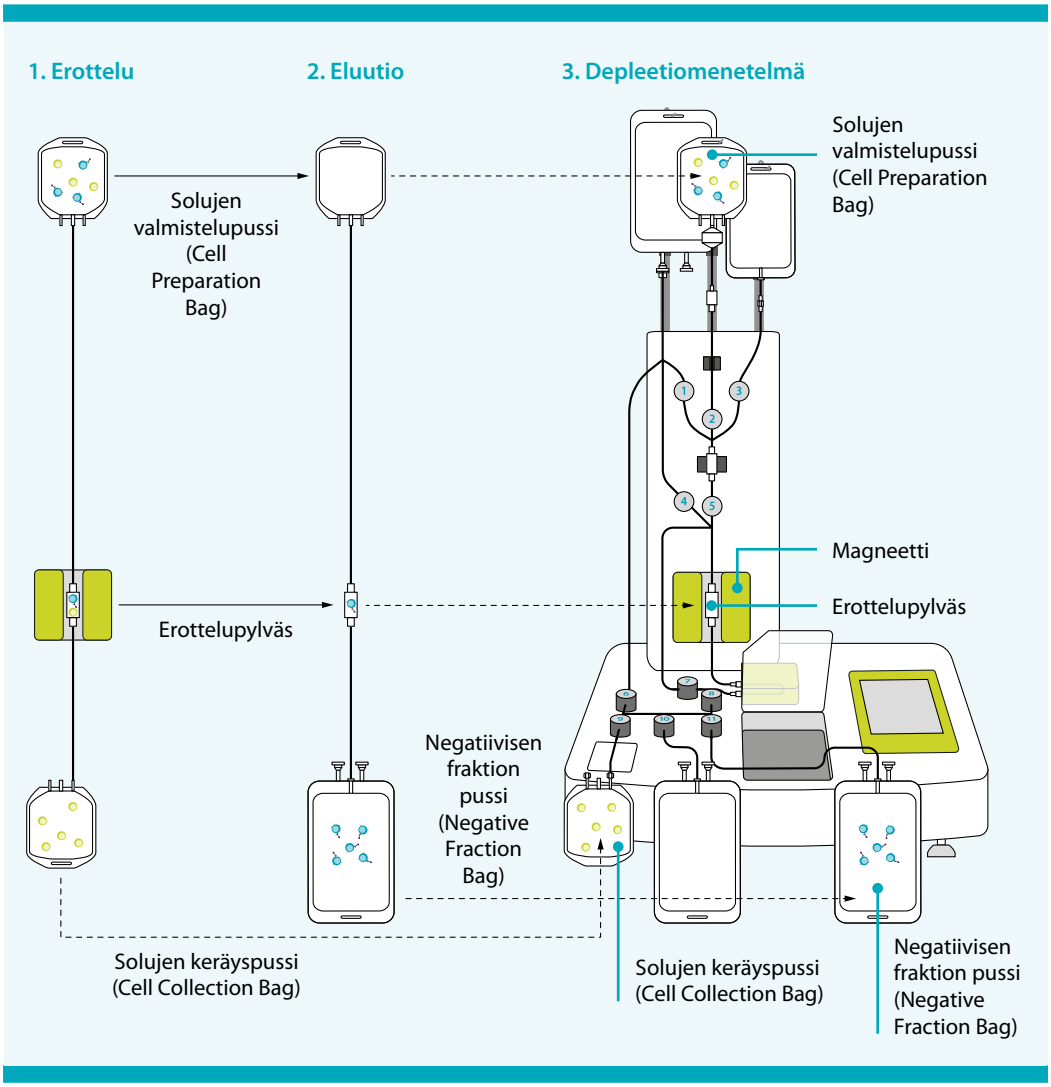
1. Magneetti on ”ON”-asennossa. Magneettileimattuja soluja pidetään erottelupylväässä, kun taas leimaamattomat solut (muut kuin kohdesolut) virtaavat pylvään läpi ja päätyvät negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag).

2. Magneetti on ”OFF”-asennossa. Magneettileimatut solut (kohdesolut) vapautetaan erottelupylväästä, jolloin ne siirtyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

3. Rikastusohjelmassa magneettileimattuja soluja pidetään erottelupylväässä, kun taas leimaamattomat solut (muut kuin kohdesolut) virtaavat pylvään läpi ja päätyvät negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag). Kun magneetti siirretään ”OFF”-asentoon, magneettileimatut solut (kohdesolut) vapautuvat pylväästä ja päätyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag). **Huomautus:** Kohdesolufraktio kerätään aina solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

1.4.2 Delpeetiomenetelmät

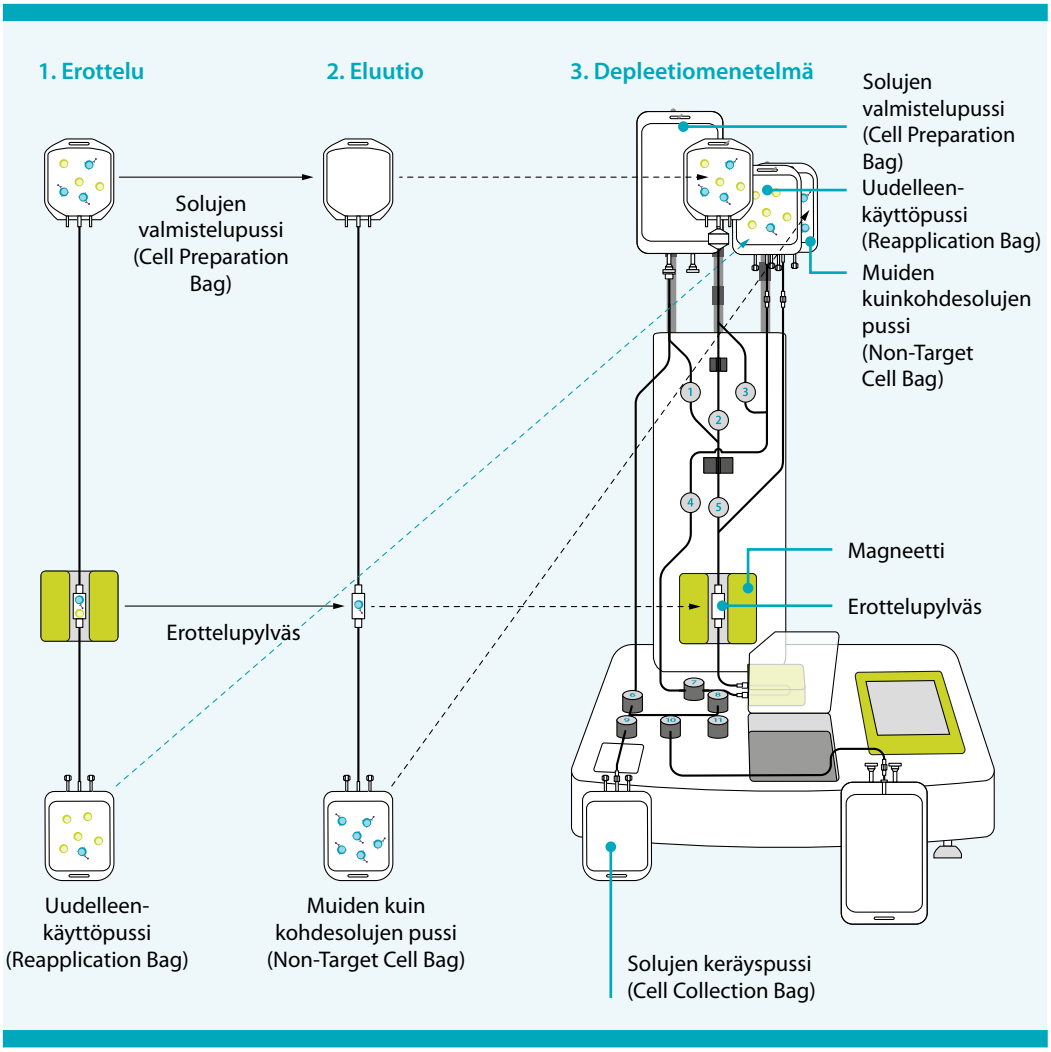
Solujen depleetio CliniMACS Tubing Set LS -letkujärjestelmän avulla: DEPLETION 2.1



Kuva 1.5: Depleetiomenetelmä DEPLETION 2.1 -ohjelmalla ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjalla

1. Magneetti on "ON"-asennossa. Magneettileimattuja soluja pidetään erottelupylväässä, kun taas leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat pylvään läpi ja päätyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).
2. Magneetti on "OFF"-asennossa. Magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) vapautetaan erottelupylväästä, jolloin ne siirtyvät negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag).
3. Depleetio-ohjelmassa (DEPLETION 2.1) magneettileimattuja soluja pidetään erottelupylväässä, kun taas leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat läpi ja päätyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag). Kun magneetti siirretään "OFF"-asentoon, magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) vapautuvat pylväästä ja päätyvät negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag). **Huomautus:** Kohdesolufraktio kerätään aina solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

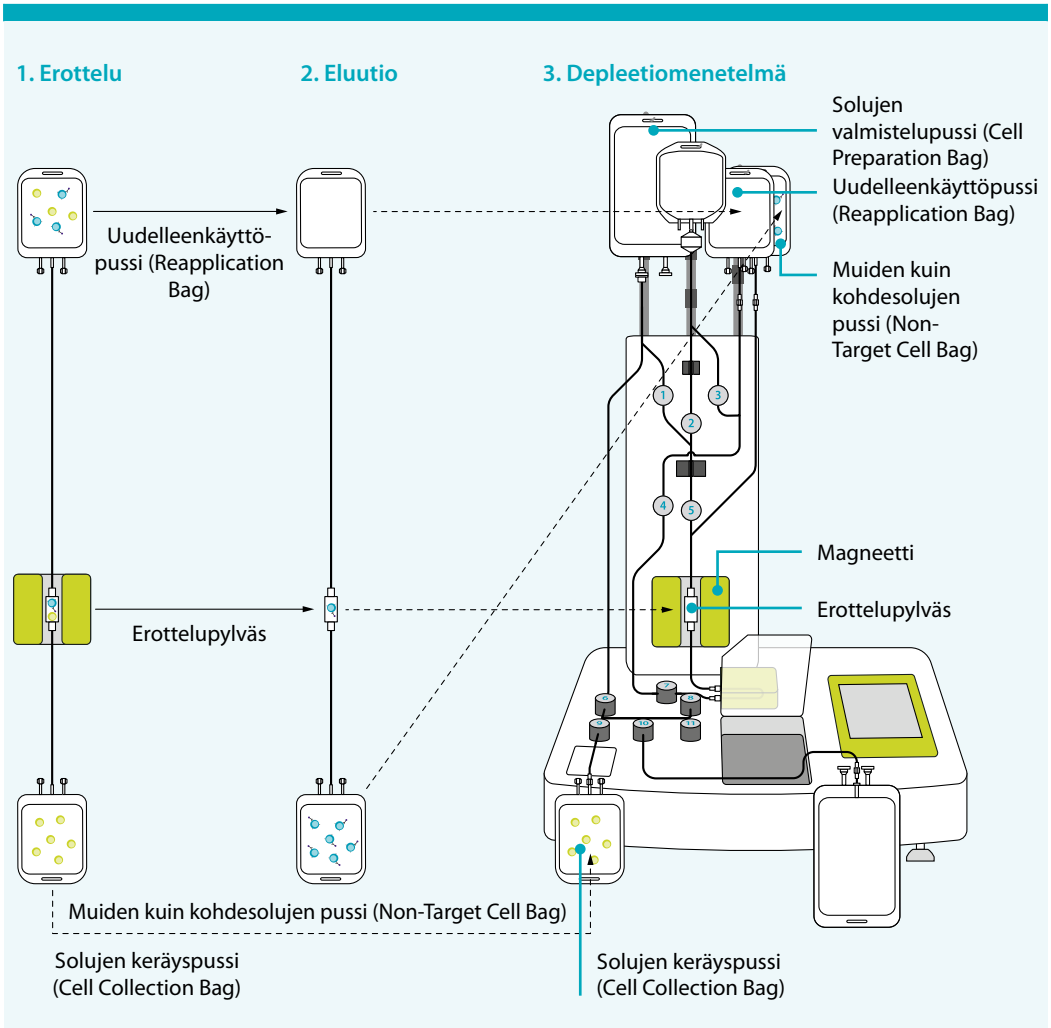
Solujen depleetio CliniMACS Depletion Tubing Set -letkujärjestelmän avulla: DEPLETION 3.1 (Osa 1: Staged Cell Loading [Bulk Loading Stage])



Kuva 1.6: Depleetiomenetelmä DEPLETION 3.1 -ohjelmalla ja CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjalla (Osa 1)

1. Staged Cell Loading (Bulk Loading Stage): Magneetti on ”ON”-asennossa. Magneettileimattuja soluja pidetään erottelupylväässä, kun taas leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat läpi ja päätyvät uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag).
2. Magneetti on ”OFF”-asennossa. Magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) vapautetaan erottelupylväästä, jolloin ne siirtyvät muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag).
3. Depleetio-ohjelmassa (DEPLETION 3.1) magneettileimatut solut vapautetaan erottelupylvääseen, leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat pylvään läpi ja päätyvät uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag), josta ne voidaan siirtää takaisin erottelupylvääseen toista sensitiivistä depleetiota varten (katso Kuva 1.7). Kun magneetti siirretään ”OFF”-asentoon, magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) vapautuvat pylväästä ja päätyvät muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag).

Solujen depleetio CliniMACS Depletion Tubing Set -letkujärjestelmän avulla: DEPLETION 3.1 (Osa 2: Sensitive Sample Loading [Sensitive Loading Stage])



Kuva 1.7: Depleetiomenetelmä DEPLETION 3.2 -ohjelmalla ja CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjalla (Osa 1)

4. Sensitive Sample Loading (Sensitive Loading Stage): Magneetti on "ON"-asennossa. Uudelleenkäyttöpussissa (Reapplication Bag) olevat solut siirretään takaisin erottelupylvääseen. Viimeisiä jäljelle jääneitä magneettileimattuja soluja pidetään erottelupylväässä, kun taas leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat pylvään läpi ja päätyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

5. Magneetti on "OFF"-asennossa. Magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) vapautetaan erottelupylväästä, jolloin ne siirtyvät muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag).

6. Erottelun päätyttyä leimatut solut (muut kuin kohdesolut) ovat muiden kuin kohdesolujen pussissa (Non-Target Cell Bag) ja leimaamattomat solut (kohdesolut) ovat solujen keräyspussissa (Cell Collection Bag). **Huomautus:** Kohdesolufraktio kerätään aina solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

2 Sanasto

2.1 Graafinen kuvaus

Seuraavassa esitetään kuvakkeet, joita käytetään tässä käyttäjän oppaassa ilmaisemaan käyttäjälle mahdollisesti koituvasta riskistä, mikäli varoituksia ja varotoimia ei huomioida. Vaarat on luokiteltu eri tasoille seuraavasti. Vaaran taso, tyyppi, lähde ja mahdolliset seuraukset sekä vaaraa koskevat kiellot ja esitetyt toimenpiteet on kuvattu alla. Vasemmalla puolella olevat kuvakkeet antavat tarkewmpaa tietoa riskistä.

⚠ VAROITUS

Merkitsee vaaratilannetta, joka voi toteutuessaan johtaa kuolemaan tai vakavaan vammaan

⚠ HUOMIO

Merkitsee vaaratilannetta, joka voi toteutuessaan johtaa lievään tai kohtalaiseen vammaan

HUOMAUTUS

Merkitsee tärkeäksi luokiteltua tietoa, joka ei kuitenkaan liity vaaroihin (esim. omaisuusvahinkoihin liittyvät viestit)

TÄRKEÄÄ

Antaa käyttäjälle tärkeitä toimintaohjeita tai tietoja, jotka eivät liity henkilö- tai omaisuusvahinkoihin

2.2 Symbolien selitykset

CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän opas sisältää yleiskatsauksen CliniMACS Plus -järjestelmässä käytettävistä symboleista. Symbolien selityksissä kuvataan käyttäjän oppaiden ja CliniMACS-tuotteiden merkintöjen sisältämät symbolit.

2.3 Sanasto

Afereesi	Verinäytteen ottamismenetelmä, jossa kokoverinäytteestä erotellaan haluttu osa, ja muut veren osat palautetaan luovuttajalle
Alustaminen (Priming)	Solujen erottamista edeltävä vaihe, jossa letkusarjaan huuhdellaan puskuria
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	Pussi, johon alustusvaiheen puskuri kerätään
Anti-biotiini-vasta-aine	Vasta-aine tunnistaa solut, jotka on leimattu soveltuvalla biotinyloidulla vasta-aineella tai ligandilla.
BDCA	Veren dendriittisolujen antigeeni
CD14-antigeeni	CD14-antigeeni on 53–55 kD:n solukalvon glykoproteiini, jota monosyytit ilmentävät. CD14-antigeeni tunnetaan LPS-kompleksin ja LPS:ää sitovan proteiinin reseptorina.
CD19-antigeeni	CD19-antigeeni on tärkeä signaalitransduktion molekyyli, joka säätelee B-lymfosyyttien kehitystä, aktivoitumista ja erilaistumista. CD19 on B-solulinjan markkeri, joka ilmentyy varhaisista pro-B-soluvaiheista B-solujen lymfoblastivaiheeseen asti, mutta B-solujen kypsyminen plasmasoluiksi vaimentaa niiden ilmentymistä. Lisäksi valtaosa pahanlaatuisista B-soluista ja follikulaaristen dendriittisolujen alaryhmä ilmentävät CD19-antigeeniä.
CD1c (BDCA-1) -antigeeni	CD1c kuuluu CD1-geeniklusteriin, jonka uskotaan liittyvän MHC-geeneihin. CD1-geeniklusteri sijaitsee ihmisen 1q23.1-kromosomin 170 000 bp -alueella. Näiden geenien koodaamat proteiinit (CD1a-e) ilmentyvät heterodimeereinä, jotka koostuvat ei-kovalenttisesti ß2-mikroglobuliiniin sitoutuneesta raskasketjuisesta CD1:stä. CD1c on osallisena mikrobiaalisten glykolipidi- tai lipopeptidiantigeenien tarjoamisesta T-lymfosyyteille. Ihmisen perifeerisessä veressä CD1c (BDCA-1) ilmentyy myeloidisissa tyypin 1 dendriittisoluissa (MDC1) ja B-lymfosyyttien alaryhmässä. Niitä esiintyy imusolmukkeissa, manttelivyöhykkeessä ja itukeskuksissa, pernan marginaalissa sekä sikiön ja aikuisen ihmisen perifeerisessä veressä.

CD25-antigeeni	CD25-antigeeni, matalan affiniteetin interleukiini-2-reseptorin alfaketju (IL-2Rα), ilmentyy aktivoiduissa T- ja B-soluissa, NK-soluissa ja monosyyteissä sekä regulatorisissa CD4-positiivisissa T-soluissa. CD25-antigeeni sisältää kolme epitooppia: A, B ja C. CliniMACS CD25 Reagent -reagenssin vasta-aine tunnistaa CD25-molekyylin A-epitoopin.
CD3-antigeeni	CD3-antigeenia on ihmisen kypsissä T-soluissa, tymosyyteissä ja NK-solujen alaryhmässä. Se liittyy T-solureseptoriin (TCR) ja vastaa TCR:n signaalitransduktiosta. CD3-antigeeni on viidestä muuttumattomasta ketjusta (γ, δ, ε, ζ ja η) koostuva kompleksi. CD3-vasta-aine tunnistaa kaikki T-solut, eli se reagoi 70–80 prosenttiin ihmisen perifeerisen veren lymfosyyteistä ja 65–85 prosenttiin tymosyyteistä. Vasta-aineen tunnistama epitooppi sijaitsee CD3-kompleksin ε-ketjussa.
CD304 (BDCA-4) -antigeeni	CD304-antigeeni (BDCA-4) on 130–140 kDa:n pintaglykoproteiini, jota ilmentävät ainoastaan tuoreen veren ja luuytimen plasmasytoidiset dendriittisolut.
CD34-antigeeni	CD34-antigeeni on voimakkaasti glykosyloitunut 115 kDa:n tyypin 1 integraalinen kalvoproteiini, jonka funktiota ei tunneta. Sen ilmentyy 1–4 %:ssa normaaleja luuydinsoluja ja alle 0,2 %:ssa normaaleja perifeerisen veren leukosyyttejä, luuytimen stroomasolujen alaryhmässä, ja erilaisten kudosten pienten verisuonten endoteelissä.
CD4-antigeeni	CD4-antigeeni ilmentyy valtaosassa tymosyyttejä ja noin kahdessa kolmesta perifeerisen veren T-solusta; lisäksi se ilmentyy monosyyteissä ja makrofageissa. CD4 on molekyyli, jota tarvitaan vieraiden antigeenien tunnistamisessa yhdessä MHC-luokan II kanssa. Lisäksi CD4 on HIV-1:n reseptori.
CD45RA-antigeeni	CD45RA-antigeeni ilmentyy naiiveissa CD4- ja CD8-positiivisissa T-soluissa sekä B-solujen alaryhmässä, NK-soluissa ja monosyyteissä. Se on yleisen CD45-leukosyyttiantigeenin, transmembraaniproteiini tyrosiinifosfataasin, isoformi.
CD56-antigeeni	CD56-antigeeni kuuluu NCAM-ryhmään (Neural Cell Adhesion Molecule), joka ilmentyy hematopoeettisen järjestelmän NK- ja NKT-soluissa.
CD8-antigeeni	CD8-antigeeni on disulfidi-dimeeri, joka esiintyy joko CD8-homodimeerinä tai CD8/β-heterodimeerinä. CD8 ilmentyy voimakkaasti CD8-positiivisissa T-soluissa ja tymosyyteissä sekä NK-solujen alaryhmässä ja CD8-positiivisissa γ/δ T-soluissa. CD8 toimii MHC-luokan I rajoitettujen T-solureseptorien kanssa koreseptorina antigeenien tunnistamisessa.

CliniMACS Anti-Biotin Reagent	Magneettileimaukseen käytettävä reagenssi soluille, jotka on aiemmin leimattu biotinyloiduilla vasta-aineilla tai ligandeilla.
CliniMACS CD14 Reagent	Reagenssi CD14-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD19 Reagent	Reagenssi CD19-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD1c Biotin (BDCA-1)	CD1c (BDCA-1) -antigeenia ilmentävien ihmissolujen leimaamiseen tarkoitettu biotinyloitu vasta-aine ennen magneettileimausta CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssilla.
CliniMACS CD25 Reagent	Reagenssi CD25-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD3 Reagent	Reagenssi CD3-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent	Reagenssi CD304 (BDCA-4) -antigeeniä ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD34 Reagent	Reagenssi CD34-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD4 Reagent	Reagenssi CD4-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD45RA Reagent	Reagenssi CD45RA-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD56 Reagent	Reagenssi CD56-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS CD8 Reagent	Reagenssi CD8-antigeenia ilmentävien solujen magneettileimaukseen
CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma)	Yhdistelmä seuraavia reagensseja: CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent ja CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent. CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) -järjestelmän avulla interferoni gammaa erittävät solut voidaan rikastaa *in vitro* -uudelleenstimuloinnin jälkeen.
CliniMACS Depletion Tubing Set	Letkuista, liittimistä, pylväistä ja pusseista koostuva tarvikesarja, joissa käsitellään magneettileimattua solususpensiota ja suoritetaan magneettinen solujen erottelu; suunniteltu erityisesti depleetioon liittyvät erityistarpeet huomioiden

CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent	CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) -järjestelmän osa, jota käytetään CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent -reagenssiin sitoutuneiden IFN-gammaa erittävien solujen IFN-gamman leimaamiseen
CliniMACS IFN-gamma, Catchmatrix Reagent	CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) -järjestelmän komponentti, jota käytetään leukosyyttien pinnan leimaamiseen IFN-gamma-spesifeillä vasta-aineilla
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	CliniMACS Plus -järjestelmässä solujen valmisteluun ja erottamiseen käytettävä puskuri: PBS (fosfaattipuskuroitu suolaliuos), johon on lisätty 1 mM EDTA-liuosta, pH 7,2. Ennen käyttöä CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin on lisättävä farmaseuttista ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus, esim. 5 g ihmisseerumialbumiinia per litra puskuria).
CliniMACS Plus Instrument	MACS-teknologiaan perustuva magneettinen solujen erottelulaite
CliniMACS TCRα/β-Biotin	TCRα/β-antigeeniä ilmentävien ihmissolujen leimaamiseen tarkoitettu biotinyloitu vasta-aine, jota käytetään ennen CliniMACS Anti-Biotin -reagenssilla tehtävää magneettileimausta
CliniMACS Tubing Set CliniMACS Tubing Set LS	Letkuista, liittimistä, pylväistä ja pusseista koostuva tarvikesarja, jolla käsitellään magneettileimattua solususpensiota ja suoritetaan magneettinen solujen erottelu
EDTA	Etyleenidiamiinitetraetikkahappo
Erotteluohjelma	Ohjelmisto, joka on tarkoitettu solupopulaatiossa olevan magneettisesti leimatun osapopulaation rikastamiseen tai depleetioon. Valitaan erotteluohjelmien valikosta, halutusta erottelusta riippuen.
Erottelupylväs	Pylväs, jossa magneettileimatut solut erotellaan altistamalla ne magneettikentälle
Erottelupylvään pidike	Magneettiyksikön muotoillut pidikkeet, jotka pitävät erottelupylvään paikallaan
Erottelureagenssi	Solujen magneettileimaukseen käytettävä reagenssi, esim. CliniMACS CD34 Reagent
Esipylväs	CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjojen ensimmäinen pylväs, joka toimii pylvään matsiisissa epäspesifisti reagoivien solujen suodattimena

Esipylvään pidike	CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen asennettu pidike, joka pitää esipylvään paikallaan
HSA	Ihmisen seerumin albumiini
Hematopoeettiset kantasolut	Imukudos- ja luuydin- sekä erytroidisen linjan kantasolut
IgG	Immunoglobuliini G
Ihmisen seerumin albumiini	Lääketieteellistä ihmisseerumialbumiinia, joka on hyväksytty käyttäjän maassa, lisätään CliniMACS Plus -järjestelmässä käytettävään puskuriin.
Kuumasaumain	PVC-letkujen steriiliin saumaukseen käytettävä lämpölaite
Leimaus	Solujen reaktio magneettileimaukseen käytettävään reagenssiin, esim. CliniMACS CD34 Reagent CD34-positiivisiin soluihin
Leukafereesi	Afereesi, jossa kerätään leukosyyttejä
Luer-liitin	Ruuviliitos, letkusarjan osa
Luer/Spike Interconnector	Siirtosarja, jossa on neula (piikki) ja ruiskuadapteri (naaras-luer) plasman tai muiden nesteiden siirtämistä varten
MDC	Myeloidiset dendriittisolut
Magneettivasta-aine	Superparamagneettileimattu vasta-aine
Monoklonaaliset vasta-aineet	Tiettyyn epitooppiin (antigeeni, antigeenideterminantti) kohdistettu vasta-ainetyyppi, jota B-solujen yksittäinen klooni tai yksittäinen lymfosyytin ja myeloomasolun fuusiossa muodostuva hybridoomalinja tuottaa. Jotkut myeloomasolut syntetoivat luonnollisesti yksittäisiä vasta-aineita.
Muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag)	CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjan pussi, joka sisältää muiden kuin kohdesolujen fraktiota
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	CliniMACS Tubing Set ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan pussi, joka sisältää muiden kuin kohdesolujen fraktiota
Nesteanturi	CliniMACS Plus Instrument -laitteen komponentti, joka tunnistaa letkuissa olevan nesteen
Näyteliitin	Injektioportti esim. näytteiden poistamiseksi tai CliniMACS-reagenssien lisäämiseksi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

Orbital-ravistelija	Solujen sekoittamiseen CliniMACS-reagenssien käytön aikana käytettävä laite
PBMC	Perifeerisen veren mononukleaariset solut
Peristalttinen pumppu	CliniMACS Plus Instrument -laitteen letkuston pumppu nesteen virtausnopeuden hallintaan letkusarjan sisällä
Pesujätepussi (Wash Waste Bag)	Keräyspussi pesun supernatantille, joka saadaan erottelemalla sedimentoitunut solususpensio sentrifugivaiheiden jälkeen näytteen valmistelun aikana
Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag)	Jätepussi ylimääräisen plasman keräämistä varten ennen leimaustoimenpidettä
Plasmanerottelija	Laite, jonka avulla poistetaan nestettä solujen valmistelupussista (Cell Preparation Bag) solujen pesun jälkeen
Plasmansiirtosarja	Siirtosarja, johon kuuluu kaksi neulaa (piikkiä) plasmaa tai nesteitä vasten
Pre-System Filter	Solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) ja esipylvään välillä sijaitseva 40 µm:n suodatin paakkujen ja soludebriksen erottamiseksi
Pumpun turvakatkaisin	Anturi, joka estää pumpun toiminnan, jos pumpun ovi on auki
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	Jätepussi puskurin keräystä varten CliniMACS Plus Instrument -laitteella tehtävän solujen erottelun aikana
Pussilokero	CliniMACS Plus Instrument -laitteen lokero, jossa sijaitsevat negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)
Pussin ripustin	CliniMACS Plus Instrument -laitteen päällä sijaitseva tuki, johon voidaan kiinnittää solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag), muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag), alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag), uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag) ja puskuripussi
Pussin sisäinen toimenpide	Siirtopussin sisällä tapahtuva steriili solujen käsittely ja siirto.
Pylvään pidikkeen valinta	Katso erottelupylvään pidike.
Pylvään valinta	Katso erottelupylväs.
Siirtopussi	Pussi, jonka päädyssä on letku ja piikki.

Solujen aloitusnäyte	Soluja sisältävä tuote, jota käytetään CliniMACS Plus Separation -prosessin aloitusmateriaalina, esim. leukafereesi, PBMC-solut tai luuydin
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	Pussi, johon puhdistetut kohdesolut kerätään erottelun jälkeen
T-kappale (liitin)	T-kirjaimen muotoinen liitin letkusarjan kohdassa, jossa kolme letkua yhdistyvät
TCRα/β-antigeeni	TCRα/β on T-solureseptorin heterodimeeri, joka koostuu kahdesta transmembraaniglykoproteiiniketjusta (α ja β). Molemmat ketjut kuuluvat Ig-suurryhmään ja koostuvat pysyvästä osasta ja polymorfisesta vaihtelevasta osasta. TCRα/β:n vaihteleva osa on osallisena MHC-kompleksin antigeenejä esittelevien solujen esittelemien antigeenipeptidien tunnistamisessa. Suurin osa perifeerisen veren T-soluista ilmentää TCRα/β-antigeenia.
Tukirengas	Letkusarjan osa, joka varmistaa, että pumpun letkut pysyvät oikeilla paikoillaan
Uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag)	CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjan pussi, johon leimaamattomat solut kerätään väliaikaisesti erottelun aikana. Uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) sisältämät leimaamattomat solut lisätään erottelupylvääseen kahdesti kohdesolujen puhtauden varmistamiseksi.
Valintapuskuri	Katso CliniMACS PBS/EDTA Buffer.
WBC	Valkosolut
rpm	Kierrosta minuutissa (revolutions per minute)
×g	Moninkertaistaa maan vetovoiman putoamiskiihtyvyyden
Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag)	Pussi, johon solutuote siirretään ja jossa magneettileimaus ja solujen peseminen tapahtuvat

3 Varoitukset ja varotoimet

Tässä luvussa kerrotaan CliniMACS Plus -järjestelmän käyttöön liittyvistä mahdollisista riskeistä. Paikallisia työpisteen turvaohjeita, käytäntöjä sekä hyvien tuotantotapojen, terveyden, turvallisuuden ja onnettomuuksien ehkäisyn mukaisia standardeja on aina noudatettava. Katso kunkin komponentin käyttöohjeiden soveltuvista kohdista lisätietoja varoituksista ja varotoimenpiteistä, biovaarallisten materiaalien ja solujen aloitusnäytteiden käsittelystä sekä CliniMACS Plus -järjestelmän komponenteista. CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän opas sisältää yksityiskohtaista tietoa CliniMACS Plus Instrument -laitteen käytöstä.

Tätä tuotetta koskevista vakavista vaaratilanteista on ilmoitettava Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG:lle (katso oheiset yhteystiedot) sekä sen jäsenvaltion toimivaltaiselle viranomaiselle, johon tämän tuotteen käyttäjä on sijoittautunut.

3.1 Prosesseihin liittyen

⚠ VAROITUS

Laitteen prosessivirheen tai vaurioitumisen riski. Laitteen prosessivirheen tai vaurioitumisen riski, jos kouluttamattomat henkilöt käyttävät laitetta. Laitetta saavat käyttää ainoastaan koulutetut käyttäjät. Miltenyi Biotecin edustaja tarjoaa vaadittavaa käyttäjäkoulutusta.

⚠ HUOMIO

Suorituskyvyn heikkenemisen riski. Huoneenlämpöä matalammat tai korkeammat lämpötilat voivat johtaa kohdesolujen viabiliteetin, puhtauden tai tuoton heikkenemiseen. Valmistele näytteet ja erottele solut huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]).

⚠ HUOMIO

Laitteen turvallisuus saattaa heikentyä. Laitteen turvallisuus saattaa heikentyä, jos laitetta ei käytetä valmistajan ohjeiden mukaan. Varmista, että olet lukenut ja ymmärtänyt CliniMACS Plus -järjestelmän käyttäjän oppaan sekä Miltenyi Biotecin antamien turvallisuuteen liittyvien suositusten sisältämät CliniMACS Plus -järjestelmän käyttöön liittyvät turvallisuustiedot, varoitukset, varotoimet ja ohjeet.

- Kohdesolujen valmistamisessa ja käytössä ihmisille on noudatettava kansallisia lakeja ja määräyksiä – esim. EU-direktiiviä 2004/23/EY (ihmiskudokset ja -solut) tai direktiiviä 2002/98/EY (ihmisveri ja veren komponentit). Näin ollen kohdesolujen kaikki kliiniset sovellukset ovat yksinomaan CliniMACS Plus -järjestelmän käyttäjän vastuulla.
- Kaikkia materiaaleja, jotka ovat olleet kontaktissa veren ja verituotteiden kanssa, on käsiteltävä tartuntavaarallisina. Tartuntavaarallisten materiaalien käsittelyä koskevia määräyksiä on noudatettava.
- Kaikki letkut, lisävarusteet, venttiilit, esipylväs ja erottelupylväs on tarkastettava huolellisesti vuotojen varalta alustusvaiheen aikana.

- Kaikki pussit, mukaan lukien näytteiden käsittelyyn käytetyt pussit, on säilytettävä, kunnes kerättyjen solujen lopullinen analyysi on valmis ja kohdesolut on eroteltu halutulla tavalla.

3.2 CliniMACS-reagenssit ja -biotiinikonjugaatit

- Kun kohdesolufraktio infusoidaan tai injektoidaan potilaisiin, heihin saattaa siirtyä jäämiä hiiren vasta-aineista ja rautadekstraanista.
- Rautadekstraanihelmet ja/tai hiiren vasta-aineet voivat aiheuttaa potilaille allergisen tai anafylaktisen reaktion. Tehohoitovälineistöä ja lääkitystä tulee olla saatavilla.
- Vain koulutetut käyttäjät saavat käyttää CliniMACS-reagensseja ja biotiinikonjugaatteja solujen erotteluun.
- CliniMACS-reagenssien ja -biotiinikonjugaattien käyttäjillä on oltava kokemusta solujen erottelusta luuytimestä tai perifeerisestä verestä.
- Muita kuin kohdesoluja ei ole tarkoitettu terapeuttiseen käyttöön eikä niitä saa infusoida takaisin potilaisiin.
- CliniMACS-reagenssit ja -biotiinikonjugaatit on tarkoitettu ainoastaan *in vitro* -käyttöön, ei terapeuttiseen käyttöön eikä infusoitavaksi suoraan potilaisiin.
- CliniMACS-reagensseja ja -biotiinikonjugaattien ei suositella henkilöille, joilla on tunnettu tai epäilty yliherkkyys hiiren immunoglobuliineille tai rautadekstraanille.
- Potilaille saattaa kehittyä ihmisen anti-hiiri-vasta-aineita (HAMA).
- Älä käytä tuote-etikettiin painetun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Älä käytä, jos pakkaus on vaurioitunut. Käytä reagenssia vain, jos pullo on ehjä ja sinetöity.

3.3 Biovaarallisen materiaalin käsittely

⚠ VAROITUS

Vakavan vahingon tai kuoleman riski. Käytetystä biologisesta materiaalista riippuen kontakti voi johtaa vakavaan henkilövahinkoon tai kuolemaan. Käytä aina varoitusten ja varotoimien mukaisia suojavarusteita, erityisesti biologista vaaraa aiheuttavien materiaalien käytön aikana ja käytön jälkeen.

- Solujen aloitusnäytteen kontaminaation ehkäisemiseksi kaikki valmisteluvaiheet on tehtävä steriileissä olosuhteissa aseptista tekniikkaa noudattaen (esim. vetokaapissa).
- Soluja erottelusta vastaavan käyttäjän täytyy olla saanut koulutusta laitteen käytöstä sekä verituotteiden ja luuytimen imunäytteiden käsittelystä.
- Solujen erottelusta vastaavan käyttäjän on pukeuduttava soveltuviin suojavaatteisiin (esim. laboratoriotakki, käsineet ja suojalasit) potilasnäytteiden ja potentiaalisesti biologista vaaraa aiheuttavien materiaalien käsittelyn aikana.
- Kaikkia verituotteita on käsiteltävä potentiaalisesti biologista vaaraa aiheuttavana. Leukafereesituotteita, verituotteita, luuytimen imunäytteitä, kerättyjä soluja, käytettyä puskuria, käytettyä letkusarjaa ja muita näiden nesteiden kanssa kontaktissa olleita materiaaleja on käsiteltävä biologista vaaraa aiheuttavina materiaaleina tavanomaisten sairaalakäytäntöjen tai laitoksen vaatimusten mukaisesti.
- CliniMACS Plus Instrument -laitetta on pidettävä potentiaalisesti biovaarallisena jokaisen erotteluajon jälkeen, ja se on puhdistettava vesipohjaisella biosidisella puhdistusaineella (esim. Bacillol® plus tai Meliseptol®, katso myös CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta “Puhdistaminen ja huolto”) tavanomaisten sairaalakäytäntöjen tai laitoksen vaatimusten mukaisesti.
- Kertakäyttöisiä tuotteita on käsiteltävä biovaarallisina materiaaleina tavanomaisten sairaalakäytäntöjen tai laitoksen vaatimusten mukaisesti.

3.4 Solujen aloitusnäyte

TÄRKEÄÄ

Solujen leimaaminen ja erottelu on aloitettava mahdollisimman pian sen jälkeen, kun solujen aloitusnäyte on otettu. Tuote saa olla enintään 24 tuntia vanha, kun leimaaminen ja erottelu aloitetaan.

- Solujen aloitusnäyte (esim. leukafereesituote) on otettava sairaalan tai laitoksen tavanomaisten käytäntöjen mukaisesti tavallisiin näytepusseihin.
- Solujen aloitusnäytteen astiaan on merkittävä potilastunniste, kellonaika, päivämäärä ja näytteenottopaikka toimenpidettä koskevien kliinisten ohjeiden mukaisesti.
- Solujen aloitusnäyte on pakattava on pakattava eristettyihin astioihin kuljetusta varten ja pidettävä hallitussa huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]) verinäytteiden ottamista koskevien tavanomaisten sairaalakäytäntöjen tai laitoksen vaatimusten mukaisesti, ja toimenpidettä koskevia kliinisiä ohjeita noudattaen. Ei saa pakastaa. Solupitoisuus ei saa ylittää arvoa $0{,}2\times10^9$ solua/mL kuljetuksen aikana.
- Vältä solujen aloitusmateriaalin voimakasta sekoittamista.
- Jos solujen aloitusnäytteen säilyttämistä vaaditaan esim. yön yli, sitä on pidettävä hallitussa huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]). Leukosyyttipitoisuus ei saa ylittää arvoa $0{,}2\times10^9$ solua/mL säilytyksen aikana.
- Solut on varastoitava autologiseen plasmaan. Jos solupitoisuus ylittää arvon $0{,}2\times10^9$ solua/mL, liuota solujen aloitusnäyte autologiseen plasmaan.

4 CliniMACS Plus -järjestelmä

CliniMACS Plus -järjestelmä koostuu komponenteista CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS-reagenssi/reagenssit, CliniMACS Tubing Set, CliniMACS PBS/EDTA Buffer ja lisävarusteista, joita on käytettävä yhdessä. Järjestelmä on tarkoitettu tiettyjen ihmissolujen erotteluun *in vitro* kliinisiä sovelluksia varten.

TÄRKEÄÄ
Katso CliniMACS Plus -järjestelmän komponentteja koskevat käyttöohjeet, esim. komponentteja koskevat varoitukset ja varotoimet, kyseisen komponentin käyttöohjeista.

4.1 CliniMACS Plus Instrument

CliniMACS Plus Instrument on elektromekaaninen laite, jossa on pysyvä magneetti, peristalttinen pumppu, kiristysventtiilejä, elektroniikkaa ja ohjelmistoja.

4.2 CliniMACS-reagenssit ja -biotiinikonjugaatit

CliniMACS-reagenssit ovat väriltään tummia, ei-viskoosisia, kolloidisia liuoksia, jotka sisältävät tiettyjä solukohtaisia vasta-ainekonjugaatteja puskurissa. Reagenssit sisältävät vasta-aineita, jotka on liitetty kemiallisesti superparamagneettisiin hiukkasiin.

CliniMACS-biotiinikonjugaatit (Biotin Conjugates) ovat kirkkaita ja värittömiä liuoksia, jotka sisältävät kovalenttisesti puskurin sisältämään biotiiniin liitettyjä vasta-aineita. Vasta-aineet ovat erittäin spesifisiä, mikä mahdollistaa harvinaisten kohdesolujen leimaamisen *in vitro*.

4.3 CliniMACS-letkusarjat

CliniMACS-letkusarjat ovat steriilejä ja kertakäyttöisiä tuotteita, jotka on tarkoitettu käytettäväksi CliniMACS Plus Instrument -laitteessa ihmissolujen rikastamiseen tai tyhjentämiseen *in vitro* heterogeenisissä hematologisissa solupopulaatioissa.

4.4 CliniMACS PBS/EDTA Buffer

CliniMACS PBS/EDTA Buffer on ihmissolujen pesu- ja erotteluneste, joka mahdollistaa ihmissolujen erottelun *in vitro*.

4.5 CliniMACS-lisävarusteet

- **plasmansiirtosarja:**
  siirtosarja, johon kuuluu kaksi piikkiä plasmaa tai nesteitä varten, Transfer Set Coupler/Coupler (REF 200-073-902) tai vastaava
- **Luer/Spike Interconnector:**
  siirtosarja, johon kuulu piikki ja ruiskuadapteri (naaras-luer) plasman tai muiden nesteiden siirtämistä varten, Luer/Spike Interconnector (REF 200-073-903) tai vastaava

4.6 Vaadittavat lisämateriaalit

CliniMACS-tuotteiden lisäksi CliniMACS Plus -erottelussa saatetaan tarvita myös muita materiaaleja:

- **siirtopusseja, sentrifugikäyttöön sopivia:**
  150 mL:n Terumo-siirtopussi tai vastaava
  600 mL:n Terumo-siirtopussi tai vastaava
  1 000 mL:n Terumo-siirtopussi tai vastaava
- **solujen viljelypusseja, kaasuja läpäiseviä:**
  MACS GMP Cell Differentiation Bag – 100 mL tai vastaava
- **näyteliitin:**
  Terumo-näyteliitin tai vastaava
- **Pre-System Filter:**
  veren transfuusiosuodatin, Haemonetics® tai vastaava
- **ruiskuja ja neuloja:**
  soveltuvia ruiskuja (5 mL, 10 mL, 20 mL, 50 mL) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- **letkupihtejä**
- **näyteputkia**
- **ihmisen seerumin albumiinia (HSA):**
  Käytä vain lääketieteellistä ihmisseerumialbumiinia, joka on hyväksytty käyttäjän maassa.
- **kliinistä immunoglobuliini G:tä:**
  Käytä vain lääketieteellistä IgG:tä, joka on hyväksytty käyttäjän maassa, esim. Saksassa: Gamunex® 10 % tai vastaava.
- **solujen elatusainetta:**
  esim. RPMI 1640 tai vastaava
- **sovelluskohtaisia materiaaleja:**
  yksilöllisesti biotinyloitu soluspesifi vasta-aine tai ligandi, AB-seerumi tai vaihtoehtoisesti autologinen seerumi

4.7 Vaadittavat laitteet

- **keskeytyksetön virtalähde:**
  suositeltu UPS: APC Smart-UPS 1500VA USB & Serial 230 V, valmistaja APC (American Power Conversion) tai vastaava
- **vetokaappi**
- **steriili letkuliitin:**
  Terumo Sterile Connection Device (TSCD®) tai vastaava
- **orbital-ravistelija:**
  alustaravistimet, Heidolph Instruments tai vastaava
- **sentrifugi:**
  sentrifugi, Sorvall tai vastaava, ja sentrifugiputket, joissa aerosolitiiviit kannet
- **plasmanerottelija:**
  Plasma Separation Stand, Terumo Equipment tai vastaava
- **laboratoriovaaka:**
  Laboratory Balance, Mettler Toledo, tai vastaava, kapasiteetti 1 kg; resoluutio 0,1 g
- **letkujen kuumasaumain:**
  Hematron III käsikäyttöinen kuumasaumain, Baxter, tai vastaava
- **Letkujen puristin (tubing stripper):**
  Tube Stripper, Baxter, tai vastaava
- **jäteastiat biovaaralliselle jätteelle**

CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) -järjestelmää varten tarvittavat laitteet:

- 24-kuoppainen Corning™ Costar™ 24 -soluviljelylevy, Sigma Aldrich, tai vastaava
- MiniMACS™ Separation Unit, Miltenyi Biotec (REF 130-042-102)
- MS Columns, Miltenyi Biotec (REF 130-042-201)
- Pre-Separation Filter, Miltenyi Biotec (REF 130-041-407)
- MACSmix™ Tube Rotator, Miltenyi Biotec (REF 130-090-753)

5 Yleiskatsaus sovelluksista

5.1 Neljä VAIHETTA kohdesoluihin

Seuraava luku sisältää yleistietoa solujen erottelusta CliniMACS Plus Separation. CliniMACS Plus Separation tapahtuu neljässä eri VAIHEESSA. Ensimmäisessä vaiheessa solut valmistellaan ja magneettileimataan. Toisessa vaiheessa valitaan soveltuva erotteluohjelma. Kolmannessa vaiheessa asennetaan letkusarja CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen, ja neljännessä vaiheessa solut erotellaan automaattisesti.

Sovellukseen liittyvän prosessidatan tallentaminen saattaa olla tarpeen. Jos tarvitset työlistan, ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

CliniMACS Plus -sovellusten käyttäjän opas sisältää useita eri vaihtoehtoja kutakin vaihetta kohti (eri reagensseja, letkusarjoja ja ohjelmia). Ennen kuin sovellus voidaan käynnistää, käyttäjän on valittava sovelluskohtaisten lukujen (luku 6) ja VAIHEIDEN 1...4 (luku 7) yksityiskohtaiset kuvaukset seuraavalla sivulla olevaa yleistaulukkoa käyttäen. Yleistaulukossa on tietoa käyttäjän oppaan soveltuvista kohdista. Yleistaulukko perustuu reagenssien tyyppiin ja lukumäärään, solujen lukumäärään, letkusarjan tyyppiin sekä erotteluun tarvittavaan ja soveltuvaan erotteluohjelmaan.

VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

VAIHEESSA 1 kuvataan solutuotteen valmisteleminen ja spesifien, haluttua antigeeniä ilmentävien solujen magneettileimaus. Noudata soveltuvan kohdan ohjeita. Jatka VAIHEESEEN 2.

VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

VAIHEESSA 2 kuvataan erotteluohjelman valitseminen CliniMACS Plus Instrument -laitteessa. Eroteltavien solujen tyypistä ja lukumäärästä riippuen on valittava erilaisia ohjelmia. Käytä seuraavalla sivulla olevaa yleistaulukkoa apuna soveltuvan ohjelman valitsemisessa. Lue valittua erotteluohjelmaa käsittelevä kohta. Noudata soveltuvassa kohdassa annettuja ohjeita. Jatka VAIHEESEEN 3.

VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

VAIHEESSA 3 kuvataan letkusarjojen asentaminen CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen. Noudata soveltuvan kohdan ohjeita. Jatka VAIHEESEEN 4.

VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

VAIHEESSA 4 kuvataan automaattinen CliniMACS Plus -erottaminen. CliniMACS Plus Instrument erottelee solut automaattisesti erotustoimenpiteessä (valittu VAIHEESSA 2). Noudata soveltuvan kohdan ohjeita.

TÄRKEÄÄ

Seuraavalla sivulla olevassa yleistaulukossa on yhteenveto tavallisista CliniMACS-reagessien sovelluksista. Eroteltaessa eri lukumääriä kohdesoluja tarkista sovelluskohtaisista ohjeista tieto kyseisen sovelluksen maksimikapasiteetista. Noudata sovelluskohtaisia ohjeita ja yksityiskohtaisia VAIHEIDEN 1–4 kuvauksia. Katso yleistaulukko.

5.2 Yleistaulukko

Sovelluksen kapasiteetti	Reagenssipullo(t)	Letkusarja	Erotteluohjelma	Sovelluskohtainen kohta	VAIHEIDEN 1–4 yksityiskohtainen kuvaus			
					VAIHE 1	VAIHE 2	VAIHE 3	VAIHE 4
Anti-Biotin (REF 173-01) – Rikastus								
≤40×10^9 solua yhteensä	1× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.3	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
Anti-Biotin (REF 173-01) – Depleetio (tavanomainen käyttö)								
≤40×10^9 solua yhteensä	1× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.3	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
Anti-Biotin (REF 173-01) – Depleetio (laajamittainen käyttö)								
>40–80×10^9 solua yhteensä	2× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.3	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CCS (REF 279-01) – Rikastus								
Interferonia erittäviä soluja yhteensä ≤1×10^9 solusta	1 sarja (2 reagenssipulloa)	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (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) – Depleetio – Osa 1/2								
≤5×10^9 CD19-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta (valkosoluja)	1× CD19 Reagent ja 1× CD1c (BDCA-1)-Biotin	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (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) – Rikastus – Osa 2/2								
≤0,2×10^9 CD1c (BDCA-1) -positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta (valkosoluja)	1× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.13	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
CD3 (REF 273-01) – Depleetio (tavanomainen käyttö)								
≤15×10^9 CD3-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD3 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.5	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD3 (REF 273-01) – Depleetio (laajamittainen käyttö)								
>15–20×10^9 CD3-positiivista solua yhteensä >40–80×10^9 solusta	2× CD3 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.5	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4

Sovelluksen kapasiteetti	Reagenssipullo(t)	Letkusarja	Erotteluohjelma	Sovelluskohtainen kohta	VAIHEIDEN 1–4 yksityiskohtainen kuvaus			
					VAIHE 1	VAIHE 2	VAIHE 3	VAIHE 4
CD3 (REF 273-01) – Depleetio (tavanomainen käyttö)								
≤15×10^9 CD3-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD3 Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarja (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.5	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5
CD3 (REF 273-01) – Depleetio (laajamittainen käyttö)								
>15–30×10^9 CD3-positiivista solua yhteensä >40–80 80×10^9 solusta	2× CD3 Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarja (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.5	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5
CD4 (REF 276-01) – Rikastus								
≤5×10^9 CD4-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD4 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.10	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
CD4 (REF 276-01) – Depleetio								
≤12×10^9 CD4-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD4 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.10	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD8 (REF 275-01) – Rikastus								
≤4×10^9 CD8-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD8 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.8	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2
CD8 (REF 275-01) – Depleetio								
≤4×10^9 CD8-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD8 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.8	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD4/CD8-yhdistelmä (REF 276-01/REF 275-01) – Depleetio								
≤12×10^9 CD4-positiivista solua ja ≤4×10^9 CD8-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD4 Reagent ja 1× CD8 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.11	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD14 (REF 272-01) – Rikastus								
≤4×10^9 CD14-positiivista solua yhteensä ≤20×10^9 solusta	1× CD14 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 1.1	6.2	7.1	7.2.3	7.3.1	7.4.2

Sovelluksen kapasiteetti	Reagenssipullo(t)	Letkusarja	Erotteluohjelma	Sovelluskohtainen kohta	VAIHEIDEN 1–4 yksityiskohtainen kuvaus			
					VAIHE 1	VAIHE 2	VAIHE 3	VAIHE 4
CD19 (REF 179-01) – Depleetio								
≤5×10^9 CD19-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD19 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.6	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD3/CD19-yhdistelmä (REF 273-01/REF 179-01) – Depleetio								
≤15×10^9 CD3-positiivista solua ja ≤5×10^9 CD19-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD3 Reagent ja 1× CD19 Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarja (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.7	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5
CD25 (REF 274-01) – Rikastus								
≤0,6×10^9 CD25-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta (valkosoluja)	1× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.9	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
CD25 (REF 274-01) – Rikastus								
≤0,6×10^9 voimakkaasti ilmentävää CD25-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta (valkosoluja)	1× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.9	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
CD25 (REF 274-01) – Depleetio (tavanomainen käyttö)								
≤6×10^9 CD25-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta (valkosoluja)	1× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.9	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD25 (REF 274-01) – Depleetio (laajamittainen käyttö)								
>6–12×10^9 CD25-positiivista solua yhteensä >40–80×10^9 solusta (valkosoluja)	2× CD25 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	DEPLETION 2.1	6.9	7.1	7.2.5	7.3.1	7.4.4
CD34 (REF 171-01) – Rikastus (tavanomainen käyttö)								
≤0,6×10^9 CD34-positiivista solua yhteensä ≤60×10^9 solusta	1× CD34 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	CD34 SELECTION 1	6.1	7.1	7.2.2	7.3.1	7.4.1

Sovelluksen kapasiteetti	Reagenssipullo(t)	Letkusarja	Erotteluohjelma	Sovelluskohtainen kohta	VAIHEIDEN 1–4 yksityiskohtainen kuvaus			
					VAIHE 1	VAIHE 2	VAIHE 3	VAIHE 4
CD34 (REF 171-01) – Rikastus (laajamittainen käyttö)								
>0.6–1,2×10^9 CD34-positiivista solua yhteensä >60–120×10^9 solusta	2× CD34 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja (REF 162-01)	CD34 SELECTION 2	6.1	7.1	7.2.2	7.3.1	7.4.1
CD45RA (REF 701-46) – Depleetio								
≤20×10^9 CD45RA-positiivista solua yhteensä ≤50×10^9 solusta	1× CD45RA Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarja (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.16	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5
CD56 (REF 271-01) – Rikastus								
≤5×10^9 CD56-positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD56 Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (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) – Rikastus								
≤0,2×10^9 CD304 (BDCA-4) -positiivista solua yhteensä ≤40×10^9 solusta	1× CD304 (BDCA-4) Reagent	1× CliniMACS Tubing Set -letkusarja (REF 161-01)	ENRICHMENT 3.2	6.14	7.1	7.2.4	7.3.1	7.4.3
TCRα/β-Biotin (REF 701-48/REF 173-01) – Depleetio								
≤24×10^9 TCRα/β-positiivista solua yhteensä ≤60×10^9 solusta	1× TCRα/β-Biotin ja 2× Anti-Biotin Reagent	1× CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarja (REF 261-01)	DEPLETION 3.1	6.15	7.1	7.2.6	7.3.3	7.4.5

Taulukko 5.1: Yleiskatsaus saatavilla olevista sovelluksista, sopivista letkusarjoista ja erotteluohjelmista

6 Sovelluskohtainen yleiskatsaus VAIHEISTA 1–4

6.1 CD34-positiivisten solujen rikastaminen

CliniMACS Plus CD34 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD34 Reagent, CliniMACS Tubing Set- tai CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen hematopoieettisten CD34-positiivisten esisolujen rikastamiseen *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.1.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

- Tavanomainen käyttö: enintään $0{,}6\times10^9$ CD34-positiivista solua yhteensä enintään 60×10^9 solusta (valkosoluja)
- Laajamittainen käyttö: yli $0{,}6\times10^9$ ja enintään $1{,}2\times10^9$ CD34-positiivista solua yhteensä enintään 120×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä	Erotteluohjelma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD34 Reagent	171-01	• 1 pullo (tavanomainen käyttö) • 2 pulloa (laajamittainen käyttö)	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja	CD34 SELECTION 1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja	CD34 SELECTION 2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1 000 mL:n pusseja[1]	–

1 Ennen käyttöä lisää CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.1: CD34-positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopiva 600 mL:n siirtopussi sekä yksi näyteliitin ja kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kolme 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi 150 mL:n siirtopussi, joissa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- soveltuvia ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

Jos solujen aloitusnäytteen paino on yli 200 g, mutta solujen määrä on alle 120×10^9 kokonaissoluja ja $1{,}2 \times 10^9$ CD34-positiivisia soluja, sentrifugoidaan näyte, jotta tilavuus pienenee enintään 200 g:aan, ja jatketaan sitten seuraavilla vaiheilla

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g) (tavanomainen käyttö) tai 190 g (±5 g) (laajamittainen käyttö)

1. Poista supernatantti näytteen säätämiseksi seuraavaa kaavaa käyttäen: Poistettavan supernatantin paino = Laimennetun solutuotteen paino – Leimaustilavuus
2. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD34 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 tai 2 pulloa CliniMACS CD34 Reagent -reagenssia (katso Taulukko 6.1). Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (200×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan tätä vähemmän, suositellaan kolmea pesuvaihetta (kahden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
6. Sentrifugoi (200×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
7. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti.
8. Suspendoi solupelletti uudelleen.
9. Säädä näytteen aloituspainoksi 150 g (tavanomainen käyttö) tai 275 g (laajamittainen käyttö).

Huomautus: Ota näyte ylimääräisen reagenssin poistamisen jälkeen myöhempää analysointia varten (valinnainen).

6.1.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle

▶ Erotteluohjelman CD34 SELECTION 1/2 valitseminen

(käyttäen 1 pulloa: CD34 SELECTION 1, tai käyttäen 2 pulloa: CD34 SELECTION 2)

Katso kohta 7.2.2 sivulla 130.

6.1.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.1.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.1 sivulla 183.

6.2 CD14-positiivisten solujen rikastaminen

CliniMACS Plus CD14 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD14 Reagent, CliniMACS Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD14-positiivisten solujen rikastamiseen *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.2.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään 4×10^9 CD14-positiivista solua yhteensä enintään 20×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD14 Reagent	272-01	1 pullo
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Katso Taulukko 6.3 ja Taulukko 6.4. Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.2: CD14-positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  Yksi 600 mL:n siirtopussi, sentrifugikäyttöön sopiva, sekä yksi näyteliitin ja yksi plasmansiirtosarja käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi 150 mL:n tai yksi 600 mL:n siirtopussi, jossa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.4)
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) tai puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  kaksi 1 000 mL:n siirtopussia, jossa on kaksi Luer/Spike Interconnectoria pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.4)
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**
  yksi plasmansiirtosarja puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.4)
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- soveltuvia ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja

Yleiskatsaus tarvittavista materiaaleista

Solujen valmistelu		
Soluja yhteensä (valkosoluja)	20×10^9	20×10^9
Leimattuja soluja	$\leq2\times10^9$	$2–4\times10^9$
Reagenssipullojen lukumäärä	1	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	1 000 mL
Plasmansiirtosarja	1	1

Taulukko 6.3: CD14-positiivisten solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit

Erottelu		
Leimattuja soluja	≤2×10^9	>2–4×10^9
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	150 mL	600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	2 000 mL
Plasmansiirtosarja	–	1

Taulukko 6.4: CD14-positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat materiaalit

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – solujen aloitusnäytteen paino

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 50 g (±5 g)

1. Poista supernatantti näytteen säätämiseksi seuraavaa kaavaa käyttäen: Poistettavan supernatantin paino = Laimennetun solujen aloitusnäytteen paino – Leimaustilavuus
2. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ **Inkubaatio CliniMACS CD14 Reagent -reagenssin kanssa**

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD14 Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä

▶ **Ylimääräisen reagenssin poistaminen**

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

Huomautus: Ota näyte ylimääräisen reagenssin poistamisen jälkeen myöhempää analysointia varten (valinnainen).

6.2.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**

▶ **Erotteluohjelman ENRICHMENT 1.1 valitseminen**

▶ **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.3 sivulla 132.

6.2.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.2.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.2 sivulla 187.

6.3 Rikastus/depleetio CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssilla

CliniMACS Plus Anti-Biotin System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS Anti-Biotin Reagent, CliniMACS Tubing Set- tai CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi biotinyloidulla vasta-aineella leimattujen ihmissolujen rikastamiseen tai depleetioon *in vitro*.

6.3.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

- **Rikastaminen:** enintään 40×10^9 solua yhteensä (valkosoluja)
- **Depleetio:**
  Tavanomainen käyttö: enintään 40×10^9 solua yhteensä (valkosoluja)
  Laajamittainen käyttö: yli 40×10^9 ja enintään 80×10^9 solua yhteensä (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä	Erotteluohjelma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS Anti-Biotin Reagent	173-01	• 1 pullo (tavanomainen käyttö) • 2 pulloa (laajamittainen käyttö)	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja	ENRICHMENT 1.1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	• 3×1 000 mL:n pussia[1] (tavanomainen käyttö) • 4× 1 000 mL:n pussia[1] (laajamittainen käyttö)	–

1 Puskurin määrä riippuu valitusta erotteluohjelmasta ja leimattujen solujen lukumäärästä (katso Taulukko 6.6 – Taulukko 6.9). Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.5: Rikastukseen/depleetioon CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssilla vaaditut CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi 600 mL:n siirtopussi, sentrifugikäyttöön sopivaa, sekä yksi näyteliitin ja kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi 600 mL:n tai yksi 1 000 mL:n siirtopussi, jossa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.7 ja Taulukko 6.9)
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag), puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) ja/tai alustuksen jätepussin (Priming Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  kaksi tai kolme 1 000 mL:n siirtopussia, joissa on kaksi Luer/Spike Interconnector -liitintä pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.7 ja Taulukko 6.9). Vaihda alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) steriiliä letkuliitintä käyttäen.
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**
  yksi tai kaksi plasmansiirtosarjaa puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.7 ja Taulukko 6.9)
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- soveltuvia ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)

- näyteputkia
- yksilöllisesti biotinyloitu soluspesifi vasta-aine tai ligandi

Yleiskatsaus materiaaleista

Solujen valmistelu (ENRICHMENT 1.1)	
Soluja yhteensä (valkosoluja)	40×10^9
Reagenssipullojen lukumäärä	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	2 000 mL
Plasmansiirtosarja	2

Taulukko 6.6: Solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit (ENRICHMENT 1.1)

Erottelu (ENRICHMENT 1.1)		
Leimattuja soluja	$\leq2\times10^9$	$>2–5\times10^9$
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	600 mL	600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	2 000 mL
Plasmansiirtosarja	–	1

Taulukko 6.7: Solujen rikastukseen tarvittavat materiaalit (ENRICHMENT 1.1)

Solujen valmistelu (DEPLETION 2.1)		
Soluja yhteensä (valkosoluja)	$\leq40\times10^9$	$>40–80\times10^9$
Reagenssipullojen lukumäärä	1	2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	2 000 mL	2 000 mL
Plasmansiirtosarja	2	2

Taulukko 6.8: Solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit (DEPLETION 2.1)

Erottelu (DEPLETION 2.1)			
Leimattuja soluja	$<5\times10^9$	$5–13\times10^9$	$>13–20\times10^9$
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–		
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–	
Solujen keräyspussi (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
Plasmansiirtosarja	–	1	2

Taulukko 6.9: Depleetioon tarvittavat materiaalit (DEPLETION 2.1)

Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

Solujen aloitusnäytteen analysointi

Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

Sentrifugointi

1. Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])
2. Poista supernatantti primäärisen vasta-aineen leimaustilavuuden säätämiseksi primäärisen vasta-aineen valmistajan suositusten mukaisesti.
3. Suspendoi solupelletti uudelleen.

Solujen leimaus: inkubaatio primäärisen vasta-aineen kanssa

Noudata primäärisen vasta-aineen valmistajan toimittamia käyttöohjeita.

Ylimääräisen konjugaatin poistaminen (1. pesu)

1. Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – solutuotteen paino
2. Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g) (tavanomainen käyttö) tai 190 g (±5 g) (laajamittainen käyttö)

1. Poista supernatantti näytteen säätämiseksi seuraavaa kaavaa käyttäen: poistettavan supernatantin paino = laimennetun solutuotteen paino – leimaustilavuus

   Huomautus: Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
2. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ **Solujen magneettileimaus: inkubaatio CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssin kanssa**

1. Lisää 1 tai 2 pulloa CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssia (Taulukko 6.6 ja Taulukko 6.8). Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ **Ylimääräisen reagenssin poistaminen (2. pesu)**

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan edellä määritettyä arvoa vähemmän, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen aloituspainoksi 100 g (tavanomainen käyttö) tai 200 g (laajamittainen käyttö).

Huomautus: Ota näyte ylimääräisen reagenssin poistamisen jälkeen myöhempää analysointia varten (valinnainen).

6.3.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**

▶ **Erotteluohjelman ENRICHMENT 1.1 tai DEPLETION 2.1 valitseminen**

▶ **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.3 sivulla 132 tai 7.2.5 sivulla 139.

6.3.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.3.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohdat 7.4.2 sivulla 187 ja 7.4.4 sivulla 195.

6.4 CD56-positiivisten solujen rikastaminen

CliniMACS Plus CD56 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD56 Reagent, CliniMACS Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD56-positiivisten solujen rikastamiseen *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.4.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään 5×10^9 CD56-positiivista solua yhteensä 40×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD56 Reagent	271-01	1 pullo
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Katso Taulukko 6.11 ja Taulukko 6.12. Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.10: CD56-positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  Yksi 600 mL:n siirtopussi, sentrifugikäyttöön sopiva, sekä yksi näyteliitin ja yksi plasmansiirtosarja käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi 150 mL:n tai 600 mL:n siirtopussi, jossa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.12)
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) tai puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  kaksi 1 000 mL:n siirtopussia, jossa on kaksi Luer/Spike Interconnector -liitintä pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.12)
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**
  yksi plasmansiirtosarja puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.12)
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

Yleiskatsaus tarvittavista materiaaleista

Solujen valmistelu	
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9
Reagenssipullojen lukumäärä	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL
Plasmansiirtosarja	1

Taulukko 6.11: CD56-positiivisten solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit

Erottelu		
Leimattuja soluja	≤2×10^9	>2–5×10^9
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	150 mL	600 mL

Erottelu		
Luer/Spike Interconnector	1	3
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	2 000 mL
Plasmansiirtosarja	–	1

Taulukko 6.12: CD56-positiivisten solujen rikastamiseen tarvittavat materiaalit

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – solujen aloitusnäytteen paino

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) painoa lisäämällä puskuri seuraavan kaavan mukaisesti: Täytetyn CPB:n tavoitepaino = 95 g + tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solut uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD56 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD56 Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ **Ylimääräisen reagenssin poistaminen**

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 150 g:aan.

Huomautus: Ota näyte ylimääräisen reagenssin poistamisen jälkeen myöhempää analysointia varten (valinnainen).

6.4.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**

▶ **Erotteluohjelman ENRICHMENT 1.1 valitseminen**

▶ **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.3 sivulla 132.

6.4.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.4.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

▶ **Erottelutoimenpide**

▶ **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**

▶ **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**

▶ **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.2 sivulla 187.

6.5 CD3-positiivisten solujen depleetio

CliniMACS Plus CD3 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD3 Reagent, CliniMACS Tubing Set LS tai CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarja ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD3-positiivisten solujen depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.5.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

- Tavanomainen käyttö: enintään 15×10^9 CD3-positiivista solua yhteensä enintään 40×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) käyttäen joko CliniMACS Tubing Set LS- tai CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjaa
- Laajamittainen käyttö: yli 15×10^9 ja enintään 20×10^9 CD3-positiivista solua yhteensä yli 40×10^9 ja enintään 80×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) käyttäen joko CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjaa, tai yli 15×10^9 ja enintään 30×10^9 CD3-positiivista solua yhteensä yli 40×10^9 ja enintään 80×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) käyttäen CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjaa

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä	Erotteluohjelma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	
CliniMACS CD3 Reagent	273-01	• 1 pullo (tavanomainen käyttö) • 2 pulloa (laajamittainen käyttö)	
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja	DEPLETION 2.1
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 letkusarja	DEPLETION 3.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Enintään 5×1 000 mL:n pussia[1]	

1 Katso Taulukko 6.14 – Taulukko 6.16. Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

2 **Huomautus:** Jos leimattavia soluja on runsaasti, on suositeltavaa käyttää CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjaa ajan säästämiseksi (esim. 20×10 leimatun solun käsittelyyn kuluu viisi tuntia CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjalla ja kaksi tuntia CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjalla).

Taulukko 6.13: CD3-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi 600 mL:n siirtopussi, sentrifugikäyttöön sopivaa, sekä yksi näyteliitin ja kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi tai kaksi 600 mL:n siirtopussia, joissa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan

  Jos erotteluun tarvitaan kaksi solujen keräyspussia (Cell Collection Bag), käytä plasmansiirtosarjaa pussien yhdistämiseen. Yksi 600 mL:n siirtopussi on kiinnitetty valmiiksi CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjaan (katso Taulukko 6.15 ja Taulukko 6.16).
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag), puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) ja/tai alustuksen jätepussin (Priming Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  kaksi tai kolme 1 000 mL:n siirtopussia, jossa on kaksi Luer/Spike Interconnector -liitintä pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.15 ja Taulukko 6.16)

  Vaihda alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) steriiliä letkuliitintä käyttäen.
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**
  yksi tai kaksi plasmansiirtosarjaa puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.15 ja Taulukko 6.16)
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- lääketieteellistä immunoglobuliini G:tä
- näyteputkia

TÄRKEÄÄ

Näytteen tietojen syöttämisen jälkeen (VAIHE 2) CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag), solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag), muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag) ja puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) kerättävät tilavuudet. Jos nesteen laskennallinen tilavuus ylittää tavanomaisen 500 mL:n tilavuuden, pussin vaihtaminen on tarpeen.

Yleiskatsaus tarvittavista materiaaleista

Solujen valmistelu		
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9	>40–80×10^9
Leimattuja soluja	≤15×10^9	>15–30×10^9
Reagenssipullojen lukumäärä	1	2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	2 000 mL	2 000 mL
Plasmansiirtosarja	2	2
Näytteen lataustilavuus	150 mL	250–300 mL

Taulukko 6.14: CD3-positiivisten solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit

Erottelu (DEPLETION 2.1)			
Leimattuja soluja	≤5×10^9	>5–13×10^9	>13–20×10^9
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–		
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–	
Solujen keräyspussi (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
Plasmansiirtosarja	–	1–2	3

Taulukko 6.15: CD3-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat materiaalit (DEPLETION 2.1)

Erottelu (DEPLETION 3.1)		
Leimattuja soluja	≤29×10^9	>29–30×10^9
Muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag)	Pussin vaihtaminen ei ole tarpeen.	
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)		
Uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag)		
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	–	1×600 mL (lisäksi)
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	
Plasmansiirtosarja	–	1

Taulukko 6.16: CD3-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat materiaalit (DEPLETION 3.1)

Huomautus: Erotteluun vaadittavat materiaalit voidaan tarkistaa myös kytkemällä CliniMACS Plus Instrument päälle, valitsemalla haluttu erotteluohjelma (DEPLETION 2.1 CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjalle ja DEPLETION 3.1 CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjalle) ja syöttämällä näytteen tiedot. CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee letkusarjoihin liitettävien pussien koot ja puskurin vaadittavan painon.

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

Määritä kaikkien leimattujen CD3-solujen lukumäärä (mukaan lukien epäspesifit CD3-sidokset, ei ainoastaan todelliset T-solut). Tätä lukua tarvitaan sovelluksen määrittämistä ja näytteen tietojen syöttämistä varten (katso VAIHE 2).

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – solujen aloitusnäytteen paino

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g) (tavanomainen käyttö) tai 190 g (±5 g) (laajamittainen käyttö)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) paino lisäämällä puskuria seuraavan kaavan mukaisesti (huomioi IgG:n paino): Täytetyn solujen valmistelupussin (CPB) tavoitepaino = leimaustilavuus – IgG:n paino + tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio lääketieteellisen immunoglobuliinin kanssa

1. Lisää IgG (1,5 mg/mL).
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD3 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 tai 2 pulloa CliniMACS CD3 Reagent -reagenssia (katso Taulukko 6.14). Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ **Ylimääräisen reagenssin poistaminen**

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen latauspainoksi 150 g (tavanomainen käyttö) tai 250–300 g (laajamittainen käyttö).

6.5.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**

▶ **Erotteluohjelman DEPLETION 2.1 tai DEPLETION 3.1 valitseminen**
(käyttäen ensin mainitulle CliniMACS Tubing Set LS- ja jälkimmäiselle CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjaa)

▶ **Näytemuuttujien syöttäminen**
(solujen aloitusnäytteen analyysin perusteella (katso VAIHE 1))

Katso kohta 7.2.5 sivulla 139 tai 7.2.6 sivulla 144.

6.5.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**
tai
▶ **CliniMACS Depletion Tubing Set**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149 tai 7.3.3 sivulla 169.

6.5.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

▶ **Erottelutoimenpide**

▶ **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**

▶ **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**

▶ **Solujen analysoiminen**

Katso kohdat 7.4.4 sivulla 195 ja 7.4.5 sivulla 199.

6.6 CD19-positiivisten solujen depleetio

CliniMACS Plus CD19 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD19 Reagent, CliniMACS Tubing Set LS ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD19-positiivisten solujen depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.6.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään 5×10^9 CD19-positiivista solua yhteensä enintään 40×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD19 Reagent	179-01	1 pullo
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	2×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Ennen käyttöä lisää CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.17: CD19-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä yksi näyteliitin ja yksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi 600 mL:n siirtopussi, joissa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä

- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – solujen aloitusnäytteen paino

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) painoa lisäämällä puskuri seuraavan kaavan mukaisesti: Täytetyn CPB:n tavoitepaino = 95 g + tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD19 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD19 Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ **Ylimääräisen reagenssin poistaminen**

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

6.6.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**

▶ **Erotteluohjelman DEPLETION 2.1 valitseminen**

▶ **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.5 sivulla 139.

6.6.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.6.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

▶ **Erottelutoimenpide**

▶ **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**

▶ **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**

▶ **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.4 sivulla 195.

6.7 CD3- ja CD19-positiivisten solujen depleetio

CliniMACS Plus CD3/CD19 System ja CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD3 Reagent, CliniMACS CD19 Reagent, CliniMACS Depletion Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD3-positiivisten ja CD19-positiivisten solujen samanaikaiseen depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.7.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään 15×10^9 CD3-positiivista solua ja enintään 5×10^9 CD19-positiivista solua populaatiosta, jossa on yhteensä enintään 40×10^9 solua (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD3 Reagent	273-01	1 pullo
CliniMACS CD19 Reagent	179-01	1 pullo
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	4×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Ennen käyttöä lisää CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.18: CliniMACS-materiaalit, joita tarvitaan CD3-positiivisten ja CD19-positiivisten solujen depleetioon

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi 600 mL:n siirtopussi, sentrifugikäyttöön sopivaa, sekä yksi näyteliitin ja kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi tai kaksi 600 mL:n siirtopussia, joissa on Luer/ Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- lääketieteellistä immunoglobuliini G:tä
- näyteputkia

TÄRKEÄÄ

Näytteen tietojen syöttämisen jälkeen (VAIHE 2) CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag), solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag), muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag) ja puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) kerättävät tilavuudet. Jos nesteen laskennallinen tilavuus ylittää tavanomaisen 500 mL:n tilavuuden, vaadittujen pussien vaihtaminen on tarpeen.

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

Määritä kaikkien leimattujen CD3- ja CD19-solujen lukumäärä (mukaan lukien epäspesifit CD3- ja CD19-sidokset, ei ainoastaan todelliset T- ja B-solut). Tätä lukua tarvitaan sovelluksen määrittämistä ja näytteen tietojen syöttämistä varten (katso VAIHE 2).

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – solujen aloitusnäytteen paino

Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 87,5 g (±5 g)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) paino lisäämällä puskuria seuraavan kaavan mukaisesti (huomioi IgG:n paino): Täytetyn solujen valmistelupussin (CPB) tavoitepaino = 87,5 g – IgG:n paino + tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

Inkubaatio lääketieteellisen immunoglobuliinin kanssa

1. Lisää IgG (1,5 mg/mL).
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.

Inkubaatio CliniMACS CD3 Reagent -reagenssin ja CliniMACS CD19 Reagent -reagenssin avulla

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD3 Reagent -reagenssia ja 1 pullo CliniMACS CD19 Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 150 g:aan.

6.7.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

- **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**
- **Erotteluohjelman DEPLETION 3.1 valitseminen**
- **Näytemuuttujien syöttäminen**
  (solujen aloitusnäytteen analyysin perusteella (katso VAIHE 1))

Katso kohta 7.2.6 sivulla 144.

6.7.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Depletion Tubing Set**

Katso kohta 7.3.3 sivulla 169.

6.7.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.5 sivulla 199.

6.8 CD8-positiivisten solujen rikastus/ depleetio

CliniMACS Plus CD8 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD8 Reagent, CliniMACS Tubing Set tai CliniMACS Tubing Set LS ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD8-positiivisten solujen rikastamiseen tai depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.8.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

- **Rikastaminen:** enintään 4×10^9 leimattua solua yhteensä enintään 40×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) CliniMACS Tubing Set -letkusarjan avulla
- **Depleetio:** enintään 4×10^9 leimattua solua yhteensä enintään 40×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan avulla

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä	Erotteluohjelma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD8 Reagent	275-01	1 pullo	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja	ENRICHMENT 1.1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Enintään 3×1 000 mL:n pussia[1]	–

1 Katso Taulukko 6.20 – Taulukko 6.22. Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.19: CD8-positiivisten solujen rikastukseen/depleetioon tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä yksi näyteliitin ja yksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n siirtopussia, sentrifugikäyttöön soveltuvaa

- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi 600 mL:n siirtopussi, jossa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.21 ja Taulukko 6.22)
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) tai puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  kaksi 1 000 mL:n siirtopussia, jossa on Luer/ Spike Interconnector pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.21 ja Taulukko 6.22)
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**
  yksi plasmansiirtosarja puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.21 ja Taulukko 6.22)
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

TÄRKEÄÄ

Näytteen tietojen syöttämisen jälkeen (VAIHE 2) CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee alustuksen jätepussiin (Priming Waste Bag), solujen keräyspussiin (Cell Collection bag), negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) kerättävät tilavuudet. Jos nesteen laskennallinen tilavuus ylittää tavanomaisen 500 mL:n tilavuuden, pussien vaihtaminen on tarpeen seuraavien materiaalien yleiskatsauksen mukaisesti.

Yleiskatsaus tarvittavista materiaaleista

Solujen valmistelu	
Soluja yhteensä	$\leq 40\times10^9$
Leimattuja soluja	$\leq 4\times10^9$
Reagenssipullojen lukumäärä	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL
Plasmansiirtosarja	1
Näytteen lataustilavuus	100 mL

Taulukko 6.20: CD8-positiivisten solujen käsittelyyn tarvittavat materiaalit

Erottelu (ENRICHMENT 1.1)		
Leimattuja soluja	$<2\times10^9$	$2–4\times10^9$
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	600 mL	600 mL
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	2 000 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasmansiirtosarja	–	1

Taulukko 6.21: CD8-positiivisten solujen rikastamiseen tarvittavat materiaalit

Erottelu (DEPLETION 2.1)	
Leimattuja soluja	$\leq4\times10^9$
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	Pussin vaihtaminen ei ole tarpeen.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	600 mL
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL
Luer/Spike Interconnector	1

Taulukko 6.22: CD8-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat materiaalit

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (CPB) painoa lisäämällä puskuria. Laske laimennetulla solutuotteella täytetyn CPB:n tavoitepaino seuraavan kaavan avulla: Täytetyn CPB:n tavoitepaino = 95 g – tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD8 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD8 Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

6.8.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle

▶ Erotteluohjelman ENRICHMENT 1.1 tai DEPLETION 2.1 valitseminen

▶ Näytemuuttujien syöttäminen

Katso kohta 7.2.3 sivulla 132 tai 7.2.5 sivulla 139.

6.8.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.8.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.2 sivulla 187 tai 7.4.4 sivulla 195.

6.9 CD25-positiivisten solujen rikastus/ depleetio

CliniMACS Plus CD25 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD25 Reagent, CliniMACS Tubing Set- tai CliniMACS Tubing Set LS -letkusarja ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD25-positiivisten solujen – mahdollisuuksien mukaan voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen – rikastamiseen tai depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.9.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

- **Rikastaminen:** CD25-positiiviset tai CD25:ä voimakkaasti ilmentävät solut: enintään $0{,}6\times10^9$ leimattua solua yhteensä enintään 40×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) CliniMACS Tubing Set -letkusarjan avulla
- **Depleetio:**
  Tavanomainen käyttö: enintään 6×10^9 CD25-positiivista solua yhteensä enintään 40×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan avulla
  Laajamittainen käyttö: yli 6×10^9 ja enintään 12×10^9 CD25-positiivista solua yhteensä yli 40×10^9 ja enintään 80×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan avulla

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä	Erotteluohjelma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD25 Reagent	274-01	• 1 pullo (tavanomainen käyttö) • 2 pulloa (laajamittainen käyttö)	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja	ENRICHMENT 3.2
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Enintään 4×1 000 mL:n pussia[1]	–

1 Katso Taulukko 6.24 – Taulukko 6.27. Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.23: CD25-positiivisten solujen rikastukseen/depleetioon tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä yksi näyteliitin ja yksi tai kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n (tai kaksi 1 000 mL:n) sentrifugikäyttöön soveltuvaa siirtopussia
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  Yksi 150 mL:n tai yksi tai kaksi 600 mL:n siirtopussia, joissa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan

  Jos erotteluun vaaditaan kaksi solujen keräyspussia (Cell Collection Bag), käytä plasmansiirtosarjaa pussien yhdistämiseen (katso Taulukko 6.25 ja Taulukko 6.27).
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) tai puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  kaksi 1 000 mL:n siirtopussia, jossa on kaksi Luer/Spike Interconnector -liitintä pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.25 ja Taulukko 6.27)
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**
  yksi plasmansiirtosarja puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.25 ja Taulukko 6.27)
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

TÄRKEÄÄ

Näytteen tietojen syöttämisen jälkeen (VAIHE 2) CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee alustuksen jätepussiin (Priming Waste Bag), solujen keräyspussiin (Cell Collection bag), negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) kerättävät tilavuudet. Jos nesteen laskennallinen tilavuus ylittää tavanomaisen 500 mL:n tilavuuden, pussien vaihtaminen on tarpeen seuraavien materiaalien yleiskatsauksen mukaisesti.

Yleiskatsaus tarvittavista materiaaleista

Solujen valmistelu (ENRICHMENT 3.2)		
Käyttö	**CD25-positiivisten solujen rikastus**	**Voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen rikastus**
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9	≤40×10^9
Leimattuja soluja	≤0,6×10^9	≤0,6×10^9
Reagenssipullojen lukumäärä	1	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000–2 000 mL	2 000 mL
Plasmansiirtosarja	1–2	2
Leimaustilavuus	190 mL	380 mL
Leimauslämpötila	Huoneenlämpö	+4–+8 °C (+39–+46 °F)

Taulukko 6.24: CD25-positiivisten / voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit (ENRICHMENT 3.2)

Erottelu (ENRICHMENT 3.2)		
Käyttö	**CD25-positiivisten solujen rikastus**	**Voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen rikastus**
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	1 000 mL
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	Pussin vaihtaminen ei ole tarpeen.	
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)		
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)		
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	150 mL	150 mL
Luer/Spike Interconnector	1	1

Taulukko 6.25: CD25-positiivisten / voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen rikastukseen tarvittavat materiaalit (ENRICHMENT 3.2)

Solujen valmistelu (DEPLETION 2.1)		
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9	>40–80×10^9
Leimattuja soluja	≤6×10^9	>6–12×10^9
Reagenssipullojen lukumäärä	1	2
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000–2 000 mL	1 000–2 000 mL
Plasmansiirtosarja	1–2	1–2
Leimaustilavuus	95 mL	190 mL
Leimauslämpötila	Huoneenlämpö	Huoneenlämpö

Taulukko 6.26: CD25-positiivisten solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit (DEPLETION 2.1)

Erottelu (DEPLETION 2.1)		
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9	>40–80×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL <5×10^9 leimatulle solulle	2 000 mL 5–12×10^9 leimatulle solulle
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	600 mL	2×600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasmansiirtosarja	–	2

Taulukko 6.27: CD25-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat materiaalit (DEPLETION 2.1)

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

TÄRKEÄÄ

- *Säilytä CD25-positiivisten solujen rikastuksen tai depleetion valmisteluun käytettävä puskuri +19–25 °C:ssa (+66–77 °F).*
- *Voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen rikastuksen valmisteluvaiheessa tapahtuvassa magneettileimauksessa on käytettävä kylmäpuskuria (+4–8 °C [+39–46 °F]). Matalammat tai korkeammat lämpötilat voivat johtaa kohdesolujen puhtauden tai viljelytuloksen heikkenemiseen.*

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

Sentrifugointi

Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus

CD25-positiivisten solujen rikastuksessa: 190 g (±5 g)
Voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen rikastuksessa: 380 g (±5 g)[1]
CD25-positiivisten solujen depleetiossa (tavanomainen käyttö) 95 g
CD25-positiivisten solujen depleetiossa (laajamittainen käyttö) 190 g

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) painoa lisäämällä puskuri seuraavan kaavan mukaisesti: Täytetyn CPB:n tavoitepaino = leimaustilavuus + tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

Inkubaatio CliniMACS CD25 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 tai 2 pullo(a) CliniMACS CD25 Reagent -reagenssia (katso Taulukko 6.24 ja Taulukko 6.26). Sekoita sisältöä varovasti.
2. Inkuboi orbital-ravistelijalla (25 rpm):
   a) CD25-positiivisten solujen rikastus tai depleetio: 30 minuuttia huoneenlämmössä
   b) voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen rikastus: 15 minuuttia lämpötilassa +4–8 °C (+39–46 °F)

Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

1 Voimakkaasti CD25:ä ilmentävien solujen rikastukseen kuuluvassa magneettileimauksessa on käytettävä kylmäpuskuria (+4–8 °C [+39–46 °F]).

5. Säädä näytteen aloituspainoksi 100 g (tavanomainen käyttö) tai 200 g (laajamittainen käyttö).

6.9.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

- **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**
- **Erotteluohjelman ENRICHMENT 3.2 tai DEPLETION 2.1 valitseminen**
- **Näytemuuttujien syöttäminen**
  (ei ohjelmalle ENRICHMENT 3.2)

Katso kohta 7.2.4 sivulla 137 tai 7.2.5 sivulla 139.

6.9.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.9.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.3 sivulla 191 tai 7.4.4 sivulla 195.

6.10 CD4-positiivisten solujen rikastus/ depleetio

CliniMACS Plus CD4 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD4 Reagent, CliniMACS Tubing Set tai CliniMACS Tubing Set LS ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD4-positiivisten solujen rikastamiseen tai depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.10.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

- **Rikastaminen:** enintään 5×10^9 leimattua solua yhteensä enintään 40×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) CliniMACS Tubing Set -letkusarjan avulla
- **Depleetio:** enintään 12×10^9 leimattua solua yhteensä enintään 40×10^9 solun populaatiossa (valkosoluja) CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan avulla

Huomautus: Jos laskettujen solujen lukumäärä ylittää sovelluksen kapasiteetin, jaa näyte osiin ja käsittele osanäytteet erikseen käyttäen uutta letkusarjaa jokaiselle CliniMACS Plus Instrument -ajolle.

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä	Erotteluohjelma
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1	–
CliniMACS CD4 Reagent	276-01	1 pullo	–
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja	ENRICHMENT 1.1
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja	DEPLETION 2.1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Enintään 4×1 000 mL:n pussia[1]	–

1 Katso Taulukko 6.29 – Taulukko 6.32. Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.28: CD4-positiivisten solujen rikastukseen/depleetioon tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä yksi näyteliitin ja yksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n (tai kaksi 1 000 mL:n) sentrifugikäyttöön soveltuvaa siirtopussia
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  Yksi 150 mL:n tai yksi/kaksi 600 mL:n siirtopussia, joissa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan

  Jos erotteluun vaaditaan kaksi solujen keräyspussia (Cell Collection Bag), käytä plasmansiirtosarjaa pussien yhdistämiseen (katso Taulukko 6.30 ja Taulukko 6.32).
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag), puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) ja/tai alustuksen jätepussin (Priming Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  enintään kolme 1 000 mL:n siirtopussia, joissa on kaksi Luer/Spike Interconnector -liitintä pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.30 ja Taulukko 6.32). Vaihda alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) steriiliä letkuliitintä käyttäen.
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**
  yksi tai kaksi plasmansiirtosarjaa puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.30 ja Taulukko 6.32)
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

TÄRKEÄÄ

Näytteen tietojen syöttämisen jälkeen (VAIHE 2) CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee alustuksen jätepussiin (Priming Waste Bag), solujen keräyspussiin (Cell Collection bag), negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) kerättävät tilavuudet. Jos nesteen laskennallinen tilavuus ylittää tavanomaisen 500 mL:n tilavuuden, pussien vaihtaminen on tarpeen seuraavien materiaalien yleiskatsauksen mukaisesti.

Yleiskatsaus tarvittavista materiaaleista

Solujen valmistelu (ENRICHMENT 1.1)	
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9
Leimattuja soluja	≤5×10^9
Reagenssipullojen lukumäärä	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL
Plasmansiirtosarja	1

Taulukko 6.29: CD4-positiivisten solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit (ENRICHMENT 1.1)

Erottelu (ENRICHMENT 1.1)		
Leimattuja soluja	≤2×10^9	>2–5×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	2 000 mL
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	150 mL	600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasmansiirtosarja	–	1

Taulukko 6.30: CD4-positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat materiaalit (ENRICHMENT 1.1)

Solujen valmistelu (DEPLETION 2.1)	
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9
Leimattuja soluja	≤12×10^9
Reagenssipullojen lukumäärä	1
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL
Plasmansiirtosarja	1

Taulukko 6.31: CD4-positiivisten solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit (DEPLETION 2.1)

Erottelu (DEPLETION 2.1)		
Leimattuja soluja	<5×10^9	5–12×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	2 000 mL
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–	
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	1×600 mL	1–2×600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3
Plasmansiirtosarja	–	1–2

Taulukko 6.32: CD4-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat materiaalit (DEPLETION 2.1)

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti näytteen säätämiseksi seuraavaa kaavaa käyttäen: Poistettavan supernatantin paino = laimennetun solutuotteen paino – 95 g
2. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD4 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD4 Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

6.10.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

- **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**
- **Erotteluohjelman ENRICHMENT 3.2 tai DEPLETION 2.1 valitseminen**
- **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohdat 7.2.3 sivulla 132 ja 7.2.5 sivulla 139.

6.10.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.10.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.2 sivulla 187 tai 7.4.4 sivulla 195.

6.11 CD4- ja CD8-positiivisten solujen depleetio

CliniMACS Plus CD4/CD8 System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD4 Reagent, CliniMACS CD8 Reagent, CliniMACS-letkusarja ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi CD4-positiivisten ja CD8-positiivisten solujen samanaikaiseen depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.11.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään 12×10^9 CD4-positiivista solua ja enintään 4×10^9 CD8-positiivista solua populaatiosta, jossa on yhteensä enintään 40×10^9 solua (valkosoluja)

Huomautus: Jos laskettujen solujen lukumäärä ylittää sovelluksen kapasiteetin, jaa näyte osiin ja käsittele osanäytteet erikseen käyttäen uutta letkusarjaa jokaiselle CliniMACS Plus Instrument -ajolle.

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD4 Reagent	276-01	1 pullo
CliniMACS CD8 Reagent	275-01	1 pullo
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Enintään 4×1 000 mL:n pussia[1]

1 Katso Taulukko 6.34 ja Taulukko 6.35. Laimenna CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ennen käyttöä ihmisen seerumin albumiinilla lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.33: CliniMACS-materiaalit, joita tarvitaan CD4-positiivisten ja CD8-positiivisten solujen depleetioon

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä yksi näyteliitin ja yksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **Plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag):**
  kaksi 600 mL:n (tai kaksi 1 000 mL:n) sentrifugikäyttöön soveltuvaa siirtopussia
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi tai kaksi 600 mL:n siirtopussia, joissa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan

  Jos erotteluun vaaditaan kaksi keräyspussia (Cell Collection Bag), käytä plasmansiirtosarjaa pussien yhdistämiseen (katso Taulukko 6.35).
- **Jos negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag), puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) ja/tai alustuksen jätepussin (Priming Waste Bag) vaihtaminen on tarpeen:**
  enintään kolme 1 000 mL:n siirtopussia, jossa on kaksi Luer/Spike Interconnector -liitintä pussien liittämiseksi letkusarjaan (katso Taulukko 6.35)

  Vaihda alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) steriiliä letkuliitintä käyttäen.
- **Jos erotteluun vaaditaan enemmän kuin yksi litra puskuria:**

yksi tai kaksi plasmansiirtosarjaa puskuripussien yhdistämistä varten (katso Taulukko 6.35)

- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

TÄRKEÄÄ

Näytteen tietojen syöttämisen jälkeen (VAIHE 2) CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee alustuksen jätepussiin (Priming Waste Bag), solujen keräyspussiin (Cell Collection bag), negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) kerättävät tilavuudet. Jos nesteen laskennallinen tilavuus ylittää tavanomaisen 500 mL:n tilavuuden, pussien vaihtaminen on tarpeen seuraavien materiaalien yleiskatsauksen mukaisesti.

Yleiskatsaus tarvittavista materiaaleista

Solujen valmistelu	
Soluja yhteensä (valkosoluja)	≤40×10^9
Leimattuja soluja	≤12×10^9 CD4-positiivista solua ja ≤4×10^9 CD8-positiivista solua
Reagenssipullojen lukumäärä	1 pullo CliniMACS CD4 Reagent -reagenssia ja 1 pullo CliniMACS CD8 Reagent -reagenssia
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL
Plasmansiirtosarja	1

Taulukko 6.34: CD4-positiivisten ja CD8-positiivisten solujen valmisteluun tarvittavat materiaalit

Erottelu			
Leimattuja soluja	<5×10^9	5–13×10^9	>13–16×10^9
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	1 000 mL	2 000 mL	3 000 mL
Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag)	–	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.	Korvaa letkusarjan alkuperäiset pussit 1 000 mL:n siirtopusseilla.
Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag)	–		
Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag)	–	–	
Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)	1× 600 mL	1–2× 600 mL	2× 600 mL
Luer/Spike Interconnector	1	3	3
Plasmansiirtosarja	–	1–2	3

Taulukko 6.35: CD4-positiivisten ja CD8-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat materiaalit

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 88 g (±5 g)

1. Poista supernatantti näytteen säätämiseksi seuraavaa kaavaa käyttäen: Poistettavan supernatantin paino = laimennetun solutuotteen paino – leimaustilavuus
2. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD4 Reagent -reagenssin ja CliniMACS CD8 Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD4 Reagent -reagenssia ja 1 pullo CliniMACS CD8 Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

6.11.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

- **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**
- **Erotteluohjelman DEPLETION 2.1 valitseminen**
- **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.5 sivulla 139.

6.11.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.11.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.4 sivulla 195.

6.12 CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen rikastus – Osa 1: CD19-positiivisten solujen depleetio ja CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen leimaus

CliniMACS Plus CD1c (BDCA-1)-Biotin System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin, CliniMACS CD19 Reagent, CliniMACS Anti-Biotin Reagent, CliniMACS Tubing Set LS, CliniMACS Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu ihmisen CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen rikastamiseen *in vitro* heterogeenisesta hematologisesta solupopulaatiosta CD19-positiivisten solujen depleetion jälkeen.

6.12.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Depleetio enintään 5×10^9 CD19-positiivisella solulla ja leimaus enintään $0{,}2\times10^9$ Cd1c (BDCA-1) -positiivisella solulla populaatiosta, jossa on yhteensä enintään 40×10^9 solua (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin	277-01	1 pullo
CliniMACS CD19 Reagent	179-01	1 pullo
CliniMACS Tubing Set LS	162-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	2×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Ennen käyttöä lisää puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.36: CD1c (BDCA-1) -positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat CliniMACS-materiaalit (Osa 1)

Muut tarvittavat materiaalit (Osat 1 ja 2)

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  kaksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä kaksi näyteliitintä ja kolme plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **plasman jätepusseja (Plasma Waste Bag) ja pesujätepusseja (Wash Waste Bag):**
  viisi 600 mL:n sentrifugikäyttöön soveltuvaa siirtopussia
- **solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) (Part 1):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopiva 600 mL:n siirtopussi, joissa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan
- **solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) (Part 2):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopiva 150 mL:n siirtopussi, jossa on Luer/Spike Interconnector siirtopussin liittämiseksi letkusarjaan
- kaksi Pre-System Filters -suodatinta
- letkupihtejä

- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

Solujen magneettileimaus (Osa 1)

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 90 g (±5 g)

1. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
2. Säädä Osan 1 solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) painoa lisäämällä puskuria seuraavan kaavan mukaisesti: Täytetyn CPB:n tavoitepaino Osa 1= 90 g + tyhjän CPB:n paino
3. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS CD19 Reagent -reagenssin ja CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD19 Reagent -reagenssia ja 1 pullo CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä Osan 1 solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.

4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

6.12.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

- **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**
- **Erotteluohjelman DEPLETION 2.1 valitseminen**
- **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.5 sivulla 139.

6.12.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.12.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.4 sivulla 195.

6.13 CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen rikastus – Osa 2: Flexible Labeling System

CliniMACS Plus CD1c (BDCA-1)-Biotin System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD1c (BDCA-1)-Biotin, CliniMACS CD19 Reagent, CliniMACS Anti-Biotin Reagent, CliniMACS Tubing Set LS, CliniMACS Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu ihmisen CD1c-positiivisten (BDCA-1) solujen rikastamiseen *in vitro* heterogeenisesta hematologisesta solupopulaatiosta CD19-positiivisten solujen depleetion jälkeen.

6.13.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään $0{,}2\times10^9$ CD1c (BDCA-1) -positiivista solua yhteensä enintään 40×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS Anti-Biotin Reagent	173-01	1 pullo
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Ennen käyttöä lisää puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.37: CD1c (BDCA-1) -positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat CliniMACS-materiaalit (Osa 2)

Vaadittavat lisämateriaalit

Katso tarvittavat materiaalit osasta 1.

▶ **Pussien valmisteleminen**

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus (CD19-depletoitu solutuote (Osa 2))

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ **Siirrä CD19-depletoitu solujen aloitusnäyte Osan 2 solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)**

▶ **CD19-depletoitujen solujen aloitusnäytteen laimennus**

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – CD19-depletoidun solujen aloitusnäytteen paino

▶ Sentrifugointi

Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti näytteen säätämiseksi seuraavaa kaavaa käyttäen: Poistettavan supernatantin paino = laimennetun solutuotteen paino – leimaustilavuus
2. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Inkubaatio CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä Osan 2 solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Täytä Osan 2 solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
6. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
7. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti.
8. Suspendoi solupelletti uudelleen.
9. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

6.13.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle

▶ Erotteluohjelman ENRICHMENT 3.2 valitseminen

Katso kohta 7.2.4 sivulla 137.

6.13.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.13.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.3 sivulla 191.

6.14 CD304-positiivisten (BDCA-4) solujen rikastus

CliniMACS Plus CD304 (BDCA-4) System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent, CliniMACS Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD304 (BDCA-4) -positiivisten solujen rikastamiseen *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.14.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään $0{,}2\times10^9$ CD304 (BDCA-4) -positiivista solua yhteensä enintään 40×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent	278-01	1 pullo
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	4×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Ennen käyttöä lisää CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.38: CD304 (BDCA-4) -positiivisten solujen rikastukseen tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopiva 600 mL:n siirtopussi sekä yksi näyteliitin ja kolme plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **plasman jätepusseja (Plasma Waste Bag) ja pesujätepusseja (Wash Waste Bag):**
  viisi 600 mL:n sentrifugikäyttöön soveltuvaa siirtopussia
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  yksi 150 mL:n siirtopussi, jossa on Luer/Spike Interconnector solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittämiseksi letkusarjaan
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

Erotettujen solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = 600 g – solujen aloitusnäytteen paino

Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

Toista vaiheet "Solujen aloitusnäytteen laimennus" ja "Sentrifugointi" kahdesti.

1. Täytä yhteen siirtopussiin 600 g.
2. Sentrifugoi 300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])
3. Poista supernatantti.

Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) painoa lisäämällä puskuri seuraavan kaavan mukaisesti: Täytetyn CPB:n tavoitepaino = 95 g + tyhjän CPB:n paino.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

Inkubaatio CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD304 (BDCA-4) Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus 100 g:aan.

6.14.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

- **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**
- **Erotteluohjelman ENRICHMENT 3.2 valitseminen**

Katso kohta 7.2.4 sivulla 137.

6.14.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.14.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.3 sivulla 191.

6.15 TCRα/β-positiivisten solujen depleetio

CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS TCRα/β-Biotin, CliniMACS Anti-Biotin Reagent, CliniMACS Depletion Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen TCRα/β-positiivisten solujen depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.15.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään 24×10^9 TCRα/β-positiivista solua yhteensä enintään 60×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS TCRα/β-Biotin	701-48	1 pullo
CliniMACS Anti-Biotin Reagent	173-01	2 pulloa
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	Enintään 4×1 000 mL:n pussia[1]

1 Ennen käyttöä lisää CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.39: TCRα/β-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä yksi näyteliitin ja kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **plasman jätepusseja (Plasma Waste Bag) ja pesujätepusseja (Wash Waste Bag):**
  neljä sentrifugikäyttöön soveltuvaa 600 mL:n (tai 1 000 mL:n) siirtopussia
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  Yksi 600 mL:n solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) on asennettu valmiiksi CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjaan.
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

Määritä kaikkien TCRα/β-leimattujen solujen prosentuaalinen osuus/lukumäärä (mukaan lukien epäspesifit TCRα/β-sidokset, ei ainoastaan todelliset TCRα/β-positiiviset solut). Tätä lukua tarvitaan sovelluksen määrittämistä ja näytteen tietojen syöttämistä varten (katso VAIHE 2).

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

▶ Solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

▶ Sentrifugointi

1. Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])
2. Poista supernatantti.

▶ Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) painoa lisäämällä puskuri seuraavan kaavan mukaisesti: Täytetyn CPB:n tavoitepaino = 95 g + tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

▶ Solujen leimaus: inkubaatio CliniMACS TCRα/β-Biotin -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS TCRα/β-Biotin -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ Ylimääräisen konjugaatin poistaminen: toista tämä vaihe.

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti.

4. Suspendoi solupelletti uudelleen ja säädä paino 190 g:aan toisen pesun jälkeen.

▶ **Solujen magneettileimaus: inkubaatio CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssin kanssa**

1. Lisää 2 pulloa CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

▶ **Ylimääräisen reagenssin poistaminen**

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuudeksi 150 g. Suurinta valkosolupitoisuutta, $0{,}4\times10^9$ valkosolua/mL, suositellaan.

6.15.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**

▶ **Erotteluohjelman DEPLETION 3.1 valitseminen**

▶ **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.6 sivulla 144.

6.15.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ **CliniMACS Depletion Tubing Set**

Katso kohta 7.3.3 sivulla 169.

6.15.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.5 sivulla 199.

6.16 CD45RA-positiivisten solujen depleetio

CliniMACS Plus CD45RA System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS CD45RA Reagent, CliniMACS Depletion Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen CD45RA-positiivisten solujen depleetioon *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.16.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

Enintään 20×10^9 CD45RA-positiivista solua yhteensä enintään 50×10^9 solusta (valkosoluja)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS CD45RA Reagent	701-46	1 pullo
CliniMACS Depletion Tubing Set	261-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Ennen käyttöä lisää CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.40: CD45RA-positiivisten solujen depleetioon tarvittavat CliniMACS-materiaalit

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussit (Cell Preparation Bag):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä yksi näyteliitin ja kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **plasman jätepusseja (Plasma Waste Bag) ja pesujätepusseja (Wash Waste Bag):**
  kaksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia
- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  Yksi 600 mL:n solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) on asennettu valmiiksi CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjaan.
- yksi Pre-System Filter
- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia

TÄRKEÄÄ

Vaihtoehtoisena solujen aloituslähteenä voidaan käyttää CliniMACS Plus CD34 -erottelun muiden kuin kohdesolujen fraktiota. CliniMACS CD45RA -reagenssin käyttöä suositellaan vain CD45RA-positiivisia soluja normaalilla pitoisuusalueella (enintään 80 %) sisältäville solujen aloitusnäytteille. Korkeampia pitoisuuksia on havaittu muutamilla lahjoittajilla, joilla lähes kaikki PBMC:t ilmentävät CD45RA:a harvinaisen CD45-geenin mutaation vuoksi. Tällaisissa tapauksissa depleetion teho ja/tai palautuminen saattaa olla riittämätöntä.

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Solujen magneettileimaus

Tarkista seuraavien vaiheiden yksityiskohtaiset kuvaukset kohdasta 7.1 ”VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus” sivulla 117.

▶ Solujen aloitusnäytteen analysointi

Määritä kaikkien CD45RA-leimattujen solujen prosentuaalinen osuus/lukumäärä (mukaan lukien epäspesifit CD45RA-sidokset, ei ainoastaan todelliset CD45RA-positiiviset solut). Tätä lukua tarvitaan sovelluksen määrittämistä ja näytteen tietojen syöttämistä varten (katso VAIHE 2).

▶ Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

Erotettujen solujen aloitusnäytteen laimennus

Lisää puskuri: Lisättävän puskurin paino = solujen aloitusnäytteen paino × 2

Sentrifugointi

Sentrifugoi 200×g, jarruttamatta, 15 minuutin ajan huoneenlämmössä (huoneenlämpö: +19–25 °C [+66–77 °F])

Jos vaihtoehtoisena solujen aloituslähteenä käytetään CliniMACS CD34 -erottelun muita kuin kohdesoluja, laimentamisvaihe voidaan jättää välistä. Etene sentrifugivaiheeseen, ja sentrifugoi soluja 300×g (jarruttamatta) 15 minuuttia huoneenlämmössä.

Tilavuuden säätäminen: leimaustilavuus 95 g (±5 g)

1. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen.
2. Suspendoi solupelletti varovasti uudelleen, kun olet poistanut supernatantin.
3. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) painoa lisäämällä puskuri seuraavan kaavan mukaisesti: Täytetyn CPB:n tavoitepaino = 95 g + tyhjän CPB:n paino
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.

Inkubaatio CliniMACS CD45RA Reagent -reagenssin kanssa

1. Lisää 1 pullo CliniMACS CD45RA Reagent -reagenssia. Sekoita sisältöä varovasti.
2. Sekoita orbital-ravistelijalla (25 rpm) 30 minuutin ajan huoneenlämmössä.

Ylimääräisen reagenssin poistaminen

1. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) puskurilla.
2. Sentrifugoi (300×g, jarruttamatta, 15 minuuttia, huoneenlämmössä).
3. Poista supernatantti mahdollisimman tarkasti. **Huomautus:** Poista vähintään 500 g supernatanttia. Jos supernatanttia poistetaan alle 500 g, suositellaan kahta pesuvaihetta (vain yhden sijaan). Muussa tapauksessa sitoutumattoman reagenssin poistaminen saattaa olla riittämätöntä.
4. Suspendoi solupelletti uudelleen.
5. Säädä näytteen lataustilavuus. Laske puskurin paino, joka vaaditaan solususpension painon säätämiseksi noin 125 g:aan. Solupitoisuuden ei pidä ylittää arvoa $0{,}4\times10^9$ valkosolua/mL: Lisättävän puskurin paino (g) = 125 g – solutuotteen paino pesun jälkeen (g)

6.16.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

- **Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle**
- **Erotteluohjelman DEPLETION 3.1 valitseminen**
- **Näytemuuttujien syöttäminen**

Katso kohta 7.2.6 sivulla 144.

6.16.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

- **CliniMACS Depletion Tubing Set**

Katso kohta 7.3.3 sivulla 169.

6.16.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

- **Erottelutoimenpide**
- **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**
- **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**
- **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.5 sivulla 199.

6.17 Ihmisen IFN-gammaa erittävien solujen rikastaminen CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma) -järjestelmässä

CliniMACS Plus CCS (IFN-gamma) System ja siihen kuuluvat CliniMACS Plus Instrument, CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma), CliniMACS Tubing Set ja CliniMACS PBS/EDTA Buffer on tarkoitettu käytettäviksi ihmisen IFN-gammaa erittävien solujen rikastamiseen *in vitro* heterogeenisistä hematologisista solupopulaatioista.

6.17.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Ensimmäiset vaaditut toimenpiteet

Sovelluksen kapasiteetti

IFN-gammaa erittäviä soluja yhteensä enintään 1×10^9 (valkosolusta)

⚠ HUOMIO

Leimattujen solujen riittämättömän erottelun riski. Jos sovellukselle määritellyt enimmäismäärät ylitetään, spesifi leimaus saattaa olla riittämätöntä. Käytä kullekin sovellukselle vaadittuja solu- ja reagenssimääriä.

Vaaditut CliniMACS-materiaalit

Materiaali	Luettelo-numero	Lukumäärä
CliniMACS Plus Instrument	151-01	1
CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma)	279-01	1 sarja
CliniMACS Tubing Set	161-01	1 letkusarja
CliniMACS PBS/EDTA Buffer	700-25	3×1 000 mL:n pusseja[1]

1 Ennen käyttöä lisää CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

Taulukko 6.41: Ihmisen IFN-gammaa erittävien solujen rikastukseen tarvittavat CliniMACS-materiaalit

TÄRKEÄÄ

Säilytä solujen valmisteluun tarvittava puskuri viileässä +2–8 °C:ssa (+36–46 °F). Tätä korkeammat tai alhaisemmat ympäristön lämpötilat voivat johtaa kohdesolujen puhtauden tai viljelytuloksen heikkenemiseen.

Vaadittavat lisämateriaalit

- **Solujen valmistelupussit (Cell Preparation Bag):**
  kaksi sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia sekä kaksi näyteliitintä ja kaksi plasmansiirtosarjaa käytettäväksi solujen valmistelun aikana
- **plasman jätepusseja (Plasma Waste Bag) ja pesujätepusseja (Wash Waste Bag):**
  yhdeksän sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia
- **Medium Bag:**
  kahdeksan sentrifugikäyttöön sopivaa 600 mL:n siirtopussia
- **solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) (Part 2):**
  yksi sentrifugikäyttöön sopiva 150 mL:n siirtopussi, jossa on Luer/Spike Interconnector siirtopussin liittämiseksi letkusarjaan
- yksi kaasuja läpäisevä 100 mL:n solujen viljelypussi
- yksi Pre-System Filter

- letkupihtejä
- ruiskuja (eri kokoja) ja hypodermisiä 20 gaugen neuloja
- ihmisen seerumin albumiinia (HSA) lisättäväksi CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuriin lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)
- näyteputkia
- 120 mL AB-seerumia tai vaihtoehtoisesti autologista seerumia täydentämään käytettävää elatusainetta
- 1 000 mL solujen elatusainetta (RPMI 1640), +4 °C (+39 °F)
- 1 100 mL solujen elatusainetta (RPMI 1640), +37 °C (+99 °F), johon on lisätty 10 % (tilavuus/tilavuus) AB-seerumia, tai vaihtoehtoisesti autologista seerumia
- 500 mL solujen elatusainetta (RPMI 1640), +4 °C, (+39 °F), johon on lisätty 2 % (tilavuus/tilavuus) AB-seerumia, tai vaihtoehtoisesti autologista seerumia

▶ Vaadittavat laitteet

Katso lisätietoja CliniMACS Plus -erottamiseen tarvittavista varusteista kohdasta 4.7.

Muut tarvikkeet, joita tarvitaan CliniMACS Plus CCS (IFN-gamma) System -järjestelmää hyödyntävien sovellusten käyttöön:

- 24-kuoppainen soluviljelylevy
- MiniMACS Separation Unit
- MS Columns
- Esierottelusuodatin (vain MS Columns)
- MACSmix Tube Rotator

▶ Pussien valmisteleminen

Määritä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ja valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino kohdassa 7.1.1 sivulla 117 kuvattujen ohjeiden mukaisesti.

Huomautus: Esijäähdytä sentrifugi +4 °C:een (+39 °F). Eritysvaiheen jälkeen tarvitaan kolmas solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) solususpensioiden yhdistämiseksi. Merkitse sitä varten yksi neljästä 600 mL:n siirtopussista (sisältää 125 mL elatusainetta (RPMI), johon on lisätty 10 % AB-seerumia) **Solujen valmistelupussiksi nro 3 (Erottelu)**.

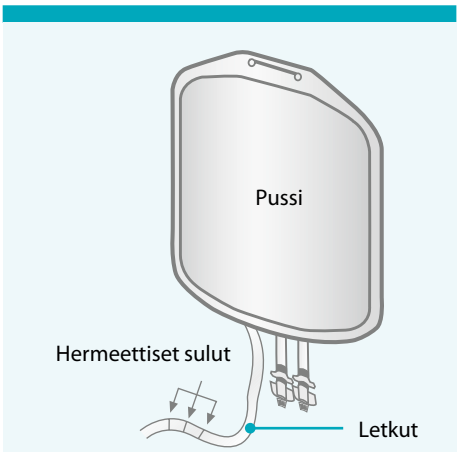
Solujen aloitusnäytteen erottelu

Seuraavissa kohdissa kuvataan suositeltu pussin sisäinen toimenpide solujen aloitusnäytteen valmistelemiseksi steriilin letkuliittimen avulla.

- Käyttäjän on tunnettava steriilin letkuliittimen toimintatapa ja osattava käyttää sitä.
- Varmista ennen solujen leimaamisen ja erottelun aloittamista, että kaikki tarvittavat välineet ja tarvikkeet ovat saatavilla.

Siirrä solujen aloitusnäyte solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1

1. Merkitse muistiin päivämäärä ja aloitusaika, ennen kuin alat valmistella solujen aloitusnäytettä.
2. Määritä alkuperäisen solujen aloitusnäytteen tilavuus siten, että 1 mL alkuperäistä tuotetta vastaa noin 1 g:aa (1 g $\triangleq$ 1 mL).
3. Pidä solujen aloitusnäytettä sisältävää pussia molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä.
4. Käytä steriiliä letkuliitintä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 liittämiseksi solujen aloitusnäytteen sisältävään pussiin.
5. Avaa letkupihdit vaaditun solujen aloitusnäytteen (sisältää enintään 1×10^9 solua, perustuen leukosyyttien aiemmin määritettyyn tiheyteen) painon siirtämiseksi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1. Varmista silmämääräisesti (vaakaa seuraamalla), että oikea paino on siirretty. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit.
6. Saumaa letku ja erota pussit, ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1 tulevia liitoksia varten (katso Kuva 6.1). Tee letkuun kolme vierekkäistä saumaa kuumasaumainta käyttäen Varmista, että saumat ovat yhtenäiset ja ehjät. Katkaise keskimmäisen sauman kohdalta. Säilytä solujen aloitusnäytteen sisältänyt pussi erottelun ja solujen lopullisen analyysin valmistumiseen asti.



Kuva 6.1: Pussin saumaaminen

7. Nollaa vaaka. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 1 vaa'alle, ja jätä letkut vaakatasoon pöydälle. Merkitse muistiin täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 paino.
8. Määritä solujen aloitusnäytteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 paino alkuperäisellä solujen aloitusnäytteellä täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 painosta. Merkitse muistiin laskemasi paino.

Solujen aloitusnäytteen paino (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 (g) paino	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 (g) paino

Solujen aloitusnäytteen laimennus

Solujen aloitusnäyte on laimennettava elatusaineella. Laimenna viileällä elatusaineella (+2–8 °C [+36–46 °F]) lopulliseen 500 mL:n tilavuuteen. Laske lisättävän elatusaineen paino seuraavan kaavan avulla ja merkitse muistiin.

Lisättävän elatusaineen paino (g)	=	500 g	–	Laimennetun solujen aloitusnäytteen paino (g)

1. Ota yksi elatusainepusseista (Medium Bag) ja liitä se solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1 steriilin letkuliittimen avulla.
2. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 1 vaa'alle ja nollaa vaaka. Ripusta elatusainepussi (Medium Bag) pussin ripustimeen.
3. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 vieressä olevat letkupihdit. Siirrä laskettu määrä elatusainetta solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1 ja seuraa samalla vaa'an lukemaa.
4. Kun oikea määrä elatusainetta on siirretty, sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi.
5. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1 tulevia liitoksia varten. Erota elatusainepussi (Medium Bag).
6. Pidä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) nro 1 molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä. Vältä solujen voimakasta sekoittamista.
7. Nollaa vaaka ja punnitse solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 1. Kirjaa paino.
8. Määritä laimennetun solujen aloitusnäytteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 paino täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Laimennettavan solujen aloitusnäytteen paino (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 (g) paino

⚠ VAROITUS

Kontaminaatioriski. Jos pussit eivät sovellu solujen valmisteluun tai jos niitä ei ole sijoitettu oikein sentrifugiastiaan, pussit voivat rikkoutua ja aiheuttaa kontaminaatioriskin. Käytä soveltuvia pusseja, taita pussien tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin, varmista, etteivät pussit vahingoitu ja sijoita pussit tukevasti sentrifugiastiaan.

⚠ HUOMIO

Heikentyneen solujen erottelutuloksen riski. Jos pusseja ei aseteta oikein sentrifugiastiaan, soluja saatetaan menettää supernatantin poiston yhteydessä. Taita pussien tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin ja sijoita pussit tukevasti sentrifugiastiaan.

Sentrifugointi

1. Liitä tyhjä plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) nro 1 steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1.
2. Taita solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin. Laita molemmat pussit tukevasti sentrifugiastiaan.
3. Tasapainota ladattu astia sopivasti painotetulla astialla. Sentrifugin tasapainottaminen oikein on erittäin tärkeää.
4. Sentrifugoi soluja 200×g (jarruttamatta) 10 minuuttia huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]).
5. Poista pussit sentrifugista ja huolehdi samalla, ettei solupelletti hajoa. Lataa solun valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 1 plasmanerottelijaan.
6. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 vieressä olevat letkupihdit. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen supernatantin poistamisen yhteydessä. Kun supernatantti on poistettu, sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi.
7. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1 tulevia liitoksia varten. Irrota plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) nro 1.
8. Toista laimennus ja sentrifugointi kylmällä elatusaineella ja plasman jätepussilla (Plasma Waste Bag) nro 2 valmistellun toisen elatusainepussin (Medium Bag) kanssa.
9. Säilytä plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) erottelun ja solujen lopullisen analyysin valmistumiseen saakka.

Tilavuuden säätäminen

1. Solujen *in vitro* uudelleenstimulointia varten solunäytteen tilavuudeksi täytyy olla säädetty 100 mL. Kun supernatantti on poistettu, suspendoi pelletti varovasti uudelleen.
2. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 painoa lisäämällä elatusaine. Laske lisättävän elatusaineen paino seuraavan kaavan avulla:

Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 paino (g) tilavuuden säätämisen jälkeen	=	100 g	+	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 paino (g)

3. Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 1 steriilin letkuliittimen avulla valmisteltuun elatusainepussiin (Medium Bag 10 %) (sisältää 600 mL esilämmitettyä elatusainetta, johon on lisätty 10 % AB-seerumia). Ripusta Medium Bag 10 % pussin ripustimeen.
4. Nollaa vaaka. Aseta vaa'alle solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 1, joka sisältää pelletin.
5. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 vieressä olevat letkupihdit. Täytä solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 1 elatusainetta, kunnes laskettu arvo "Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 paino tilavuuden säätämisen jälkeen" on saavutettu. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi.
6. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten. Erota Medium Bag 10 %.
7. Käytä steriiliä letkuliitintä täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 liittämiseksi 100 mL:n kaasuja läpäisevään viljelypussiin. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 1 vieressä olevat letkupihdit ja siirrä sisältö kokonaan.

⚠ HUOMIO

Heikentyneen suorituskyvyn riski. Jos pussit eivät sovellu solujen valmisteluun, rikkoutuneet pussit voivat aiheuttaa kontaminaatioriskin. Käytä kaasua läpäiseviä viljelypussеja, jotka soveltuvat solujen valmisteluun.

Solujen leimaaminen

Yksi CliniMACS Cytokine Capture System (IFN-gamma), joka koostuu kahdesta pullosta (kukin 7,5 mL), on käyttövalmis ja riittää yhtä alla kuvattua sovellusta varten. Reagensseja ei saa antaa parenteraalisesti.

Kohdenäyte ja kontrollinäyte

Ohjeissa kuvataan kohdenäytteen ja kontrollinäytteen leimaustoimenpide. Molempia näytteitä käsitellään samanaikaisesti, kontrollinäytettä täsmälleen samoin kuin kohdenäytettä, mutta ilman antigeenin lisäämistä. Näin ollen kontrollinäytteiden analyysi tarjoaa tietoa spontaanista sytokiinierityksestä.

In vitro uudelleenstimulointi

TÄRKEÄÄ

- *Pieni negatiivinen kontrollinäyte (kontrollinäyte), joka on käsitelty samoin kuin antigeenistimuloitu kohdenäyte antigeenin lisäämistä lukuun ottamatta, on otettava spontaanin sytokiinierityksen mittaamista varten.*
- *Optimaalinen solutiheys uudelleenstimulointiin in vitro on 0,5–1×10^9 solua/cm^2 ja 1×10^9 solua/mL.*

1. Ota steriilillä ruiskulla (1 mL), jossa on 20 gaugen neula, pieni määrä (esim. 1 mL = noin 1×10^9 solua) soluja **kontrollinäytettä varten (stimuloimaton)**.
2. Viljele kontrollinäytteen soluja optimaalisissa olosuhteissa 24-kuoppaisen soluviljelylevyn yhdessä kuopassa.
3. Injektoi antigeeniä kaasuja läpäisevässä viljelypussissa oleviin soluihin **(kohdenäyte)** ennalta määritellynä pitoisuutena yhden portin kautta ruiskua käyttäen.
4. Inkuboi molempia näytteitä inkubaattorissa +37 °C:ssa (+99 °F) ja 5–7,5 % CO^2-pitoisuudessa sopiva aika. Jos antigeeneinä käytetään proteiineja tai solulysaatteja, inkubaatioaika on 4–16 tuntia. Peptideillä inkubaatioaika on 3–6 tuntia. Koska antigeenin spesifit ominaisuudet vaikuttavat optimaaliseen stimulaatioaikaan, Miltenyi Biotec suosittelee validoituja toimenpiteitä parhaiden tulosten saavuttamiseksi.

Leimaus CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent -reagenssin avulla

Kirjaa CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent -reagenssin eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä.

Kohdenäyte

TÄRKEÄÄ

Eritysvaihetta varten valitun astian on oltava riittävän suuri, jotta siihen voidaan lisätä vähintään 1 tilavuus kylmäpuskuria eritysvaiheen lopussa. Solujen tiheys ei saa ylittää arvoa 1×10^6 solua/mL. Näin ollen eritystä varten on inkuboitava 1×10^9 solua 1 000 mL:ssa lämmintä elatusainetta.

1. Käytä steriiliä letkuliitintä viljelypussin liittämiseksi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2 (Eritys), ja siirrä solut. Varmista, että siirrät solut kokonaan solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 2 vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi.
2. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2 tulevia liitoksia varten. Irrota tyhjä viljelypussi.
3. Käytä steriiliä letkuliitintä valmistellun Medium Bag 2 % -pussin (sisältää 500 mL kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) elatusainetta, johon on lisätty 2 % AB-seerumia) liittämiseksi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2.
4. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 2 vieressä olevat letkupihdit. Täytä solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2 enintään 600 mL. Kun oikea määrä elatusainetta on siirretty, sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 2 vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi.
5. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2 tulevia liitoksia varten. Erota Medium Bag 2 %.

6. Liitä tyhjä plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) nro 1 kuumasaumainta käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2.
7. Taita pussin tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin. Laita molemmat pussit tukevasti sentrifugiastiaan.
8. Tasapainota ladattu astia sopivasti painotetulla astialla. Sentrifugin tasapainottaminen oikein on erittäin tärkeää.
9. Sentrifugoi soluja 300×g (jarruttamatta) 10 minuuttia +4–8 °C:ssa (+39–46 °F).
10. Laita solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 2 plasmanerottelijaan. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 2 vieressä olevat letkupihdit. Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet hajota solupellettiä. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 2 vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi.
11. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2 tulevia liitoksia varten. Irrota pesujätepussi (Wash Waste Bag) nro 1.
12. Suspendoi solupelletti uudelleen jäännöstilavuuteen, kun olet poistanut supernatantin.
13. Kiinnitä näyteliitin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2 ja desinfioi septum. Vedä 7,425 mL CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent -reagenssia pullosta soveltuvalla steriilillä ruiskulla ja neulalla. Yksi 10 mL:n ruisku riittää yhden reagenssipullon sisällön siirtämiseen. Ruiskussa on oltava 20 gaugen neula.
14. Pidä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) nro 2 molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä.
15. Injektoi koko reagenssin tilavuus näyteliittimen injektioportin kautta solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2. Varo, ettet pistä reikää pussiin.
16. Suspendoi solut uudelleen ja inkuboi niitä 5 minuuttia jäässä. Kirjaa inkubaatioaika.

Kontrollinäyte (stimuloimaton)

1. Siirrä solut 15 mL:n suljettavaan putkeen.
2. Lisää kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) elatusainetta, johon on lisätty 2 % AB-seerumia enintään 15 mL.
3. Sentrifugoi soluja 300×g (jarruttamatta) 10 minuuttia +4–8 °C:ssa (+39–46 °F) ja poista supernatantti varovasti kokonaan.
4. Suspendoi solupelletti 100 µL:aan kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) elatusainetta, johon on lisätty 2 % AB-seerumia.
5. Lisää jäljellä oleva 75 µL CliniMACS IFN-gamma Catchmatrix Reagent, ja inkuboi suspensiota 5 minuuttia jäässä.

Eritysvaihe

Kohdenäyte

1. Ota neljä esitäytettyä siirtopussia (mukaan lukien merkitty solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 3), jotka sisältävät 125 mL lämmintä (+37 °C [+99 °F]) elatusainetta, johon on lisätty 10 % AB-seerumia.
2. Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) nro 2 steriilin letkuliittimen avulla valmisteltuun elatusainepussiin (Medium Bag 10 %) (sisältää esilämmitettyä (+37 °C [+99 °F]) elatusainetta, johon on lisätty 10 % AB-seerumia).
3. Lisää 500 mL esilämmitettyä elatusainetta solujen valmistelupussissa (Cell Preparation Bag) nro 2 olevaan solunäytteeseen. Aloita välittömästi 45 minuutin inkubaatioajan mittaaminen.
4. Siirrä 125 mL tätä solususpensiota kuhunkin neljään siirtopussiin sarjakiinnittämällä siirtopussit solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 2 steriiliä letkuliitintä käyttäen. Seuraa vaa'an lukemaa samalla, kun siirrät oikean määrän solususpensiota. Tuloksena on yhteensä 250 g solususpensiota kussakin neljässä siirtopussissa. Siirtämisen jälkeen saumaa letkut kuumasaumaimen avulla siirtopussien irrottamista varten.
5. Inkuboi soluja +37 °C:ssa (+99 °F) vielä 45 minuutin ajan jatkuvassa hitaassa rotaatiossa (enintään 50 rpm) inkubaatioajan loppuun saakka. Kirjaa inkubaatioaika.
6. Ota plasmansiirtosarja ja varmista, että kiristin on suljettu. Työnnä plasmansiirtosarjan piikki puskuripussin porttiin.
7. 45 minuutin kuluttua liitä puskuripussi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 steriilin letkuliittimen avulla. Lisää kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) puskuria kuhunkin neljään siirtopussiin (vähintään yksi tilavuus, 250 mL kuhunkin) sarjakiinnittämällä siirtopussit puskuripussiin. Anna solujen jäähtyä asettamalla ne jäähän 10 minuutiksi.
8. Liitä steriilin letkuliittimen avulla yksi pesujätepussi (Wash Waste Bag, nro 2–5) kuhunkin neljästä siirtopussista.
9. Sentrifugoi soluja 300×g (jarruttamatta) 10 minuuttia +4 °C:ssa (+39 °F). Poista supernatantti kokonaan kaikista pusseista plasmanerottelijan avulla.
10. Sulje kunkin pussin letku kuumasaumaimen avulla. Irrota pesujätepussit (Wash Waste Bag).
11. Ota plasmansiirtosarja ja varmista, että kiristin on suljettu. Työnnä plasmansiirtosarjan piikki puskuripussin porttiin.
12. Liitä puskuripussi steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3.
13. Liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin auki ja lisää solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 puskuria 200 mL.
14. Kun oikea määrä puskuria on siirretty, pysäytä nestevirtaus liu'uttamalla plasmansiirtosarjan kiristin kiinni.

15. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3. Erota puskuripussi.
16. Kiinnitä yksi kolmesta soluja sisältävästä siirtopussista solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 steriilin letkuliittimen avulla ja yhdistä molemmat suspensiot.

    TÄRKEÄÄ
    Erotetut näytteet on yhdistettävä solujen valmistelupussissa (Cell Preparation Bag) nro 3 ennen sentrifugointia.
17. Toista, kunnes kaikkien neljän siirtopussin sisältämä solususpensio on yhdistettu solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3.
18. Kun solut on jälleen yhdistetty, liitä puskuripussi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 steriilin letkuliittimen avulla.
19. Liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin auki. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) enintään 500 mL:aan lisäämällä puskuria.
20. Kun oikea määrä puskuria on siirretty, pysäytä nestevirtaus liu'uttamalla plasmansiirtosarjan kiristin kiinni. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 3 vieressä olevat letkupihdit.
21. Saumaa Sulje kiristimien välissä oleva letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 tulevia liitoksia varten. Erota puskuripussi.
22. Liitä tyhjä pesujätepussi (Wash Waste Bag) nro 6 steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3.
23. Taita solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 3 tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin. Laita molemmat pussit tukevasti sentrifugiastiaan.
24. Tasapainota ladattu astia sopivasti painotetulla astialla. Sentrifugin tasapainottaminen oikein on erittäin tärkeää.
25. Sentrifugoi soluja 300×g (jarruttamatta) 10 minuuttia +4 °C:ssa (+39 °F).

Kontrollinäyte (stimuloimaton)

1. Lisää lämmintä (+37 °C [+99 °F °F]) elatusainetta, johon on lisätty 10 % AB-seerumia, näytteen laimentamiseksi enintään pitoisuuteen 1×10^6 solua/mL, ts. yhteensä 10 mL on käytettävä 1×10^9 solulle.
2. Inkuboi soluja suljetussa putkessa 45 minuuttia +37 °C:ssa (+99 °F) MACSmix Tube Rotatorissa hitaassa jatkuvassa rotaatiossa (enintään 50 rpm).
3. 45 minuutin kuluttua täytä putki kylmällä (+4 °C [+39 °F]) puskurilla, ja laita putki jäähän 5–10 minuutiksi.
4. Sentrifugoi soluja 300×g (jarruttamatta) 10 minuuttia +4–+8 °C:ssa (+39–46 °F).

Solujen magneettileimaus CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent -reagenssilla

Kirjaa CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent -reagenssin eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä.

Kohdenäyte

1. Poista supernatantti huolellisesti sentrifugivaiheen jälkeen plasmanerottelijan avulla, kuten edellä on kuvattu, ja suspendoi jäännöstilavuus uudelleen. Poistamisen jälkeen sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 3 vieressä olevat letkupihdit.
2. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 tulevia liitoksia varten. Irrota pesujätepussi (Wash Waste Bag) nro 6.
3. Kiinnitä näyteliitin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 ja desinfioi septum. Vedä 7,425 mL CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent -reagenssia pullosta soveltuvalla steriilillä ruiskulla ja neulalla. Yksi 10 mL:n ruisku riittää yhden reagenssipullon sisällön siirtämiseen. Ruiskussa on oltava 20 gaugen neula.
4. Injektoi reagenssi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 näyteliittimen injektioporttia käyttäen. Varmista, ettet pistä reikää pussiin. Aloita välittömästi 15 minuutin inkubaatioajan mittaus. Merkitse inkubaation aloitusaika muistiin.
5. Pidä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä.
6. Inkuboi soluja 15 minuuttia jäässä. Kirjaa inkubaation lopetusaika.
7. Liitä puskuripussi steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3.
8. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 3 vieressä olevat letkupihdit. Liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin auki. Täytä solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3 enintään 50 mL kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) puskuria.
9. Kun oikea määrä puskuria on siirretty, liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin kiinni. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) nro 3 vieressä olevat letkupihdit. Sulje molempien kiristimien välissä oleva letku kuumasaumaimen avulla. Erota puskuripussi.
10. Liitä tyhjä pesujätepussi (Wash Waste Bag) nro 7 steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) nro 3.
11. Taita pussin tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin. Laita molemmat pussit tukevasti sentrifugiastiaan.
12. Tasapainota ladattu astia sopivasti painotetulla astialla. Sentrifugin tasapainottaminen oikein on erittäin tärkeää.
13. Sentrifugoi 300×g (jarruttamatta) 10 minuuttia +4 °C:ssa (+39 °F).

14. Poista supernatantti huolellisesti edellä annettujen ohjeiden mukaisesti, ja suspendoi solut uudelleen 100 mL:aan kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) puskuria.
15. Desinfioi näyteliittimen septum. Työnnä soveltuvaan ruiskuun liitetty neula solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) näyteliittimeen, ja poista 0,5 mL leimattua tuotetta. Varmista, ettet pistä reikää pussiin. Siirrä näyte näyteputkeen. Merkitse putkeen ALKUPERÄINEN KOHDENÄYTE (sekä potilaan tunnistetiedot).

    TÄRKEÄÄ
    Varmista, että solut on sekoitettu huolellisesti ennen näytteen ottamista. Riittävän näytetilavuuden varmistamiseksi käytä ruiskua, jonka tilavuus on vähintään 5 mL.
16. Säilytä analysoitavaa solunäytettä kylmässä (+2–8 °C [+36–46 °F]).

Kontrollinäyte (stimuloimaton)

1. Poista supernatantti huolellisesti sentrifugoinnin jälkeen.
2. Suspendoi solut uudelleen 100 µL:aan kylmää puskuria (+2–8 °C [+36–46 °F]).
3. Lisää 75 µL jäljellä olevasta CliniMACS IFN-gamma Enrichment Reagent -reagenssista.
4. Inkuboi soluja 15 minuuttia jäässä.
5. Täytä astia kylmällä puskurilla (+2–8 °C [+36–46 °F]) ja sentrifugoi 300×g (jarruttamatta) 10 minuuttia +4 °C:ssa (+39 °F).
6. Poista supernatantti huolellisesti, ja suspendoi solut uudelleen 1 mL:aan kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) puskuria.
7. Poista pieni näyte (noin 100 µL) solususpensiosta ja siirrä se ennen erottelua putkeen, jossa on merkintä ALKUPERÄINEN KONTROLLINÄYTE. Säilytä viileässä analyysiin saakka.

Magneettierottelu

Kohdenäyte

Kohdenäytteen magneettierottelu tapahtuu CliniMACS Plus Instrument -laitteessa. Kun erottelu on valmis, käsittele kontrollinäyte alla olevien ohjeiden mukaisesti.

Kontrollinäyte (stimuloimaton)

1. Valmistele kaksi MS Columns -pylvästä huuhtelemalla ne 500 µL:lla kylmää (+2–8 °C [+36–46 °F]) puskuria, ja hävitä huuhteluneste.
2. Aseta ensimmäinen pylväs MiniMACS Separatorin magneettikenttään.
3. Poista kokkareet viemällä solut esierottelusuodattimen läpi.
4. Lisää solususpensio pylvääseen.

5. Kerää lopuksi kaikki neste (joka sisältää leimaamattoman solufraktion). Pese pylväs lisäämällä siihen 500 µL kylmää puskuria. Suorita yhteensä kolme pesuvaihetta lisäämällä vähitellen 500 µL pylvääseen, kun pylvään säiliö on tyhjä.
6. Poista pylväs erottelijasta, laita toinen pylväs erottelijaan ja ensimmäinen pylväs toisen pylvään päälle.
7. Pipetoi 1 mL kylmää puskuria ensimmäiseen pylvääseen. Huuhtele magneettilaimettu solufraktio välittömästi pois painamalla pylvään mukana toimitettua mäntää suoraan toiseen pylvääseen.
8. Kerää leimaamattomat, pylvään läpi virtaavat solut, ja pese pylväs 500 µL:lla kylmää puskuria. Suorita yhteensä kolme pesuvaihetta lisäämällä vähitellen 500 µL pylvääseen, kun pylvään säiliö on tyhjä.
9. Poista toinen pylväs erottelijasta ja laita se soveltuvaan keräysputkeen, jossa on positiivisen fraktion merkintä.
10. Pipetoi 0,5 mL kylmää puskuria pylvääseen. Huuhtele magneettilaimettu solufraktio välittömästi ulos painamalla pylvään mukana toimitettua mäntää.
11. Pidä kohdesolufraktio kylmässä analyysiin asti.

6.17.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

▶ **Erotteluohjelman ENRICHMENT 3.2 valitseminen**

Katso kohta 7.2.4 sivulla 137.

6.17.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

▶ **CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat**

Katso kohta 7.3.1 sivulla 149.

6.17.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

▶ **Erottelutoimenpide**

▶ **Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin**

▶ **Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen**

▶ **Solujen analysoiminen**

Katso kohta 7.4.3 sivulla 191.

7 VAIHEIDEN 1–4 yksityiskohtainen kuvaus

7.1 VAIHE 1: Solujen valmisteleminen ja magneettileimaus

Tässä luvussa kuvataan yksityiskohtaisesti solujen erotteluun kuuluvat toimenpiteet CliniMACS Plus -järjestelmässä.

7.1.1 Ensimmäiset toimenpiteet

Tarkista kutakin sovellusta varten vaadittavat materiaalit kyseistä sovellusta koskevasta kohdasta (katso kohta 5.2 sivulla 37).

CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskurin valmisteleminen

CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuri, joka sisältää ihmisseerumialbumiinia lopullisessa 0,5 %:n pitoisuudessa (paino/tilavuus)

Pussien valmisteleminen

Tarkista vaadittavat pussit kutakin sovellusta käsittelevästä kohdasta:

- **Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag):** Työnnä näyteliitin (tai vastaava) solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) ulkoporttiin. Aseta letkupihdit letkuun lähelle pussia, ja sulje ne. Punnitse tyhjä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) siten, että letkupihdit sijaitsevat pussin vieressä ja letku roikkuu pöydällä vaa'an vieressä. Kirjaa paino.

  TÄRKEÄÄ
  Huomioi solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) punnitessasi, että letkun pituus voi vaihdella valmisteluprosessin eri vaiheissa. Täsmällisen lukeman saamiseksi varmista, että letkupihdit sijaitsevat aina pussin lähellä vaa'alla, ja että muu osa letkusta on pöydällä vaa'an vieressä.

- **Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag):**
  - CliniMACS Tubing Set / CliniMACS Tubing Set LS: Työnnä Luer/Spike Interconnector (tai vastaava) solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ulkoporttiin. Aseta letkupihdit letkuun lähelle pussia, ja sulje ne. Punnitse tyhjä solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) siten, että letkupihdit sijaitsevat pussin vieressä ja letku roikkuu pöydällä vaa'an vieressä. Kirjaa paino.
  - CliniMACS Depletion Tubing Set: Letkusarjaan on kiinnitetty valmiiksi yksi solujen keräyspussi (Cell Collection Bag). Työnnä Luer/Spike Interconnector (tai vastaava) solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) ulkoporttiin. Aseta

letkupihdit letkuun lähelle pussia, ja sulje ne. Punnitse tyhjä solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) siten, että letkupihdit sijaitsevat pussin vieressä ja letku roikkuu pöydällä vaa'an vieressä. Kirjaa paino.

7.1.2 Solujen magneettileimaus

Seuraavissa kohdissa kuvataan suositeltu pussin sisäinen toimenpide solutuotteen valmistelemiseksi steriilin letkuliittimen avulla.

- Käyttäjän on tunnettava steriilin letkuliittimen toimintatapa ja osattava käyttää sitä.
- Varmista ennen solujen leimaamisen ja erottelun aloittamista, että kaikki tarvittavat välineet ja tarvikkeet ovat saatavilla.

TÄRKEÄÄ

- *Solujen käsittelyn on tapahduttava aina steriilissä ympäristössä (esim. vetokaapissa) aseptista tekniikkaa käyttäen. Letkujen liittäminen steriilin letkuliittimen avulla voidaan tehdä vetokaapin ulkopuolella.*
- *Valmistele näyte ja erottele solut lämpötilassa, joka on mainittu sovellusta käsittelevässä kohdassa. Tätä korkeammat tai alhaisemmat lämpötilat voivat johtaa kohdesolujen puhtauden tai viljelytuloksen heikkenemiseen.*

Lyhyesti kuvattuna solujen magneettileimaus koostuu seuraavista vaiheista:

1. solujen aloitusnäytteen analysointi
2. solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)
3. solujen aloitusnäytteen laimennus
4. sentrifugointi
5. koskee vain CliniMACS Plus Anti-Biotin System- ja CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System -järjestelmiä: solujen leimaus (inkubaatio primäärisen vasta-aineen / CliniMACS TCRα/β-Biotin -reagenssin kanssa) ja ylimääräisen konjugaatin poistaminen (1. pesu)
6. tilavuuden säätäminen
7. koskee vain CliniMACS Plus CD3- ja CD3/CD19 -järjestelmiä: inkubaatio lääketieteellisen immunoglobuliinin kanssa
8. solujen magneettileimaus (inkubaatio CliniMACS-reagenssin kanssa)
9. ylimääräisen reagenssin poistaminen
10. tilavuuden säätäminen solujen erottelua varten

Solujen aloitusnäytteen analysointi

Määritä seuraavat muuttujat, ennen kuin alat valmistella solujen aloitusnäytettä:

- leukosyyttien kokonaismäärä
- leimattavien solujen prosentuaalinen osuus
- leimattavien leukosyyttien kokonaismäärä
- viabiliteetti

Varmista, että sovelluskohtaisia rajoituksia noudatetaan.

Tarkista muuttujat uudelleen leimaustoimenpiteen jälkeen. Tämä on tarpeen vaiheittaisen lataamisen ohjelmissa (ENRICHMENT 1.1/DEPLETION 2.1/DEPLETION 3.1), sillä seuraavat kolme näytemuuttujaa on syötettävä CliniMACS Plus Instrument -laitteen ohjelmiston asetuksiin ennen letkusarjan asentamista laitteeseen:

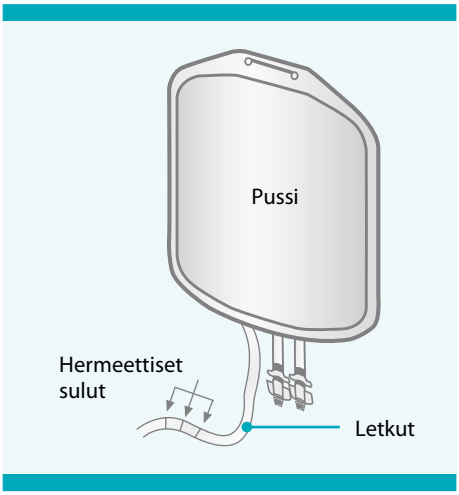
- leukosyyttipitoisuus, mL
- leimattavien solujen prosentuaalinen osuus
- solunäytteen lopullinen tilavuus (näytteen lataustilavuus)

Muita testejä saatetaan vaatia käyttötarkoituksesta riippuen (esim. T-solujen lukumäärä, fenotyyppi). Kirjaa ylös kaikki tiedot.

Solujen aloitusnäytteen siirtäminen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag)

1. Kirjaa ylös päivämäärä ja aloitusaika, ennen kuin alat valmistella solujen aloitusnäytettä.
2. Määritä solujen aloitusnäytteen tilavuus olettaen, että 1 mL solujen aloitusnäytettä painaa noin 1 g (1 g $\triangleq$ 1 mL).
3. Pidä solujen aloitusnäytteen sisältävää pussia molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä.
4. Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) alkuperäiseen solujen aloitusnäytteeseen steriiliä letkuliitintä käyttäen.
5. Avaa letkupihdit solujen aloitusnäytteen siirtämiseksi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Käytä letkupuristimia mahdollisten verijäämien poistamiseksi letkuista. Sulje letkupihdit mahdollisimman lähellä pussia.

6. Saumaa letku ja erota pussit, ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten (katso Kuva 7.1). Tee letkuun kolme vierekkäistä saumaa kuumasaumainta käyttäen Varmista, että saumat ovat yhtenäiset ja ehjät. Katkaise keskimmäisen sauman kohdalta. Säilytä alkuperäinen leukafereesi/solujen aloitusnäytteen pussi, kunnes erottelu ja solujen lopullinen analyysi ovat valmiit.



Kuva 7.1: Pussin saumaaminen.

7. Desinfioi näyteliittimen septum näytteen ottamista varten. Sekoita pussin sisältö. Työnnä soveltuvaan ruiskuun liitetty neula solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) näyteliittimeen, ja vedä 0,5 mL. Siirrä näyte näyteputkeen. Merkitse putkeen LEUKAFEREESI/SOLUJEN ALOITUSNÄYTE (sekä potilaan tunnistetiedot), ja säilytä solujen analyysia varten.

   TÄRKEÄÄ
   Varmista, että solujen aloitusnäyte on sekoitettu huolellisesti ennen näytteen ottamista. Riittävän näytetilavuuden varmistamiseksi käytä ruiskua, jonka tilavuus on vähintään 5 mL.

8. Nollaa vaaka. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) vaa'alle, ja anna letkujen maata pöydällä. Kirjaa paino.

9. Määritä solujen aloitusnäytteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino solujen aloitusnäytteellä täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Solujen aloitusnäytteen paino (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)

Solujen aloitusnäytteen laimennus

Tarkista vaadittu laimennussuhde kutakin sovellusta koskevasta kohdasta.

Solujen aloitusnäyte on laimennettava CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskurilla (johon on lisätty ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus)) ennen magneettileimausta. Laske lisättävän puskurin tilavuus käyttämällä yhtä seuraavista kaavoista (1 tai 2), sovelluksesta riippuen, ja merkitse arvo muistiin.

(1) Lisättävän puskurin paino (g)	=	600 g	–	Solujen aloitusnäytteen paino (g)
(2) Lisättävän puskurin paino (g)	=	Solujen aloitusnäytteen paino (g)	×	2

1. Ota plasmansiirtosarja ja varmista, että kiristin on suljettu. Työnnä plasmansiirtosarjan piikki puskuripussin porttiin.
2. Liitä puskuripussi steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Ripusta puskuripussi pussin ripustimeen.
3. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) vaa'alle ja nollaa vaaka.
4. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin auki. Siirrä laskettu painomitta puskuria solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) ja seuraa samalla vaa'an lukemaa.
5. Kun oikea määrä puskuria on siirretty, pysäytä nestevirtaus liu'uttamalla plasmansiirtosarjan kiristin kiinni. Sulje letkupihdit mahdollisimman lähellä pussia.
6. Saumaa kiristimen ja letkupihtien välissä oleva letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten. Erota puskuripussi.
7. Pidä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä. Vältä solujen voimakasta sekoittamista.
8. Nollaa vaaka, ja punnitse täytetty solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag). Kirjaa paino.
9. Määritä laimennetun solujen aloitusnäytteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Laimennetun solujen aloitusnäytteen paino (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)

Sentrifugointi

⚠ VAROITUS

Kontaminaatioriski. Jos pussit eivät sovellu solujen valmisteluun tai jos niitä ei ole sijoitettu oikein sentrifugiastiaan, pussit voivat rikkoutua ja aiheuttaa kontaminaatioriskin. Käytä soveltuvia pusseja, taita pussien tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin, varmista, etteivät pussit vahingoitu ja sijoita pussit tukevasti sentrifugiastiaan.

⚠ HUOMIO

Heikentyneen solujen erottelutuloksen riski. Jos pusseja ei aseteta oikein sentrifugiastiaan, soluja saatetaan menettää supernatantin poiston yhteydessä. Taita pussien tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin ja sijoita pussit tukevasti sentrifugiastiaan.

1. Liitä tyhjä plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag).
2. Taita solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin. Laita molemmat pussit tukevasti sentrifugiastiaan.
3. Tasapainota ladattu astia sopivasti painotetulla astialla. Sentrifugin tasapainottaminen oikein on erittäin tärkeää.
4. Sentrifugoi kaikki solut sovelluskohtaisten ohjeiden mukaisesti. Kirjaa ylös sentrifugiasetukset.
5. Poista pussit sentrifugista ja huolehdi samalla, ettei solupelletti hajoa. Lataa solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) plasmanerottelijaan, ja aseta liitetty jätepussi (Waste Bag) pöytävaa'alle.

Tilavuuden säätäminen

Solujen magneettileimauksessa solutuotteen optimaalinen paino riippuu valitusta sovelluksesta. Tarkista leimaustilavuus kyseistä sovellusta käsittelevästä kohdasta.

Sovelluksesta riippuen saattaa olla tarpeellista joko poistaa vain osa supernatantista halutun leimaustilavuuden saavuttamiseksi (räätälöity supernatantin poisto) tai poistaa supernatantti kokonaan ja lisätä puskuria halutun leimaustilavuuden saavuttamiseksi (täydellinen supernatantin poisto). Tarkista sopiva vaihtoehto kutakin sovellusta koskevasta kohdasta ja jatka sen mukaisesti.

TÄRKEÄÄ

- *Pidä jatkuvasti kiinni plasmanerottelijan vapautuskahvasta ja varmista, että solujen valmistelupussin vieressä olevat letkupihdit ovat auki ennen siirtämisen aloittamista. Vapauta erottelijan kahva hitaasti.*
- *Varo poistamasta soluja supernatantin poistamisen yhteydessä.*

Räätälöity supernatantin poistaminen

Laske seuraavan kaavan avulla poistettavan supernatantin paino näytteen säätämiseksi oikeaan leimaustilavuuteen:

Poistettavan supernatantin paino (g)	=	Solutuotteen paino pesun jälkeen (g)	–	Leimaustilavuus (g)

Kirjaa ylös poistettavan supernatantin paino.

1. Aseta tyhjä plasmajätepussi (Plasma Waste Bag) tai pesujätepussi (Wash Waste Bag) nro 1 vaa'alle ja nollaa vaaka.

2. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Seuraa vaa'an lukemaa samalla, kun poistat supernatanttia plasmanerottelijan avulla. Poista ylimääräistä supernatanttia varovasti, kunnes laskettu "poistettavan supernatantin paino" saavutetaan.
3. Kun oikea määrä supernatanttia on poistettu, sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi. Kirjaa ylös poistetun supernatantin paino.
4. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten. Irrota plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) tai pesujätepussi (Wash Waste Bag) nro 1.
5. Suspendoi solut varovasti takaisin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Vältä solujen voimakasta sekoittamista. Varmista, että suspendoit kaikki solut.
6. Nollaa vaaka, ja punnitse täytetty solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag). Kirjaa paino.
7. Määritä laimentamisen jälkeinen solutuotteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Solutuotteen paino tilavuuden säätämisen jälkeen (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)

8. Säilytä plasman jätepussia (Plasma Waste Bag) tai pesujätepussia (Wash Waste Bag) erottelun ja solujen lopullisen analyysin valmistumiseen asti.

Täydellinen supernatantin poistaminen

Poista supernatantti kokonaan varmistaen samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen supernatantin poistamisen yhteydessä. Kun supernatantti on poistettu, sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit nesteen virtauksen pysäyttämiseksi. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten. Irrota plasman jätepussi (Plasma Waste Bag). Suspendoi pelletti varovasti uudelleen.

Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painoa lisäämällä puskuria. Laske laimennetulla solutuotteella täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag, CPB) tavoitepaino seuraavan kaavan avulla:

Pestyllä solutuotteella täytetyn CPB:n tavoitepaino (g)	=	Leimaustila-vuus (g)	+	Tyhjän CPB:n paino (g)

1. Työnnä plasmansiirtosarjan piikki puskuripussin porttiin. Varmista, että plasmansiirtosarjan kiristin on suljetussa asennossa.
2. Liitä puskuripussi steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Ripusta puskuripussi pussin ripustimeen.

3. Nollaa vaaka. Aseta vaa'alle solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag), joka sisältää pelletin.
4. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin auki. Lisää solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) puskuria, kunnes laskettu "Pestyllä solutuotteella täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) tavoitepaino" saavutetaan. Pysäytä nestevirtaus liu'uttamalla plasmansiirtosarjan kiristin suljettuun asentoon. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit.
5. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten. Erota puskuripussi.
6. Suspendoi solut varovasti takaisin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Vältä solujen voimakasta sekoittamista. Varmista, että suspendoit kaikki solut.
7. Nollaa vaaka, ja punnitse täytetty solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag). Kirjaa paino.
8. Määritä laimentamisen jälkeinen solutuotteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Solutuotteen paino tilavuuden säätämisen jälkeen (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)

9. Säilytä plasman jätepussi (Plasma Waste Bag) erottelun ja solujen lopullisen analyysin valmistumiseen asti.

Solujen leimaus (koskee vain CliniMACS Plus Anti-Biotin System- ja CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System -järjestelmiä)

Inkubaatio CliniMACS TCRα/β-Biotin -reagenssin kanssa

CliniMACS TCRα/β-Biotin -pullo on käyttövalmis ja riittää alla kuvattuun sovellukseen. Konjugaattia ei saa antaa parenteraalisesti.

Säilytä konjugaatti +2–8 °C:n (+36–46 °F) lämpötilassa. EI SAA pakastaa. Konjugaatti on käytettävä kylmänä välittömästi jääkaapista ottamisen jälkeen. EI SAA lämmittää ennen käyttöä. Eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä on painettu pullon etikettiin. ÄLÄ käytä konjugaattia viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.

1. Kirjaa ylös CliniMACS TCRα/β-Biotin -reagenssin eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä.
2. Desinfioi näyteliittimen septum. Vedä koko tilavuus (7,5 mL) pullosta käyttäen soveltuvaa steriiliä ruiskua ja neulaa. Yksi 10 mL:n ruisku riittää yhden pullon sisällön vetämiseen. Ruiskussa on oltava 20 gaugen neula.

3. Injektoi konjugaatin koko tilavuus näyteliittimen injektioportin kautta solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) (vaihtoehtoisesti siirrä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisältö uuteen siirtopussiin korkean depleetiotehon varmistamiseksi). Käynnistä välittömästi ajanotto 30 minuuttia kestävää inkubaatiota varten.
4. Pidä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä. Kirjaa inkubaation aloitusaika.
5. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) lappeelleen orbital-ravistelijaan, säädä kierrosnopeudeksi noin 25 rpm ja varmista, ettei pussissa ole ryppyjä tai taitoksia. Inkuboi pussia yhteensä 30 minuuttia hallitussa huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]). Merkitse inkubaation lopetusaika muistiin.

Inkubaatio primäärisen vasta-aineen kanssa (toisen valmistajan biotinyloitu vasta-aine)

1. Suspendoi solupelletti uudelleen, ja leimaa solut primäärisellä biotinyloidulla vasta-aineella. Noudata vasta-aineen valmistajan antamia aikaa ja titteriä koskevia suosituksia. Varmista, että suspendoit kaikki solut. (Primäärisen vasta-aineen kohdalla on käytettävä optimaalista titteriä, jossa värjäysvoimakkuus on mahdollisimman hyvä eikä taustavärjäytymistä esiinny. Noudata primäärisen vasta-aineen valmistajan toimittamia käyttöohjeita.)
2. Inkuboi solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) orbital-ravistelijassa 25 rpm:n kierrosnopeudella. Noudata primäärisen vasta-aineen valmistajan toimittamia käyttöohjeita.

Ylimääräisen konjugaatin poistaminen (1. pesu) (koskee vain CliniMACS Plus Anti-Biotin System- ja CliniMACS Plus TCRα/β-Biotin System -järjestelmiä)

Laimenna solutuotetta puskurin avulla lopulliseen 600 g:n painoon. Laske lisättävän puskurin paino seuraavan kaavan avulla ja kirjaa muistiin.

Lisättävän puskurin paino (g)	=	600 g	−	Leimatun solutuotteen paino (g)

1. Laimenna solutuotetta vaiheessa ”Solujen aloitusnäytteen laimennus” (vaiheet 1–8) kuvatulla tavalla lopulliseen 600 g:n painoon.
2. Määritä ylimääräisen konjugaatin poistamisen (1. pesu) jälkeisen solutuotteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Solutuotteen paino ylimääräisen konjugaatin poistamisen (1. pesu) jälkeen (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)

3. Liitä tyhjä pesujätepussi (Wash Waste Bag) steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag).
4. Taita solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin. Laita molemmat pussit tukevasti sentrifugiastiaan.
5. Tasapainota ladattu astia sopivasti painotetulla astialla. Sentrifugin tasapainottaminen oikein on erittäin tärkeää.
6. Sentrifugoi solut kyseistä sovellusta koskevan kohdan ohjeiden mukaisesti.
7. Poista pussit sentrifugista ja huolehdi samalla, ettet suspendoi solupellettiä uudelleen. Lataa solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) plasmanerottelijaan, ja aseta liitetty jätepussi (Waste Bag) pöytävaa'alle.
8. Katso vaadittavien pesujen lukumäärä kyseistä sovellusta käsittelevästä kohdasta.
9. Säädä solususpension paino kohdassa "Tilavuuden säätäminen" kuvatulla tavalla noin 190 g:aan CliniMACS Anti-Biotin Reagent -reagenssilla tehtävää magneettileimausta varten.

Inkubaatio lääketieteellisellä immunoglobuliinilla (koskee vain CliniMACS Plus CD3- ja CD3/CD19 -järjestelmiä)

TÄRKEÄÄ

Huomioi, että ihmisen IgG ei ole CliniMACS-järjestelmään kuuluva kompotentti. Käytä ainoastaan lääketieteellistä ihmisen IgG:a, joka on hyväksytty omassa maassasi. Lue huolellisesti käytettävän ihmisen IgG:n pakkausseloste, erityisesti verestä saatavan ihmisen IgG.n potilaille mahdollisesti aiheuttamia yliherkkyysreaktioita ja infektioriskiä käsittelevät kohdat. Käyttäjän on arvioitava kaikki näiden materiaalien käyttöön sisältyvät riskit.

Desinfioi solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) näyteliittimen septum. Lisää soveltuvaa steriiliä ruiskua ja neulaa käyttäen 1,5 mg ihmisen IgG:tä jokaista solutuotteen mL:aa kohti (esim. 1,6 mL Gamunex 10 % -tuotetta 95 mL:aan solutuotetta). Sekoita sisältö huolellisesti. Inkuboi 5 minuuttia hallitussa huoneenlämmössä kohtalaisessa pyörivässä liikkeessä (esim. 25 rpm orbital-ravistelijassa).

Solujen magneettileimaus: inkubaatio CliniMACS-reagenssin kanssa

CliniMACS-reagenssipullot ovat käyttövalmiita ja riittävät alla kuvattuun sovellukseen. Reagensseja ei saa antaa parenteraalisesti.

Säilytä reagenssit +2–8 °C:n lämpötilassa (+36–46 °F). EI SAA pakastaa. Reagenssit on käytettävä kylmänä välittömästi jääkaapista ottamisen jälkeen. EI SAA lämmittää ennen käyttöä. Reagenssien eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä on painettu pullon etikettiin. ÄLÄ käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.

1. Kirjaa ylös CliniMACS-reagenssien eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä.
2. Desinfioi näyteliittimen septum. Käytä soveltuvaa steriiliä ruiskua ja neulaa a) yhden pullon tai b) kahden reagenssipullon koko tilavuuden vetämiseksi pullosta (7,5 mL per pullo). 10 mL:n ruisku riittää yhden pullon sisällön vetämiseen, 20 mL:n ruisku riittää kahden reagenssipullon sisällön vetämiseen. Ruiskussa on oltava 20 gaugen neula.
3. Injektoi reagenssin koko tilavuus näyteliittimen injektioportin kautta solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) (vaihtoehtoisesti depleetiosovelluksissa siirrä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisältö uuteen siirtopussiin depleetion onnistumisen varmistamiseksi). Inkubaatioaika alkaa tässä kohdassa.
4. Pidä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä.
5. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) lappeelleen orbital-ravistelijaan, säädä kierrosnopeudeksi noin 25 rpm ja varmista, ettei pussissa ole ryppyjä tai taitoksia. Inkuboi pussi kyseistä sovellusta käsittelevän kohdan olosuhteita ja aikaa koskevien ohjeiden mukaisesti.

Ylimääräisen reagenssin poistaminen

Solujen peseminen on tarpeen sitoutumattoman reagenssin poistamiseksi inkubaation päätyttyä. Tarkista vaadittava pesujen lukumäärä kutakin sovellusta koskevasta kohdasta.

1. Työnnä plasmansiirtosarjan piikki vähintään 500 mL puskuria sisältävän puskuripussin porttiin. Varmista, että plasmansiirtosarjan kiristin on suljetussa asennossa.
2. Liitä puskuripussi steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Ripusta puskuripussi pussin ripustimeen.
3. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) vaa'alle ja nollaa vaaka.
4. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin auki. Täytä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) 600 mL:aan lisäämällä puskuria. Pysäytä nestevirtaus liu'uttamalla plasmansiirtosarjan kiristin suljettuun asentoon. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Merkitse muistiin täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino.
5. Saumaa molempien kiristimien välissä oleva letku ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten. Erota puskuripussi.

6. Pidä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) molemmin käsin, sekoita sisällöt huolellisesti ja varovasti pyörivällä liikkeellä.
7. Liitä tyhjä pesujätepussi (Wash Waste Bag) steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag).
8. Taita pussin tai letkujen mahdolliset löysät osat alaspäin. Siirrä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) ja pesujätepussi (Wash Waste Bag) varovasti sentrifugiastiaan.
9. Sentrifugoi soluja kyseistä sovellusta käsittelevän kohdan olosuhteita ja aikaa koskevien ohjeiden mukaisesti.
10. Poista pussit sentrifugista ja huolehdi samalla, etteivät solupelletit hajoa.
11. Ripusta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) varovasti plasmanerottelijaan.
12. Aseta pesujätepussi (Wash Waste Bag) vaa'alle ja nollaa vaaka.
13. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Poista mahdollisimman paljon supernatanttia solujen valmistelupussista (Cell Preparation Bag) plasmanerottelijan avulla. Pysäytä nesteen virtaus sulkemalla solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit.
14. Saumaa letku kuumasaumaimen avulla ja jätä vähintään 15 cm letkua solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) tulevia liitoksia varten. Irrota pesujätepussi (Wash Waste Bag).
15. Säilytä pesujätepussi (Wash Waste Bag), kunnes erottelu ja solujen lopullinen analyysi ovat valmiit.
16. Suspendoi solupelletti takaisin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Vältä solujen voimakasta sekoittamista. Varmista, että suspendoit kaikki solut.
17. Jos tarvitaan useampia pesukertoja (esim. CD34-positiivisten solujen rikastamiseen), toista vaiheet 1–16.
18. Nollaa vaaka, ja punnitse täytetty solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag). Kirjaa paino.
19. Määritä pesun jälkeinen solutuotteen paino vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Solutuotteen paino pesun jälkeen (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)

20. Säädä näytteen lataustilavus: Laske tarvittavan puskurin paino solususpension painon säätämiseksi asianmukaiseen näytteen lataustilavuuteen sovelluksen mukaisesti seuraavaa kaavaa käyttäen. Leimattujen ja pestyjen solujen lataamiseksi letkusarjaan suositellaan suurinta sallittua solupitoisuutta, $0{,}4\times10^{9}$ solua/mL.

Lisättävän puskurin paino (g)	=	Näytteen lataustilavuus (sovelluksen perusteella)	–	Solutuotteen paino pesun jälkeen (g)

21. Liitä puskuripussi steriiliä letkuliitintä käyttäen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Ripusta puskuripussi pussin ripustimeen.
22. Aseta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) vaa'alle ja nollaa vaaka.
23. Avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Liu'uta plasmansiirtosarjan kiristin auki. Siirrä laskettu painomitta puskuria solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) ja seuraa samalla vaa'an lukemaa.
24. Kun oikea määrä puskuria on siirretty, pysäytä nestevirtaus liu'uttamalla plasmansiirtosarjan kiristin kiinni. Sulje solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit.
25. Sulje molempien kiristimien välissä oleva letku kuumasaumaimen avulla. Erota puskuripussi.
26. Suspendoi solupelletti takaisin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Vältä solujen voimakasta sekoittamista. Varmista, että suspendoit kaikki solut.
27. Desinfioi näyteliittimen septum. Työnnä soveltuvaan ruiskuun liitetty neula solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) näyteliittimeen, ja poista 0,5 mL leimattua tuotetta. Siirrä näyte näyteputkeen. Kirjoita putkeen ALKUPERÄINEN (sekä potilaan tunnistetiedot), ja säilytä solujen analyysia varten.
28. Nollaa vaaka, ja punnitse täytetty solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag). Kirjaa paino.
29. Määritä puskurin lisäämisen jälkeinen solutuotteen paino (näytteen lataustilavuus) vähentämällä tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) painosta. Kirjaa ylös laskemasi paino.

Solutuotteen paino puskurin lisäämisen jälkeen (g)	=	Täytetyn solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)	–	Tyhjän solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) paino (g)

▶ Siirry VAIHEESEEN 2.

ÄLÄ liitä solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) letkusarjaan, ellei laitteen näyttö erikseen niin ohjeista.

7.2 VAIHE 2: Erotteluohjelman valitseminen

7.2.1 Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle

Kytke CliniMACS Plus Instrument päälle laitteen takaosan paneelissa olevan ON/OFF-kytkimen avulla. Kirjaa ylös laitteen ajon aloitusaika.

Ikkuna ilmaisee CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohdan "Asennus" päänäytön.

Siirry ohjelmavalikkoon painamalla **ENT**.

7.2.2 CD34 SELECTION 1/2

TÄRKEÄÄ

- *CD34 SELECTION 1 -ohjelmaa saa käyttää vain CliniMACS Tubing Set (REF 161-01) -letkusarjan kanssa, kun taas CD34 SELECTION 2 -ohjelmaa saa käyttää vain CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01) -letkusarjan kanssa. Tarkasta letkusarja huolellisesti ennen asentamista.*
- *Näytöllä olevaan ikkunaan tulee näkyviin ohjeita ja kuvaajia, jotka ohjaavat käyttäjää läpi toimenpiteen. Suorita ja tarkista jokainen vaihe käyttöohjeiden mukaisesti, ennen kuin siirryt seuraavaan vaiheeseen. Tietojen syöttämisessä tapahtuneet virheet voi korjata "Undo"-painikkeen avulla (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta "Kuvaus").*

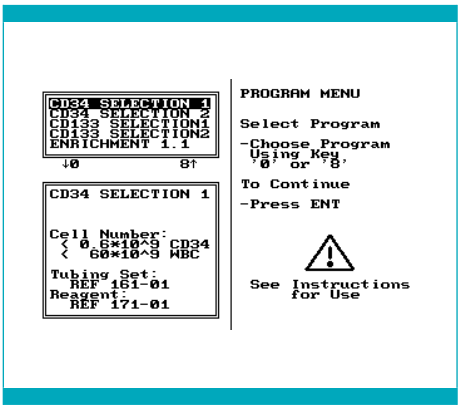
Erotteluohjelman CD34 SELECTION 1/2 valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.1.

Valitse sovelluksesta riippuen CD34 SELECTION 1 tai CD34 SELECTION 2.

Erotteluohjelman valitsemiseksi korosta ohjelman nimi mustalla palkilla. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.

Paina **ENT** jatkaaksesi korostetulla ohjelmalla.



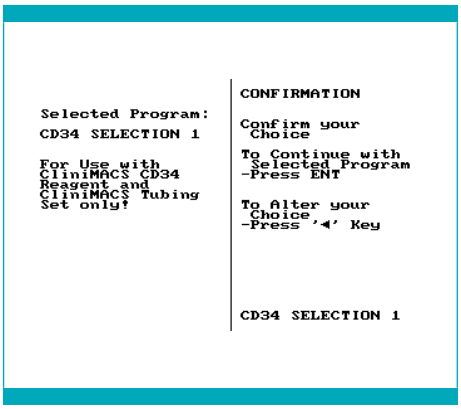
Näyttö 7.1: Erotteluohjelman valitseminen

Vahvistaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.2.

Kun haluat vahvistaa erotteluohjelman valinnan ja jatkaa, paina ENT.

Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◄ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.



Näyttö 7.2: Vahvistaminen

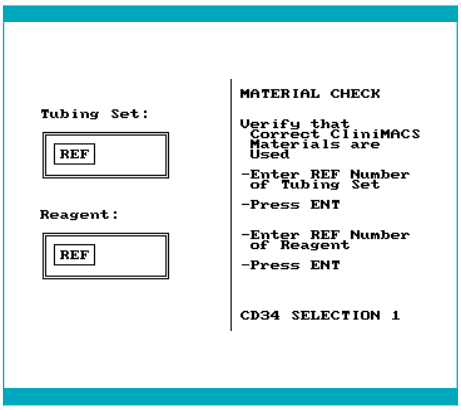
Materiaalien tarkistaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.3.

CD34 SELECTION 1- ja CD34 SELECTION 2 -ohjelmat on optimoitu CD34-positiivisten solujen rikastukseen.

Vahvista sopivan letkusarjan saatavuus ja oikean leimausreagenssin käyttö syöttämällä soveltuva luettelonumero (REF) hakukenttään. Laiteohjelmisto tarkistaa, voidaanko materiaaleja käyttää valitun ohjelman kanssa.

1. Syötä solujen automaattiseen erotteluun käytettävän letkusarjan luettelonumero. Vahvista ja jatka painamalla ENT.
2. Syötä solujen leimaukseen käytettävän reagenssin luettelonumero. Vahvista ja jatka painamalla ENT.



Näyttö 7.3: Materiaalien tarkistaminen

Jos syöttämäsi letkusarjan tai reagenssin luettelonumeroa ei ole määritelty yhteensopivaksi valitun erotteluohjelman kanssa, näyttöön tulee näkyviin vastaava viesti. Vahvista painamalla ENT, ja syötä sitten oikea luettelonumero. Jos syötetty numero on edelleen väärä, näyttöön tulee jälleen näkyviin viesti. Kun painat ENT, ohjelma palaa automaattisesti ohjelmavalikkoon (katso Näyttö 7.1).

TÄRKEÄÄ

- *CD34 SELECTION 1 -ohjelmaa saa käyttää vain CliniMACS Tubing Set (REF 161-01) -letkusarjan kanssa, kun taas CD34 SELECTION 2 -ohjelmaa saa käyttää vain CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01) -letkusarjan kanssa. Tarkasta letkusarja huolellisesti ennen asentamista.*
- *Tietojen syöttämisessä tapahtuneet virheet voi korjata "Undo"-painikkeen avulla (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta "Kuvaus").*

Jos materiaalit todetaan yhteensopiviksi, ohjelma jatkaa automaattisesti letkusarjan asennusohjeisiin.

▶ **Jatka VAIHEESEEN 3.**

7.2.3 ENRICHMENT 1.1

TÄRKEÄÄ

- *ENRICHMENT 1.1 -erotteluohjelmaa saa käyttää ainoastaan CliniMACS Tubing Set (REF 161-01) -letkusarjan kanssa.*
- *Näytöllä olevaan ikkunaan ilmestyy ohjeita ja kuvaajia, jotka ohjaavat käyttäjää läpi toimenpiteen. Suorita ja tarkista jokainen vaihe käyttöohjeiden mukaisesti, ennen kuin siirryt seuraavaan vaiheeseen. Tietojen syöttämisessä tapahtuneet virheet voi korjata "Undo"-painikkeen avulla (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta "Kuvaus").*

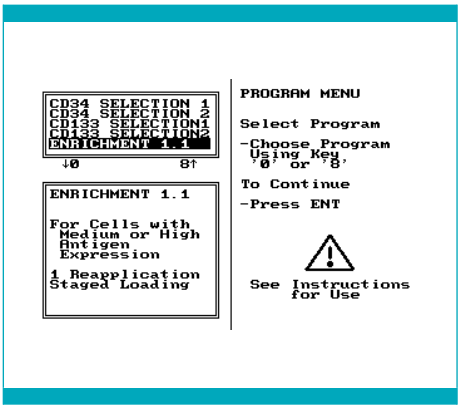
Erotteluohjelman ENRICHMENT 1.1 valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.4.

Valitse ENRICHMENT 1.1.

Erotteluohjelman valitsemiseksi korosta ohjelman nimi mustalla palkilla. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.

Paina **ENT** jatkaaksesi korostetulla ohjelmalla.



Näyttö 7.4: Erotteluohjelman valitseminen

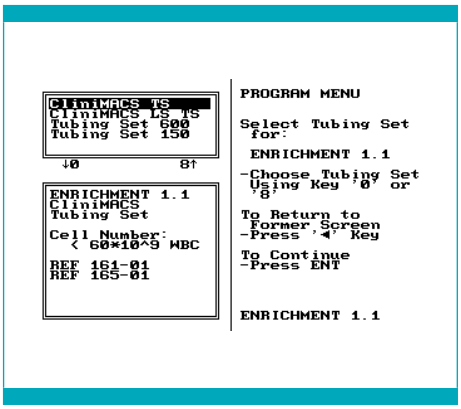
Letkusarjan valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.5.

Varmista, että valittuna on oikea ohjelma. Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◄ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.

Valitse letkusarja korostamalla se mustalla palkilla vasemmassa yläreunassa olevassa laatikossa. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.

Alla olevassa ikkunassa ilmoitetaan asiaankuluvia tietoja, kuten valitun letkusarjan kapasiteetti ja luettelonumero.



Näyttö 7.5: Letkusarjan valitseminen

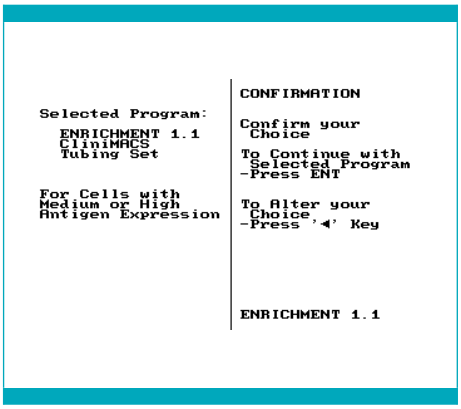
Jatkaaksesi valitun ohjelman ja letkusarjan yhdistelmällä paina **ENT**.

Vahvistaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.6.

Painamalla **ENT** vahvistat erotteluohjelman ja letkusarjan yhdistelmän ja jatkat.

Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◄ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.



Näyttö 7.6: Vahvistaminen

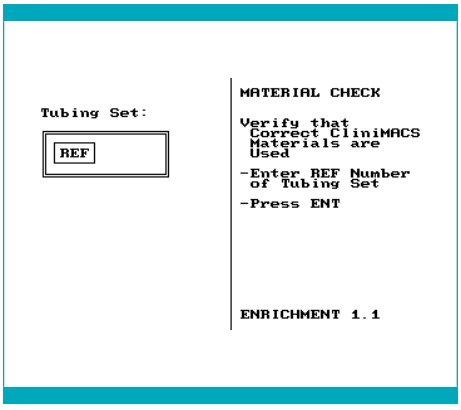
Materiaalien tarkistaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.7.

Letkusarjan luettelonumeron (REF) kysyminen on turvatoimenpide, jonka avulla varmistetaan, että valittua letkusarjaa voidaan käyttää valitussa ohjelmassa.

Syötä valitun letkusarjan luettelonumero (REF) ja paina **ENT** jatkaaksesi.

Jos syötetty luettelonumero ei vastaa ohjelman tietoja, näytölle ilmestyy viesti. Vahvista painamalla **ENT**, ja syötä oikea luettelonumero. Jos syötetty numero on edelleen väärä, näyttöön ilmestyy jälleen viesti. Kun painat **ENT**, ohjelma palaa automaattisesti ohjelmavalikkoon (katso Näyttö 7.4).

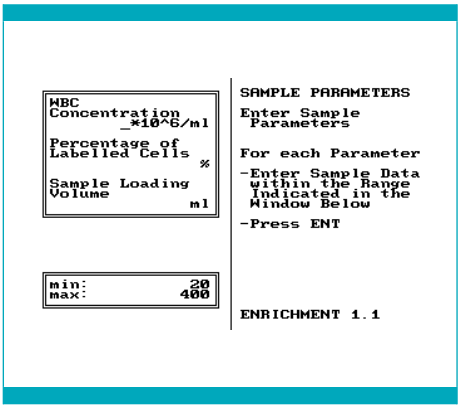


Näyttö 7.7: Materiaalien tarkistaminen

Näytemuuttujien syöttäminen

Kun materiaalin tarkastus on onnistunut, ohjelma siirtyy automaattisesti eteenpäin ja kysyy erottelutoimenpidettä varten vaadittavia muuttujia kustakin yksittäisestä näytteestä sekä antaa käyttäjälle tärkeää tietoa vaadituista puskureista ja pussien tilavuuksista.

Näytöllä näkyy Näyttö 7.8.



Näyttö 7.8: Näytemuuttujien syöttäminen

1. Aloita syöttämällä näytteen valkosolupitoisuus. Sallittu vaihteluväli näytetään vasemmassa alareunassa olevassa laatikossa. Korjaa virheellinen arvo painamalla ◀.

   Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla. Painamalla **ENT** jatkat seuraavaan muuttujaan.

TÄRKEÄÄ

Kaikki vaaditut näytemuuttujat viittaavat leimaamisen ja pesun jälkeiseen näytteeseen. Vasemman alareunan laatikossa näkyvissä sallituissa vaihteluväleissä on aina huomioitu edellä annetut tiedot. Ohjelmisto laskee ja säätää hyväksyttyjä vaihteluvälejä jokaisen syötetyn muuttujan jälkeen seuraavaa arvoa varten.

⚠ HUOMIO

Väärin annetuista muuttujista voi seurata näytteen epäoptimaalinen käsittely ja kohdesolujen menettämisen riski. Näytteiden todellisia arvoja alhaisempien leimattujen valkosolupitoisuuksien ja/tai prosenttiosuuksien antaminen voi johtaa solujen menettämiseen järjestelmän ylikuormittumisen seurauksena. Liian alhaisen näytetilavuuden antaminen voi johtaa ylikuormituksesta johtuvaan solujen menettämiseen tai jopa näytteiden puutteelliseen käsittelyyn. Jos mikä tahansa näistä kolmesta arvosta on liian suuri, käsittelyaika pitkittyy ja kohdesolufraktio kasvaa. Varmista, että syötät aina oikeat muuttuja-arvot.

2. Syötä leimattujen solujen prosentuaalinen osuus. Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla (katso ”Tärkeää”). Painamalla **ENT** jatkat seuraavaan muuttujaan.

3. Syötä solunäytteen lopullinen tilavuus. Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla (katso ”Tärkeää”).

Jatka painamalla **ENT**.

Laskeminen

CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee leimattujen solujen kokonaismäärän erottelukapasiteetin riittävyyden selvittämiseksi.

Tulos näytetään yhdellä seuraavista ruuduista:

- Laskennan tulos näytetään samanlaisella ruudulla kuin Näyttö 7.9. Varmista, että leimattujen solujen lukumäärä on laskettu oikein.

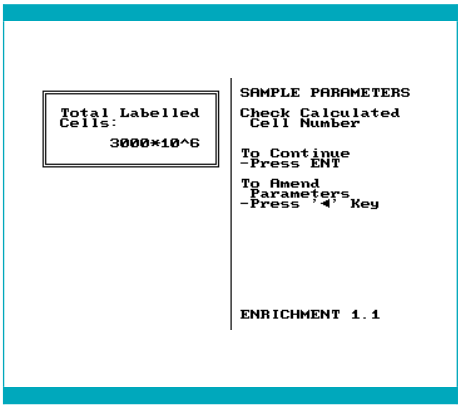
  Jatka painamalla **ENT**.

  Tietoja on mahdollista korjata. Paina ◄ palataksesi edelliseen näyttöön korjaamista varten.

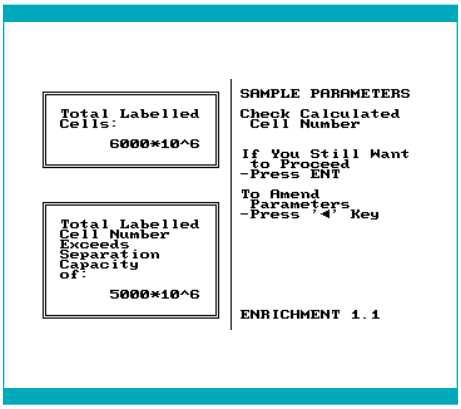
- Jos laskettu leimattujen solujen lukumäärä ylittää CliniMACS Plus -järjestelmän erottelukapasiteetin, näytölle tulee samankaltainen ilmoitus kuin Näyttö 7.10. Varmista, että syötetyt näytemuuttujat ja laskettu solumäärä ovat oikein. Painamalla ◄ palaat edeltävään Näyttö 7.8 ja korjaat näytemuuttujia.

  Välttääksesi järjestelmän ylikuormittamista jaa näyte ja määritä kunkin osanäytteen tilavuus. Painamalla ◄ palaat edelliseen Näyttö 7.8. Syötä näytemuuttujat ensimmäisen osanäytteen osalta ja jatka solujen erotteluun. Kun erottelu on suoritettu loppuun, aloita toinen erottelu seuraavalla osanäytteellä uuden letkusarjan kanssa.

  Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.9: Laskeminen



Näyttö 7.10: Laskeminen: Solumäärä ylittää erottelukapasiteetin

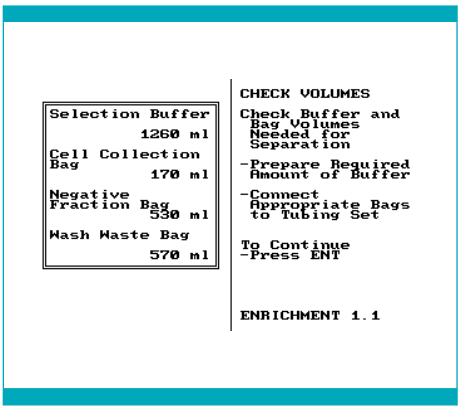
Tilavuutta koskevat tiedot

Leimattujen solujen kokonaismäärän (katso kohta ”Laskeminen”) perusteella ohjelmisto laskee erotteluvaiheiden lukumäärän, koko erotteluprosessia varten tarvittavan puskurin määrän sekä negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag), puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) ja solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) kerättävät nestetilavuudet.

Vakioarvot ovat:

- CliniMACS PBS/EDTA Buffer: 1 000 mL
- Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag): 500 mL
- Puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag): 500 mL
- Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag): 150 mL

Jos joku lasketuista arvoista ylittää nämä vakioarvot, näyttöön ilmestyy Näyttö 7.11, jossa kerrotaan erotteluprosessin aikana vaadittava ja kerättävä nestemäärä. Korvaa letkusarjojen kanssa toimitetut pussit (tilavuus noin 500 mL) vaihtoehtoisilla, sopivankokoisilla pusseilla, jos vaihtaminen on tarpeen. Letkusarjaan alun perin kiinnitetyt pussit on liitetty luer-liitoksin. Alkuperäiset pussit korvaavissa pusseissa on oltava luer-naarasliitin. Vakiopussit voidaan yhdistää Luer/Spike Interconnector -liittimen avulla.



Näyttö 7.11: Tarkista tilavuudet

1. Varmista, että saatavilla on vaadittu määrä puskuria. Pussin ripustimeen saa kiinnittää enintään kolme litraa puskuria.

   HUOMAUTUS

   Laitteen vaurioitumisriski. Pussin ripustimien ylikuormittaminen voi vaurioittaa laitetta. Yhden pussin ripustimen kantokyky on 3 kg. Älä ylikuormita pussin ripustimia.

2. Avaa letkusarjan pakkaus steriileissä olosuhteissa, ja korvaa alkuperäiset pussit tarvittaessa suuremmilla pusseilla. Varmista esteetön virtaus kyseisiin pusseihin.

3. Kiinnitä sopivan kokoinen solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) vapaaseen luer-liittimeen. Mikäli kohdassa Näyttö 7.11 ei muuta mainita, kohdesolufraktion suurin sallittu eluutiotilavuus on 150 mL. Varmista, että esteetön virtaus solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on mahdollinen.

TÄRKEÄÄ

- *Varmista, että saatavilla on vaadittu määrä puskuria ja että Näyttö 7.11 mainittujen pussien tilavuus on riittävän suuri. Muussa tapauksessa erottelutulos voi heikentyä.*
- *Kaikki mahdolliset CliniMACS-letkusarjoihin tehtävät muutokset on suoritettava steriileissä olosuhteissa, esim. vetokaapissa.*
- *Tarkempia analyysejä tai solujen käsittelyä varten huomioi, että Näyttö 7.11 luetellut tilavuudet eivät ole tarkkoja tilavuuksia, vaan turvallisuusvaatimusten mukaisia arvoja.*

4. Tarkista pylväiden luer-liitokset. Luer-liitosten on oltava tiukasti suljettuja.

Jatka painamalla **ENT**.

Ohjelma jatkaa automaattisesti seuraavaan vaiheeseen, ja antaa ohjeita letkusarjan asentamiseksi laitteeseen.

▶ **Jatka VAIHEESEEN 3.**

7.2.4 ENRICHMENT 3.2

TÄRKEÄÄ

- *ENRICHMENT 3.2 -erotteluohjelmaa saa käyttää ainoastaan CliniMACS Tubing Set (REF 161-01) -letkusarjan kanssa.*
- *Näytöllä olevaan ikkunaan ilmestyy ohjeita ja kuvaajia, jotka ohjaavat käyttäjää läpi toimenpiteen. Suorita ja tarkista jokainen vaihe käyttöohjeiden mukaisesti, ennen kuin jatkat seuraavaan vaiheeseen. Tietojen syöttämisessä tapahtuneet virheet voi korjata "Undo"-painikkeen avulla (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta "Kuvaus").*

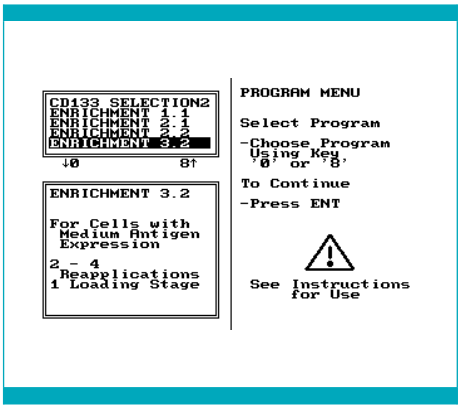
Erotteluohjelman ENRICHMENT 3.2 valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.12.

Valitse ENRICHMENT 3.2.

Erotteluohjelman valitsemiseksi korosta ohjelman nimi mustalla palkilla. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.

Paina **ENT** jatkaaksesi korostetulla ohjelmalla.



Näyttö 7.12: Erotteluohjelman valitseminen

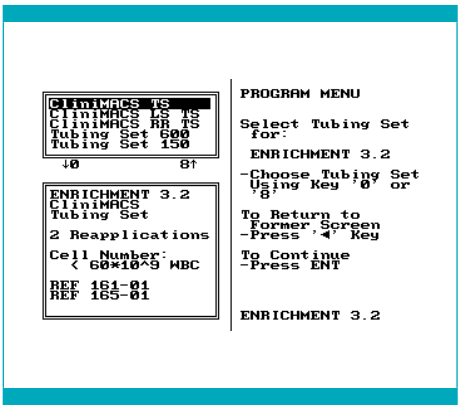
Letkusarjan valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.13.

Varmista, että olet valinnut oikean ohjelman. Jos et ole, painamalla ◄ voit palata edeltävään vaiheeseen ja muuttaa valintaa.

Valitse letkusarja korostamalla se mustalla palkilla vasemmassa reunassa olevassa laatikossa. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla 0 ja 8.

Alla olevassa ikkunassa ilmoitetaan asiaankuluvia tietoja, kuten valitun letkusarjan kapasiteetti ja luettelonumero.



Näyttö 7.13: Letkusarjan valitseminen

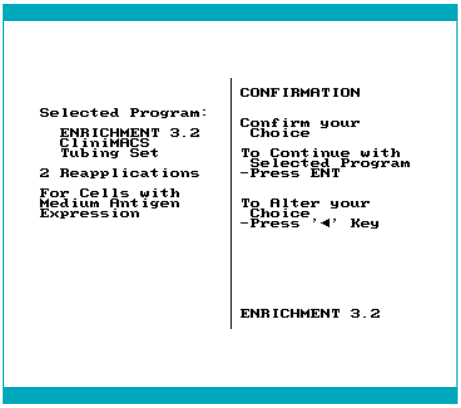
Jatkaaksesi valitun ohjelman ja letkusarjan yhdistelmällä paina ENT.

Vahvistaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.14.

Painamalla ENT vahvistat erotteluohjelman ja letkusarjan yhdistelmän ja jatkat.

Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◄ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.



Näyttö 7.14: Vahvistaminen

Materiaalien tarkistaminen

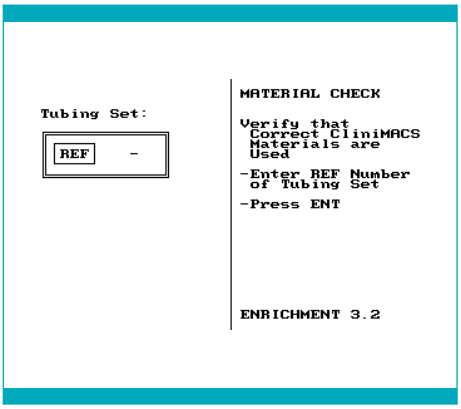
Näytöllä näkyy Näyttö 7.15.

Letkusarjan luettelonumeron (REF) kysyminen on turvatoimenpide, jonka avulla varmistetaan, että valittua letkusarjaa voidaan käyttää valitussa ohjelmassa.

Syötä valitun letkusarjan luettelonumero (REF) ja paina ENT jatkaaksesi.

Jos syötetty luettelonumero ei vastaa ohjelman tietoja, näytölle ilmestyy viesti.

Vahvista painamalla ENT, ja syötä oikea luettelonumero. Jos syötetty numero on edelleen väärä, näyttöön ilmestyy jälleen viesti. Kun painat ENT, ohjelma palaa automaattisesti ohjelmavalikkoon (katso Näyttö 7.12).



Näyttö 7.15: Materiaalien tarkistaminen

Jos materiaalit todetaan yhteensopiviksi, ohjelma jatkaa automaattisesti letkusarjan asennusohjeisiin.

▶ **Jatka VAIHEESEEN 3.**

7.2.5 DEPLETION 2.1

TÄRKEÄÄ

- *DEPLETION 2.1 -erotteluohjelmaa saa käyttää ainoastaan CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01) -letkusarjan kanssa.*
- *Näytöllä olevaan ikkunaan ilmestyy ohjeita ja kuvaajia, jotka ohjaavat käyttäjää läpi toimenpiteen. Suorita ja tarkista jokainen vaihe käyttöohjeiden mukaisesti, ennen kuin jatkat seuraavaan vaiheeseen. Tietojen syöttämisessä tapahtuneet virheet voi korjata "Undo"-painikkeen avulla (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta "Kuvaus").*

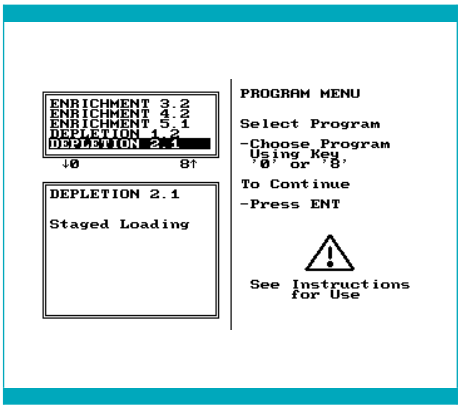
Erotteluohjelman DEPLETION 2.1 valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.16.

Valitse DEPLETION 2.1.

Valitse erotteluohjelma korostamalla ohjelman nimi mustalla palkilla. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.

Paina **ENT** jatkaaksesi korostetulla ohjelmalla.



Näyttö 7.16: Erotteluohjelman valitseminen

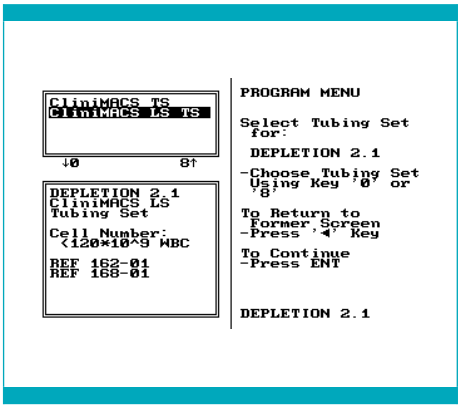
Letkusarjan valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.17.

Varmista, että valittuna on oikea ohjelma.

Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◀ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.

Valitse letkusarja korostamalla se mustalla palkilla vasemmassa yläreunassa olevassa laatikossa. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.



Näyttö 7.17: Letkusarjan valitseminen

Alla olevassa ikkunassa näkyy olennaisia tietoja, kuten valitun letkusarjan kapasiteetti ja luettelonumero.

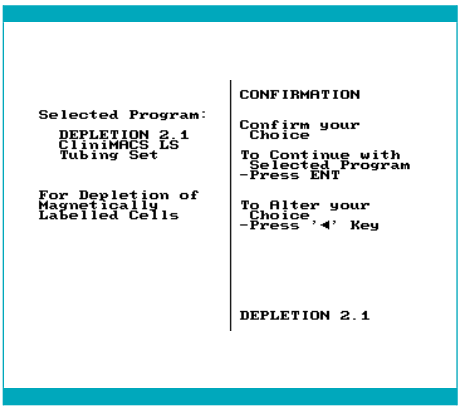
Jatkaaksesi valitun ohjelman ja letkusarjan yhdistelmällä paina **ENT**.

Vahvistaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.18.

Painamalla **ENT** vahvistat erotteluohjelman ja letkusarjan yhdistelmän ja jatkat.

Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◄ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.



Näyttö 7.18: Vahvistaminen

Materiaalien tarkistaminen

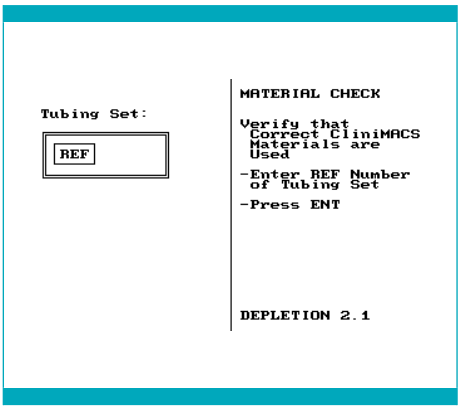
Näytöllä näkyy Näyttö 7.19.

Letkusarjan luettelonumeron (REF) kysyminen on turvatoimenpide, jonka avulla varmistetaan, että käyttäjän valitsemaa letkusarjaa voidaa käyttää.

Syötä valitun letkusarjan luettelonumero (REF) ja paina **ENT** jatkaaksesi.

Jos syötetty luettelonumero ei vastaa ohjelman tietoja, näytölle ilmestyy viesti.

Vahvista painamalla **ENT**, ja syötä oikea luettelonumero. Jos syötetty numero on edelleen väärä, näyttöön ilmestyy jälleen viesti. Kun painat **ENT**, ohjelma palaa automaattisesti ohjelmavalikkoon (katso Näyttö 7.16).

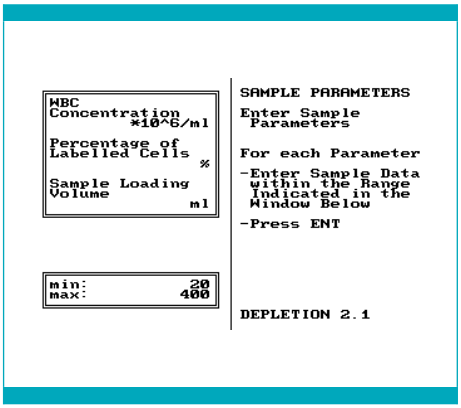


Näyttö 7.19: Materiaalien tarkistaminen

Näytemuuttujien syöttäminen

Kun materiaalin tarkastus on onnistunut, ohjelma siirtyy automaattisesti eteenpäin ja kysyy erottelutoimenpidettä varten vaadittavia muuttujia kustakin yksittäisestä näytteestä sekä antaa käyttäjälle tärkeää tietoa vaadituista puskureista ja pussien tilavuuksista.

Näytöllä näkyy Näyttö 7.20.



Näyttö 7.20: Näytemuuttujien syöttäminen

1. Aloita syöttämällä näytteen valkosolupitoisuus. Sallittu vaihteluväli näytetään vasemmassa alareunassa olevassa laatikossa. Korjaa virheellinen arvo painamalla ◀.

   Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla.

   TÄRKEÄÄ

   Kaikki vaaditut näytemuuttujat viittaavat leimaamisen ja pesun jälkeiseen näytteeseen. Vasemman alareunan laatikossa näkyvissä sallituissa vaihteluväleissä on aina huomioitu edellä annetut tiedot. Ohjelmisto laskee ja säätää hyväksyttyjä vaihteluvälejä jokaisen syötetyn muuttujan jälkeen seuraavaa arvoa varten.

   ⚠ HUOMIO

   Väärin annetuista muuttujista voi seurata näytteen epäoptimaalinen käsittely ja kohdesolujen menettämisen riski. Näytteiden todellisia arvoja alhaisempien leimattujen valkosolupitoisuuksien ja/tai prosenttiosuuksien antaminen voi johtaa solujen menettämiseen järjestelmän ylikuormittumisen seurauksena. Liian alhaisen näytetilavuuden antaminen voi johtaa ylikuormituksesta johtuvaan solujen menettämiseen tai jopa näytteiden puutteelliseen käsittelyyn. Jos mikä tahansa näistä kolmesta arvosta on liian suuri, käsittelyaika pitkittyy ja kohdesolufraktio kasvaa. Varmista, että syötät aina oikeat muuttuja-arvot.

   Painamalla ENT jatkat seuraavaan muuttujaan.

2. Syötä leimattujen solujen prosentuaalinen osuus. Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla (katso ”Tärkeää”).

   Painamalla ENT jatkat seuraavaan muuttujaan.

3. Syötä solunäytteen lopullinen tilavuus. Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla (katso ”Tärkeää”).

Jatka painamalla ENT.

Laskeminen

CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee leimattujen solujen kokonaismäärän erottelukapasiteetin riittävyyden selvittämiseksi.

Tulos näytetään yhdellä seuraavista ruuduista:

- Laskennan tulos näytetään samanlaisella ruudulla kuin Näyttö 7.21. Varmista, että leimattujen solujen lukumäärä on laskettu oikein.

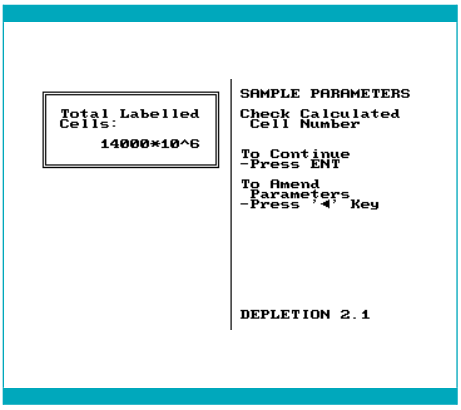
  Jatka painamalla **ENT**.

  Tietoja on mahdollista korjata. Paina ◄ palataksesi edelliseen näyttöön korjaamista varten.

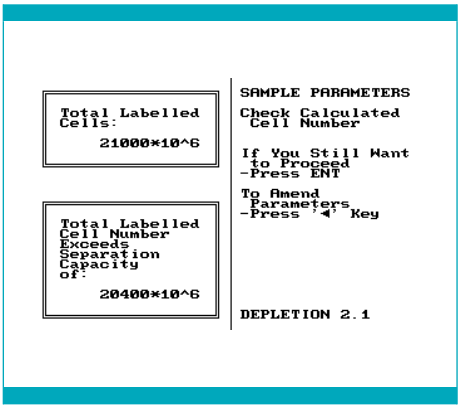
- Jos laskettu leimattujen solujen lukumäärä ylittää CliniMACS Plus -järjestelmän erottelukapasiteetin, näytölle tulee samankaltainen ilmoitus kuin Näyttö 7.22. Varmista, että syötetyt näytemuuttujat ja laskettu solumäärä ovat oikein. Paina ◄ palataksesi edeltävään näyttöön ja korjataksesi näytemuuttujia.

  Välttääksesi järjestelmän ylikuormittamista jaa näyte ja määritä kunkin osanäytteen tilavuus. Painamalla ◄ palaat edelliseen Näyttö 7.20. Syötä näytemuuttujat ensimmäisen osanäytteen osalta ja jatka solujen erotteluun. Kun erottelu on suoritettu loppuun, aloita toinen erottelu seuraavalla osanäytteellä uuden letkusarjan kanssa.

  Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.21: Laskeminen



Näyttö 7.22: Laskeminen: Solumäärä ylittää erottelukapasiteetin

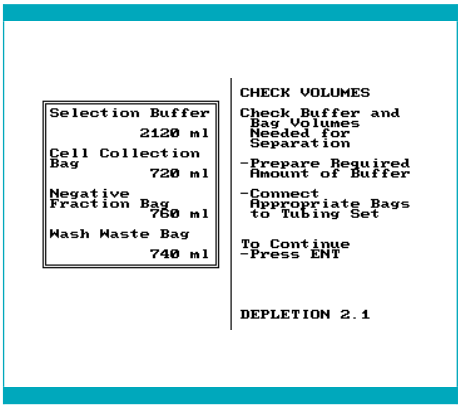
Tilavuutta koskevat tiedot

Leimattujen solujen kokonaismäärän (katso kohta ”Laskeminen”) perusteella ohjelmisto laskee erotteluvaiheiden lukumäärän, koko erotteluprosessia varten tarvittavan puskurin määrän sekä negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag), puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) ja solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) kerättävät nestetilavuudet.

Vakioarvot ovat:

- CliniMACS PBS/EDTA Buffer 1 000 mL
- Negative Fraction Bag 500 mL
- Buffer Waste Bag 500 mL
- Cell Collection Bag 150 mL

Jos joku lasketuista arvoista ylittää nämä vakioarvot, näyttöön ilmestyy Näyttö 7.23, jossa kerrotaan erotteluprosessin aikana vaadittava ja kerättävä nestemäärä. Korvaa letkusarjojen kanssa toimitetut pussit (tilavuus noin 500 mL) vaihtoehtoisilla, sopivankokoisilla pusseilla, jos vaihtaminen on tarpeen. Letkusarjaan alun perin kiinnitetyt pussit on liitetty luer-liitoksin. Alkuperäiset pussit korvaavissa pusseissa on oltava luer-naarasliitin. Vakiopussit voidaan yhdistää Luer/Spike Interconnector -liittimen avulla.



Näyttö 7.23: Tarkista tilavuudet

1. Varmista, että saatavilla on vaadittu määrä puskuria. Pussin ripustimeen saa kiinnittää enintään kolme litraa puskuria.

   HUOMAUTUS

   Laitteen vaurioitumisriski. Pussin ripustimien ylikuormittaminen voi vaurioittaa laitetta. Yhden pussin ripustimen kantokyky on 3 kg. Älä ylikuormita pussin ripustimia.

2. Avaa letkusarjan pakkaus steriileissä olosuhteissa, ja korvaa alkuperäiset pussit tarvittaessa suuremmilla pusseilla. Varmista esteetön virtaus kyseisiin pusseihin.

3. Kiinnitä sopivan kokoinen solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) vapaaseen luer-liittimeen. Mikäli kohdassa Näyttö 7.23 ei muuta mainita, kohdesolufraktion suurin sallittu eluutiotilavuus on 150 mL. Varmista, että esteetön virtaus solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on mahdollinen.

   TÄRKEÄÄ

   - *Varmista, että saatavilla on vaadittu määrä puskuria ja että Näyttö 7.23 mainittujen pussien tilavuus on riittävän suuri. Muussa tapauksessa erottelutulos voi heikentyä.*
   - *Kaikki mahdolliset CliniMACS-letkusarjoihin tehtävät muutokset on suoritettava steriileissä olosuhteissa, esim. vetokaapissa.*
   - *Tarkempia analyysejä tai solujen käsittelyä varten huomioi, että kohdassa Näyttö 7.23 luetellut tilavuudet eivät ole tarkkoja tilavuuksia, vaan turvallisuusvaatimusten mukaisia arvoja.*

4. Tarkista pylväiden luer-liitokset. Luer-liitosten on oltava tiukasti suljettuja.

Jatka painamalla **ENT**.

Ohjelma jatkaa automaattisesti seuraavaan vaiheeseen ja antaa ohjeita letkusarjan asentamiseksi laitteeseen.

▶ **Jatka VAIHEESEEN 3.**

7.2.6 DEPLETION 3.1

TÄRKEÄÄ

- *DEPLETION 3.1 -erotteluohjelmaa saa käyttää ainoastaan CliniMACS Tubing Set (REF 261-01) -letkusarjan kanssa.*
- *Näytöllä olevaan ikkunaan ilmestyy ohjeita ja kuvaajia, jotka ohjaavat käyttäjää läpi toimenpiteen. Suorita ja tarkista jokainen vaihe käyttöohjeiden mukaisesti, ennen kuin jatkat seuraavaan vaiheeseen. Tietojen syöttämisessä tapahtuneet virheet voi korjata "Undo"-painikkeen avulla (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta "Kuvaus").*

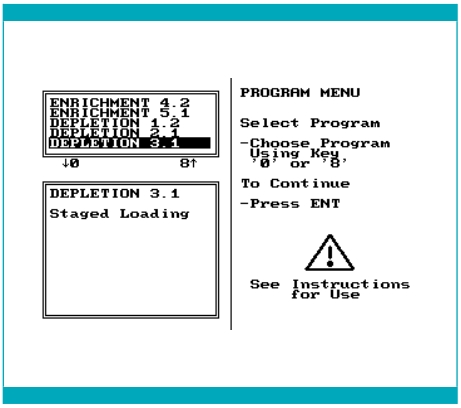
Erotteluohjelman DEPLETION 3.1 valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.24.

Valitse DEPLETION 3.1.

Valitse erotteluohjelma korostamalla ohjelman nimi mustalla palkilla. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.

Paina **ENT** jatkaaksesi korostetulla ohjelmalla.



Näyttö 7.24: Erotteluohjelman valitseminen

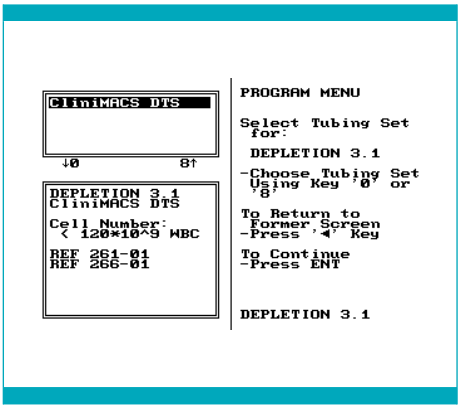
Letkusarjan valitseminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.25.

Varmista, että valittuna on oikea ohjelma. Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◄ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.

Valitse letkusarja korostamalla se mustalla palkilla vasemmassa yläreunassa olevassa laatikossa. Siirrä palkkia ylös- tai alaspäin painikkeilla **0** ja **8**.

Alla olevassa ikkunassa näkyy olennaisia tietoja, kuten valitun letkusarjan kapasiteetti ja luettelonumero.



Näyttö 7.25: Letkusarjan valitseminen

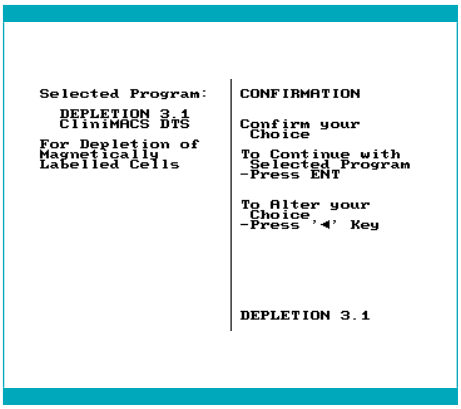
Jatkaaksesi valitun ohjelman ja letkusarjan yhdistelmällä paina **ENT**.

Vahvistaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.26.

Painamalla ENT vahvistat erotteluohjelman ja letkusarjan yhdistelmän ja jatkat.

Jos et halua vahvistaa ohjelmaa, painamalla ◄ voit palata edelliseen vaiheeseen ja muuttaa valintaa.



Näyttö 7.26: Vahvistaminen

Materiaalien tarkistaminen

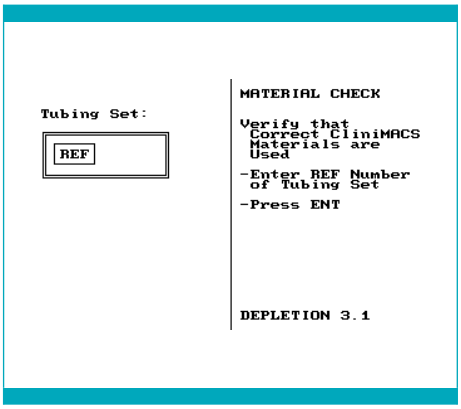
Näytöllä näkyy Näyttö 7.27.

Letkusarjan luettelonumeron (REF) kysyminen on turvatoimenpide, jonka avulla varmistetaan, että käyttäjän valitsemaa letkusarjaa voidaa käyttää.

Syötä valitun letkusarjan luettelonumero (REF) ja paina ENT jatkaaksesi.

Jos syötetty luettelonumero ei vastaa ohjelman tietoja, näytölle ilmestyy viesti.

Vahvista painamalla ENT, ja syötä oikea luettelonumero. Jos syötetty numero on edelleen väärä, näyttöön ilmestyy jälleen viesti. Kun painat ENT, ohjelma palaa automaattisesti ohjelmavalikkoon (katso Näyttö 7.25).

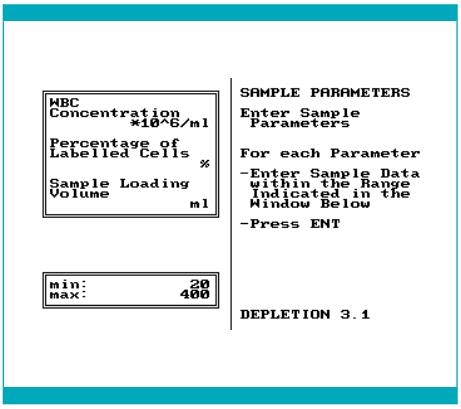


Näyttö 7.27: Materiaalien tarkistaminen

Näytemuuttujien syöttäminen

Kun materiaalin tarkastus on onnistunut, ohjelma siirtyy automaattisesti eteenpäin ja kysyy erottelutoimenpidettä varten vaadittavia muuttujia kustakin yksittäisestä näytteestä sekä antaa käyttäjälle tärkeää tietoa vaadituista puskureista ja pussien tilavuuksista.

Näytöllä näkyy Näyttö 7.28.



Näyttö 7.28: Näytemuuttujien syöttäminen

1. Aloita syöttämällä näytteen valkosolupitoisuus. Sallittu vaihteluväli näytetään vasemmassa alareunassa olevassa laatikossa. Korjaa virheellinen arvo painamalla ◀.

   Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla.

   TÄRKEÄÄ
   Kaikki vaaditut näytemuuttujat viittaavat leimaamisen ja pesun jälkeiseen näytteeseen. Vasemman alareunan laatikossa näkyvissä sallituissa vaihteluväleissä on aina huomioitu edellä annetut tiedot. Ohjelmisto laskee ja säätää hyväksyttyjä vaihteluvälejä jokaisen syötetyn muuttujan jälkeen seuraavaa arvoa varten.

   ⚠ HUOMIO

   Väärin annetuista muuttujista voi seurata näytteen epäoptimaalinen käsittely ja kohdesolujen menettämisen riski. Näytteiden todellisia arvoja alhaisempien leimattujen valkosolupitoisuuksien ja/tai prosenttiosuuksien antaminen voi johtaa solujen menettämiseen järjestelmän ylikuormittumisen seurauksena. Liian alhaisen näytetilavuuden antaminen voi johtaa ylikuormituksesta johtuvaan solujen menettämiseen tai jopa näytteiden puutteelliseen käsittelyyn. Jos mikä tahansa näistä kolmesta arvosta on liian suuri, käsittelyaika pitkittyy ja kohdesolufraktio kasvaa. Varmista, että syötät aina oikeat muuttuja-arvot.

   Painamalla **ENT** jatkat seuraavaan muuttujaan.

2. Syötä leimattujen solujen prosentuaalinen osuus. Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla (katso ”Tärkeää”).

   Painamalla **ENT** jatkat seuraavaan muuttujaan.

3. Syötä solunäytteen lopullinen tilavuus. Vahvista, että syöttämäsi arvo vastaa näytteen todellista arvoa. Muussa tapauksessa näytettä ei käsitellä optimaalisella tavalla (katso ”Tärkeää”).

Jatka painamalla **ENT**.

Laskeminen

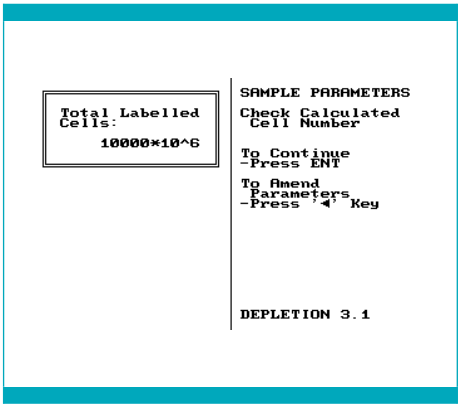
CliniMACS Plus -ohjelmisto laskee leimattujen solujen kokonaismäärän erottelukapasiteetin riittävyyden selvittämiseksi.

Tulos näytetään yhdellä seuraavista ruuduista:

- Laskennan tulos näytetään samanlaisella ruudulla kuin Näyttö 7.29. Varmista, että leimattujen solujen lukumäärä on laskettu oikein.

  Jatka painamalla **ENT**.

  Tietoja on mahdollista korjata. Paina ◄ palataksesi edelliseen näyttöön korjaamista varten.

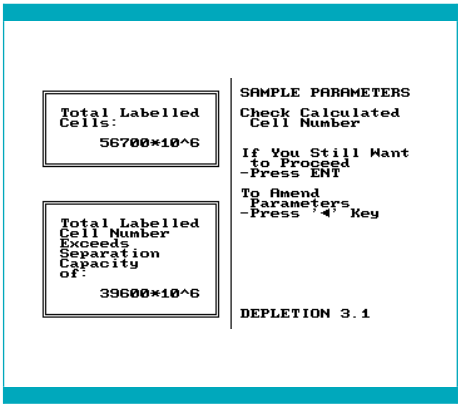


Näyttö 7.29: Letkusarjan valitseminen

- Jos laskettu leimattujen solujen lukumäärä ylittää CliniMACS Plus -järjestelmän erottelukapasiteetin, näytölle tulee samankaltainen ilmoitus kuin Näyttö 7.30. Varmista, että syötetyt näytemuuttujat ja laskettu solumäärä ovat oikein. Paina ◄ palataksesi edeltävään näyttöön ja korjataksesi näytemuuttujia.

  Välttääksesi järjestelmän ylikuormittamista jaa näyte ja määritä kunkin osanäytteen tilavuus. Painamalla ◄ palaat edelliseen Näyttö 7.28. Syötä näytemuuttujat ensimmäisen osanäytteen osalta ja jatka solujen erotteluun. Kun erottelu on suoritettu loppuun, aloita toinen erottelu seuraavalla osanäytteellä uuden letkusarjan kanssa.

  Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.30: Laskeminen: Solumäärä ylittää erottelukapasiteetin

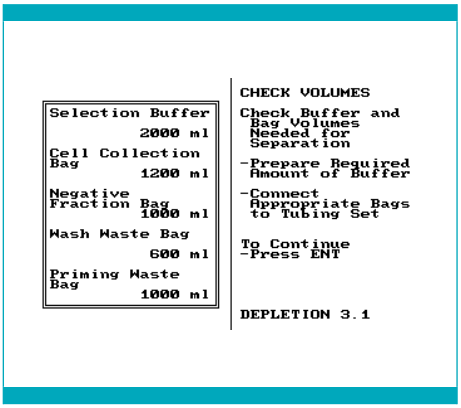
Tilavuutta koskevat tiedot

Leimattujen solujen kokonaismäärän (katso kohta ”Laskeminen”) perusteella ohjelmisto laskee erotteluvaiheiden lukumäärän, koko depleetioprosessia varten tarvittavan puskurin määrän sekä solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag), muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag) ja uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag) kerättävät nestetilavuudet.

TÄRKEÄÄ

- *Negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag) vastaa muiden kuin kohdesolujen pussia (Non-Target Cell Bag).*
- *Alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) vastaa uudelleenkäyttöpussia (Reapplication Bag).*

Jos joku lasketuista arvoista ylittää nämä vakioarvot, näyttöön ilmestyy Näyttö 7.31 vastaava ilmoitus, jossa kerrotaan erotteluprosessin aikana vaadittava ja kerättävä nestemäärä. Korvaa letkusarjojen kanssa toimitetut pussit vaihtoehtoisilla sopivan kokoisilla pusseilla, jos vaihtaminen on tarpeen. Letkusarjaan alun perin kiinnitetyt pussit on liitetty luer-liitoksin. Alkuperäiset pussit korvaavissa pusseissa on oltava luer-naarasliitin. Vakiopussit voidaan yhdistää Luer/Spike Interconnector -liittimen avulla.



Näyttö 7.31: Tarkista tilavuudet

1. Varmista, että saatavilla on vaadittu määrä puskuria. Pussin ripustimeen saa kiinnittää enintään kolme litraa puskuria.

   HUOMAUTUS

   Laitteen vaurioitumisriski. Pussin ripustimien ylikuormittaminen voi vaurioittaa laitetta. Yhden pussin ripustimen kantokyky on 3 kg. Älä ylikuormita pussin ripustimia.

2. Avaa letkusarjan pakkaus steriileissä olosuhteissa, ja korvaa alkuperäiset pussit tarvittaessa suuremmilla pusseilla. Varmista esteetön virtaus kyseisiin pusseihin.

3. Jos pussien vaihtaminen on tarpeen, korvaa letkusarjassa oleva solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) sopivan kokoisella siirtopussilla. Määritä uuden tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino, ja kirjaa se ylös. Varmista, että esteetön virtaus solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on mahdollinen. Vaihtoehtoisesti lisää uusi 600 mL:n siirtopussi ensimmäiseen solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) plasman siirtosarjan avulla.

   TÄRKEÄÄ

   - *Varmista, että saatavilla on vaadittu määrä puskuria ja että Näyttö 7.31 mainittujen pussien tilavuus on riittävän suuri. Muussa tapauksessa erottelutulos voi heikentyä.*
   - *Kaikki mahdolliset CliniMACS-letkusarjoihin tehtävät muutokset on suoritettava steriileissä olosuhteissa, esim. vetokaapissa.*
   - *Tarkempia analyysejä tai solujen käsittelyä varten huomioi, että Näyttö 7.31 luetellut tilavuudet eivät ole tarkkoja tilavuuksia, vaan turvallisuusvaatimusten mukaisia arvoja.*

4. Tarkista pylväiden luer-liitokset. Luer-liitosten on oltava tiukasti suljettuja.

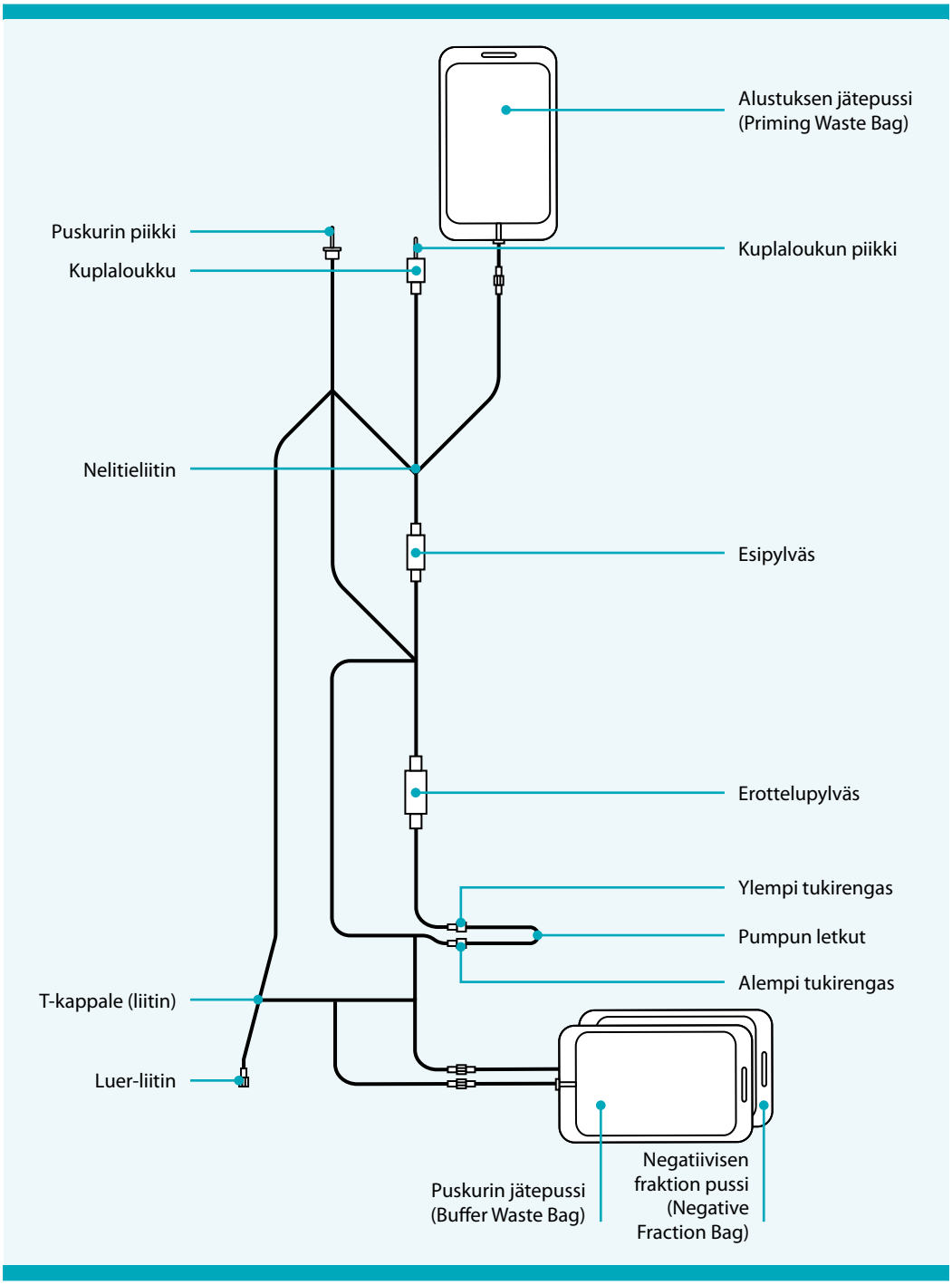
Jatka painamalla **ENT**.

Ohjelma jatkaa automaattisesti seuraavaan vaiheeseen ja antaa ohjeita letkusarjan asentamiseksi laitteeseen.

▶ **Jatka VAIHEESEEN 3.**

7.3 VAIHE 3: CliniMACS-letkusarjojen asentaminen

7.3.1 CliniMACS Tubing Set- ja CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat

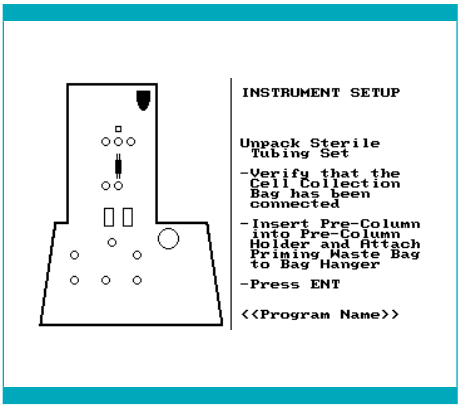


Kuva 7.2: CliniMACS Tubing Set -letkusarjan yleinen rakenne (CliniMACS Tubing Set)

Letkusarjan asennuksen valmistelu

Näytöllä näkyy Näyttö 7.32.

Ohjeet näkyvät näytön oikealla puolella ja ohjeisiin liittyvä kaavio näytön vasemmalla puolella. Näytöllä vilkkuvat alueet merkitsevät vaadittavia toimenpiteitä.



Näyttö 7.32: Poista letkusarja pakkauksesta

Sekä CliniMACS Tubing Set- että CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjat toimitetaan suljetuissa steriileissä pakkauksissa. Kukin letkusarja sisältää esiasennetut letkut ja pylväät yhtä solujen erottelua varten (katso Kuva 7.2). Kun pakkaus on ehjä, nestevirtaus on steriili.

⚠ VAROITUS

Kontaminaatioriski. Vahingoittunut pakkaus merkitsee sitä, ettei letkusarja välttämättä ole enää steriili, eikä sitä näin ollen saa käyttää. Tarkista pakkaus huolellisesti vaurioiden, reikien ja repeämien varalta. Käytä letkusarjaa ainoastaan, jos pakkaus on ehjä ja suljettu.

Huomautus: CliniMACS Plus Instrument näyttää valitun ohjelman nimen, esim. CD34 SELECTION 1, laitteen näytön alimmalla rivillä. Letkusarjan asennuksen kaikissa vaiheissa voidaan painaa “Undo”-painiketta (katso kohta “Kuvaus” CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaasta) ja palata edelliseen vaiheeseen.

1. Kirjaa ylös letkusarjan eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä.

   Poista letkusarja pakkauksesta steriileissä olosuhteissa (esim. vetokaapissa). Poista CliniMACS Tubing Set LS -letkusarjan pakkauksessa käytettävä kiristin ennen letkusarjan käyttämistä. Kiristimeen on merkitty teksti “Remove before assembly to CliniMACS Plus Instrument” (Poista ennen asennusta CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen).

2. Tarkista luer-liitokset pusseihin. Luer-liitosten on oltava tiukasti suljettuja.

Solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittäminen

1. Huomioi tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino.
2. Poista korkit ja kiinnitä Luer/Spike Interconnector -liittimellä varustettu steriili solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) letkusarjaan aseptisessa ympäristössä, ennen kuin lataat letkusarjan CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen. Varmista, että solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) alkuperäiset letkut on joko puristettu tai saumattu kiinni.

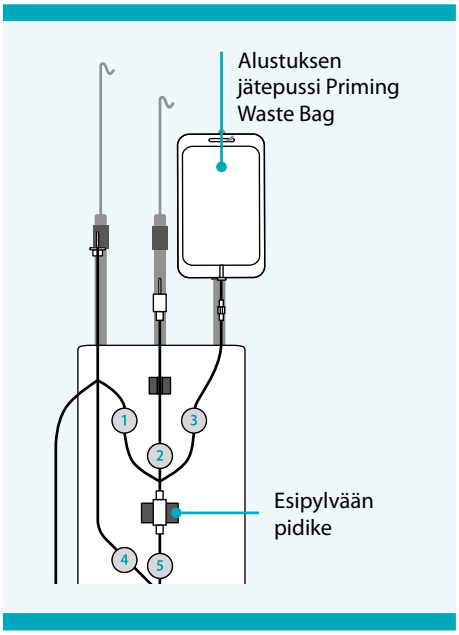
   Jos erotteluun tarvitaan useampi kuin yksi solujen keräyspussi (Cell Collection Bag), yhdistä pussit plasmansiirtosarjan avulla. Varmista, että kaikki liitokset on suljettu tiiviisti.
3. Varmista, että esteetön virtaus solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on mahdollinen.
4. Jatka letkusarjan asentamista joko alla olevien ohjeiden mukaisesti tai noudata kohdan "CliniMACS-letkusarjan vaihtoehtoinen asentaminen" ohjeita.

Liitä alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) ja kiinnitä esipylväs

Näytöllä näkyy Näyttö 7.32.

1. Kiinnitä alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) laitteen oikeanpuoleiseen pussin ripustimeen (katso).
2. Säädä pussin ripustimen korkeutta. Nosta tai laske pussin ripustinta korkeuden säätämiseksi alustuksen jätepussin (Priming Waste Bag) korkeuteen. Varmista, että se on asetettu riittävän korkealle estämään letkuston voimakas taittuminen, joka voisi estää virtausta, ja että se on asetettu riittävän matalalle, jotta letkuihin tai liitoksiin ei kohdistu vetoa.
3. Aseta esipylväs pidikkeeseen (katso Kuva 7.3). Esipylvään pidike.

Jatka painamalla **ENT**.



Kuva 7.3: Kiinnitä alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) pussin ripustimeen

Syötä erottelupylväs ja lataa venttiili nro 5

Näytöllä näkyy Näyttö 7.33.

Näytöllä mustina näkyvät venttiilit avautuvat automaattisesti, jolloin letkujen syöttäminen helpottuu.

1. Aseta erottelupylväs erottelupylvään pidikkeeseen (katso Kuva 7.4).

   ⚠ VAROITUS

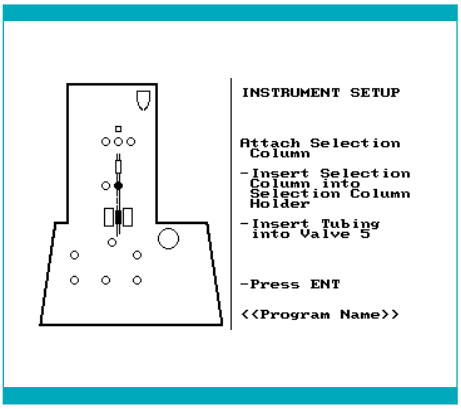
   Henkilövahingon riski. Jos erottelupylväs asetetaan paikalleen tai poistetaan, kun magneettiyksikkö on kytkettynä päälle, on olemassa henkilövahingon riski. Aseta erottelupylväs paikalleen tai poista se ainoastaan silloin, kun magneettiyksikkö on kytkettynä pois päältä.

2. Lataa letku venttiiliin nro 5.

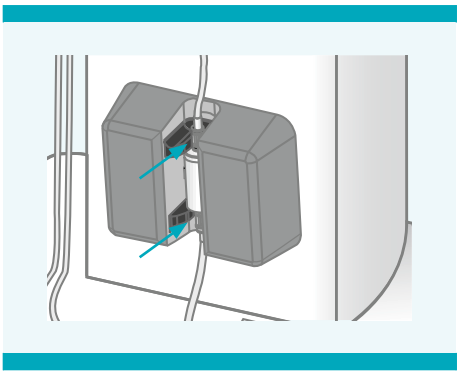
TÄRKEÄÄ

- *Kun kaikki vaiheet on suoritettu, tarkista letkut ja liitokset kiertymien tai voimakkaiden taitosten varalta, sillä ne voivat rajoittaa nesteen virtausta letkuissa. Tarkista kaikki venttiilit ja varmista, että letkut sopivat niihin hyvin.*
- *Kiinnitä letkusarja vain avoimiin ventttiileihin (kun painike on painettu sisään). Letku ei sovi kunnolla suljettuun venttiiliin.*
- *Jos letkustoa on säädettävä venttiilin sulkeutumisen jälkeen, älä vedä letkuista painamatta samalla venttiilipainiketta venttiilin avaamiseksi (katso Kuva 7.5).*

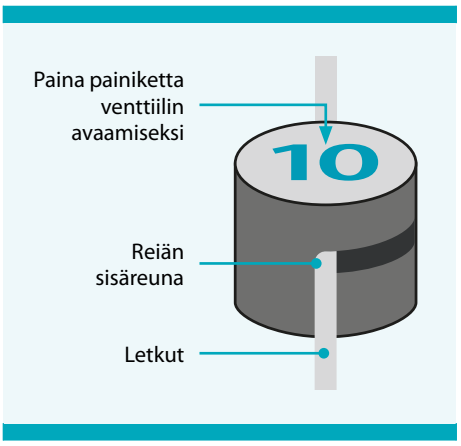
Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.33: Syötä erottelupylväs ja lataa venttiili nro 5.



Kuva 7.4: Erottelupylväs erottelupylvään pidikkeessä



Kuva 7.5: Oikein asetettu letkusto

Lataa venttiilit nro 1, 2, 3 ja 4

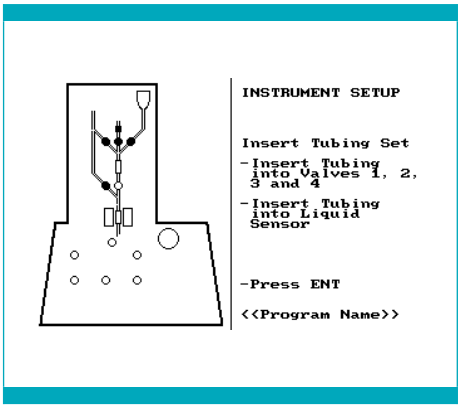
Näytöllä näkyy Näyttö 7.34.

1. Lataa letku venttiiliin nro 4. Varmista, että letkut on asetettu pitävästi venttiiliaukkoihin (katso Kuva 7.5). Huomioi erityisesti venttiilien nro 4 ja 5 välinen alue (katso Kuva 7.6) ja pidä nelitieliitin pystyasennossa.
2. Kiinnitä letku venttiiliin nro 1.
3. Aseta nelitieliitin aivan venttiilin nro 2 alapuolelle. Kiinnitä erityistä huomiota venttiilin nro 2 alapuolella olevaan alueeseen.
4. Aseta letkut venttiileihin nro 2 ja 3.
5. Asenna venttiilin nro 2 ja kuplaloukun välissä oleva letku nesteanturiin. Varmista, että letku on asennettu oikein anturin aukkoon.

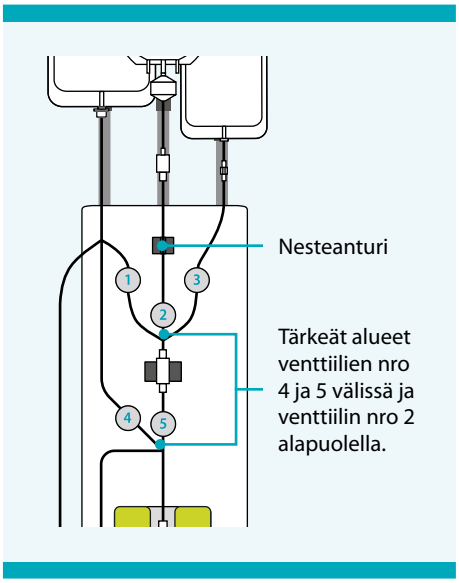
   TÄRKEÄÄ

   Toiminnan varmistamiseksi sekä nesteanturi että letkut on asennettava kuivina. Tarkista molemmat huolellisesti. Jos havaitset nestettä, kuivaa alue pehmeällä nukkaamattomalla liinalla.

Jatka painamalla **ENT**.



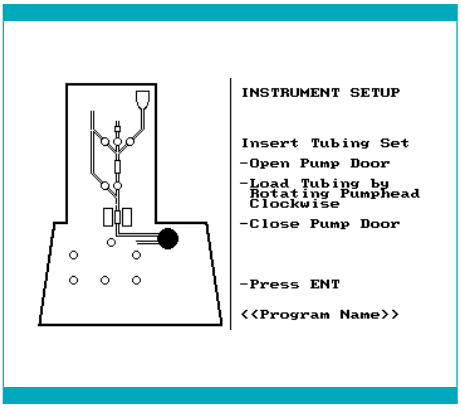
Näyttö 7.34: Lataa venttiilit nro 1, 2, 3, 4 sekä nesteanturit



Kuva 7.6: Letkut venttiileissä

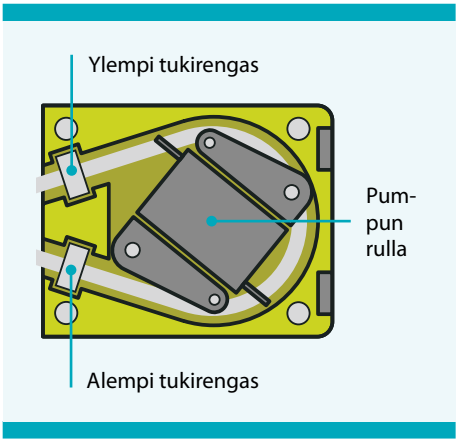
Pumpun letkujen lataaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.35.



Näyttö 7.35: Lataa pumpun letkut

1. Avaa pumpun ovi nostamalla sitä vasemmasta kulmasta.
2. Työnnä putken letkuston ylempi tukirengas pumpun kotelossa olevaan tukirengasuraan (katso Kuva 7.7).
3. Kierrä pumpun rullaa myötäpäivään, kunnes letkusto on pujotettu molempien letkujen ohjaustappien väliin ja letkusto on hyvin pumpun rullan ympärillä. Varmista, ettei letku ole puristunut ohjaustappien päihin. Jos pumpun sisällä olevaa letkua tarvitsee säätää, letkua voidaan purkaa pumpusta nostamalla alareunaa ja kääntämälllä pumpun rullaa vastapäivään.
4. Työnnä putken letkuston alempi tukirengas pumpun kotelossa olevaan tukirengasuraan.
5. Pyöritä pumpun rullaa myötä- ja vastapäivään varmistaaksesi, että pumppurulla liikkuu vapaasti.
6. Sulje pumpun ovi.



Kuva 7.7: Lataa pumpun letkut

TÄRKEÄÄ

Solujen erotteluohjelman aikana pumppu pysähtyy välittömästi, jos pumpun kotelo avataan. Jos ovi jätetään auki yli 600 sekunniksi, laite keskeyttää käynnissä olevan ajon.

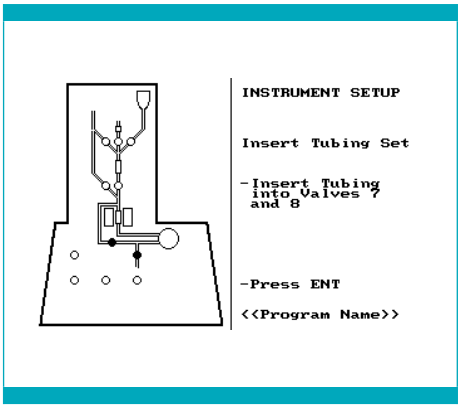
Jatka painamalla **ENT**.

Lataa venttiilit nro 7 ja 8

Näytöllä näkyy Näyttö 7.36.

1. Lataa letku venttiiliin nro 7.
2. Lataa letku venttiiliin nro 8.

Jatka painamalla **ENT**.



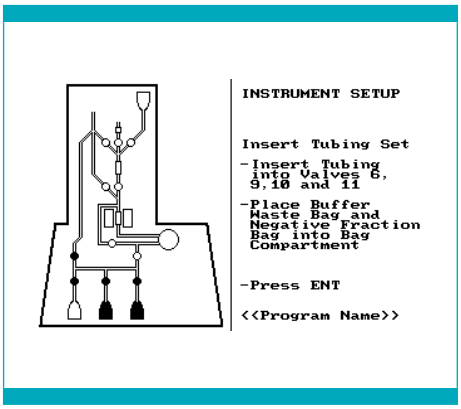
Näyttö 7.36: Lataa venttiilit nro 7 ja 8

Lataa venttiilit nro 6, 9, 10 ja 11

Näytöllä näkyy Näyttö 7.37.

1. Kiinnitä letkut venttiileihin nro 6, 9, 10 ja 11.
2. Aseta negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag) pussilokeroon. Varmista, ettei letkusto puristu pussilokeron kannen alle.

Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.37: Lataa venttiilit nro 6, 9, 10 ja 11

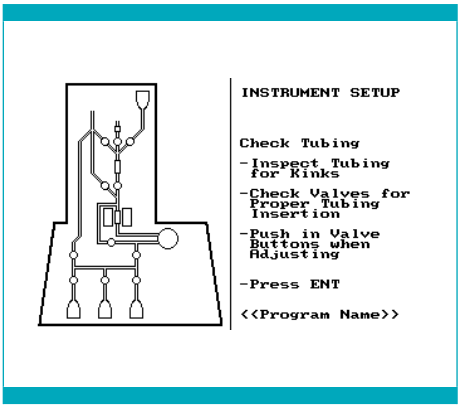
Tarkista uudelleen kaikki letkut ja liitokset

Näytöllä näkyy Näyttö 7.38.

Ennen kuin käynnistät solujen erottelun, tarkista uudelleen kaikki letkut ja liitokset.

Huomautus: Tarkista, että letkut on kiinnitetty oikein kaikkiin venttiileihin. Varmista, että letkut on aseteltu yksittäin ja ettei niissä ole taitoksia tai kohtia, joihin kohdistuu vetoa. Kiinnitä erityistä huomiota esipylvään alueeseen sekä pumppujen ja venttiilien nro 7 ja 8 (katso Kuva 7.8) sekä venttiilien nro 4 ja 5 väliseen alueeseen (katso Kuva 7.6). Jos letkustoa on säädettävä venttiilin sulkemisen jälkeen, älä vedä letkuista painamatta samalla venttiilipainiketta venttiilin avaamiseksi. Jos letkua on säädetty, on erittäin tärkeää painaa vastaavaa venttiiliä napakasti kaksi kertaa.

Jatka painamalla **ENT**.



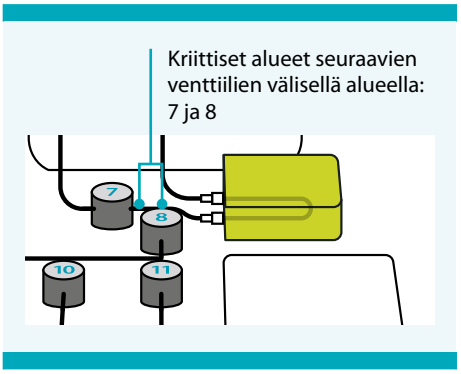
Näyttö 7.38: Tarkista uudelleen kaikki letkut ja liitokset

Venttiilien sijoittaminen

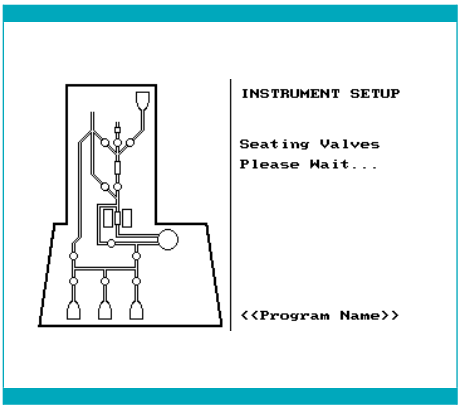
Näytöllä näkyy Näyttö 7.39.

Letkujen hyvän sopivuuden varmistamiseksi venttiileihin laite testaa kaikkia venttiileitä järjestyksessä, kahdesti. Katso ja kuuntele venttiilejä varmistaaksesi, että kaikki venttiilit toimivat oikein. Jos jokin venttiili ei toimi oikein, katso luku 8 ”Vianmääritys” sivulla 203. Vaihe voidaan toistaa painamalla ◄ ja sen jälkeen **ENT** (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta “Kuvaus”).

Myös magneettiohjaus testataan tässä tarkistusvaiheessa.



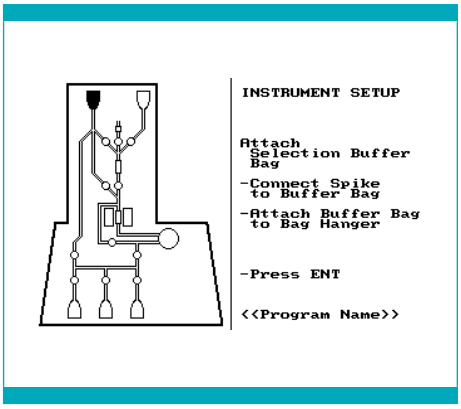
Kuva 7.8: Letkut venttiileissä



Näyttö 7.39: Venttiilien sijoittaminen

Liitä CliniMACS PBS/EDTA Buffer

Näytöllä näkyy Näyttö 7.40.



Näyttö 7.40: Kiinnitä puskuripussi

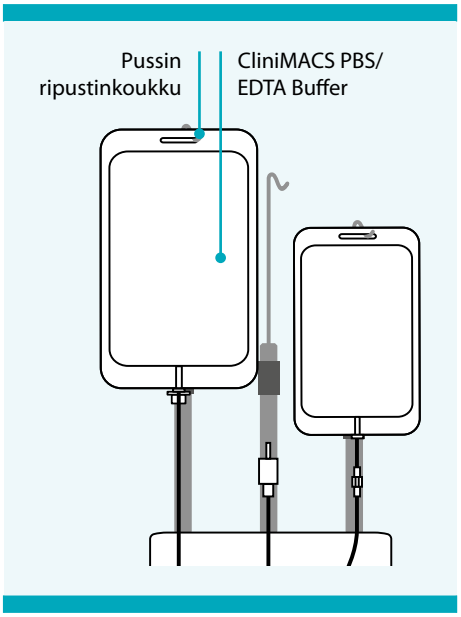
CliniMACS Plus -erotteluun käytetään CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria, johon on lisätty ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

1. Aseptisia tekniikoita käyttäen poista puskuripiikin korkki letkusarjasta (katso Kuva 7.2 sivulla 149) ja liitä piikki puskuripussiin. Varmista, että septum on läpäisty, jotta neste pääsee virtaamaan vapaasti. Purista pussia kevyesti varmistaaksesi, että piikki on pussin sisällä.

   Jos erotteluun tarvitaan enemmän kuin yksi litra puskuria, yhdistä kaksi puskuripussia plasmansiirtosarjan avulla.

2. Kiinnitä puskuripussi puskuripussikoukkuun pussin ripustimessa (katso Kuva 7.9).

3. Säädä puskuripussin ripustimen korkeutta. Nosta tai laske pussin ripustinta korkeuden säätämiseksi puskuripussin korkeuteen. Varmista, että se on asetettu riittävän korkealle estämään letkuston voimakas taittuminen, joka voisi estää virtausta, ja että se on asetettu riittävän matalalle, jotta letkuihin tai liitoksiin ei kohdistu vetoa.



Kuva 7.9: Kiinnitä puskuripussi

HUOMAUTUS

Laitteen vaurioitumisriski. Pussin ripustimien ylikuormittaminen voi vaurioittaa laitetta. Yhden pussin ripustimen kantokyky on 3 kg. Älä ylikuormita pussin ripustimia.

Jatka painamalla **ENT**.

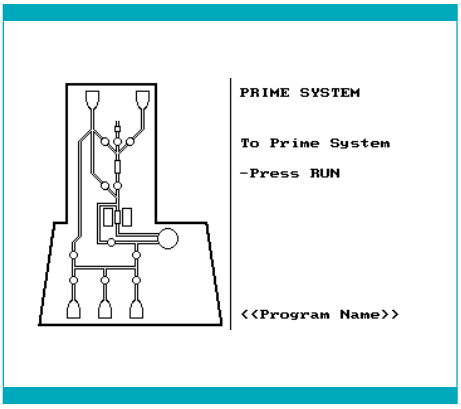
Käynnistä alustus

Näytöllä näkyy Näyttö 7.41.

Paina RUN alustuksen käynnistämiseksi.

Näytöllä näkyy Näyttö 7.42.

Alustusvaiheen aikana letkusarja täytetään puskurilla. Puskuri kiertää letkusarjan läpi, mukaan lukien esipylväs ja erottelupylväs. Alustusjäte kerätään alustuksen jätepussiin (Priming Waste Bag) ja puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag) (katso Kuva 7.2 sivulla 149). Alustuskierrot, joiden aikana toistetaan useita eri vaiheita, jatkuvat. Alustusvaihe kestää noin 1 minuutin. Alustuksen tila päivittyy näytöllä.



Näyttö 7.41: Käynnistä alustus

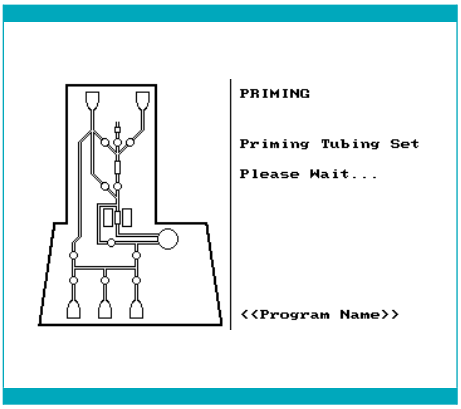
Tarkastus alustuksen aikana

Tarkista alustusvaiheen aikana kaikki letkut, liitännät, venttiilit ja pylväät vuotojen varalta ja varmista, ettei niissä ole taitoksia, jotka voisivat estää nesteen virtauksen.

Jos havaitset vuotoja tai vikoja, pysäytä ajo painamalla STOP.

Käyttäjällä on 600 sekuntia aikaa ratkaista ongelma.

Jatka prosessia painamalla RUN.



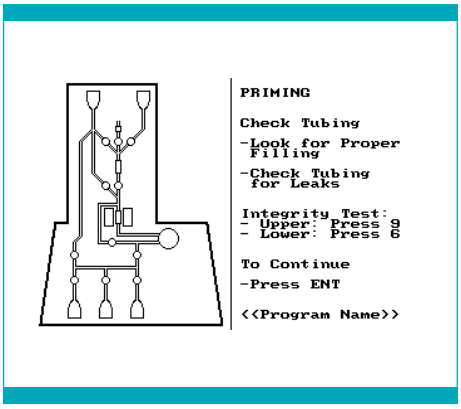
Näyttö 7.42: Alustus käynnissä

Erottelu keskeytetään, kun on kulunut 600 sekuntia. Jos käyttäjä ei voi ratkaista ongelmaa tai jos letkusarjassa on vika, poista letkusarja ja korvaa se uudella.

Huomautus: Kun alustus on käynnistetty, laitteen asetusvaiheeseen ei voida enää palata.

Kaikkien letkujen ja liitosten lopullinen tarkistus

Näytöllä näkyy Näyttö 7.43.



Näyttö 7.43: Letkujen viimeinen tarkistus

Tarkista seuraavat asiat, ennen kuin jatkat ohjelmaa:

- nestettä on kaikkialla letkusarjassa (paitsi Pre-System Filter -suodattimessa)
- letkusarjassa ei ole ylimääräistä ilmaa
- alustuksen jätepussissa (Priming Waste Bag) ja puskurin jätepussissa (Buffer Waste Bag) on nestettä
- negatiivisen fraktion pussissa (Negative Fraction Bag) ja solujen keräyspussissa (Cell Collection Bag) ei ole nestettä

Älä vielä paina ENT-painiketta.

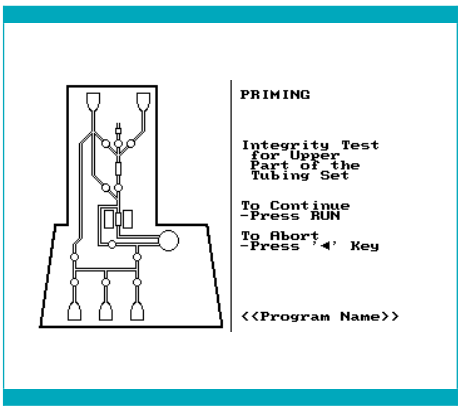
Eheystesti

Turvallisuuden varmistamiseksi on suoritettava eheystesti letkusarjassa olevien vuotojen varalta. Testi koostuu kahdesta automaattisesta vaiheesta, joissa letkusarjan ylä- ja alaosat paineistetaan ja tarkistetaan erikseen.

Letkusarjan yläosan eheystesti

1. Kun käyttäjä valitsee “kaikkien letkujen ja liitosten lopullinen tarkistus”, näytöllä näkyy Näyttö 7.43.
2. Kun ”kaikkien letkujen ja liitosten lopullinen tarkistus” on valmis, jatka eheystestillä. **Älä** paina ENT-painiketta.
3. Paina 9 letkusarjan yläosan eheystestin suorittamiseksi.

   Näytöllä näkyy Näyttö 7.44.



Näyttö 7.44: Käynnistä yläosan eheystesti

4. Käynnistä testi painamalla RUN.

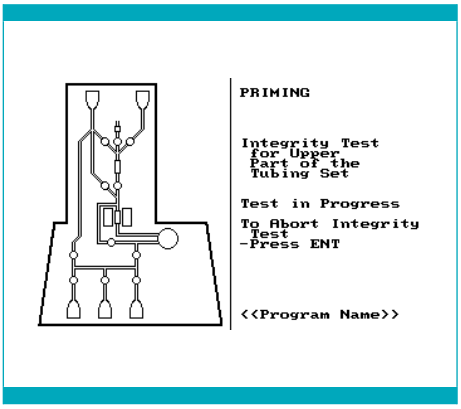
   Jos haluat palata kohtaan Näyttö 7.43, paina ◄.

5. Kun RUN-painiketta on painettu, laite käynnistää letkusarjan yläosan automaattisen testin.

   Näytöllä näkyy Näyttö 7.45.

   Laite muodostaa ylipaineen kahden minuutin ajaksi. Tänä aikana käyttäjän on tarkistettava kaikki pumpun letkusarjan yläosan yläpuolella olevat liitokset.

   Testin voi päättää milloin tahansa painamalla ENT.



Näyttö 7.45: Yläosan eheystesti käynnissä

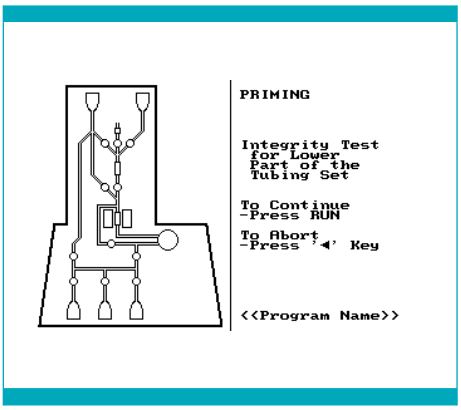
6. Kahden minuutin kuluttua paine purkautuu automaattisesti ja näytöllä näkyy Näyttö 7.43.

   Tarkista, onko testin aikana ilmennyt mahdollisia vuotoja. Jos vuotoja havaitaan missä tahansa letkusarjan liitoksessa, letkusarja on poistettava ja vaihdettava uuteen. Ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support), josta saat ohjeet viallisen letkusarjan palauttamista varten.

7. Jos vuotoja ei havaita, jatka letkusarjan alaosan eheystestillä.

Letkusarjan alaosan eheystesti

Näytöllä näkyy Näyttö 7.46.



Näyttö 7.46: Käynnistä alaosan eheystesti

1. Paina 6 letkusarjan alaosan eheystestin suorittamiseksi.
   Älä paina ENT-painiketta.

   Näytöllä näkyy Näyttö 7.46.

2. Paina RUN testin käynnistämiseksi.

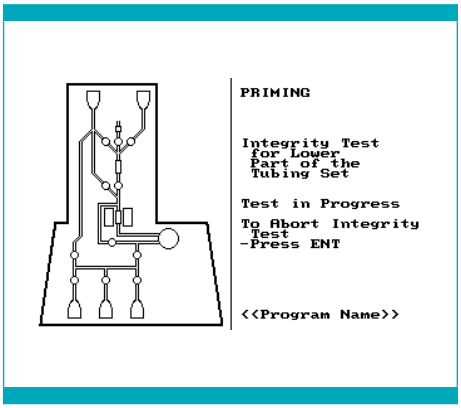
   Jos haluat palata kohtaan Näyttö 7.43, paina ◄.

3. Kun RUN-painiketta on painettu, laite käynnistää letkusarjan alaosan automaattisen testin.

Näytöllä näkyy Näyttö 7.47.

Laite muodostaa ylipaineen 30 sekunnin ajaksi. Tämän ajan kuluessa käyttäjän on tarkistettava pumpun letkuston alaosan liitäntä ja T-kappaleet venttiilien nro 6, 8, 9, 10 ja 11 välissä.

Testin voi päättää milloin tahansa painamalla **ENT**.



Näyttö 7.47: Alaosan eheystesti käynnissä

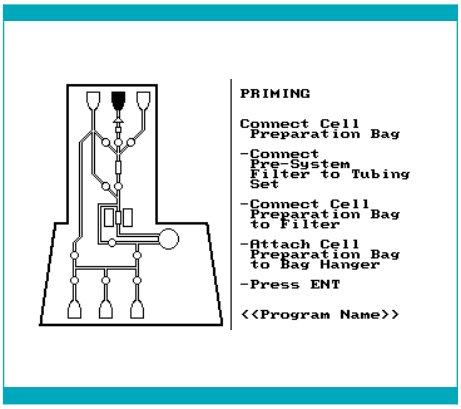
4. 30 sekunnin kuluttua paine purkautuu automaattisesti ja näytöllä näkyy Näyttö 7.43.

   Tarkista, onko testin aikana ilmennyt mahdollisia vuotoja. Jos vuotoja havaitaan missä tahansa letkusarjan liitoksessa, letkusarja on poistettava ja vaihdettava uuteen. Ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support), josta saat ohjeet viallisen letkusarjan palauttamista varten.

5. Jos vuotoja ei havaita, käyttäjä voi siirtyä seuraavaan vaiheeseen painamalla **ENT**.

Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag)

Näytöllä näkyy Näyttö 7.48.



Näyttö 7.48: Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag)

Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag), joka sisältää leimatun solutuotteen:

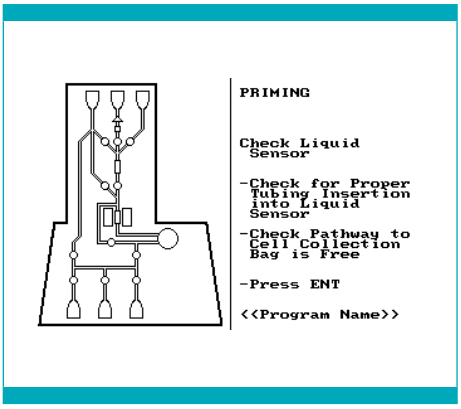
1. Poista kuplaloukun piikin suojus letkusarjasta (katso Kuva 7.2).
2. Poista Pre-System Filter -suodattimen tylpän pään suojus (katso Kuva 7.10). Työnnä piikki napakasti Pre-System Filter -suodattimeen.
3. Poista Pre-System Filter -suodattimen piikin suojus.
4. Työnnä Pre-System Filter -suodattimen piikki solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) käyttämättömään porttiin ja varmista, että septum on läpäisty, jotta neste pääsee virtaamaan vapaasti. Purista pussia kevyesti varmistaaksesi, että piikki on pussin sisällä.
5. Varmista huolellisesti, että Pre-System Filter -suodattimen ja letkusarjan välillä on pitävä liitos.
6. Ripusta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) pussin ripustimeen.
7. Säädä solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) ripustinta siten, että solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) on pystyasennossa.

Jatka painamalla **ENT**.

Nesteanturin lopullinen tarkistus

Näytöllä näkyy Näyttö 7.49.

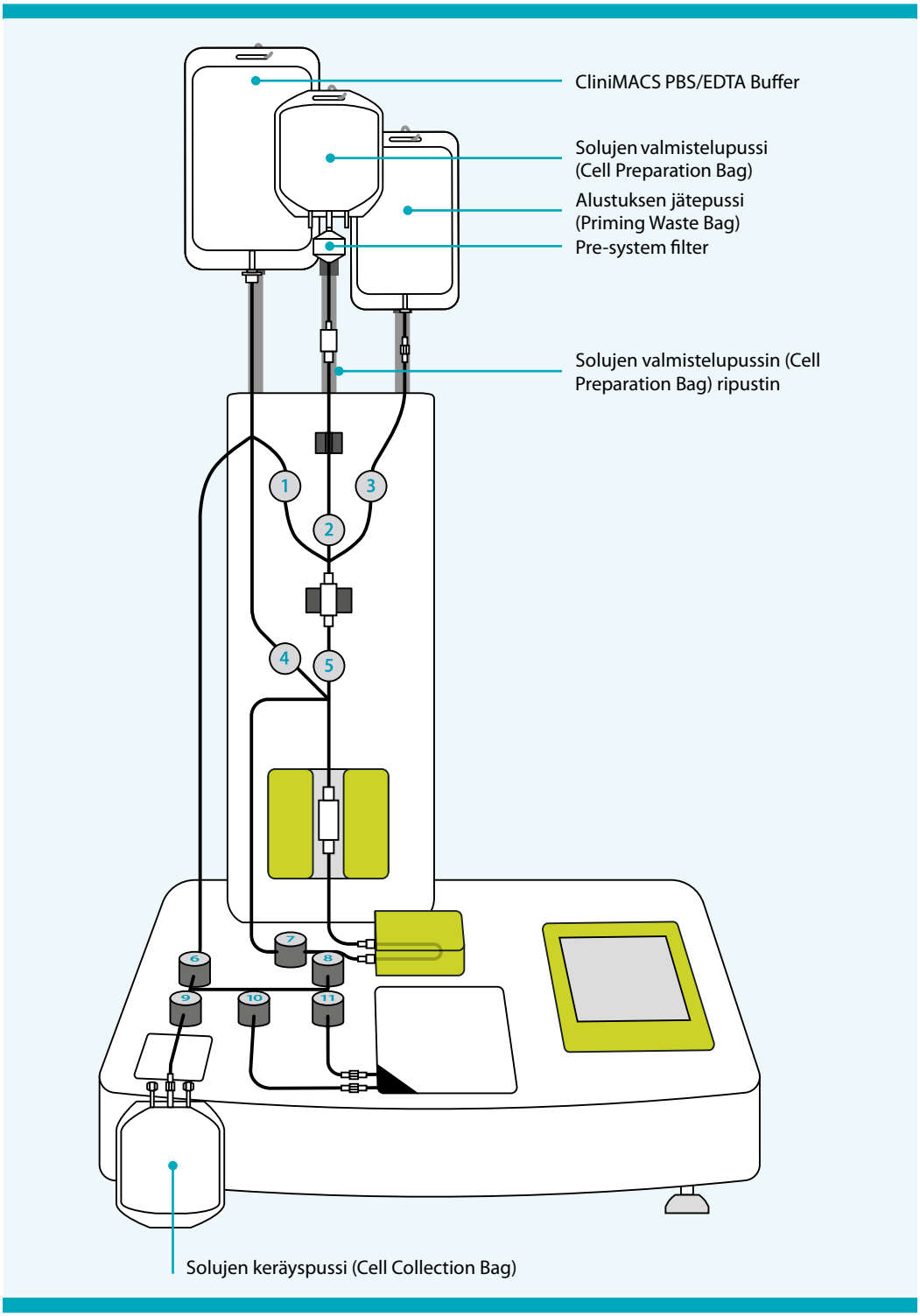
1. Tarkista nesteanturin johdot. Varmista, että letkut on kiinnitetty oikein, ettei niissä ole ulkopuolista nestettä ja etteivät ne ole siirtyneet pois paikoiltaan lataamisen aikana.
2. Varmista, että esteetön virtaus solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on mahdollinen (avaa esimerkiksi venttiilin nro 9 alapuolella oleva kiristin).



Näyttö 7.49: Nesteanturin lopullinen tarkistus

Jatka painamalla **ENT**.

▶ **Jatka VAIHEESEEN 4.**



Kuva 7.10: CliniMACS Plus Instrument ja siihen kuuluva CliniMACS Tubing Set, CliniMACS PBS/EDTA Buffer, Cell Preparation Bag ja Cell Collection Bag

7.3.2 CliniMACS-letkusarjojen vaihtoehtoinen asentaminen

VAIHEEN 3 ohjeissa ja CliniMACS Plus Instrument -laitteen näytön ohjeissa kuvataan CliniMACS-letkusarjojen asentaminen steriileissä olosuhteissa (puhdastila).

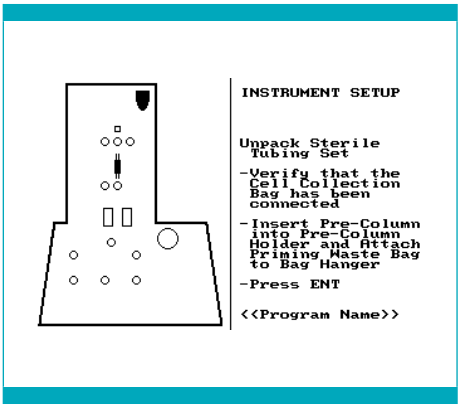
CliniMACS Plus -järjestelmä on suljettu järjestelmä, jota ei välttämättä tarvitse käyttää puhdastilassa. Jos sitä käytetään muualla kuin puhdastilassa, letkusarjan asentaminen poikkeaa puhdastilassa tehtävästä asennuksesta solujen erotteluprosessin steriiliyden varmistamiseksi.

Solujen erotteluprosessin steriiliys voi vaarantua solujen keräyspussin (Cell Collection Bag), CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskurin, Pre-System Filter -suodattimen tai solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) kiinnittämisen aikana. Järjestelmän steriiliyden varmistamiseksi komponentit on kiinnitettävä letkusarjaan steriileissä olosuhteissa (esim. vetokaapissa). Jos komponentit kiinnitetään letkusarjaan ennen CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen asentamista, laitteen antamien ja VAIHEESEEN 3 kuuluvien ohjeiden järjestystä on muutettava, minkä lisäksi vaaditaan lisätoimenpiteitä.

Kun CliniMACS Plus Instrument -laitetta käytetään puhdashuoneen ulkopuolella, on noudatettava seuraavia lisäohjeita, jotka poikkeavat VAIHEEN 3 ohjeista.

Letkusarjan asennuksen valmistelu

Näytöllä näkyy Näyttö 7.50.



Näyttö 7.50: Poista letkusarja pakkauksesta

Kuten aiemmin on kuvattu, solujen keräyspussi (Cell Collection Bag), CliniMACS PBS/EDTA Buffer, Pre-System Filter ja solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) on kiinnitettävä letkusarjaan, ennen kuin letkusarja asennetaan laitteeseen steriileissä olosuhteissa.

Poista letkusarja pakkauksesta steriileissä olosuhteissa ja kiinnitä siihen seuraavat komponentit steriileissä olosuhteissa:

- **Solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) liittäminen**

  Katso Sivu 151.

CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskurin kiinnittäminen

TÄRKEÄÄ

Ennen kun liität CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskurin letkusarjaan, sulje puskurin piikin alapuolella oleva letku letkupihtien avulla puskurin virtaamisen estämiseksi letkusarjaan ennen asennusta (katso kiristin 1, Kuva 7.11 sivulla 168).

Aseptisia tekniikoita käyttäen poista puskuripiikin suojus letkusarjasta ja liitä puskuripussiin. Varmista, että septum on läpäisty, jotta neste pääsee virtaamaan vapaasti. Purista pussia kevyesti varmistaaksesi, että piikki on pussin sisällä.

Pre-System Filter -suodattimen kiinnittäminen

Poista kuplaloukun piikin suojus. Poista Pre-System Filter -suodattimen alemman aukon suojus.

Työnnä piikki napakasti Pre-System Filter -suodattimeen. ÄLÄ poista Pre-System Filter -suodattimen ylimmän aukon suojusta. Sulje letku letkupihtien avulla heti kuplaloukun alapuolelta (katso kiristin 2, Kuva 7.11 sivulla 168). Tämä estää solujen valmistelupussissa (Cell Preparation Bag) olevan valmiin solususpension siirtymisen Pre-System Filter -suodattimeen ja letkusarjaan.

Solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) kiinnittäminen

Liitä magneettileimatut ja pestyt solut sisältävä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) letkusarjaan. Lävistä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) Pre-System Filter -suodattimen avulla ja varmista, että septum on läpäisty, jotta neste pääsee virtaamaan vapaasti. Purista pussia kevyesti varmistaaksesi, että piikki on pussin sisällä.

Asentaminen CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen

Ripusta puskuripussi laitteen vasemmanpuoleiseen pussin ripustimeen, solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) keskimmäiseen ripustimeen ja alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) oikeanpuoleiseen ripustimeen.

Jatka painamalla **ENT**.

- **Liitä alustuksen jätepussi (Priming Waste Bag) ja kiinnitä esipylväs**

  Katso Sivu 151.

- **Syötä erottelupylväs ja lataa venttiili nro 5**

  Katso Sivu 152.

- **Lataa venttiilit nro 1, 2, 3 ja 4**

  Katso Sivu 153.

▶ Pumpun letkujen lataaminen

Katso Sivu 154.

▶ Lataa venttiilit nro 7 ja 8

Katso Sivu 155.

▶ Lataa venttiilit nro 6, 9, 10 ja 11

Katso Sivu 155.

▶ Tarkista uudelleen kaikki letkut ja liitokset

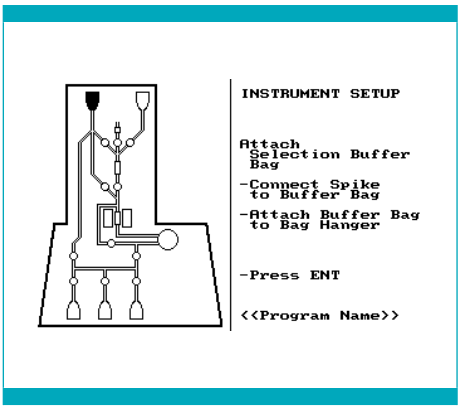
Katso Sivu 156.

▶ Venttiilien sijoittaminen

Katso Sivu 156.

Liitä CliniMACS PBS/EDTA Buffer

Näytöllä näkyy Näyttö 7.51.



Näyttö 7.51: Kiinnitä puskuripussi

1. Puskuripussi kiinnitettiin vaiheen ”letkusarjan asennuksen valmistelu” aikana. Näin ollen puskuripussin ripustimen korkeutta voi olla tarvetta säätää. Nosta tai laske ripustinta puskuripussin koon mukaan, ja varmista samalla, että pussi sijaitsee riittävän korkealla estämään letkujen voimakkaan taittumisen, joka voisi rajoittaa nestevirtausta, ja riittävän matalalla, jotta letkuihin ja liittimiin ei kohdistu vetoa.
2. Poista heti puskuripiikin alapuolella olevat letkupihdit.

Jatka painamalla **ENT**.

▶ Käynnistä alustus

Katso Sivu 158.

▶ Tarkastus alustuksen aikana

Katso Sivu 158.

▶ Kaikkien letkujen ja liitosten lopullinen tarkistus

Katso Sivu 159.

▶ Eheystesti

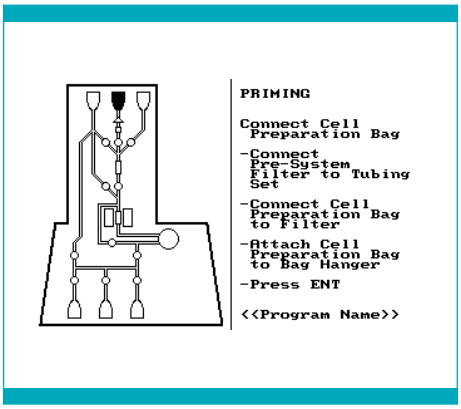
Katso Sivu 159.

Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) (ja Pre-System Filter)

Näytöllä näkyy Näyttö 7.52.

1. Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) ja Pre-System Filter kiinnitettiin ”letkusarjan asennuksen valmistelu” -vaiheen aikana.
2. Poista kuplaloukun alapuolella olevat letkupihdit.

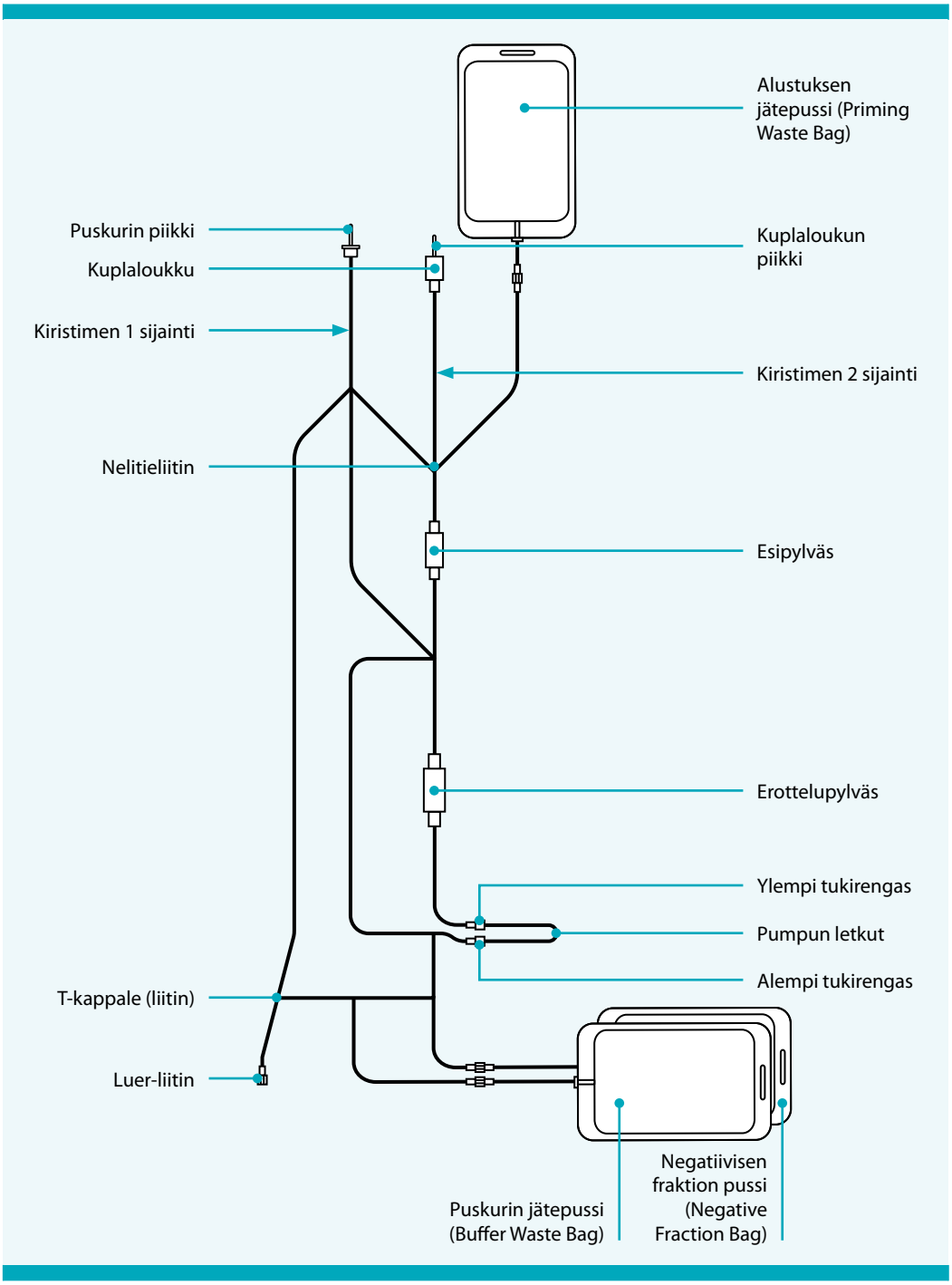
Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.52: Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag)

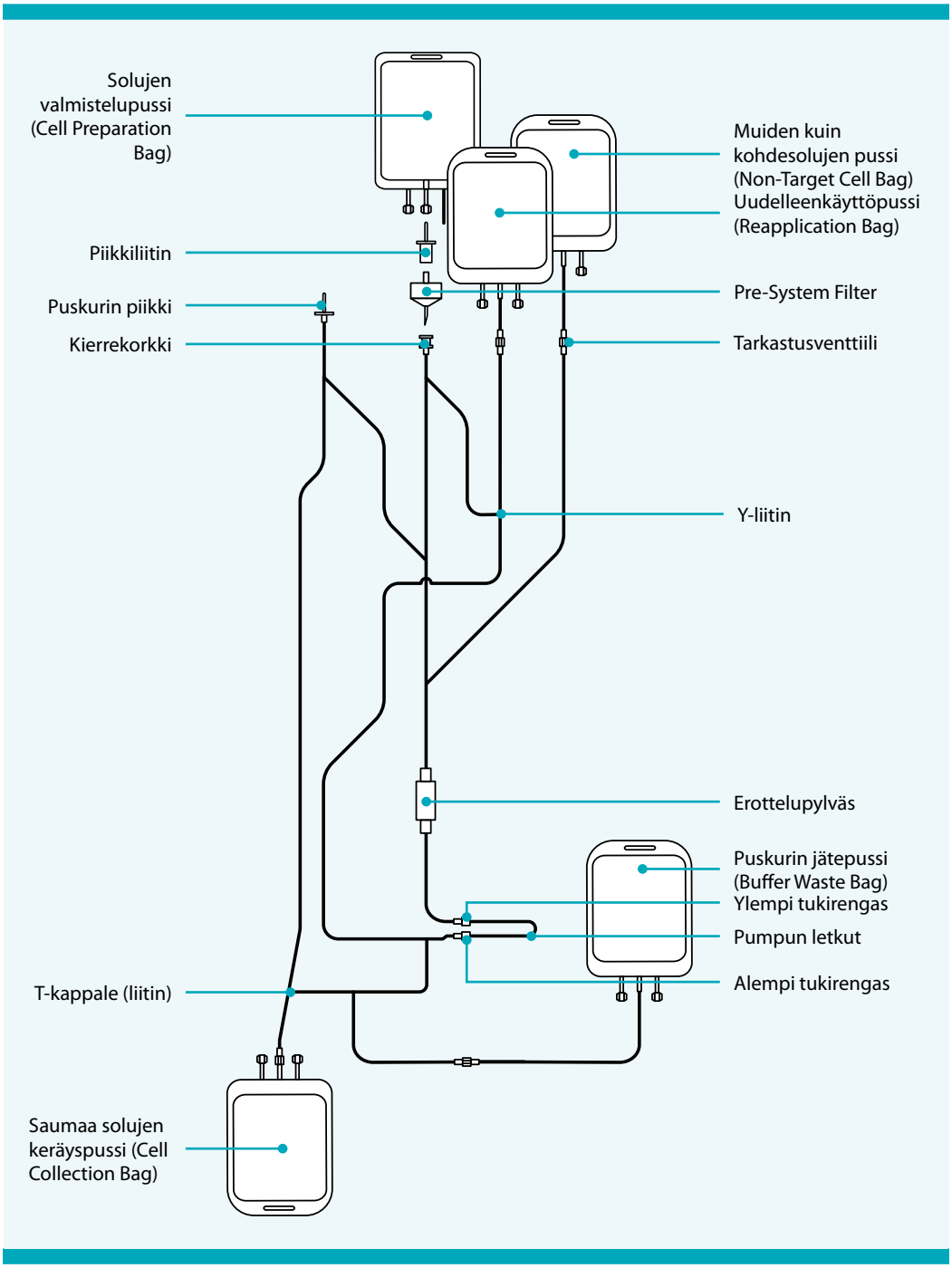
▶ Nesteanturin lopullinen tarkistus

Katso Sivu 162.



Kuva 7.11: CliniMACS Tubing Set -letkusarjan yleinen rakenne (CliniMACS Tubing Set) ja kiristinten sijainnit 1 ja 2

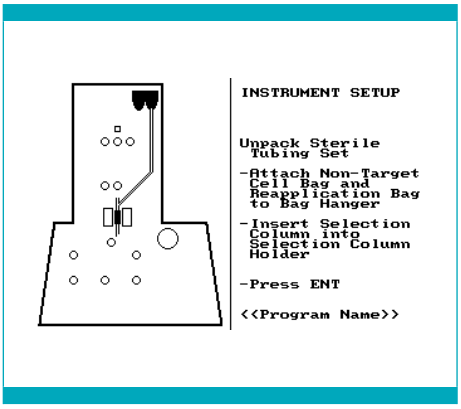
7.3.3 CliniMACS Depletion Tubing Set



Kuva 7.12: CliniMACS Depletion Tubing Set -letkusarjan yleinen rakenne

Letkusarjan asennuksen valmistelu

Näytöllä näkyy Näyttö 7.53.



Näyttö 7.53: Poista letkusarja pakkauksesta

Ohjeet ovat näytön oikealla puolella ja ohjeisiin liittyvät kaaviot vasemmalla puolella. Näytöllä vilkkuvat alueet merkitsevät vaadittavia toimenpiteitä.

CliniMACS Depletion Tubing Set toimitetaan suljetussa steriilissä pakkauksessa. Kukin letkusarja sisältää esiasennetut letkut, pylväät ja pussit yhtä erottelua varten (katso Kuva 7.12). Kun pakkaus on ehjä, nestevirtaus on steriili.

Huomautus: CliniMACS Plus Instrument -laitteen alimmalla rivillä näkyy valitun ohjelman nimi, esim. DEPLETION 3.1. Letkusarjan asennuksen kaikissa vaiheissa voidaan painaa "Undo"-painiketta (katso kohta "Kuvaus" CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaasta) ja palata edelliseen vaiheeseen.

1. Kirjaa ylös letkusarjan eränumero ja viimeinen käyttöpäivämäärä.

   Poista letkusarja pakkauksesta steriileissä olosuhteissa (esim. vetokaapissa). Poista pakkauksessa käytetty kiristin ennen letkusarjan käyttämistä. Kiristimeen on merkitty teksti "Remove before assembly to CliniMACS Plus Instrument" (Poista ennen asennusta CliniMACS Plus Instrument -laitteeseen).

2. Tarkista luer-liitokset pusseihin. Luer-liitosten on oltava tiukasti suljettuja.

Solujen keräyspussi (Cell Collection Bag)

CliniMACS Depletion Tubing Set toimitetaan kiinnitetyn solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) kanssa. Huomioi tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino. Jos erotteluun tarvitaan useampi kuin yksi solujen keräyspussi (Cell Collection Bag), yhdistä pussit plasmansiirtosarjan avulla. Varmista, että kaikki liitokset on suljettu tiiviisti. Huomioi tyhjän (tyhjien) solujen keräyspussin/-pussien (Cell Collection Bag) paino.

Kiinnitä muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag) ja uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag), ja aseta erottelupylväs

1. Kiinnitä muu kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag) ja uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag) laitteen oikeanpuoleiseen pussin ripustimeen (katso Kuva 7.13).
2. Säädä pussin ripustimien korkeutta. Nosta tai laske pussin ripustimia korkeuden säätämiseksi muiden kuin kohdesolujen pussin (Non-Target Cell Bag) ja uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) korkeuteen. Varmista, että ne on asetettu riittävän korkealle estämään letkuston voimakas taittuminen, joka voisi estää virtausta, ja että ne on asetettu riittävän matalalle, jotta letkuihin tai liitoksiin ei kohdistu vetoa.

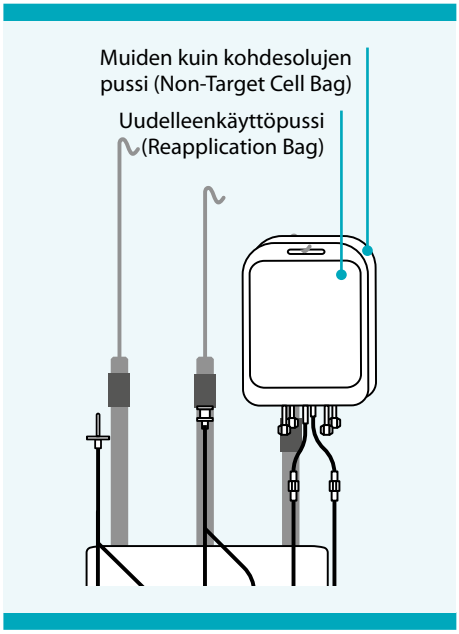
   HUOMAUTUS

   Laitteen vaurioitumisriski. Pussin ripustimien ylikuormittaminen voi vaurioittaa laitetta. Yhden pussin ripustimen kantokyky on 3 kg. Älä ylikuormita pussin ripustimia.
3. Aseta erottelupylväs erottelupylvään pidikkeeseen (katso Kuva 7.14).

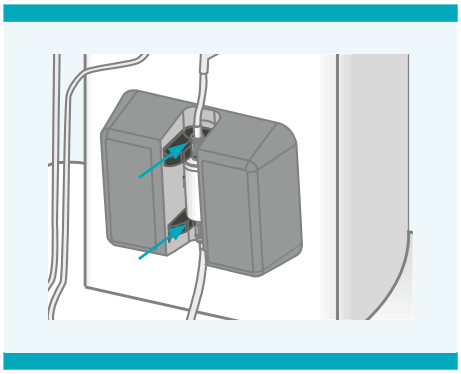
   ⚠ VAROITUS

   Henkilövahingon riski. Jos erottelupylväs asetetaan paikalleen tai poistetaan, kun magneettiyksikkö on kytkettynä päälle, on olemassa henkilövahingon riski. Aseta erottelupylväs paikalleen tai poista se ainoastaan silloin, kun magneettiyksikkö on kytkettynä pois päältä.

Jatka painamalla **ENT**.



Kuva 7.13: Kiinnitä muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag) ja uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag)



Kuva 7.14: Erottelupylväs erottelupylvään pidikkeessä

Lataa venttiilit nro 1, 2, 3, 4 ja 5

Näytöllä näkyy Näyttö 7.54.

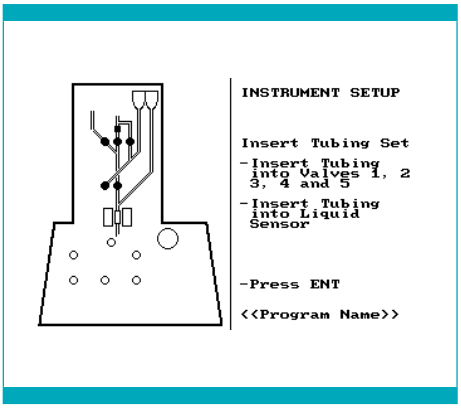
Näytöllä näkyvät venttiilit avautuvat automaattisesti.

1. Kiinnitä letkut venttiileihin nro 1, 2, 3, 4 ja 5.
2. Kiinnitä venttiilin nro 2 yläpuolella oleva letku nesteanturiin (katso Kuva 7.15).

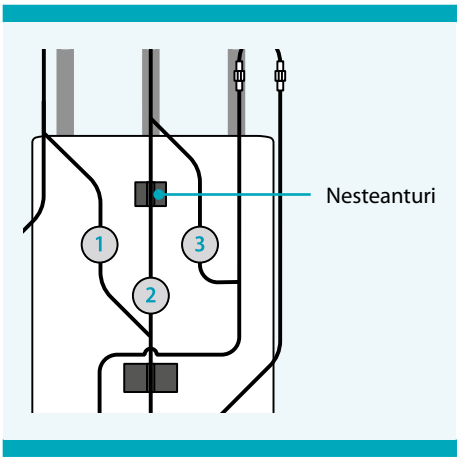
TÄRKEÄÄ

- *Toiminnan varmistamiseksi sekä nesteanturi että letkut on asennettava kuivina. Tarkista molemmat huolellisesti. Jos havaitset nestettä, kuivaa alue pehmeällä nukkaamattomalla liinalla.*
- *Kun kaikki vaiheet on suoritettu, tarkista letkut ja liitokset kiertymien tai voimakkaiden taitosten varalta, sillä ne voivat rajoittaa nesteen virtausta letkuissa. Tarkista kaikki venttiilit ja varmista, että letkut sopivat niihin hyvin.*
- *Työnnä letkusarja vain avoimiin ventttiileihin (kun painike on painettu sisään). Letku ei sovi kunnolla suljettuun venttiiliin.*
- *Jos letkustoa on säädettävä venttiilin sulkeutumisen jälkeen, älä vedä letkuista painamatta samalla venttiilipainiketta venttiilin avaamiseksi (katso Kuva 7.16)*

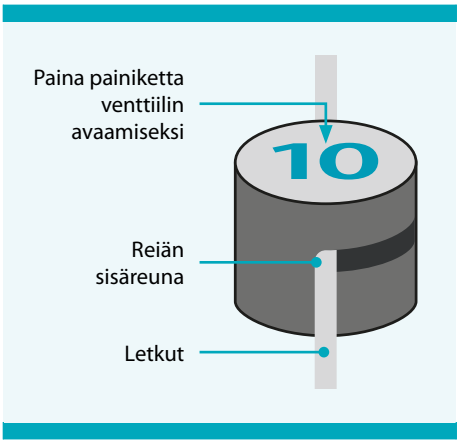
Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.54: Lataa venttiilit nro 1, 2, 3, 4 ja 5



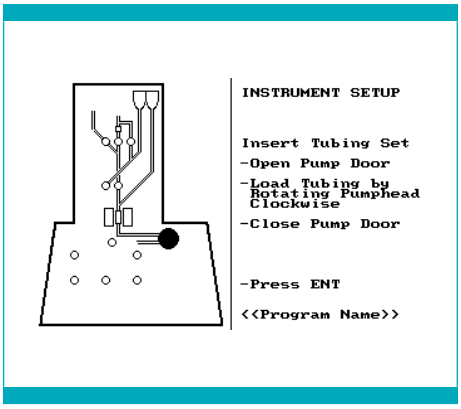
Kuva 7.15: Letkut venttiileissä



Kuva 7.16: Oikein asennettu letkusto

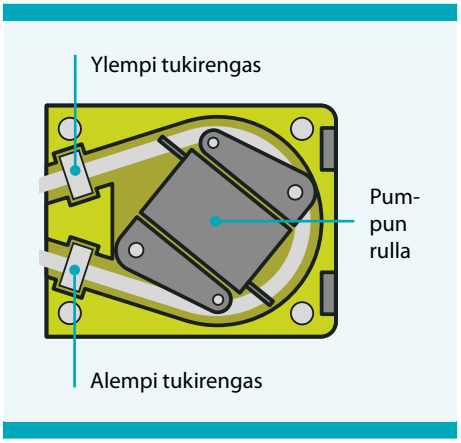
Lataa pumpun letkut

Näytöllä näkyy Näyttö 7.55.



Näyttö 7.55: Pumpun letkujen lataaminen

1. Avaa pumpun ovi nostamalla sitä vasemmasta kulmasta.
2. Työnnä putken letkuston ylempi tukirengas pumpun kotelossa olevaan tukirengasuraan (katso Kuva 7.17).
3. Kierrä pumpun rullaa myötäpäivään, kunnes letkusto on pujotettu molempien letkujen ohjaustappien väliin ja letkusto on hyvin pumpun rullan ympärillä. Varmista, ettei letku ole puristunut ohjaustappien päihin. (Jos pumpun sisällä olevaa letkua tarvitsee säätää, letkua voidaan purkaa pumpusta nostamalla alareunaa ja kääntämälllä pumpun rullaa vastapäivään.)
4. Työnnä putken letkuston alempi tukirengas pumpun kotelossa olevaan tukirengasuraan.
5. Toista pumpun rullan pyörittäminen myötäpäivään varmistaaksesi, että se liikkuu vapaasti.
6. Sulje pumpun ovi.



Kuva 7.17: Lataa pumpun letkut

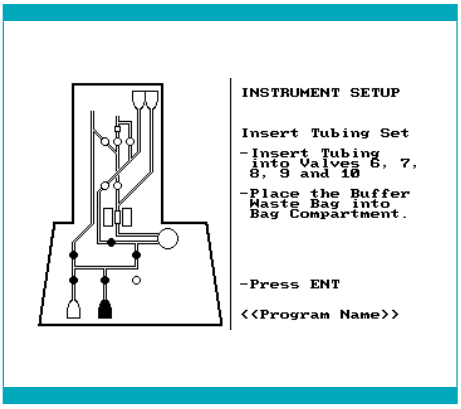
TÄRKEÄÄ

Solujen erottelun aikana pumppu pysähtyy välittömästi, jos pumpun kotelo avataan. Jos ovi jätetään auki yli 600 sekunnin ajaksi, laite keskeyttää käynnissä olevan ajon.

Jatka painamalla **ENT**.

Lataa venttiilit nro 6, 7, 8, 9 ja 10

Näytöllä näkyy Näyttö 7.56.



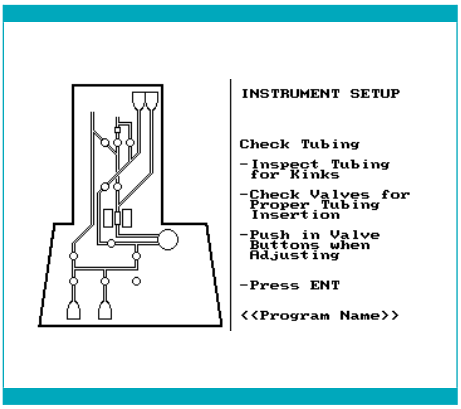
Näyttö 7.56: Lataa venttiilit nro 6, 7, 8, 9 ja 10

1. Kiinnitä letkut venttiileihin nro 6, 7, 8, 9 ja 10. Varmista, että letkut on kiinnitetty pitävästi venttiiliaukkoihin.
2. Aseta puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag) pussilokeroon. Varmista, ettei letkusto puristu pussilokeron kannen alle.
3. Varmista, että esteetön virtaus solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on mahdollinen.

Jatka painamalla **ENT**.

Tarkista uudelleen kaikki letkut ja liitokset

Näytöllä näkyy Näyttö 7.57.



Näyttö 7.57: Tarkista uudelleen kaikki letkut ja liitokset

1. Varmista venttiilistä nro 1 alkaen, että letkut ovat oikein paikoillaan ja sijaitsevat oikeissa venttiileissä.

   Tarkista jokaisessa venttiilissä oleva letku. Varmista, että jokainen letku menee venttiilin sisälle ja ulos venttiilistä rei'än sisäpuolen lopussa olevan laajennuksen läpi (katso Kuva 7.16).
2. Tarkista, ettei letkuissa ole taitoksia tai kierteitä.

Huomautus: Jos letkustoa on säädettävä venttiilin sulkemisen jälkeen, älä vedä letkuista painamatta samalla venttiilipainiketta venttiilin avaamiseksi.

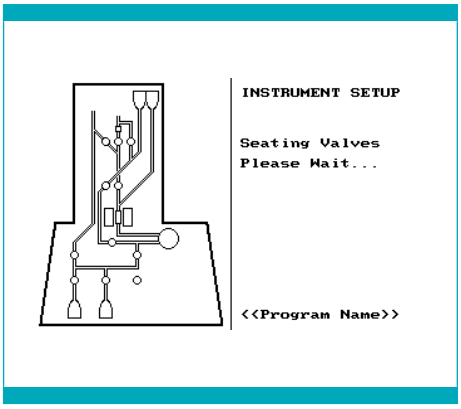
Jatka painamalla **ENT**.

Venttiilien sijoittaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.58.

Letkujen hyvän sopivuuden varmistamiseksi venttiileihin laite testaa kaikkia venttiileitä järjestyksessä, kahdesti. Katso ja kuuntele venttiilejä varmistaaksesi, että kaikki venttiilit toimivat oikein. Jos jokin venttiili ei toimi oikein, katso luku 8 ”Vianmääritys” sivulla 203. Tämä vaihe voidaan toistaa painamalla ◄ ja sen jälkeen **ENT** (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta “Kuvaus”).

Myös magneettiohjaus testataan tässä tarkistusvaiheessa.



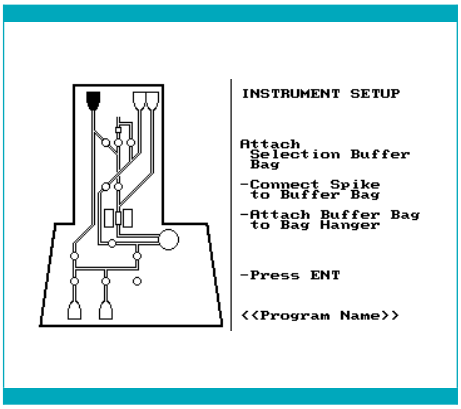
Näyttö 7.58: Venttiilien sijoittaminen

Liitä CliniMACS PBS/EDTA Buffer

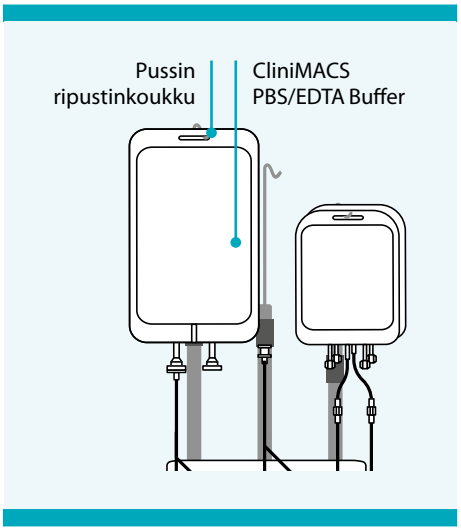
Näytöllä näkyy Näyttö 7.59.

CliniMACS Plus -erotteluun käytetään CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria, johon on lisätty ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus).

1. Aseptisia tekniikoita käyttäen poista puskuripiikin suojus (katso Kuva 7.12 sivulla 169) letkusarjasta ja liitä piikki puskuripussiin. Varmista, että septum on läpäisty, jotta neste pääsee virtaamaan vapaasti. Purista pussia kevyesti varmistaaksesi, että piikki on pussin sisällä ja ettei pussissa ole ulkopuolista vuotoa.
2. Kiinnitä puskuripussi puskuripussikoukkuun pussin ripustimessa (katso Kuva 7.18).
3. Säädä puskuripussin ripustimen korkeutta. Nosta tai laske pussin ripustinta korkeuden säätämiseksi puskuripussin korkeuteen. Varmista, että se on asetettu riittävän korkealle estämään letkuston voimakas taittuminen, joka voisi estää virtausta, ja että se on asetettu riittävän matalalle, jotta letkuihin tai liitoksiin ei kohdistu vetoa.



Näyttö 7.59: Kiinnitä puskuripussi



Kuva 7.18: Kiinnitä puskuripussi

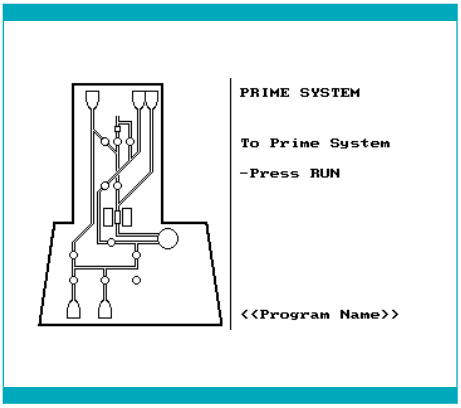
TÄRKEÄÄ

Useista gravimetrisistä alustus- ja huuhteluvaiheista johtuen on erittäin tärkeää, että puskuripussi sijaitsee mahdollisimman korkealla, korkeammalla kuin uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag) ja muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag) (katso Kuva 7.20 sivulla 180).

Jatka painamalla **ENT**.

Käynnistä alustus

Näytöllä näkyy Näyttö 7.60.



Näyttö 7.60: Käynnistä alustus

Paina **RUN** alustuksen käynnistämiseksi.

Näytöllä näkyy Näyttö 7.61.

Alustusvaiheen aikana letkusarja täytetään CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskurilla. Puskuri kiertää letkusarjan ja erottelupylvään läpi. Alustusneste kerätään puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag), uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag) ja muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag), kun taas solujen keräyspussi (Cell Collection Bag) pysyy tyhjänä (katso Kuva 7.12 sivulla 169). Alustuskierrot, joiden aikana toistetaan useita eri vaiheita, jatkuvat.

Tämä alustusprosessi kestää noin 2,5 minuuttia. Alustuksen tila päivittyy näytöllä.

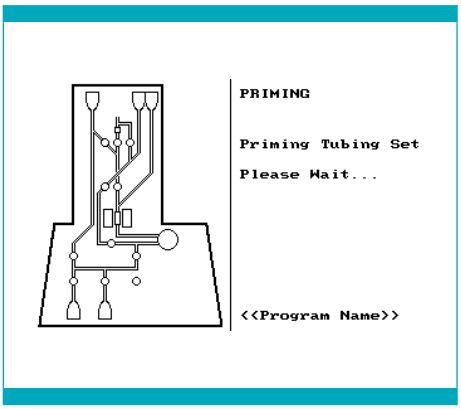
Tarkista alustuksen aikana

Tarkista alustusvaiheen aikana kaikki letkut, liitännät, venttiilit ja erottelupylväs vuotojen varalta ja varmista, ettei niissä ole taitoksia, jotka voisivat estää nesteen virtauksen.

Jos havaitset vuotoja tai vikoja, pysäytä ajo painamalla **STOP**.

Käyttäjällä on 600 sekuntia aikaa ratkaista ongelma.

Jatka prosessia painamalla **RUN**.



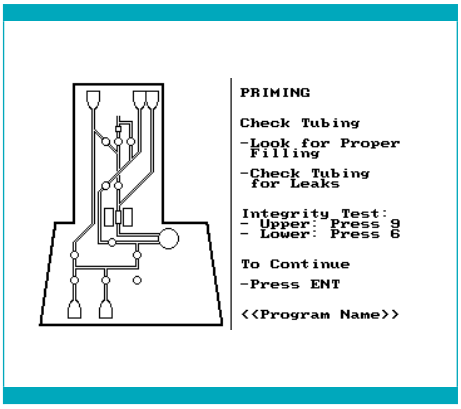
Näyttö 7.61: Alustus käynnissä

Erottelu keskeytetään, kun on kulunut 600 sekuntia. Jos käyttäjä ei voi ratkaista ongelmaa tai jos letkusarjassa on vika, poista letkusarja ja korvaa se uudella.

Huomautus: Kun alustus on käynnistetty, laitteen asetusvaiheeseen ei voida enää palata.

Kaikkien letkujen ja liitosten lopullinen tarkistus

Näytöllä näkyy Näyttö 7.62.



Näyttö 7.62: Kaikkien letkujen ja liitosten lopputarkistus

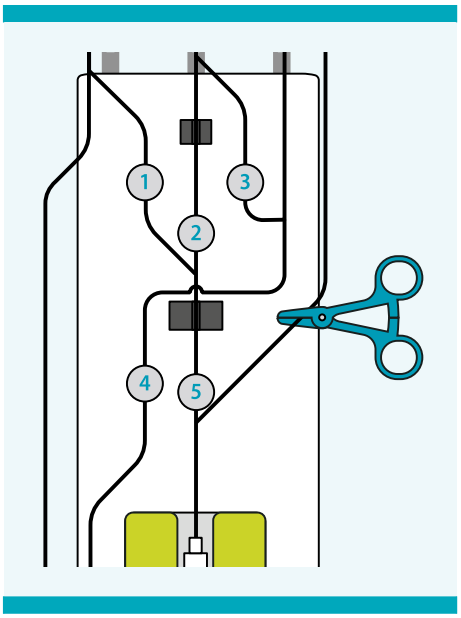
Tarkista seuraavat asiat, ennen kuin käynnistät ajon:

- nestettä on kaikkialla letkusarjassa, lukuun ottamatta seuraavien venttiilien yläpuolisia letkuja: 2 ja 3
- letkusarjassa ei ole ylimääräistä ilmaa
- uudelleenkäyttöpussissa (Reapplication Bag), puskurin jätepussissa (Buffer Waste Bag) ja muiden kuin kohdesolujen pussissa (Non-Target Cell Bag) on nestettä
- solujen keräyspussissa (Cell Collection Bag) ei ole nestettä

Älä vielä paina **ENT**-painiketta.

Eheystesti

Turvallisuuden varmistamiseksi on suoritettava eheystesti letkusarjassa olevien vuotojen varalta. Testi koostuu kahdesta automaattisesta vaiheesta, joissa letkusarjan ylä- ja alaosat ylipaineistetaan ja testataan erikseen.



Kuva 7.19: Eheystestin valmistelu

⚠ HUOMIO

Prosessin hidastumisen riski. Jos muiden kuin kohdesolujen pussin (Non-Target Cell Bag) alapuolella olevaa kiristintä ei ole poistettu eheystestin jälkeen, muita kuin kohdesoluja (leimattuja soluja) ei pystytä poistamaan erottelupylväästä eluution aikana. Muiden kuin kohdesolujen jatkokäyttö on näin ollen mahdotonta. Erottelutoimenpide on suoritettava uudelleen. Poista kiristin eheystestin suorittamisen jälkeen.

TÄRKEÄÄ

Eheystesti toimii oikealla tavalla ainoastaan, kun muiden kuin kohdesolujen pussin (Non-Target Cell Bag) alapuolella oleva letku on suljettu kiristimellä. Sulje muiden kuin kohdesolujen pussin (Non-Target Cell Bag) alapuolella oleva kiristin ennen eheystestin aloittamista. Poista kiristin, kun eheystesti on suoritettu loppuun.

Letkusarjan yläosan eheystesti

1. Kun käyttäjä valitsee “kaikkien letkujen ja liitosten lopullinen tarkistus”, näytöllä näkyy Näyttö 7.63.

2. Kun “Kaikkien letkujen ja liitosten lopullinen tarkistus”, **on suoritettu loppuun,** paina ENT.

3. Painamalla 9 suoritat letkusarjan yläosan eheystestin.

   Näytöllä näkyy Näyttö 7.64.

   TÄRKEÄÄ
   Sulje muiden kuin kohdesolujen pussin (Non-Target Cell Bag.) alapuolella oleva tarkastusventtiili.

4. Käynnistä testi painamalla RUN.

   Jos haluat palata kohtaan Näyttö 7.63, paina ◄.

5. Kun RUN-painiketta on painettu, laite käynnistää letkusarjan yläosan automaattisen testin.

   Näytöllä näkyy Näyttö 7.65.

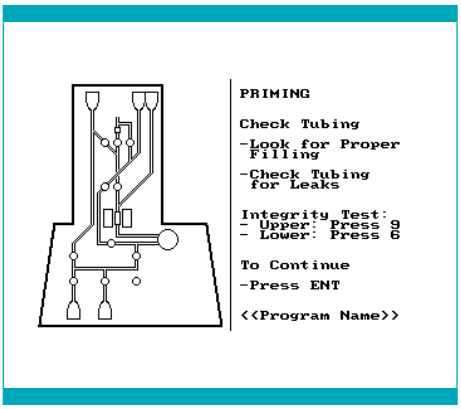
   Laite muodostaa ylipaineen kahden minuutin ajaksi. Tänä aikana käyttäjän on tarkistettava kaikki pumpun letkusarjan yläosan yläpuolella olevat liitokset.

   Testin voi päättää milloin tahansa painamalla ENT.

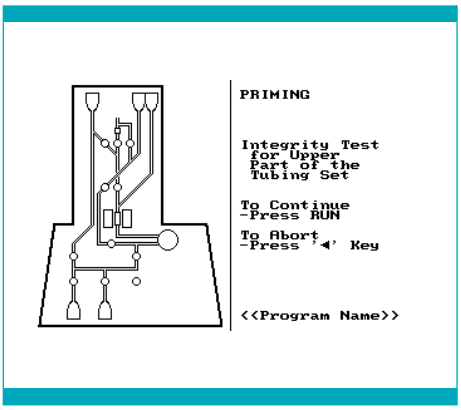
6. Kahden minuutin kuluttua paine purkautuu automaattisesti ja näytöllä näkyy Näyttö 7.63.

   Tarkista, onko testin aikana ilmennyt mahdollisia vuotoja. Jos vuotoja havaitaan missä tahansa letkusarjan liitoksessa, letkusarja on poistettava ja vaihdettava uuteen.

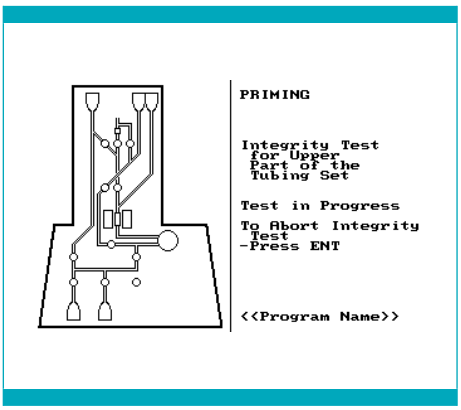
   Ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support), josta saat ohjeet viallisen letkusarjan palauttamista varten.



Näyttö 7.63: Käynnistä yläosan eheystesti



Näyttö 7.64: Käynnistä yläosan eheystesti



Näyttö 7.65: Käynnistä yläosan eheystesti

7. Jos vuotoja ei havaita, jatka letkusarjan alaosan eheystestillä.

Letkusarjan alaosan eheystesti

Näytöllä näkyy Näyttö 7.63.

1. Käynnistä eheystesti painamalla **6**.
   Älä paina **ENT**-painiketta.

   Näytöllä näkyy Näyttö 7.66.

2. Käynnistä testi painamalla **RUN**.

   Jos haluat palata kohtaan Näyttö 7.63, paina ◄.

3. Kun **RUN**-painiketta on painettu, laite käynnistää letkusarjan alaosan automaattisen testin.

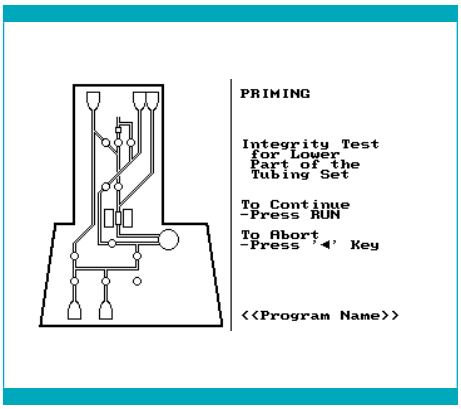
   Näytöllä näkyy Näyttö 7.67.

   Laite muodostaa ylipaineen 30 sekunnin ajaksi.

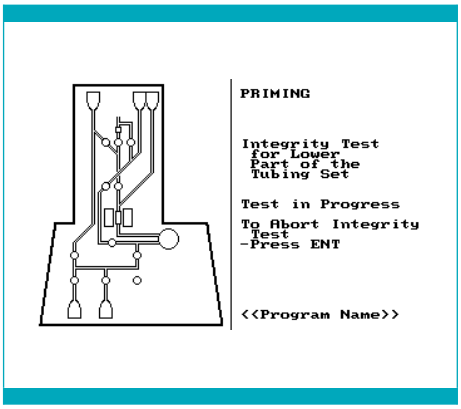
   Tämän ajan kuluessa käyttäjän on tarkistettava pumpun letkuston alaosan liitäntä ja T-kappaleet venttiilien nro 6, 8, 9 ja 10 välissä.

   Testin voi päättää milloin tahansa painamalla **ENT**.

4. 30 sekunnin kuluttua paine purkautuu automaattisesti ja näytöllä näkyy Näyttö 7.63.



Näyttö 7.66: Käynnistä alaosan eheystesti



Näyttö 7.67: Alaosan eheystesti käynnissä

Käyttäjän on tarkistettava, onko testin aikana ilmennyt mahdollisia vuotoja. Jos vuotoja havaitaan missä tahansa letkusarjan liitoksessa, letkusarja on poistettava ja vaihdettava uuteen.

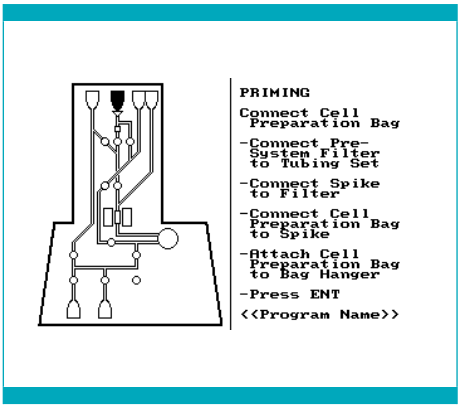
Ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support), josta saat ohjeet viallisen letkusarjan palauttamista varten.

5. **Avaa virtaus muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag) poistamalla tarkastusventtiilin alapuolella oleva kiristin.**

6. Jos vuotoja ei havaita, käyttäjä voi siirtyä seuraavaan vaiheeseen painamalla **ENT**.

Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag)

Näytöllä näkyy Näyttö 7.68.



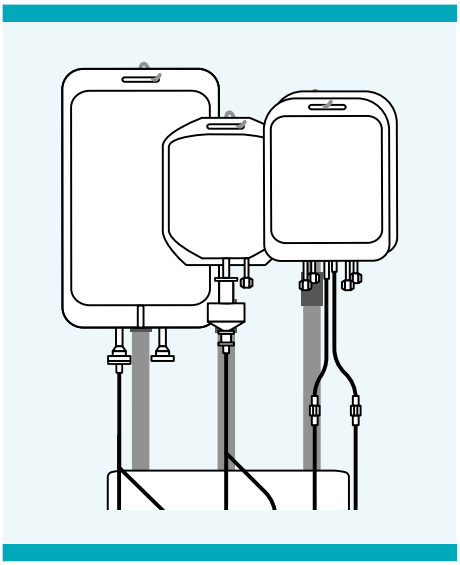
Näyttö 7.68: Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag)

Liitä solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) (sisältää magneettileimatut solut) letkusarjaan:

1. Poista kierrekorkki (katso Kuva 7.12 sivulla 169) letkusarjasta.
2. Poista Pre-System Filter -suodattimen piikin suojus. Työnnä Pre-System Filter -piikki napakasti letkusarjaan, ja varmista samalla, että septum on lävistetty.
3. Poista Pre-System Filter -suodattimen suojukset ja piikkiliittimen tylppä pää ja liitä osat toisiinsa.
4. Poista piikkiliittimen toinen suojus ja liitä piikki solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) varmistaen, että septum on läpäisty, jotta neste pääsee virtaamaan vapaasti. Purista pussia kevyesti varmistaaksesi, että piikki on pussin sisällä.
5. Tarkista solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag), piikkiliittimen, Pre-System Filter -suodattimen ja letkusarjan väliset liitokset varmistaaksesi, että ne ovat pitäviä.
6. Ripusta solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) pussin ripustimeen (katso Kuva 7.21).
7. Varmista, että pussin ripustimeen liitettyihin pusseihin tai letkuihin ei kohdistu vetoa ja etteivät ne ole taittuneet.

   Gravimetrisestä alustuksesta ja automaattisen erottelun aikaisista huuhteluvaiheista johtuen on erittäin tärkeää, että pussit tasataan oikein. Lisäksi koko näytteen käsittelyn varmistamiseksi on ensiarvoisen tärkeää, että uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag) ja muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag) sijaitsevat solujen valmistelupussia (Cell Preparation Bag) korkeammalla (katso Kuva 7.20):

   - **Korkein sijainti:** puskuripussi
   - **Sijainti keskellä:** Reapplication Bag ja Non-Target Cell Bag
   - **Alin sijainti:** Cell Preparation Bag



Kuva 7.20: Oikein tasatut pussit

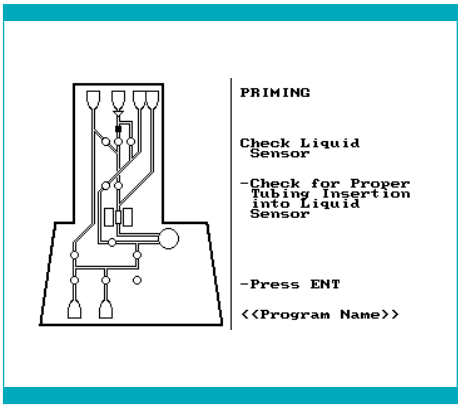
Jatka painamalla **ENT**.

Nesteanturin lopullinen tarkistus

Näytöllä näkyy Näyttö 7.69.

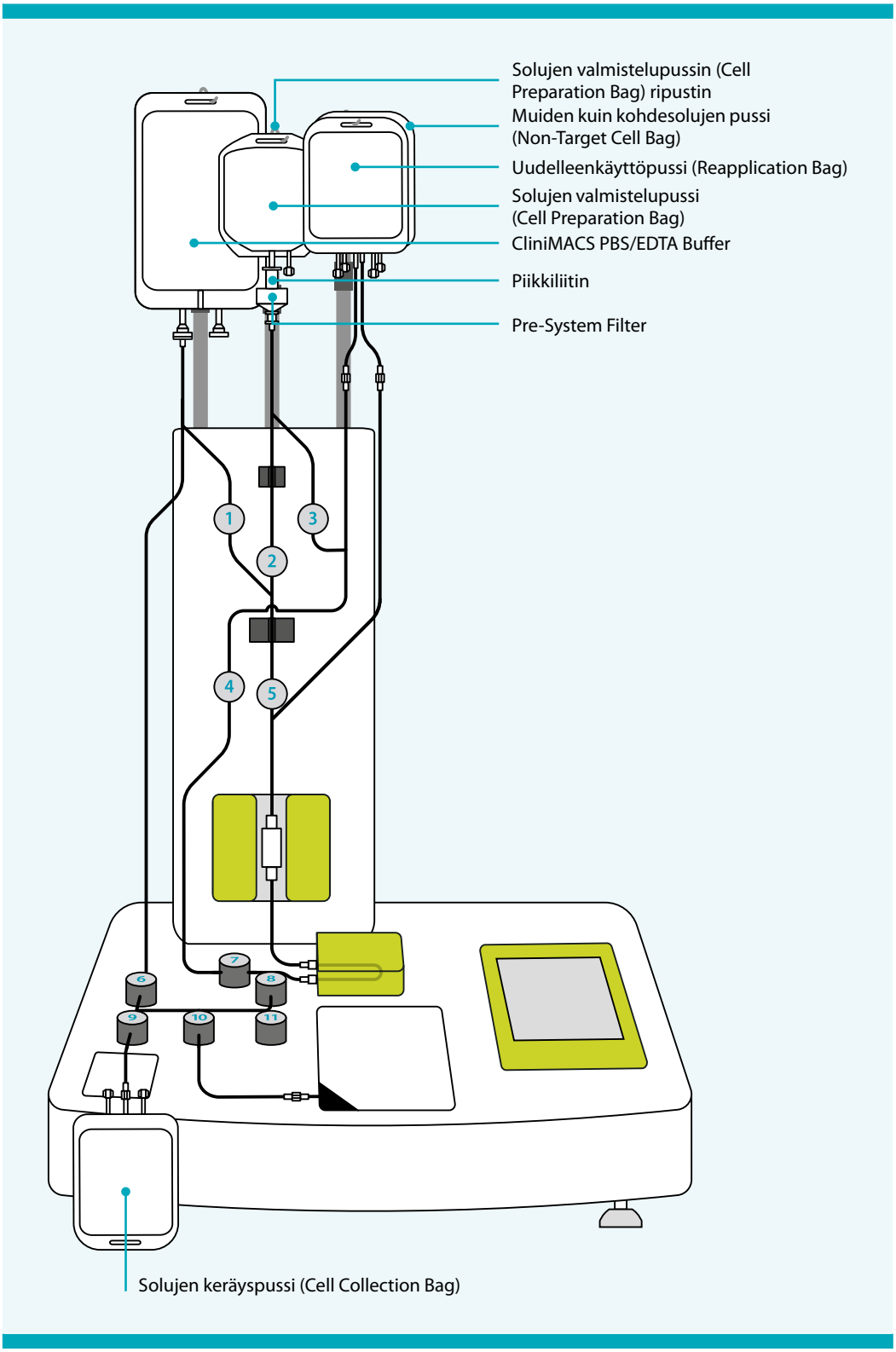
1. Tarkista nesteanturin johdot. Varmista, että letkut on kiinnitetty oikein, ettei niissä ole ulkopuolista nestettä ja etteivät ne ole siirtyneet pois paikoiltaan lataamisen aikana.
2. Varmista, että neste voi virrata kuhunkin pussiin esteettömästi.

Jatka painamalla **ENT**.



Näyttö 7.69: Nesteanturin lopullinen tarkistus

▶ **Jatka VAIHEESEEN 4.**



Kuva 7.21: CliniMACS Plus Instrument ja siihen kuuluva CliniMACS Depletion Tubing Set, CliniMACS PBS/EDTA Buffer, Cell Preparation Bag ja Cell Collection Bag

7.4 VAIHE 4: CliniMACS Plus -erottaminen

7.4.1 CD34 SELECTION 1/2

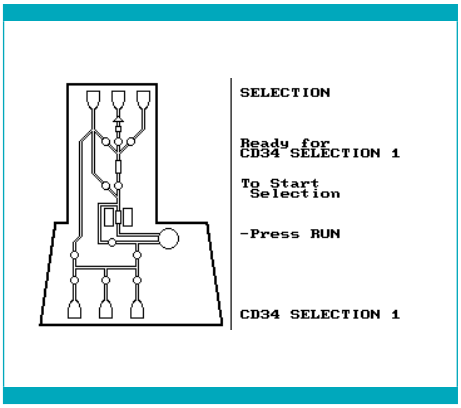
Kun lopullinen tarkistus on suoritettu, CliniMACS Plus Instrument on valmis aloittamaan solujen erottelun. Näytöllä näkyy Näyttö 7.70.

Jatka painamalla **RUN**.

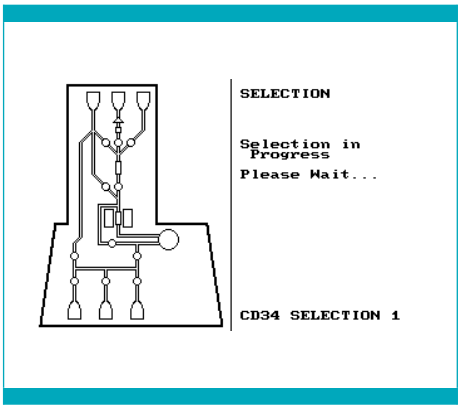
Kun **RUN**-painiketta on painettu, laite suorittaa automaattisesti valitun erottelutoimenpiteen.

Jokaisessa vaiheessa näytössä näkyy samanlainen ilmoitus kuin Näyttö 7.71, joka ilmaisee erotteluprosessin tilan.

Magneetin asennon ilmaisin näytetään kahdessa mustassa laatikossa erottelupylvään vieressä, kun magneetin tila on ”ON” (päällä), eli se on siirretty eteen magnetisoimaan erottelupylvästä. Jos magneetin asennon ilmaisin on läpinäkyvä (esim. Näyttö 7.70), magneetti on “OFF”-tilassa (pois päältä), ts. se on siirretty laitteen takaosaan. Kun magneetti on kytketty pois päältä, erottelupylväs ei sijaitse magneettikentässä eikä ole enää magnetisoitu.



Näyttö 7.70: Käynnistä erottelu



Näyttö 7.71: Erottelu käynnissä

Huomautus: Näytössä saattaa näkyä eri ohjelman nimi, valitusta erotteluohjelmasta riippuen (CD34 SELECTION 1 tai 2).

Erottelutoimenpide

Solujen lataaminen

Erottelutoimenpide käynnistyy Pre-System Filter -suodattimen täyttyessä ylimääräisen ilman poistamiseksi suodattimesta.

Sitten alkaa leimattujen solujen erotteleminen. Pumppu vetää solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisällön letkusarjaan ja lataa solutuotteen esipylvään kautta erottelupylvääseen. Magneettileimatut solut (kohdesolut) jäävät magneettikentässä sijaitsevaan erottelupylvääseen, kun taas leimaamattomat solut (muut kuin kohdesolut) virtaavat pylvään läpi negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag). Kun solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) on tyhjä (nesteanturi havaitsee tämän automaattisesti), Pre-System Filter huuhdellaan kahdesti puskurilla.

Pylvään pesu I

Esipylväs ja erottelupylväs pestään huolellisesti kaikkien leimaamattomien solujen poistamiseksi. Pesupuskuri kerätään puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag). Kun "Column Wash I" (pylvään pesu I) alkaa, näytöllä näkyy erottelutoimenpiteen loppuun saakka jäljellä oleva aika.

TÄRKEÄÄ

Erottelun alussa puskuria pumpataan ylöspäin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) Pre-System Filter -suodattimen täyttämistä varten. Kopauta varovasti suodattimen seinämää useita kertoja suodattimeen mahdollisesti jääneiden kuplien poistamiseksi.

Solujen vapauttaminen I

Magneetti siirtyy laitteen takaosaan (”OFF”-asento). Pidätetyt solut vapautetaan nopeana virtauksena, mutta solut jäävät sisäiseen letkukiertoon,

Solujen lataaminen uudelleen I

Magneetti siirretään takaisin ”ON”-asentoon magnetisoimaan erottelupylvästä, ja solut siirtyvät takaisin erottelupylvääseen.

Pylvään pesu II

Kun solut on ladattu uudelleen, seuraa toinen pesuvaihe jäljellä olevien leimaamattomien solujen poistamiseksi. Kaikki letkut huuhdellaan useita kertoja.

Solujen vapauttaminen II, solujen lataaminen uudelleen II, pylvään pesu III

Solut vapautetaan ja siirretään uudelleen erottelupylvääseen mahdollisten pylvään pintaan epäspesifisti kiinnittyneiden leimaamattomien solujen poistamiseksi. Tämän jälkeen erottelupylväs pestään uudelleen.

Solujen vapauttaminen III, solujen lataaminen uudelleen III, pylvään pesu IV

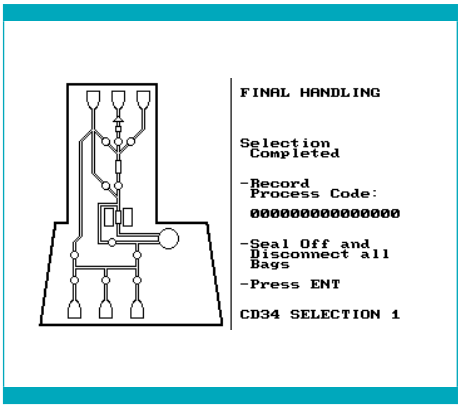
Lisäksi erotteluohjelmaan CD34 SELECTION 2 sisältyy kolmas vapauttamisen ja uudelleen lisäämisen vaihe.

Solujen lopullinen eluutio

Magneetti siirretään ”OFF”-asentoon, magneettileimatut solut vapautuvat erottelupylväästä ja päätyvät liitettyyn keräyspussiin (Cell Collection Bag).

Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

Kun ajo on suoritettu loppuun, näytöllä on Näyttö 7.72.

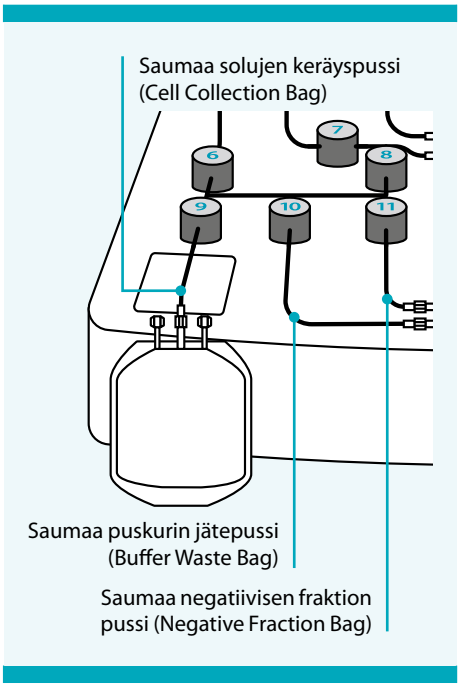


Näyttö 7.72: Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

1. Merkitse prosessikoodi muistiin.
2. Kiristä tai saumaa luer-liitoksen yläpuolella oleva letku, joka liittää solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) letkusarjaan (katso Kuva 7.22).

   Tee kolme hermeettistä sulkua heti venttiilin nro 9 alapuolella olevaan letkuun. Erota keskimmäinen sauma varovasti solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) irrottamiseksi letkusarjasta.
3. Punnitse täytetty solujen keräyspussi (Cell Collection Bag). Kirjaa paino.

   Määritä kohdesolufraktion paino vähentämällä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino solujen kohdesolut sisältävän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) painosta. Merkitse paino muistiin.
4. Sekoita kohdesolususpensio huolellisesti pyörittämällä pussia. Ota sopiva määrä, esim. 0,5 mL, ja säilytä analyysia varten.
5. Saumaa kuumasaumainta käyttäen negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) luer-liitoksen yläpuolella oleva letku. Tee letkuun kolme hermeettistä sulkua. Erota keskimmäinen sauma negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) irrottamiseksi.
6. Erota puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag) samalla tavalla.



Kuva 7.22: Irrota pussit

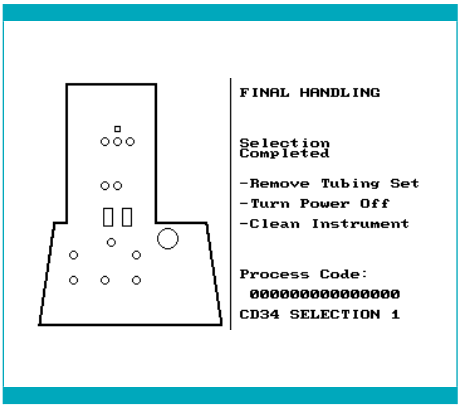
7. Poista negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag). Säilytä kaikki pussit siihen asti, kunnes solujen lopullinen analyysi on valmis.

Kohdesoluja voidaan nyt käsitellä kliinisen käyttötarkoituksen mukaisesti.

Jatka painamalla **RUN**.

Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.73.



Näyttö 7.73: Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

1. Letkusarjan poistaminen: Aloita venttiileistä nro 6, 9, 10 ja 11, ja siirtyen alhaalta ylöspäin vapauta letkut nesteanturista ja venttiileistä painamalla venttiilejä. Vapauta pylväät pidikkeistä. Hävitä letkusarja biovaarallisena jätteenä sairaalan tavanomaisten käytäntöjen mukaisesti.
2. Sammuta CliniMACS Plus Instrument.
3. Puhdista laite ohjeiden mukaisesti, katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta ”Puhdistaminen ja desinfiointi”. Noudata tavanomaisia infektiovaarallisen materiaalin käsittelyä koskevia ohjeita.

Solujen analysoiminen

TÄRKEÄÄ

- *CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ei tarvitse poistaa ennen eroteltujen kohdesolujen lisäämistä, jos fraktion tilavuus on enintään 100 mL siirtoa kohden soveltuvilla infuusionopeuksilla. Potilaan munuaisten tila ja vaikutukset veren elektrolyytteihin on syytä huomioida. Erityisesti lapsilla infuusionopeutta on säädettävä tarpeen mukaan.*
- *Jos kohdesolujen fraktion tilavuus on yli 100 mL, sitä on vähennettävä soveltuvilla keinoilla, kuten esim. sentrifugoimalla tai puskurin vaihdolla, käyttäjän maassa hyväksytyksi infuusionesteeksi.*

⚠ HUOMIO

Kohdesolujen heikentyneen laadun riski. Kohdesolut on analysoitava ja on varmistettava, että ne täyttävät käyttäjän vaatimukset, sillä niiden soveltuvuus kliiniseen sovellukseen on saattanut heikentyä. Tarkasta kohdesolujen laatu ja määrä niiden käyttötarkoituksen mukaan.

Seuraavat muuttujat on tarkastettava aina:

- leukosyyttien kokonaismäärä
- kohdesolujen viabiliteetti ja kokonaismäärä
- kohdesolujen puhtaus ja talteenotto

Lisäksi on suositeltavaa määrittää muun kuin kohdesolufraktion leukosyyttien kokonaismäärä ja viabiliteetti. Luettelo on esimerkki. Muita testejä on syytä lisätä käyttötarkoituksen ja kliinisen suunnitelman perusteella. Merkitse muistiin analyysitiedot.

7.4.2 ENRICHMENT 1.1

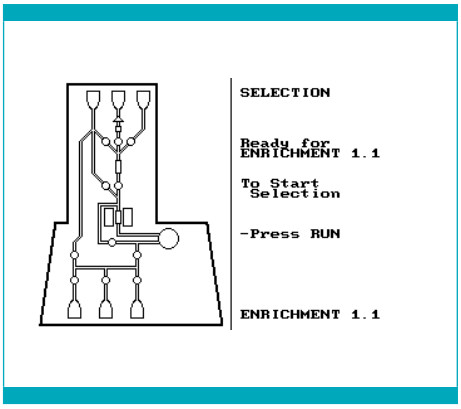
Kun lopullinen tarkistus on suoritettu, CliniMACS Plus Instrument on valmis aloittamaan solujen erottelun. Näytöllä näkyy Näyttö 7.74.

Jatka painamalla **RUN**.

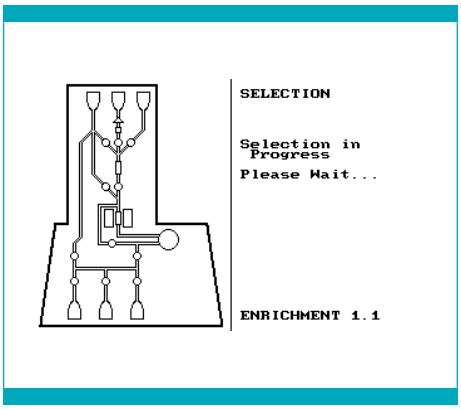
Kun **RUN**-painiketta on painettu, laite suorittaa automaattisesti valitun erottelutoimenpiteen.

Jokaisessa vaiheessa näytössä näkyy samanlainen ilmoitus kuin Näyttö 7.75, joka ilmaisee erotteluprosessin tilan.

Magneetin asennon ilmaisin näytetään kahdessa mustassa laatikossa erottelupylvään vieressä, kun magneetin tila on ”ON” (päällä), eli se on siirretty eteen magnetisoimaan erottelupylvästä. Jos magneetin asennon ilmaisin on läpinäkyvä (esim. Näyttö 7.74), magneetti on “OFF”-tilassa (pois päältä), ts. se on siirretty laitteen takaosaan. Kun magneetti on kytketty pois päältä, erottelupylväs ei sijaitse magneettikentässä eikä ole magnetisoitu.



Näyttö 7.74: Käynnistä erottelu



Näyttö 7.75: Erottelu käynnissä

Erottelutoimenpide

Solujen lataaminen

Erottelutoimenpide käynnistyy Pre-System Filter -suodattimen täyttyessä ylimääräisen ilman poistamiseksi suodattimesta. Sitten alkaa leimattujen solujen erotteleminen. Pumppu vetää solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisällön letkusarjaan ja lataa solutuotteen esipylvään kautta erottelupylvääseen. Magneettileimatut solut (kohdesolut) jäävät magneettikentässä sijaitsevaan erottelupylvääseen, kun taas leimaamattomat solut (muut kuin kohdesolut) virtaavat pylvään läpi negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag).

TÄRKEÄÄ

Erottelun alussa puskuria pumpataan ylöspäin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) Pre-System Filter -suodattimen täyttämistä varten. Kopauta varovasti suodattimen seinämää useita kertoja suodattimeen mahdollisesti jääneiden kuplien poistamiseksi.

Huomautus:

- Jos (CliniMACS Plus -ohjelmiston laskema) magneettileimattujen solujen kokonaismäärä ylittää erottelupylvään sitomiskapasiteetin, erotteluohjelma jakaa solunäytteen automaattisesti sopiviin osiin lataamista ja erottelua varten (“staged loading”).
- Lataaminen keskeytyy, kun erottelupylvään kapasiteetti on saavutettu, ja erotteluohjelma etenee erottelun seuraavaan vaiheeseen. Viimeisen vaiheen (solujen lopullinen eluutio) jälkeen pylvääseen ladataan seuraava osa näytettä käsittelyä varten.

Pylvään pesu I

Esipylväs ja erottelupylväs pestään huolellisesti kaikkien leimaamattomien solujen poistamiseksi. Pesupuskuri kerätään puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag).

Solujen vapauttaminen

Magneetti siirtyy laitteen takaosaan (”OFF”-asento). Pidätetyt solut vapautetaan nopeana virtauksena, mutta ne pysyvät letkujen sisäisessä kierrossa.

Solujen lataaminen uudelleen

Magneetti siirretään takaisin ”ON”-asentoon magnetisoimaan erottelupylvästä, ja solut siirtyvät takaisin erottelupylvääseen.

Pylvään pesu II

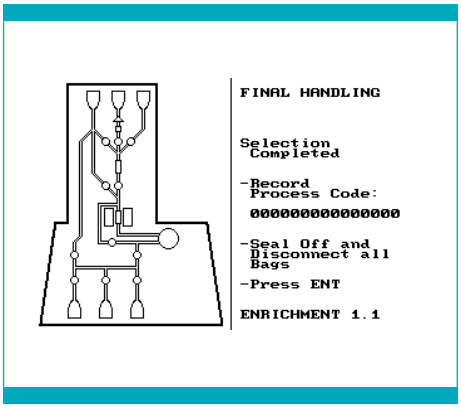
Kun solut on ladattu uudelleen, seuraa toinen pylvään pesuvaihe jäljellä olevien leimaamattomien solujen poistamiseksi. Kaikki letkut huuhdellaan useita kertoja.

Solujen lopullinen eluutio

Magneetti siirretään ”OFF”-asentoon, magneettileimatut solut (kohdesolut) vapautuvat erottelupylväästä ja päätyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

Kun ajo on suoritettu loppuun, näytöllä on Näyttö 7.76.

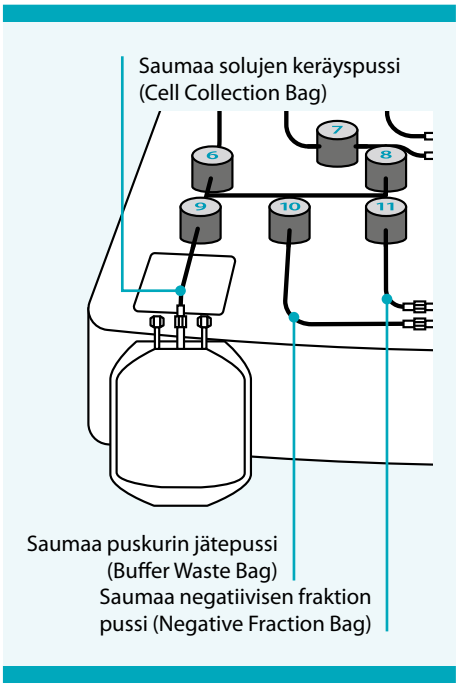


Näyttö 7.76: Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

1. Merkitse prosessikoodi muistiin.
2. Kiristä tai saumaa luer-liitoksen yläpuolella oleva letku, joka liittää solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) letkusarjaan (katso Kuva 7.23).

   Tee kolme hermeettistä sulkua heti venttiilin nro 9 alapuolella olevaan letkuun. Erota keskimmäinen sauma varovasti solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) irrottamiseksi letkusarjasta.
3. Punnitse täytetty solujen keräyspussi (Cell Collection Bag). Merkitse paino muistiin.

   Määritä kohdesolufraktion paino vähentämällä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino solujen kohdesolut sisältävän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) painosta. Merkitse paino muistiin.
4. Sekoita kohdesolususpensio huolellisesti pyörittämällä pussia. Ota sopiva määrä, esim. 0,5 mL, ja säilytä analyysia varten.
5. Saumaa kuumasaumainta käyttäen negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) luer-liitoksen yläpuolella oleva letku. Tee letkuun kolme hermeettistä sulkua. Erota keskimmäinen sauma negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) irrottamiseksi.
6. Erota puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag) samalla tavalla.



Kuva 7.23: Irrota pussit

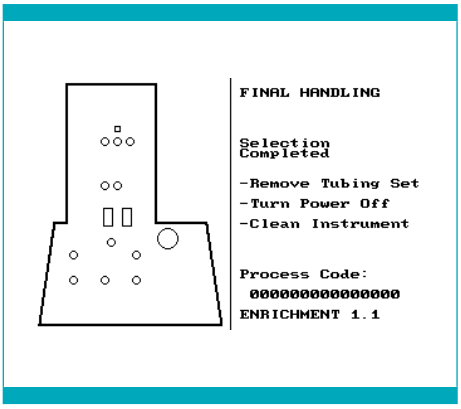
7. Poista negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag). Säilytä kaikki pussit siihen asti, kunnes solujen lopullinen analyysi on valmis.

Kohdesoluja voidaan nyt käsitellä kliinisen käyttötarkoituksen mukaisesti.

Jatka painamalla **ENT**.

Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.77.



Näyttö 7.77: Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

1. Letkusarjan poistaminen: Aloita venttiileistä nro 6, 9, 10 ja 11, ja siirtyen alhaalta ylöspäin vapauta letkut nesteanturista ja venttiileistä painamalla venttiilejä. Vapauta pylväät pidikkeistä. Hävitä letkusarja biovaarallisena jätteenä sairaalan tavanomaisten käytäntöjen mukaisesti.
2. Sammuta CliniMACS Plus Instrument.
3. Puhdista laite ohjeiden mukaisesti, katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta ”Puhdistaminen ja desinfiointi”. Noudata tavanomaisia infektiovaarallisen materiaalin käsittelyä koskevia ohjeita.

Solujen analysoiminen

TÄRKEÄÄ

- *CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ei tarvitse poistaa ennen eroteltujen kohdesolujen lisäämistä, jos fraktion tilavuus on enintään 100 mL siirtoa kohden soveltuvilla infuusionopeuksilla. Potilaan munuaisten tila ja vaikutukset veren elektrolyytteihin on syytä huomioida. Erityisesti lapsilla infuusionopeutta on säädettävä tarpeen mukaan.*
- *Jos kohdesolujen fraktion tilavuus on yli 100 mL, sitä on vähennettävä soveltuvilla keinoilla, kuten esim. sentrifugoimalla tai puskurin vaihdolla, käyttäjän maassa hyväksytyksi infuusionesteeksi.*

⚠ HUOMIO

Kohdesolujen heikentyneen laadun riski. Kohdesolut on analysoitava ja on varmistettava, että ne täyttävät käyttäjän vaatimukset, sillä niiden soveltuvuus kliiniseen sovellukseen on saattanut heikentyä. Tarkasta kohdesolujen laatu ja määrä niiden käyttötarkoituksen mukaan.

Seuraavat muuttujat on tarkastettava aina:

- leukosyyttien kokonaismäärä
- kohdesolujen viabiliteetti ja kokonaismäärä
- puhtaus (depleetioteho) ja kohdesolujen talteenotto

Lisäksi on suositeltavaa määrittää muun kuin kohdesolufraktion leukosyyttien kokonaismäärä ja viabiliteetti. Luettelo on esimerkki. Muita testejä on syytä lisätä käyttötarkoituksen ja kliinisen suunnitelman perusteella. Kirjaa ylös analyysitiedot.

7.4.3 ENRICHMENT 3.2

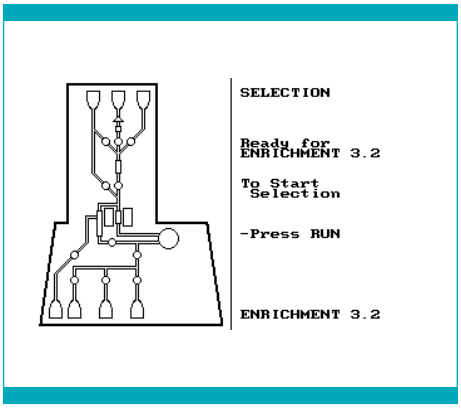
Kun lopullinen tarkistus on suoritettu, CliniMACS Plus Instrument on valmis aloittamaan solujen erottelun. Näytöllä näkyy Näyttö 7.78.

Jatka painamalla **RUN**.

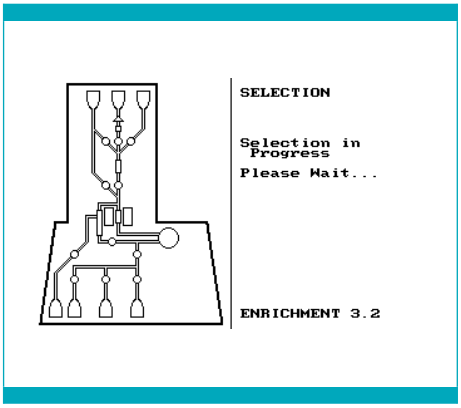
Kun **RUN**-painiketta on painettu, laite suorittaa automaattisesti valitun erottelutoimenpiteen.

Jokaisessa vaiheessa näytössä näkyy samanlainen ilmoitus kuin Näyttö 7.79, joka ilmaisee erotteluprosessin tilan.

Magneetin asennon ilmaisin näytetään kahdessa mustassa laatikossa erottelupylvään vieressä, kun magneetin tila on ”ON” (päällä), eli se on siirretty eteen magnetisoimaan erottelupylvästä. Jos magneetin asennon ilmaisin on läpinäkyvä (esim. Näyttö 7.78), magneetti on “OFF”-tilassa (pois päältä), ts. se on siirretty laitteen takaosaan. Kun magneetti on kytketty pois päältä, erottelupylväs ei sijaitse magneettikentässä eikä ole magnetisoitu.



Näyttö 7.78: Käynnistä erottelu



Näyttö 7.79: Erottelu käynnissä

Erottelutoimenpide

Solujen lataaminen

Erottelutoimenpide käynnistyy Pre-System Filter -suodattimen täyttyessä ylimääräisen ilman poistamiseksi suodattimesta. Sitten alkaa leimattujen solujen erotteleminen. Pumppu vetää solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisällön letkusarjaan ja lataa solutuotteen esipylvään kautta erottelupylvääseen. Magneettileimatut solut (kohdesolut) jäävät magneettikentässä sijaitsevaan erottelupylvääseen, kun taas leimaamattomat solut (muut kuin kohdesolut) virtaavat pylvään läpi negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag). Kun solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) on tyhjä (nesteanturi havaitsee tämän automaattisesti), Pre-System Filter huuhdellaan kahdesti puskurilla.

TÄRKEÄÄ

Erottelun alussa puskuria pumpataan ylöspäin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) Pre-System Filter -suodattimen täyttämistä varten. Kopauta varovasti suodattimen seinämää useita kertoja suodattimeen mahdollisesti jääneiden kuplien poistamiseksi.

Pylvään pesu I

Esipylväs ja erottelupylväs pestään huolellisesti kaikkien leimaamattomien solujen poistamiseksi. Pesupuskuri kerätään puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag).

Solujen vapauttaminen I

Magneetti siirtyy laitteen takaosaan (”OFF”-asento). Pidätetyt solut vapautetaan nopeana virtauksena, mutta solut jäävät sisäiseen letkukiertoon,

Solujen lataaminen uudelleen I

Magneetti siirretään takaisin ”ON”-asentoon magnetisoimaan erottelupylvästä, ja solut siirtyvät takaisin erottelupylvääseen.

Pylvään pesu II

Kun solut on ladattu uudelleen, seuraa toinen pesuvaihe jäljellä olevien leimaamattomien solujen poistamiseksi. Myös kaikki letkut huuhdellaan useita kertoja.

Solujen vapauttaminen II, solujen lataaminen uudelleen II, pylvään pesu III

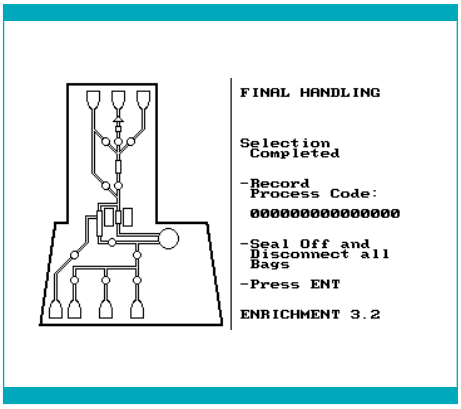
Solut vapautetaan ja siirretään uudelleen erottelupylvääseen mahdollisten pylvään pintaan epäspesifisti kiinnittyneiden leimaamattomien solujen poistamiseksi. Tämän jälkeen erottelupylväs pestään uudelleen.

Solujen lopullinen eluutio

Magneetti siirretään ”OFF”-asentoon, magneettileimatut solut (kohdesolut) vapautuvat ja päätyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

Kun ajo on suoritettu loppuun, näytöllä on Näyttö 7.80.

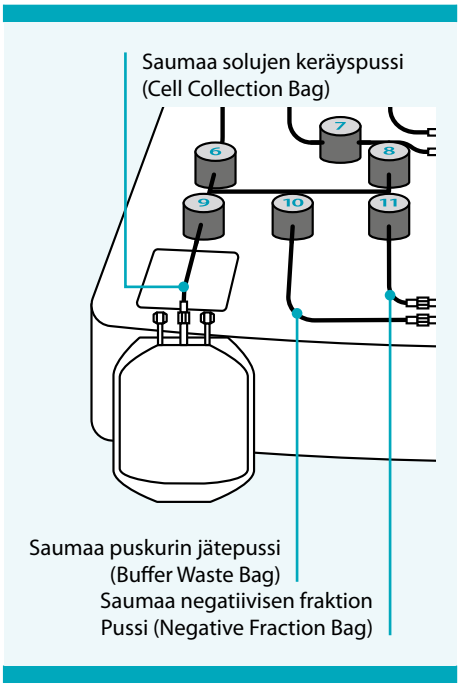


Näyttö 7.80: Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

1. Merkitse prosessikoodi muistiin.
2. Kiristä tai saumaa luer-liitoksen yläpuolella oleva letku, joka liittää solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) letkusarjaan (katso Kuva 7.24).

   Tee kolme hermeettistä sulkua heti venttiilin nro 9 alapuolella olevaan letkuun. Erota keskimmäinen sauma varovasti solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) irrottamiseksi letkusarjasta.
3. Punnitse täytetty solujen keräyspussi (Cell Collection Bag). Merkitse paino muistiin.

   Määritä kohdesolufraktion paino vähentämällä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino solujen kohdesolut sisältävän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) painosta. Merkitse paino muistiin.
4. Sekoita kohdesolususpensio huolellisesti pyörittämällä pussia. Ota sopiva määrä, esim. 0,5 mL, ja säilytä analyysia varten.
5. Saumaa kuumasaumainta käyttäen negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) luer-liitoksen yläpuolella oleva letku. Tee letkuun kolme hermeettistä sulkua. Erota keskimmäinen sauma negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) irrottamiseksi.



Kuva 7.24: Irrota pussit

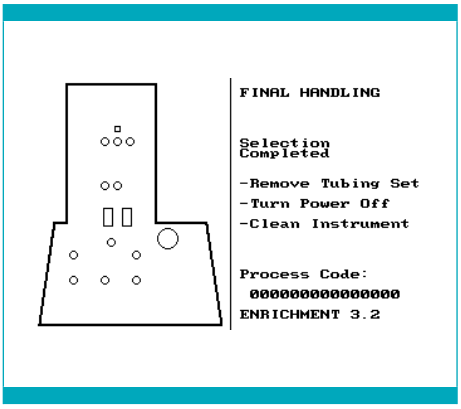
6. Erota puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag) samalla tavalla.
7. Poista negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag). Säilytä kaikki pussit siihen asti, kunnes solujen lopullinen analyysi on valmis.

Kohdesoluja voidaan nyt käsitellä kliinisen käyttötarkoituksen mukaisesti.

Jatka painamalla **ENT**.

Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.81.



Näyttö 7.81: Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

1. Letkusarjan poistaminen: Aloita venttiileistä nro 6, 9, 10 ja 11, ja siirtyen alhaalta ylöspäin vapauta letkut nesteanturista ja venttiileistä painamalla venttiilejä. Vapauta pylväät pidikkeistä. Hävitä letkusarja biovaarallisena jätteenä sairaalan tavanomaisten käytäntöjen mukaisesti.
2. Sammuta CliniMACS Plus Instrument.
3. Puhdista laite ohjeiden mukaisesti, katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta ”Puhdistaminen ja desinfiointi”. Noudata tavanomaisia infektiovaarallisen materiaalin käsittelyä koskevia ohjeita.

Solujen analysoiminen

TÄRKEÄÄ

- *CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ei tarvitse poistaa ennen eroteltujen kohdesolujen lisäämistä, jos fraktion tilavuus on enintään 100 mL siirtoa kohden soveltuvilla infuusionopeuksilla. Potilaan munuaisten tila ja vaikutukset veren elektrolyytteihin on syytä huomioida. Erityisesti lapsilla infuusionopeutta on säädettävä tarpeen mukaan.*
- *Jos kohdesolujen fraktion tilavuus on yli 100 mL, sitä on vähennettävä soveltuvilla keinoilla, kuten esim. sentrifugoimalla tai puskurin vaihdolla, käyttäjän maassa hyväksytyksi infuusionesteeksi.*

⚠ HUOMIO

Kohdesolujen heikentyneen laadun riski. Kohdesolut on analysoitava ja on varmistettava, että ne täyttävät käyttäjän vaatimukset, sillä niiden soveltuvuus kliiniseen sovellukseen on saattanut heikentyä. Tarkasta kohdesolujen laatu ja määrä niiden käyttötarkoituksen mukaan.

Seuraavat muuttujat on tarkastettava aina:

- leukosyyttien kokonaismäärä
- kohdesolujen viabiliteetti ja kokonaismäärä
- kohdesolujen puhtaus ja talteenotto

Lisäksi on suositeltavaa määrittää muun kuin kohdesolufraktion leukosyyttien kokonaismäärä ja viabiliteetti. Luettelo on esimerkki. Muita testejä on syytä lisätä käyttötarkoituksen ja kliinisen suunnitelman perusteella. Kirjaa ylös analyysitiedot.

7.4.4 DEPLETION 2.1

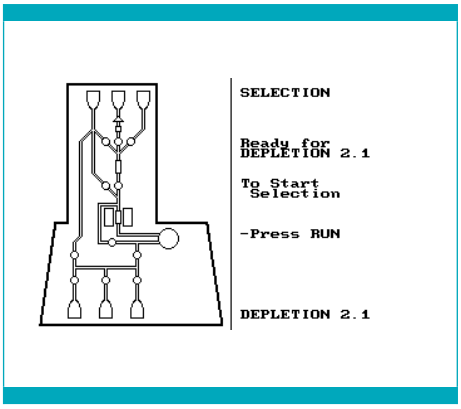
Kun lopullinen tarkistus on suoritettu, CliniMACS Plus Instrument on valmis aloittamaan solujen erottelun. Näytöllä näkyy Näyttö 7.82.

Jatka painamalla **RUN**.

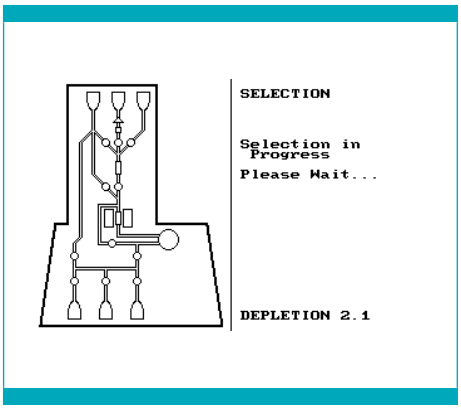
Kun **RUN**-painiketta on painettu, laite suorittaa automaattisesti valitun erottelutoimenpiteen.

Jokaisessa vaiheessa näytössä näkyy samanlainen ilmoitus kuin Näyttö 7.83, joka ilmaisee erotteluprosessin tilan.

Magneetin asennon ilmaisin näytetään kahdessa mustassa laatikossa erottelupylvään vieressä, kun magneetin tila on ”ON” (päällä), eli se on siirretty eteen magnetisoimaan erottelupylvästä. Jos magneetin asennon ilmaisin on läpinäkyvä (esim. Näyttö 7.82), magneetti on “OFF”-tilassa (pois päältä), ts. se on siirretty laitteen takaosaan. Kun magneetti on kytketty pois päältä, erottelupylväs ei sijaitse magneettikentässä eikä ole magnetisoitu.



Näyttö 7.82: Käynnistä erottelu



Näyttö 7.83: Erottelu käynnissä

Erottelutoimenpide

Solujen lataaminen

Erottelutoimenpide käynnistyy Pre-System Filter -suodattimen täyttyessä järjestelmän alustuksen saattamiseksi loppuun. Sitten alkaa leimattujen solujen erotteleminen. Pumppu vetää solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisällön letkusarjaan. Magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) jäävät magneettikentässä sijaitsevaan erottelupylvääseen, kun taas leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat pylvään läpi ja päätyvät solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag).

TÄRKEÄÄ

Erottelun alussa puskuria pumpataan ylöspäin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) Pre-System Filter -suodattimen täyttämistä varten. Kopauta varovasti suodattimen seinämää useita kertoja suodattimeen mahdollisesti jääneiden kuplien poistamiseksi.

Pre-System Filter -suodattimen huuhteleminen

Kun solunäyte on ladattu kokonaan letkusarjaan, Pre-System Filter huuhdellaan kahdesti puskurilla, jotta soluja menetettäisiin suodattimeen mahdollisimman vähän.

Huomautus:

- Jos (CliniMACS Plus -ohjelmiston laskema) magneettileimattujen solujen kokonaismäärä ylittää erottelupylvään sitomiskapasiteetin, erotteluohjelma jakaa solunäytteen automaattisesti sopiviin osiin lataamista ja erottelua varten (“staged loading”).
- Lataaminen keskeytyy, kun erottelupylvään kapasiteetti on saavutettu ja erotteluohjelma etenee erottelun seuraavaan vaiheeseen. Viimeisen vaiheen (solujen lopullinen eluutio) jälkeen pylvääseen ladataan seuraava osa näytettä käsittelyä varten.

Pylvään pesu

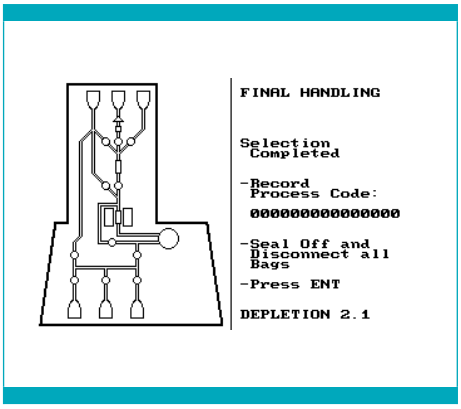
Esipylväs ja erottelupylväs pestään huolellisesti kaikkien leimaamattomien solujen poistamiseksi. Pesupuskuri kerätään puskurin jätepussiin (Buffer Waste Bag).

Solujen lopullinen eluutio

Magneetti siirtyy ”OFF”-asentoon. Ensin magneettileimatut solut uutetaan alustuksen jätepussiin (Priming Waste Bag). Kun viimeinen latausvaihe on valmis, kaikki magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) vapautetaan erottelupylväästä ja kerätään negatiivisen fraktion pussiin (Negative Fraction Bag), jotta voidaan vähentää niiden siirtymistä pumpun letkuihin.

Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

Kun ajo on suoritettu loppuun, näytöllä on Näyttö 7.84.

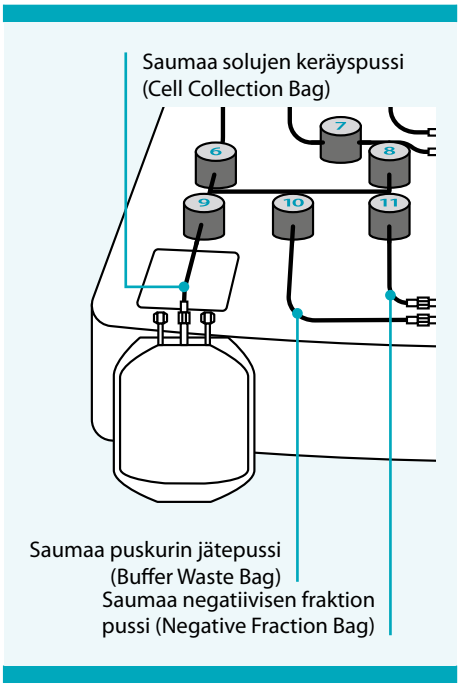


Näyttö 7.84: Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

1. Merkitse prosessikoodi muistiin.
2. Kiristä tai saumaa luer-liitoksen yläpuolella oleva letku, joka liittää solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) letkusarjaan (katso Kuva 7.25).

   Tee kolme hermeettistä sulkua heti venttiilin nro 9 alapuolella olevaan letkuun. Erota keskimmäinen sauma varovasti solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) irrottamiseksi letkusarjasta.
3. Punnitse täytetty solujen keräyspussi (Cell Collection Bag). Merkitse paino muistiin.

   Määritä kohdesolufraktion paino vähentämällä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino solujen kohdesolut sisältävän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) painosta. Merkitse paino muistiin.
4. Sekoita kohdesolususpensio huolellisesti pyörittämällä pussia. Ota sopiva määrä, esim. 0,5 mL, ja säilytä analyysia varten.
5. Saumaa kuumasaumainta käyttäen negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) luer-liitoksen yläpuolella oleva letku. Tee letkuun kolme hermeettistä sulkua. Erota keskimmäinen sauma negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) irrottamiseksi.
6. Erota puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag) samalla tavalla.



Kuva 7.25: Irrota pussit

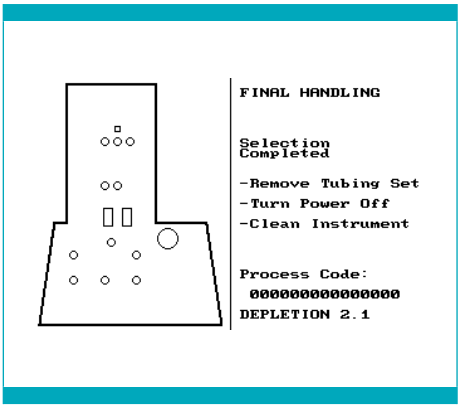
7. Poista negatiivisen fraktion pussi (Negative Fraction Bag) ja puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag). Säilytä kaikki pussit siihen asti, kunnes solujen lopullinen analyysi on valmis.

Kohdesoluja voidaan nyt käsitellä kliinisen käyttötarkoituksen mukaisesti.

Jatka painamalla **ENT**.

Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.85.



Näyttö 7.85: Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

1. Letkusarjojen poistaminen: Aloita venttiileistä nro 6, 9, 10 ja 10, ja siirtyen alhaalta ylöspäin vapauta letkut nesteanturista ja venttiileistä painamalla venttiilejä. Vapauta pylväs pidikkeestä. Hävitä letkusarja biovaarallisena jätteenä sairaalan tavanomaisten käytäntöjen mukaisesti.
2. Sammuta CliniMACS Plus Instrument.
3. Puhdista laite ohjeiden mukaisesti, katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta ”Puhdistaminen ja desinfiointi”. Noudata tavanomaisia infektiovaarallisen materiaalin käsittelyä koskevia ohjeita.

Solujen analysoiminen

TÄRKEÄÄ

- *CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ei tarvitse poistaa ennen eroteltujen kohdesolujen lisäämistä, jos fraktion tilavuus on enintään 100 mL siirtoa kohden soveltuvilla infuusionopeuksilla. Potilaan munuaisten tila ja vaikutukset veren elektrolyytteihin on syytä huomioida. Erityisesti lapsilla infuusionopeutta on säädettävä tarpeen mukaan.*
- *Jos kohdesolujen fraktion tilavuus on yli 100 mL, sitä on vähennettävä soveltuvilla keinoilla, kuten esim. sentrifugoimalla tai puskurin vaihdolla, käyttäjän maassa hyväksytyksi infuusionesteeksi.*

⚠ HUOMIO

Kohdesolujen heikentyneen laadun riski. Kohdesolut on analysoitava ja on varmistettava, että ne täyttävät käyttäjän vaatimukset, sillä niiden soveltuvuus kliiniseen sovellukseen on saattanut heikentyä. Tarkasta kohdesolujen laatu ja määrä niiden käyttötarkoituksen mukaan.

Seuraavat muuttujat on tarkastettava aina:

- leukosyyttien kokonaismäärä
- kohdesolujen viabiliteetti ja kokonaismäärä
- depleetioteho

Lisäksi on suositeltavaa määrittää muun kuin kohdesolufraktion leukosyyttien kokonaismäärä ja viabiliteetti. Luettelo on esimerkki. Muita testejä on syytä lisätä käyttötarkoituksen ja kliinisen suunnitelman perusteella. Kirjaa ylös analyysitiedot.

7.4.5 DEPLETION 3.1

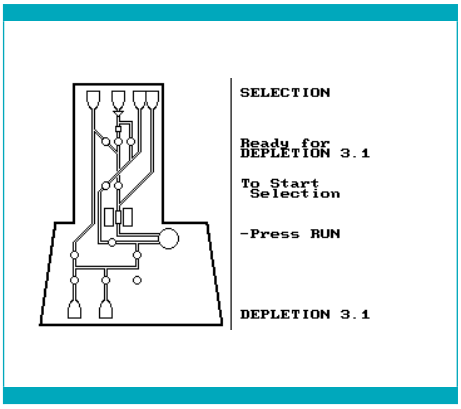
Kun lopullinen tarkistus on suoritettu, CliniMACS Plus Instrument on valmis aloittamaan solujen erottelun. Näytöllä näkyy Näyttö 7.86.

Jatka painamalla **RUN**.

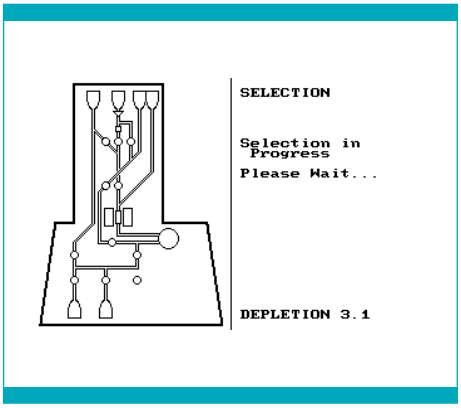
Kun **RUN**-painiketta on painettu, laite suorittaa automaattisesti valitun erottelutoimenpiteen.

Jokaisessa vaiheessa näytössä näkyy samanlainen ilmoitus kuin Näyttö 7.87, joka ilmaisee erotteluprosessin tilan.

Magneetin asennon ilmaisin näytetään kahdessa mustassa laatikossa erottelupylvään vieressä, kun magneetin tila on ”ON” (päällä), eli se on siirretty eteen magnetisoimaan erottelupylvästä. Jos magneetin asennon ilmaisin on läpinäkyvä (esim. Näyttö 7.86), magneetti on “OFF”-tilassa (pois päältä), ts. se on siirretty laitteen takaosaan. Kun magneetti on siirretty sivuun, erottelupylväs on magneettikentän ulkopuolella eikä magnetisoitu.



Näyttö 7.86: Käynnistä erottelu



Näyttö 7.87: Erottelu käynnissä

Erottelutoimenpide

Depletion 3.1 on kahdesta vaiheesta koostuva depleetio-ohjelma, jossa solut lisätään erottelupylvääseen kahdesti.

Prosessin ensimmäisessä vaiheessa suurin osa leimatuista solut erotetaan (Staged Cell Loading [Bulk Loading Stage]). Prosessin toisessa vaiheessa jäljelle jääneet harvat leimatut solut erotetaan (Sensitive Sample Loading [Sensitive Loading Stage]).

TÄRKEÄÄ

Erottelun alussa puskuria pumpataan ylöspäin solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) Pre-System Filter -suodattimen täyttämistä varten. Kopauta varovasti suodattimen seinämää useita kertoja suodattimeen mahdollisesti jääneiden kuplien poistamiseksi.

Huomautus: Jos (CliniMACS Plus -ohjelmiston laskema) magneettileimattujen solujen kokonaismäärä ylittää erottelupylvään sitomiskapasiteetin, erotteluohjelma jakaa solunäytteen automaattisesti sopiviin osiin lataamista ja erottelua varten (“staged loading”). Jokaisen latausvaiheen välissä erottelupylväs pestään kaikkien

leimattujen solujen poistamiseksi. Leimatut solut uutetaan ja pidetään muiden kuin kohdesolujen pussissa (Non-Target Cell Bag). Pesupuskuri kerätään uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag).

Staged Cell Loading (Bulk Loading Stage)

Erottelutoimenpide käynnistyy Pre-System Filter -suodattimen täyttyessä järjestelmän alustuksen saattamiseksi loppuun. Sitten alkaa leimattujen solujen erotteleminen. Pumppu vetää solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisällön letkusarjaan. Magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) jäävät magneettikentässä sijaitsevaan erottelupylvääseen, kun taas leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat pylvään läpi ja päätyvät uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag).

Sensitive Sample Loading (Sensitive Loading Stage)

Uudelleenkäyttöpussissa (Reapplication Bag) olevien solujen uutta depleetiota varten solut ladataan uudelleen erottelupylvääseen hitaammalla nopeudella. Harvoja jäljelle jääneitä soluja pidetään nyt pylväässä, kun taas leimaamattomat solut (kohdesolut) virtaavat magneettikentän läpi ja päätyvät keräyspussiin (Cell Collection Bag).

Pre-System Filter -suodattimen ja uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) huuhteleminen

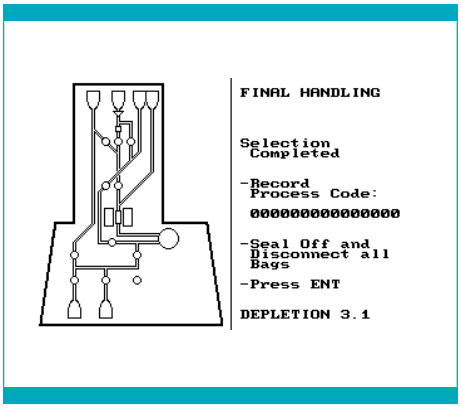
Kun näytesoluille on suoritettu sekä laaja depleetio että herkkä depleetio, Pre-System Filter ja uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag) huuhdellaan kahdesti puskurilla, jotta solujen menettäminen järjestelmään olisi mahdollisimman vähäistä.

Muiden kuin kohdesolujen poistaminen

Magneetti siirtyy ”OFF”-asentoon. Magneettileimatut solut (muut kuin kohdesolut) vapautetaan erottelupylväästä, jolloin ne siirtyvät muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag) jokaisen lataamisvaiheen jälkeen.

Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

Kun ajo on suoritettu loppuun, näytöllä on Näyttö 7.88.

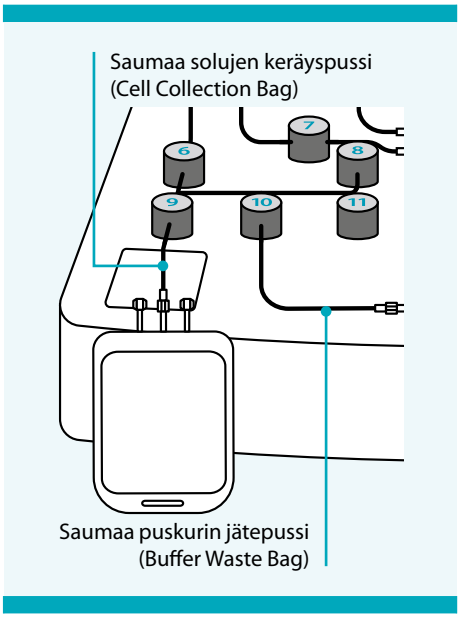


Näyttö 7.88: Irrota pussit ja merkitse prosessikoodi muistiin

1. Merkitse prosessikoodi muistiin.
2. Kiristä tai saumaa luer-liitoksen yläpuolella oleva letku, joka liittää solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) letkusarjaan (katso Kuva 7.26).

   Tee kolme hermeettistä sulkua heti venttiilin nro 9 alapuolella olevaan letkuun. Erota keskimmäinen sauma varovasti solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) irrottamiseksi letkusarjasta.
3. Punnitse täytetty solujen keräyspussi (Cell Collection Bag). Merkitse paino muistiin.

   Määritä kohdesolufraktion paino vähentämällä tyhjän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) paino solujen kohdesolut sisältävän solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) painosta. Merkitse paino muistiin.
4. Sekoita kohdesolususpensio huolellisesti pyörittämällä pussia. Ota sopiva määrä, esim. 0,5 mL, ja säilytä analyysia varten.
5. Saumaa kuumasaumainta käyttäen puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) luer-liitoksen yläpuolella oleva letku. Tee letkuun kolme hermeettistä sulkua. Erota keskimmäinen sauma puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) irrottamiseksi.



Kuva 7.26: Irrota pussit

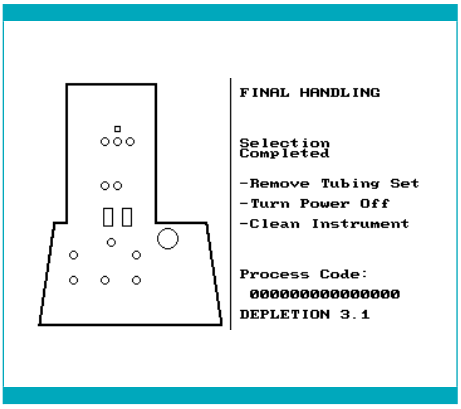
6. Erota muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag) samalla tavalla.
7. Poista muiden kuin kohdesolujen pussi (Non-Target Cell Bag) ja puskurin jätepussi (Buffer Waste Bag). Säilytä kaikki pussit siihen asti, kunnes solujen lopullinen analyysi on valmis.

Kohdesoluja voidaan nyt käsitellä kliinisen käyttötarkoituksen mukaisesti.

Jatka painamalla **ENT**.

Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

Näytöllä näkyy Näyttö 7.89.



Näyttö 7.89: Letkusarjan poistaminen ja laitteen sammuttaminen

1. Letkusarjojen poistaminen: Aloita venttiileistä nro 6, 9, 10 ja 10, ja siirtyen alhaalta ylöspäin vapauta letkut nesteanturista ja venttiileistä painamalla venttiilejä. Vapauta pylväs pidikkeestä. Hävitä letkusarja biovaarallisena jätteenä sairaalan tavanomaisten käytäntöjen mukaisesti.
2. Sammuta CliniMACS Plus Instrument.
3. Puhdista laite ohjeiden mukaisesti, katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta ”Puhdistaminen ja desinfiointi”. Noudata tavanomaisia infektiovaarallisen materiaalin käsittelyä koskevia ohjeita.

Solujen analysoiminen

TÄRKEÄÄ

- *CliniMACS PBS/EDTA Buffer -puskuria ei tarvitse poistaa ennen eroteltujen kohdesolujen lisäämistä, jos fraktion tilavuus on enintään 100 mL siirtoa kohden soveltuvilla infuusionopeuksilla. Potilaan munuaisten tila ja vaikutukset veren elektrolyytteihin on syytä huomioida. Erityisesti lapsilla infuusionopeutta on säädettävä tarpeen mukaan.*
- *Jos kohdesolujen fraktion tilavuus on yli 100 mL, sitä on vähennettävä soveltuvilla keinoilla, kuten esim. sentrifugoimalla tai puskurin vaihdolla, käyttäjän maassa hyväksytyksi infuusionesteeksi.*

⚠ HUOMIO

Kohdesolujen heikentyneen laadun riski. Kohdesolut on analysoitava ja on varmistettava, että ne täyttävät käyttäjän vaatimukset, sillä niiden soveltuvuus kliiniseen sovellukseen on saattanut heikentyä. Tarkasta kohdesolujen laatu ja määrä niiden käyttötarkoituksen mukaan.

Seuraavat muuttujat on tarkastettava aina:

- leukosyyttien kokonaismäärä
- kohdesolujen viabiliteetti ja kokonaismäärä
- depleetioteho

Lisäksi on suositeltavaa määrittää muun kuin kohdesolufraktion leukosyyttien kokonaismäärä ja viabiliteetti. Luettelo on esimerkki. Muita testejä on syytä lisätä käyttötarkoituksen ja kliinisen suunnitelman perusteella. Kirjaa ylös analyysitiedot.

8 Vianmääritys

Tässä luvussa annetaan ohjeita odottamattomien tilanteiden varalta ja ehdotetaan soveltuvia korjaavia toimenpiteitä. Jos et löydä tarvitsemaasi tietoa seuraavasta luvusta, ota mahdollisimman pian yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

Huomautus: Tämä luku noudattaa erotteluprosessin todellista järjestystä.

8.1 Miltenyi Biotec Technical Support

Jos laitteessa ilmenee toimintahäiriö tai prosessivirhe, jota käyttäjä ei voi korjata (virheilmoitukset), ota yhteys teknisen tuen (Miltenyi Biotec Technical Support) tiimiin:

+49 2204 8306-3803
technicalsupport@miltenyi.com

Katso paikallisen teknisen tuen (Miltenyi Biotec Technical Support) yhteystiedot osoitteesta www.miltenyibiotec.com.

8.2 Leukafereesituotteen valmisteleminen

- Saatu näyte on laimennettu

  Ihanteellisessa tilanteessa magneettileimaus tehdään laimennetulle leukafereesituotteelle. Säädä leukafereesituotetta lopulliseen noin 1:3-laimennussuhteeseen. Jos saatu näyte on laimeampi kuin 1:3, tai jos käyttäjä ei tiedä näytteen tarkkaa plasmapitoisuutta, lisää näytteeseen immunoglobuliinia ennen reagenssin lisäämistä (leimaustilavuuden suositeltu immunoglobuliinipitoisuus: 1,5 mg/mL). Näytteessä on tärkeää olla tietty määrä immunoglobuliinia leimauksen aikana reagenssin epäspesifin sitoutumisen minimoimiseksi.

- Kohdesolujen lukumäärä leukafereesituotteessa on alhainen

  Kantasolujen mobilisaatio oli riittämätöntä. Tarkista leukafereesituotteen analyysi.

■ Leukafereesituotteen solujen heikko viabiliteetti

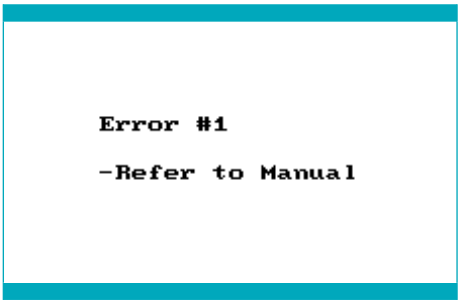
Leukafereesituote on saatettu ottaa, säilyttää tai kuljettaa sopimattomasti. Näytteen paremman laadun varmistamiseksi leukafereesituote on valmisteltava ja erotettava välittömästi leukafereesin jälkeen. Säilytä leukafereesituotetta pitoisuudessa, jossa leukosyyttejä on alle $0{,}2\times10^9$/mL. Laimenna leukafereesituotetta tarvittaessa autologisella plasmalla. Leukafereesituote saa olla enintään 24 tuntia vanha, kun leimaaminen ja erottelu aloitetaan. Jos leukafereesituotetta on säilytettävä esim. yön yli, sitä on pidettävä hallitussa huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]).

8.3 CliniMACS Plus Instrument ja CliniMACS-letkusarjat

8.3.1 Virheilmoitukset

Laitteessa voi ilmetä useita erilaisia laite- tai ohjelmistovirheitä. Ne merkitään virheiksi ja näytetään laitteen näytöllä. Virheet viittaavat sisäisiin vikoihin, joita käyttäjät eivät voi korjata. Merkitse virhenumero muistiin ja ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

Yksi mahdollinen virhe näytetään kohdassa Näyttö 8.1.



Näyttö 8.1: Virheilmoitus nro 1

Virheilmoitusten ohella laite ilmoittaa toimintahäiriöistä, jotka käyttäjä voi korjata, ”Warning messages” (varoitusviesti) -merkinnällä 8.4.1.

8.3.2 Letkusarjan lataaminen ja alustaminen

■ Venttiili ei avaudu, kun käyttäjää kehotetaan kiinnittämään letku tiettyyn venttiiliin.

Venttiilit on suunniteltu toimimaan, kun niihin on kiinnitetty letku. Avaa venttiili manuaalisesti painamalla sitä. Tarkkaile venttiiliä huolellisesti venttiilien testivaiheiden aikana. Jos venttiili ei painu alas venttiilien harjoitusvaiheiden aikana, katso kohta ”Venttiili ei painu alas venttiilien testivaiheiden aikana”.

■ Venttiili ei painu alas venttiilien testivaiheiden aikana

Varmista, että letku on kiinnitetty oikein. Tarkista, onko venttiilit puhdistettu huolellisesti. Jos jokin venttiili on nesteen kontaminoima, se on vaihdettava. Ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

- Letkusarjasta vuotaa puskuria alustuksen aikana

  Letkusarja on viallinen. Sammuta CliniMACS Plus Instrument ja käynnistä alustus uudelleen uuden asennetun letkusarjan ja riittävän uuden puskurin kanssa.

- Letkusarjassa on runsaasti ilmaa alustuksen jälkeen

  Puskuripussia ei ole lävistetty kunnolla. Käytä uutta letkusarjaa sekä vaadittava määrä uutta puskuria, ja käynnistä CliniMACS Plus -erottaminen uudelleen. Varmista, että puskuripussin septum on lävistetty kokonaan.

- Virheellinen puskurin tilavuus pusseissa alustuksen jälkeen. Alustuksen jälkeen nestettä tulee olla vain alustuksen jätepussissa (Priming Waste Bag) ja puskurin jätepussissa (Buffer Waste Bag)

  Letkusarjaa ei ole asennettu oikein. Neste voi vuotaa venttiileistä, jos letkusarjaa ei ole asennettu oikein tai jos venttiilit eivät toimi oikein. Poista letkusarja ja korvaa se uudella. Aloita alustustoimenpide uudelleen vaadittavalla määrällä uutta puskuria. CliniMACS Plus -erottamisen suorituskyky saattaa olla heikko, jos letkusarjaa ei ole asennettu oikein.

- Pumpun moottori sammuu alustuksen aikana

  Pumpun letkuja ei ole kiinnitetty oikein. Keskeytä alustus painamalla **STOP**, sammuta virta “OFF”-painikkeella ja kytke se sitten takaisin päälle “ON”-painikkeella. Sulje puskurilinja letkupihdeillä asennustoimenpiteen aikana, korjaa pumpun letkujen sijaintia ja poista letkupihdit, ennen kuin jatkat alustamista.

8.4 Automaattinen solujen erottelu

8.4.1 Varoitusviestit

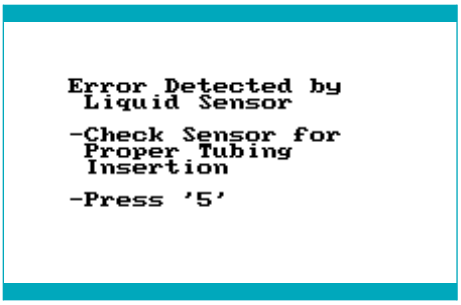
Toisin kuin virheilmoitukset (katso kohta 8.3.1), varoitusviestit tulevat näyttöön, kun CliniMACS Plus Instrument -laitteen sisäinen kontrollijärjestelmä tunnistaa sellaisen toimintahäiriön, jonka käyttäjä voi korjata. Tavallisesti varoitusviesti tulee näytölle ja laite antaa yhtäaikaisen äänimerkin. Jos näytölle tulee varoitusviesti CliniMACS Plus -erottelun aikana, noudata näytöllä olevia ohjeita solujen erottelun jatkamiseksi. Yleisesti ottaen varoitusviesti tulee näkyviin, jos **STOP**-painiketta on painettu, jos pumpun ovi on auki, jos pumppu sammuu tai jos nesteanturi havaitsee virheen.

Eri erotteluohjelmien aikana voi esiintyä useita odottamattomia tapahtumia, joten seuraava kohta on jaettu eri alakohtiin.

8.4.2 Odottamattomat tapahtumat. Kaikki erotteluohjelmat

Nesteanturin havaitsema virhe

Varoitusviesti nro 1 tulee näkyviin solujen latausprosessin alkuvaiheessa, jos nesteanturi ei havaitse letkuissa nestettä. Kun Pre-System Filter on huuhdeltu puskurilla ennen solujen lataamista, letkuissa on oltava nestettä tässä vaiheessa.



Kuva 8.1: Varoitusviesti nro 1

Tarkista seuraavat asiat:

1. Onko letkut asennettu oikein? Nesteanturiin? Jos ei, asenna ne.
2. Onko letkut täytetty puskurilla? Jos ei, katso kohta 3.
3. Jos letkuja ei ole täytetty puskurilla, tarkista, ettei letkuissa ole taitoksia, jotka voisivat estää puskurin virtauksen ylöspäin Pre-System Filter -suodattimeen ja solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Säädä letkusarjan sijaintia. Nosta tai laske pussin ripustimia tarvittaessa pussin ripustinten kiristimien avulla. Korjaa letkujen sijaintia venttiileissä. Jos haluat muuttaa letkun sijaintia manuaalisesti, avaa venttiili painamalla painiketta. Varmista, etteivät letkut ole taittuneet, kierteellä tai pingottuneet.
4. Onko piikki lävistänyt solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) kunnolla? Varmista, että Pre-System Filter -piikki on lävistänyt solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) portissa olevan septumin.
5. Jos letkusarjaa ei ole täytetty kokonaan puskurilla: Onko letkusarjassa oleva puskurin piikki lävistänyt puskuripussin? Katso korjausohjeet "Letkusarjassa on runsaasti ilmaa alustuksen jälkeen" kohdasta 8.3.2.

Jatka käynnissä olevaa erottelua korjaavien toimenpiteiden jälkeen ja paina **5**. Jos virheviesti nro 1 tulee uudelleen näkyviin, vaikka kaikki edellä mainitut mahdolliset syyt on suljettu pois, nesteanturi saattaa olla viallinen. Ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

Solut siirtyvät väärään letkusarjan osaan. Nestettä vuotaa venttiilin (venttiilien) ohi.

- Letkusarjaa ei ole kiinnitetty asianmukaisesti. Jos laitteen ajo on kesken, paina **STOP** ja sulje linja letkupihtien avulla. Säädä letkuja painamalla ensin asianmukaista venttiiliä. Poista letkupihdit ja jatka erottelua painamalla **RUN**. Solujen erottelu keskeytyy, jos **RUN**-painiketta ei paineta 600 sekunnin kuluessa.

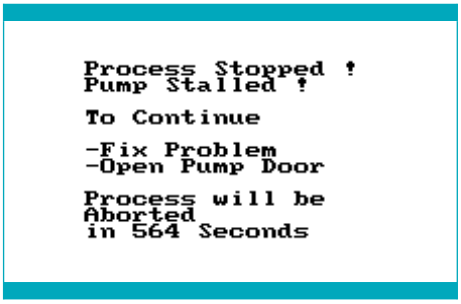
- Venttiili ei toimi oikein. Paina **STOP**. Sulje linja letkupihtien avulla. Paina venttiiliä manuaalisesti useita kertoja jumiutuneen venttiilin avaamiseksi. Poista letkupihdit ja jatka painamalla **RUN**. Solujen erottelu keskeytyy, jos **RUN**-painiketta ei paineta 600 sekunnin kuluessa. Jos käyttäjä ei saa venttiiliä auki, ota yhteyttä tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).
- Käytössä on väärä ohjelmisto. Tarkista näytöltä sillä hetkellä käytössä olevan ohjelman nimi. Keskeytä ajo painamalla **STOP** ja ota välittömästi yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

Magneetti ei liiku

Magneettiohjain ei toimi. Magneettiohjaimessa on tapahtunut virhe. Näytössä näkyy virheilmoitus (katso kohta 8.3.1). Merkitse virheilmoituksen numero muistiin ja ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

Pumpun moottori sammuu solujen erottelun aikana

Pumpun letkuja ei ole asennettu oikein, minkä vuoksi pumpun pyöriminen saattaa olla estynyt. Tällaisessa tilanteessa näyttöön tulee näkyviin varoitusviesti nro 2. Käyttäjällä on tämän jälkeen 600 sekuntia aikaa korjata pumpun letkujen sijainti.



Näyttö 8.2: Varoitusviesti nro 2

1. Poista pumpun letkut varovasti pumpusta.
2. Varmista, etteivät pumpun letkut ole vaurioituneet virheellisen asentamisen seurauksena. Jos pumpun letkut vuotavat, sulje erottelupylvään ylä- ja alapuoliset letkut pylvääseen jääneiden solujen säästämiseksi ja ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).
3. Jos pumpun letkut eivät ole vaurioituneet, ne voidaan asettaa uudelleen pumpun koteloon.
4. Painamalla **RUN** voit käynnistää erottelun uudelleen 600 sekunnin kuluessa, tai erottelu keskeytyy.

Jos pumpun letkut ovat litteitä ja painuneet kokoon, pylväässä saattaa olla tukos. Ota tällöin yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

Näytteen lataaminen ei pääty, vaikka solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) ja Pre-System Filter ovat tyhjiä

Nesteanturi ei toimi kunnolla, esim. koska nesteanturissa olevien letkujen pinta on märkä. Keskeytä erottelu painamalla **STOP**. Poista letkut nesteanturista. Kuivaa kontaktialueella olevat letkut paperipyyhkeellä tai muulla imukykyisellä materiaalilla. Laita letkut takaisin nesteanturiin ja paina **RUN**. Älä keskeytä vaihetta yli 600 sekunnin ajaksi tai solujen erottelu päättyy.

Jos nesteanturin aktivoiminen ei ole mahdollista, paina **STOP**, sitten **2** ja vahvista painamalla **ENT**, jolloin näytteen lataaminen jää välistä ja laite siirtyy erotteluun.

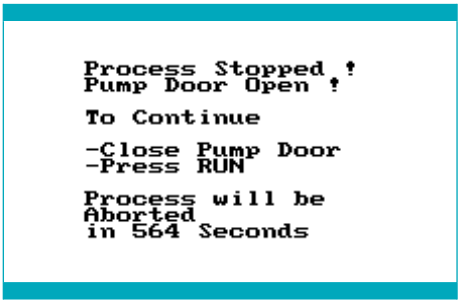
8.4.3 Odottamattomat tapahtumat: Vain rikastusohjelmat

■ Ajo keskeytetään, ennen kuin solujen erotteluohjelma päättyy

- Pumpun ovi avataan: Turvallisuussyistä käynnissä oleva erotteluprosessi keskeytyy automaattisesti, jos pumpun ovi avataan. Näyttöön tulee näkyviin varoitusviesti nro 5.

  Sulje pumpun ovi ja paina **RUN**.

  Jos, kuten tässä tapauksessa, **RUN**-painiketta ei paineta 600 sekunnin kuluessa, erotteluohjelma keskeytyy ja solujen erottelu jää kesken. Ota mahdollisimman suuri osa näytettä talteen letkusarjasta ajamalla EMERGENCY PROGRAM (hätäohjelma).



Näyttö 8.3: Varoitusviesti nro 5

- Virtavirhe: Virtavirhe johtaa CliniMACS Plus Separation -erottelun päättymiseen. Solujen erottelua ei suoriteta loppuun, kun virta on palautunut. Ota mahdollisimman suuri osa näytettä talteen letkusarjasta ajamalla EMERGENCY PROGRAM (hätäohjelma).

8.4.4 Odottamattomat tapahtumat: CD34 SELECTION 1/2

■ Lataaminen päättyy, ennen kuin näyte on ladattu kokonaan pylväisiin

Runsas määrä solujäämiä on tukkinut Pre-System Filter -suodattimen tai suodatinta ei ole täytetty kokonaan. Jatkuvan pumppauksen seurauksena syntyy tyhjiö, joka johtaa ilmakuplien muodostumiseen ja nesteanturin aktivoitumiseen. Siksi erotteluprosessia jatketaan pylväiden pesulla, ennen kuin koko näyte voidaan ladata. Näytteiden lataamista ei voi käynnistää uudelleen, kun se on pysäytetty.

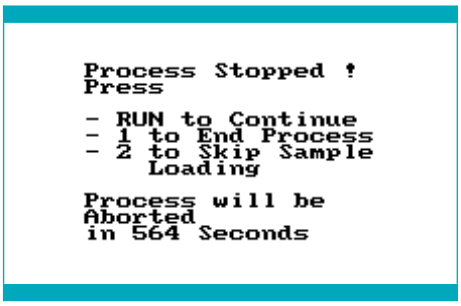
Anna CliniMACS Plus Instrument -laitteen suorittaa erotteluohjelma loppuun saakka. Älä keskeytä ajoa, sillä se voi johtaa solujen tarpeettomaan menettämiseen. Kun erottelutoimenpide on päättynyt, suodata jäljelle jäänyt näyte 200 µm:n verelle tarkoitetun linjasuodattimen avulla ja siirrä se uuteen siirtopussiin. Suorita välittömästi toinen erottelu uuden letkusarjan ja puskurin kanssa.

■ Pumpun letku on painunut kokoon, ja/tai esipylvään alapuolella sijaitsevassa letkusarjassa on liikaa ilmaa solujen lataamisen aikana

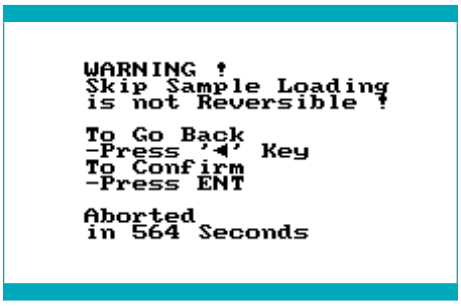
Solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisältämä runsas määrä solujäämiä on tukkinut esipylvään. Jäljellä olevan näytteen manuaalinen lataus on ohitettava ja on jatkettava niiden solujen erottelua, jotka on jo ladattu järjestelmään.

1. Keskeytä solujen lataaminen painamalla **STOP**. Näytölle tulee varoitusviesti nro 3.
2. Ohita solujen lataus painamalla **2**.

   Näytölle tulee varoitusviesti nro 4, ja käyttäjälle annetaan mahdollisuus vahvistaa tai korjata valintaa, koska näytteen latauksen keskeyttämistä ei voi perua.
3. Paina **ENT**, ja erotteluohjelma keskeyttää näytteen lataamisen ja siirtyy pylväiden pesuihin.



Näyttö 8.4: Varoitusviesti nro 3



Näyttö 8.5: Varoitusviesti nro 4

Sulje Pre-System Filter -suodattimen alapuolella oleva letku, jotta solut eivät vuoda solujen valmistelupussista (Cell Preparation Bag) letkusarjaan. Kun erottelutoimenpide on päättynyt, suodata jäljelle jäänyt näyte 200 µm:n verelle tarkoitetun linjasuodattimen avulla ja siirrä se uuteen siirtopussiin.

Suorita välittömästi toinen erottelu uuden letkusarjan ja puskurin kanssa.

8.4.5 Odottamattomat tapahtumat: ENRICHMENT 1.1

■ Lataaminen päättyy, ennen kuin näyte on ladattu kokonaan pylväisiin

Runsas määrä solujäämiä on tukkinut Pre-System Filter -suodattimen tai suodatinta ei ole täytetty kokonaan. Jatkuvan pumppauksen seurauksena syntyy tyhjiö, joka johtaa ilmakuplien muodostumiseen. Ne ovat aktivoineet nesteanturin, ja erotteluprosessi on jatkunut suoraan näytteen latauksen viimeisellä vaiheella. Osa näytteestä saattaa jäädä solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) erottelun päättymisen jälkeen.

Anna CliniMACS Plus Instrument -laitteen suorittaa erotteluohjelma loppuun saakka. Älä keskeytä ajoa, sillä se voi johtaa solujen tarpeettomaan menettämiseen.

Määritä solujen kokonaismäärä, kohdesolujen prosentuaalinen osuus ja solujen valmistelupussissa (Cell Preparation Bag) jäljellä olevan näytteen lataustilavuus, ja syötä ajankohtaiset näytemuuttujat laitteen asetusten määrittämisen aikana (VAIHE 2). Kun erottelutoimenpide on päättynyt, suodata jäljelle jäänyt näyte 200 µm:n verelle tarkoitetun linjasuodattimen avulla ja siirrä se uuteen siirtopussiin. Suorita välittömästi toinen erottelu uuden letkusarjan ja puskurin kanssa.

- Annetut näytemuuttujat ovat virheellisiä

  Näytteen lataustilavuus oli alhaisempi kuin solujen valmistelupussissa (Cell Preparation Bag) olevan näytteen todellinen tilavuus. Näytteiden lataamista ei voi käynnistää uudelleen, kun se on keskeytetty.

  Anna CliniMACS Plus Instrument -laitteen suorittaa erotteluohjelma loppuun saakka. Älä keskeytä ajoa, sillä se voi johtaa solujen tarpeettomaan menettämiseen.

  Määritä solujen kokonaismäärä, kohdesolujen prosentuaalinen osuus ja solujen valmistelupussissa (Cell Preparation Bag) jäljellä olevan näytteen lataustilavuus, ja syötä ajankohtaiset näytemuuttujat laitteen asetusten määrittämisen aikana (VAIHE 2). Käsittele jäljellä oleva näyte uuden letkusarjan ja uuden Pre-System Filter -suodattimen kanssa sekä vaadittavalla määrällä uutta puskuria.

- Pumpun moottori pysähtyy kohdesolujen eluution aikana solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag)

  Solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) vieressä olevia letkupihtejä ei ole avattu eluutiovaiheen aikana. Siksi reitti solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on tukossa.

  Paina **STOP** ja avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Avaa pumpun ovi ja tarkista, että pumpun letkut on asennettu oikein. Sulje pumpun ovi ja paina **RUN** eluutiovaiheen jatkamiseksi 600 sekunnin kuluessa.

8.4.6 Odottamattomat tapahtumat: ENRICHMENT 3.2

- Lataaminen päättyy, ennen kuin näyte on ladattu kokonaan pylväisiin

  Runsas määrä solujäämiä on tukkinut Pre-System Filter -suodattimen tai suodatinta ei ole täytetty kokonaan. Jatkuvan pumppauksen seurauksena syntyy tyhjiö, joka johtaa ilmakuplien muodostumiseen. Ne ovat aktivoineet nesteanturin, ja erotteluprosessi on siirtynyt pylväiden pesuihin, ennen kuin näyte oli ladattu kokonaan. Näytteiden lataamista ei voi käynnistää uudelleen, kun se on pysäytetty.

  Anna CliniMACS Plus Instrument -laitteen suorittaa erotteluohjelma loppuun saakka. Älä keskeytä ajoa, sillä se voi johtaa solujen tarpeettomaan menettämiseen.

Kun erottelutoimenpide on päättynyt, suodata jäljelle jäänyt näyte 200 µm:n verelle tarkoitetun linjasuodattimen avulla ja siirrä se uuteen siirtopussiin. Suorita välittömästi toinen erottelu uuden letkusarjan ja puskurin kanssa.

- Pumpun moottori pysähtyy kohdesolujen eluution aikana solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag)

  Solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) vieressä olevia letkupihtejä ei ole avattu eluutiovaiheen aikana. Siksi reitti solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on tukossa.

  Paina **STOP** ja avaa solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) vieressä olevat letkupihdit. Avaa pumpun ovi ja tarkista, että pumpun letkut on asennettu oikein. Sulje pumpun ovi ja paina **RUN** eluutiovaiheen jatkamiseksi 600 sekunnin kuluessa.

8.4.7 Hätäohjelma (voidaan käyttää vain rikastusohjelmien kanssa)

Jos ajo on päättynyt jostakin syystä, ennen kuin kohdesolut on uutettu erottelupylväästä, hätäohjelma voidaan käynnistää solujen uuttamiseksi erottelupylväästä. Ohjelma on suunniteltu käytettäväksi kaikkien rikastusohjelmien ja joko CliniMACS Tubing Set (REF 161-01)- tai CliniMACS Tubing Set LS (REF 162-01) -letkusarjan kanssa.

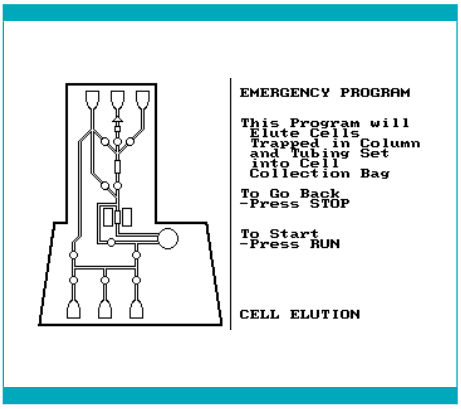
Hätäohjelmaa ei saa käyttää minkään depleetio-ohjelman kanssa.

Huomautus: Hätäohjelma uuttaa noin 75 mL nestettä. Varmista, että letkusarjaan on kiinnitetty valmiiksi yksi soveltuva solujen keräyspussi (Cell Collection Bag).

1. Varmista, ettei erottelupylväs ole magnetisoitu, sammuttamalla laitteen, odottamalla 5 sekuntia ja kytkemällä laitteen sitten takaisin päälle. Magneetti siirtyy pois magneettisesta erotteluyksiköstä (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta ”Kuvaus”). Varmista tämä pitämällä pientä magneettista esinettä magneettista erotteluyksikköä vasten. Jos magneetti ei ole siirtynyt tai jos laitteessa on jatkuva virtavirhe, ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).

2. Odota, kunnes laitteen ikkunassa näkyy päänäyttö (katso CliniMACS Plus Instrument -laitteen käyttäjän oppaan kohta ”Asennus”).

   Hae hätäohjelma painamalla **4**. Näytöllä näkyy Näyttö 8.6.



Näyttö 8.6: Hätäohjelma

3. Jatka laitteeseen jääneiden solujen uuttamista painamalla **RUN**.

   Huomautus: Jos haluat poistua hätäohjelmasta aloittamatta laitteeseen jääneiden solujen uuttamista, paina **STOP**.

4. Siirrä solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) kerätyt uutetut solut uuteen 600 mL:n siirtopussiin. Yhdistä lopuksi solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) jääneet solut hätäohjelman uuttamiin soluihin. Käynnistä uusi erottelutoimenpide uuden letkusarjan ja riittävän uuden puskurin kanssa.

8.4.8 Odottamattomat tapahtumat: DEPLETION 2.1

■ Kohdesolut eivät saavuta solujen keräyspussia (Cell Collection Bag)

Pumppu ei pysty lataamaan tuotetta solujen valmistelupussista (Cell Preparation Bag), koska solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) vieressä oleva kiristin ei ole auki solujen lataamisvaiheen aikana. Paina **STOP** ja avaa solujen keräyspussin (Cell Collection Bag) vieressä oleva kiristin. Jatka depleetioprosessia painamalla **RUN**.

Anna CliniMACS Plus Instrument -laitteen suorittaa erotteluohjelma loppuun saakka. Älä keskeytä meneillään olevaa ajoa, sillä se saattaa johtaa tarpeettomaan solujen menettämiseen. Jos osa tuotteesta jää solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag), kun depleetiotoimenpide on valmis, käsittele jäljelle jääneet solut uuden letkusarjan ja uuden Pre-System Filter -suodattimen kanssa sekä riittävällä määrällä uutta puskuria.

Määritä solujen kokonaismäärä, leimattujen solujen prosentuaalinen osuus sekä näytteen lataustilavuus, syötä uudet näytemuuttujat laitteen asetusten määrittämisen aikana (VAIHE 2) ja käynnistä uusi depleetio.

■ Lataaminen päättyy, ennen kuin näyte on ladattu kokonaan pylväisiin

Näytteessä ja/tai Pre-System Filter -suodattimessa olevat ilmakuplat ovat aktivoineet nesteanturin, ennen kuin näyte on ladattu. Keskeytä senhetkinen ajo ja tarkista solujen keräyspussissa (Cell Collection Bag) olevien solujen lukumäärä sekä depleetioteho. Tarvittaessa käsittele jäljellä oleva näyte uuden letkusarjan ja uuden Pre-System Filter -suodattimen kanssa sekä vaadittavalla määrällä uutta puskuria.

Määritä solujen kokonaismäärä, leimattujen solujen prosentuaalinen osuus sekä näytteen lataustilavuus, syötä uudet näytemuuttujat laitteen asetusten määrittämisen aikana (VAIHE 2) ja käynnistä uusi depleetio.

8.4.9 Odottamattomat tapahtumat: DEPLETION 3.1

- Lataaminen päättyy vaiheittaisen lataamisen (Staged Cell Loading) aikana, ennen kuin näyte on ladattu kokonaan pylväisiin

  - Pre-System Filterr on asennettu väärin päin. Siksi tippakammiotoimintoa ei ole saatavilla ja ilmakuplat saattavat päästä suoraan nesteanturiin, missä ne aiheuttavat näytteen lataamisen keskeytymisen, ennen kuin näyte on ladattu kokonaan. Laite jatkaa depleetioprosessia siirtymällä suoraan seuraavaan vaiheeseen. Näytteiden lataamista ei voi käynnistää uudelleen, kun se on keskeytetty.
  - Runsas määrä solujäämiä on tukkinut Pre-System Filter -suodattimen tai suodatinta ei ole täytetty kokonaan. Jatkuvan pumppauksen seurauksena syntyy tyhjiö, joka johtaa ilmakuplien muodostumiseen. Ne ovat aktivoineet nesteanturin, ja erotteluprosessi on jatkunut suoraan näytteen latauksen viimeisellä vaiheella. Osa näytteestä saattaa jäädä solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag) erottelun päättymisen jälkeen.

  Keskeytä käynnissä oleva ajo, ja yhdistä uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) ja solujen valmistelupussin (Cell Preparation Bag) sisällöt. Käsittele jäljellä olevat solut uuden letkusarjan ja uuden Pre-System Filter -suodattimen kanssa sekä vaadittavalla määrällä uutta puskuria.

- Lataus keskeytyi Sensitive Sample Loading -vaiheen aikana (Sensitive Loading Stage)

  Uudelleenkäyttöpussi (Reapplication Bag) roikkuu alempana kuin solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag). Solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag) tyhjenee herkän latausvaiheen (sensitive loading) aikana, ennen kuin uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) koko tilavuus on ladattu. Siten on mahdollista, että ilmakupla aktivoi nesteanturin, ennen kuin näyte on ladattu kokonaan uudelleenkäyttöpussista (Reapplication Bag) depleetiotoimenpiteen päätyttyä. Näytteiden lataamista ei voi käynnistää uudelleen, kun se on keskeytetty.

  Anna CliniMACS Plus Instrument -laitteen suorittaa erotteluohjelma loppuun saakka. Älä keskeytä meneillään olevaa ajoa, sillä se saattaa johtaa tarpeettomaan solujen menettämiseen. Käsittele jäljellä oleva näyte uuden letkusarjan ja Pre-System Filter -suodattimen kanssa sekä vaadittavalla määrällä uutta puskuria.

  Määritä solujen kokonaismäärä, leimattujen solujen prosentuaalinen osuus sekä näytteen lataustilavuus, ja syötä uudet näytemuuttujat laitteen asetusten määrittämisen aikana (VAIHE 2). Huomioi, että DEPLETION 3.1 -ohjelmaa varten vaaditaan kolme suurta pussin ripustinta, ja tarkista asennusohjeista soveltuvat pussien korkeudet (katso kohta 7.3.3).

Kohdesolut (leimaamattomat solut) eivät siirry uudelleenkäyttöpussiin (Reapplication Bag) Staged Cell Loading Bulk -vaiheen aikana (Loading Stage).

Venttiiliin nro 3 on asetettu väärä letku (uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) letkun oikea haara vasemman haaran (Y-liitin) sijasta). Paina **STOP** ja poista väärä letku venttiilistä nro 3. Aseta oikea letku manuaalisesti (uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) letkun vasen haara) venttiiliin nro 3, kuten asennusohjeissa kuvataan. Paina **RUN** jatkaaksesi depleetio-ohjelmaa 600 sekunnin kuluessa.

Anna CliniMACS Plus Instrument -laitteen suorittaa erotteluohjelma loppuun saakka. Älä keskeytä ajoa, sillä se voi johtaa solujen tarpeettomaan menettämiseen. Tarkista solujen keräyspussissa (Cell Collection Bag) olevan kohdefraktion depleetioteho. Jos depleetioteho ei ole riittävä, toista depleetiotoimenpide uuden letkusarjan ja uuden Pre-System Filter -suodattimen kanssa sekä vaadittavalla määrällä uutta puskuria.

Määritä solujen kokonaismäärä, leimattujen solujen prosentuaalinen osuus sekä näytteen lataustilavuus, syötä uudet näytemuuttujat laitteen asetusten määrittämisen aikana (VAIHE 2) ja käynnistä uusi depleetio.

Solut virtaavat puskuripussiin gravimetristen huuhteluvaiheiden aikana

Puskuripussi roikkuu liian alhaalla (alempana kuin solujen valmistelupussi (Cell Preparation Bag)) Paina **STOP** ja säädä puskuripussin ripustin oikeaan asentoon. Varmista, että DEPLETION 3.1 -ohjelmaa varten on asennettu kolme suurta pussin ripustinta, ja tarkista asennusohjeista soveltuvat pussien korkeudet (katso kohta 7.3.3).

- Jos solut eivät ole saavuttaneet puskuripussia, venttiilien nro 1 ja 2 manuaalinen avaaminen riittää mahdollistamaan solujen takaisinvirtauksen solujen valmistelupussiin (Cell Preparation Bag). Kun puskuripussi on jälleen tyhjä, sulje venttiilit nro 1 ja 2 ja jatka depleetiota painamalla **RUN** 600 sekunnin kuluessa.
- Jos solut ovat jo saavuttaneet puskuripussin, vaihda puskuripussi, avaa venttiilit nro 1 ja 2 manuaalisesti puskuripussin letkujen nopeaa huuhtelua varten ja jatka depleetiota painamalla **RUN** 600 sekunnin kuluessa. Käsittele tarvittaessa jäljellä oleva näyte puskuripussissa (jos tilavuus ylittää 300 mL, siirrä näyte ensin sentrifugipussiin tilavuuden vähentämiseksi) käyttäen uutta letkusarjaa, uutta Pre-System Filter -suodatinta ja riittävää määrää uutta puskuria.

Pumpun moottori pysähtyy kohdesolujen ensimmäisen eluution aikana muiden kuin kohdesolujen pussiin (Non-Target Cell Bag)

- Letkupihtejä ei ole poistettu eheystestin jälkeen. Paina **STOP** ja poista letkupihdit. Avaa pumpun ovi ja tarkista, että pumpun letkut on asennettu oikein. Sulje pumpun ovi ja jatka eluutiovaihetta painamalla **RUN** 600 sekunnin kuluessa.
- Venttiiliin nro 3 on asetettu väärä letku (muiden kuin kohdesolujen pussin (Non-Target Cell Bag) letku uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) letkun vasemman haaran (Y-liitin) sijasta). Paina **STOP** ja poista muiden kuin

kohdesolujen pussin (Non-Target Cell Bag) letku venttiilistä nro 3. Kiinnitä oikea letku manuaalisesti (uudelleenkäyttöpussin (Reapplication Bag) letkun vasen haara) venttiiliin nro 3, kuten asennusohjeissa kuvataan. Jatka eluutiovaihetta painamalla **RUN** 600 sekunnin kuluessa.

8.5 Solujen erottelun suorituskyky

8.5.1 Odottamattomat tapahtumat: Vain rikastusohjelmat

■ Kohdesolujen tulos on alhainen

- Kohdesolut on leimattu heikosti reagenssilla:
  - Reagenssin viimeinen käyttöpäivämäärä on umpeutunut. Tarkista viimeinen käyttöpäivämäärä. Älä käytä mitään reagenssia viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
  - Reagenssia on säilytetty virheellisesti. Tarkista säilytyslämpötila. Älä käytä virheellisesti säilytettyä reagenssia (katso reagenssin käyttöohjeet).
  - Leimaustoimenpidettä koskevia ohjeita ei ole noudatettu. Tarkista käyttäjän oppaan kohdat, jotka koskevat näytteen valmistelua ja erottelutoimenpidettä.
- Soluja on menetetty valmisteluvaiheiden aikana.
  - Soluja poistettiin supernatantin mukana plasman jätepussiin (Plasma Waste Bag) ja pesujätepusseihin (Wash Waste Bag) riittämättömän sedimentaation tai solujen liian aikaisen suspendoimisen takia, kun pussi poistettiin sentrifugista. Vertaa leimaamattoman ja leimatun solutuotteen leukosyyttisisältöä. Tarkista, että sentrifugin asetukset ovat oikein. Määritä kaikkien jätepussien sisältämät solumäärät.
  - Puskuri ei sisältänyt ihmisseerumialbumiinia. Lisää puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus) (katso kyseiseen sovellukseen vaadittavat CliniMACS-materiaalit).
  - Sentrifugiasetukset eivät olleet parhaat mahdolliset. Tarkista sentrifugin asetukset.
  - Sentrifugin epätasapaino, jarrun käyttö tai sentrifugin epäsymmetrinen lataaminen.
- Virhe analyysissä.
  - Virhe näytteiden käsittelyssä. Tarkista, onko solususpensiossa paakkuuntuneita tai pysyviä soluja. Varmista, että otetut näytteet ovat edustavia, ja toista analyysi.
  - Virhe näytteiden värjäämisessä. Tarkista virtaussytometrin reagenssit. Toista värjääminen.
  - Virtaussytometrin asetukset olivat virheelliset. Tarkista laitteen asetukset.

Kohdesolujen puhtaus on alhainen.

- Solutuotetta on säilytetty virheellisesti. Solutuote on valmisteltava ja eroteltava välittömästi leukafereesin jälkeen. Säilytä solutuotetta pitoisuudessa, jossa leukosyyttejä on alle $0{,}2\times10^9$/mL. Laimenna solutuotetta tarvittaessa autologisella plasmalla. Solutuote saa olla enintään 24 tuntia vanha, kun leimaaminen ja erottelu aloitetaan. Jos solutuotetta on säilytettävä esim. yön yli, sitä on pidettävä hallitussa huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]).
- Solujen magneettileimausta koskevia ohjeita ei ole noudatettu (esim. virheelliset tilavuudet magneettileimauksen aikana). Noudata magneettileimausta koskevia ohjeita (katso kyseistä sovellusta koskevan kohdan VAIHE 1). Vianmääritystä varten määritä kohdesolufraktiota kontaminoivien leukosyyttien alaryhmät (B-solut, T-solut, monosyytit, granulosyytit ja verihiutaleet) ja ota yhteys tekniseen tukeen (Miltenyi Biotec Technical Support).
- Suuri määrä granulosyyttejä kontaminoi aloitustuotteen (epäsuotuisat afereesiolosuhteet). Kuolevat granulosyytit sitoutuvat epäspesifisti CliniMACS-reagenssiin, mikä voi johtaa kohdesolujen epäpuhtauteen.
- Venttiilivirhe ilmeni. Muiden kuin kohdesolujen osafraktio tai puskurin jätefraktio on kontaminoinut uutettujen kohdesolujen fraktion. Tarkista letkujen oikea sijainti venttiileissä halutun toiminnan varmistamiseksi. Arvioi kohdesolujen määrä muiden kuin kohdesolujen fraktiossa ja puskurijätteessä. Yhdistä tarvittaessa kohdesolufraktio ja muiden kuin kohdesolujen fraktio, vähennä sopivaan tilavuuteen ja toista erottelu uudella letkusarjalla ja riittävällä määrällä uutta puskuria.

Epäspesifi kuolleiden solujen kertyminen solutuotteesta tai suuri epäspesifien solujen runsas menetys toimenpiteen aikana

- Puskuri ei sisällä ihmisseerumialbumiinia. Lisää puskuriin ihmisseerumialbumiinia lopulliseen 0,5 %:n pitoisuuteen (paino/tilavuus) (katso kyseiseen sovellukseen vaadittavat CliniMACS-materiaalit).
- Solutuotetta on saatettu säilyttää sopimattomasti. Solutuote on valmisteltava ja eroteltava välittömästi leukafereesin jälkeen. Säilytä solutuotetta pitoisuudessa, jossa leukosyyttejä on alle $0{,}2\times10^9$/mL. Laimenna leukafereesia tarvittaessa autologisella plasmalla. Solutuote saa olla enintään 24 tuntia vanha, kun leimaaminen ja erottelu aloitetaan. Jos solutuotetta on säilytettävä esim. yön yli, sitä on pidettävä hallitussa huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]).
- Näytteen epätäydellinen latautuminen erottelupylvään, Pre-System Filter -suodattimen tai esipylvään tukkeutumisen takia. Tarkista jäljellä olevien solujen kokonaismäärä ja depleetioteho.

8.5.2 Odottamattomat tapahtumat: CD34 SELECTION 1/2 ja ENRICHMENT 1.1

Kohdesolujen puhtaus on alhainen

Eluutio erottelupylväästä oli epätäydellinen.

- Erotteluohjelma keskeytettiin. Tarkista näyttö virheilmoituksen varalta. Jatka kohtaan ”Ajo keskeytetään, ennen kuin solujen erotteluohjelma päättyy” (katso kohta 8.4.3 sivulla 208).
- Pumppuvirhe tai venttiilivirhe havaittiin. Palauta solut letkusarjasta hätäohjelman ajon jälkeen kohdan 8.4.7 ohjeiden mukaisesti. Tarkista kaikkien fraktioiden tilavuudet. Arvioi puskurin jätepussin (Buffer Waste Bag) ja negatiivisen fraktion pussin (Negative Fraction Bag) kohdesolumäärät.
- Letku solujen keräyspussiin (Cell Collection Bag) on tukkeutunut. Tarkista, onko letkuissa suljettuja kiristimiä, tukkeumia tai taitoksia.
- Reagenssin ja/tai letkusarjan kapasiteetti ylitettiin. Tarkista kyseisen sovelluksen kapasiteetin rajat.
- Letkuja ei ole kiinnitetty kunnolla. Tarkista, että letkut on kiinnitetty oikein kaikkiin venttiileihin.

8.5.3 Odottamattomat tapahtumat: CD34 SELECTION 1/2

Kohdesolujen puhtaus on alhainen

Muita kuin kohdesoluja säilytettiin.

- Kohdesolujen mobilisaatio oli heikko. Kohdesolujen lukumäärä on hyvin alhainen. Näin ollen kontaminoivien muiden kuin kohdesolujen (esim. granulosyytit, monosyytit, verihiutaleet) alhainen lukumäärä voi johtaa alentuneeseen puhtauteen.
- Magneettileimauksen aikana plasman tai immunoglobuliinien määrä oli riittämätön. Noudata magneettileimausta koskevia ohjeita (katso kyseisen sovelluksen VAIHE 1).

  Jos näytteen autologisen plasman lopullista 30 % pitoisuutta ei voida taata magneettileimauksen aikana, lisää näytteeseen immunoglobuliinia. Lopullinen 1,5 mg/mL:n pitoisuus on suositeltava, sillä tässä pitoisuudessa reagenssin epäspesifi sitoutuminen estyy tehokkaimmin magneettileimauksen aikana.

8.5.4 Odottamattomat tapahtumat: ENRICHMENT 1.1

Kohdesolujen tulos on alhainen

Virheellisesti syötetyt näytemuuttujat. Ristiintarkista syötetyt muuttujat analyysin tulosten kanssa.

8.5.5 Odottamattomat tapahtumat: DEPLETION 2.1 ja DEPLETION 3.1

Depleetioteho on alhainen

Jos depleetioteho on riittämätön, käsittele jäljellä olevat solut uudella letkusarjalla ja riittävällä määrällä uutta puskuria. Poistettavien solujen leimaamista uudelleen on harkittava. Määritä solujen kokonaismäärä ja poistettavien solujen prosentuaalinen osuus ja syötä uudet näytemuuttujat laitteen asetusten määrittämisen aikana (VAIHE 2). Jos havaitset näkyviä paakkuja, solujen suodattamisesta ennen uutta ajoa saattaa olla hyötyä. Huomioi, että soluja saatetaan menettää paakkuuntumisen ja lisäsuodattamisen seurauksena.

- Reagenssin ja/tai letkusarjan kapasiteetti ylitettiin. Tarkista kyseisen sovelluksen kapasiteetin rajat.
- Reagenssilla leimattavien solujen virheellinen määrittäminen
- Virheellisesti syötetyt näytemuuttujat. Ristiintarkista syötetyt muuttujat analyysin tulosten kanssa.
- Solujen heikentynyt viabiliteetti. Kuolleet solut voivat sitoutua epäspesifisti erottelupylvääseen ja heikentää näin pylvään leimauskapasiteettia, mikä voi johtaa heikentyneeseen depleetiotehoon. Varmista solutuotteen parempi laatu, ja käsittele tuote mahdollisimman tuoreena. Tuotteita, joita on säilytetty yli 24 tunia, ei pidä käyttää. Jos solutuotteita on säilytettävä, ne on pidettävä hallitussa huoneenlämmössä (+19–25 °C [+66–77 °F]). Solupitoisuus ei saa ylittää $0{,}2\times10^{9}$/mL. Laimenna solutuotetta tarvittaessa autologisella plasmalla optimaaliseen solupitoisuuteen.

9 Oikeudelliset huomautukset

9.1 Rajattu takuu

Ellei tämän tuotteen mukana toimitetussa takuutodistuksessa toisin mainita tai ellei asianmukaisesti valtuutetun Miltenyi Biotecin edustajan kanssa ole kirjallisesti sovittu muuta, suoraan Miltenyi Biotecilta ostettua Miltenyi Biotecin tuotetta koskevat myyntiehdot, jotka olivat voimassa ajankohtana, jolloin tuote toimitettiin Miltenyi Biotecin myyntiorganisaatiolta. Soveltuvat kaupan ehdot ja edellytykset voivat vaihdella maan ja alueen mukaan. Nämä ehdot ja edellytykset ovat saatavilla pyynnöstä sekä osoitteessa www.miltenyibiotec.com. Mitään tämän asiakirjan sisältämää tietoa ei pidä tulkita lisätakuuksi.

Kolmansilta osapuolilta tai jälleenmyyjiltä (esim. Miltenyi Biotecin valtuuttama paikallinen palveluntarjoaja) ostettuja tuotteita saattaa koskea poikkeavat ehdot ja edellytykset.

Katso kaupan yhteydessä saamasi pakkausluettelo, lasku, kuitti ja muut kauppaa koskevat asiakirjat oman tuotteesi takuun selvittämiseksi. Joitakin ostamiesi laiteyhdistelmien komponentteja saattaa koskea lyhyempi takuuaika kuin pakkausluettelossa, laskussa, kuitissa tai muissa kauppaa koskevissa asiakirjoissa on mainittu (esim. tuotteita koskeva säilyvyys tai vanhentuminen).

Miltenyi Biotecin tälle tuotteelle myöntämä takuu kattaa vain normaalin käytön aikana ilmenevät tuoteviat, jotka johtuvat materiaalivioista tai virheistä työn laadussa. Se ei kata mistään muista syistä johtuvia laitevikoja, mukaan lukien sellaiset tuoteviat, jotkat johtuvat sellaisesta käytöstä, jota ei ole kuvattu tässä käyttäjän oppaassa, esimerkiksi sopimaton tai vääränlainen käyttö; virheellinen kokoaminen tai asennus käyttäjän tai kolmannen osapuolen toimesta; kohtuullinen kuluminen; huolimaton tai virheellinen käyttö, käsittely, säilytys, huolto tai ylläpito; käyttöohjeiden noudattamatta jättäminen; tuotteen tai sen minkä tahansa osan luvaton muuttaminen; sopimattomien kulutustarvikkeiden, lisävarusteiden tai työtarvikkeiden käyttö.

Miltenyi Biotecin takuu ei kata tuotteita, jotka on myyty sellaisena kuin ne ovat (”as is”) tai kaikkine vikoineen (”with all faults”), eikä kulutustarvikkeita. Mitään tämän asiakirjan sisältämää tietoa ei pidä tulkita lisätakuuksi.

Miltenyi Biotecille on ilmoitettava välittömästi tällaisesta takuuvaatimuksesta. Jos tuotteessa ilmenee vika takuuajan sisällä, Miltenyi Biotec tekee tarvittavat toimet laitteen täyden käytettävyyden palauttamiseksi.

Rajoitettu vastuu Miltenyi Biotec ei vastaa mistään satunnaisista tai välillisistä vahingoista, jotka johtuvat mistä tahansa takuuta tai tämän tuotteen ehtoja koskevista suorista tai epäsuorista sopimusrikkomuksista.

Joidenkin maiden/osavaltioiden tai lainkäyttöalueiden lainsäädäntö ei salli satunnaisten tai välillisten vahinkojen poissulkemista, joten yllä olevat rajoitukset eivät välttämättä koske sinua. Tämä takuutodistus antaa sinulle tiettyjä oikeuksia, joiden lisäksi sinulla saattaa olla muita maa- tai osavaltiokohtaisia tai lainkäyttöaluekohtaisia oikeuksia.

9.2 Tuotemerkit

CliniMACS, MACS, MACSmix, Miltenyi Biotec -logo ja MiniMACS ovat Miltenyi Biotecin ja/tai sen osakkuusyhtiöiden rekisteröityjä tuotemerkkejä eri maissa ympäri maailmaa. Kaikki tässä asiakirjassa mainitut tavaramerkit ovat omistajiensa omaisuutta, ja niitä käytetään ainoastaan tunnistamistarkoituksissa.

Miltenyi Biotec

Saksa/Itävalta
Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG
Friedrich-Ebert-Straße 68
51429 Bergisch Gladbach
Saksa
+49 2204 8306-0
+49 2204 85197
macsde@miltenyi.com

Yhdysvallat/Kanada
Miltenyi Biotec Inc.
2303 Lindbergh Street
Auburn, CA 95602
Yhdysvallat
800 FOR MACS
+1 866 811 4466
+1 877 591 1060
macsus@miltenyi.com

Australia
Miltenyi Biotec
Australia Pty. Ltd.
Unit 11, 2 Eden Park Drive
Macquarie Park NSW 2113
Australia
+61 2 8877 7400
+61 2 9889 5044
macsau@miltenyi.com

Benelux
Miltenyi Biotec B.V.
Dellaertweg 9C
2316 WZ Leiden
Alankomaat
macsnl@miltenyi.com
Asiakaspalvelu Alankomaat
0800 4020120
0800 4020100
Asiakaspalvelu Belgia
0800 94016
0800 99626
Asiakaspalvelu Luxemburg
800 24971
800 24984

Espanja
Miltenyi Biotec S.L.
C/Luis Buñuel 2
Ciudad de la Imagen
28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid)
Espanja
+34 91 512 12 90
+34 91 512 12 91
macses@miltenyi.com

Etelä-Korea
Miltenyi Biotec Korea Co., Ltd.
Donggeuk 7F
562 Nonhyeon-ro
Gangnam-gu
Seoul 06136
Etelä-Korea
+82 2 555 1988
+82 2 555 8890
macskr@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

Italia
Miltenyi Biotec S.r.l.
Via Paolo Nanni Costa, 30
40133 Bologna
Italia
+39 051 6 460 411
+39 051 6 460 499
macsit@miltenyi.com

Japani
Miltenyi Biotec K.K.
NEX-Eitai Building 5F
16-10 Fuyuki, Koto-ku
Tokio 135-0041
Japani
+81 3 5646 8910
+81 3 5646 8911
macsjp@miltenyi.com

Kiina
Miltenyi Biotec Technology &
Trading (Shanghai) Co., Ltd.
Room A401, 4/F
No. 1077, Zhangheng Road
Pudong New Area
201203 Shanghai
P.R. Kiina
+86 21 6235 1005-0
+86 21 6235 0953
macscn@miltenyi.com.cn

Pohjoismaat ja Baltia
Miltenyi Biotec Norden AB
Medicon Village
Scheeletorget 1
223 81 Lund
Ruotsi
macsse@miltenyi.com
Asiakaspalvelu Ruotsi
0200 111 800
+46 280 72 99
Asiakaspalvelu Tanska
80 20 30 10
+46 46 280 72 99
Asiakaspalvelu
Norja, Suomi, Islanti
ja Baltian maat
+46 46 280 72 80
+46 46 280 72 99

Ranska
Miltenyi Biotec SAS
10 rue Mercoeur
75011 Pariisi
Ranska
+33 1 56 98 16 16
macsfr@miltenyi.com

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

Sveitsi
Miltenyi Biotec Swiss AG
Gibelinstrasse 27
4500 Solothurn
Sveitsi
+41 32 623 08 47
+49 2204 85197
macsch@miltenyi.com

Yhdistynyt kuningaskunta
Miltenyi Biotec Ltd.
Almac House, Church Lane
Bisley, Surrey GU24 9DR
Yhdistynyt kuningaskunta
+44 1483 799 800
+44 1483 799 811
macsuk@miltenyi.com

www.miltenyibiotec.com

Miltenyi Biotec tarjoaa tuotteita ja palveluita maailmanlaajuisesti. Katso lähin Miltenyi Biotec -toimipaikka osoitteesta **www.miltenyibiotec.com/local**.

CliniMACS, MACS, MACSmix, Miltenyi Biotec -logo ja MiniMACS ovat rekisteröityjä tuotemerkkejä tai Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG:n ja/tai sen osakkuusyhtiöiden tuotemerkkejä eri maissa ympäri maailmaa. Copyright © 2023 Miltenyi Biotec ja/tai sen osakkuusyhtiöt. Kaikki oikeudet pidätetään.

210-003-232/01 | Myönnetty: 2023-05