

CliniMACS[®]

Руководство по эксплуатации.

Версия программного обеспечения 2.40

Производитель:

Miltenyi Biotec GmbH

Friedrich-Ebert-Strabe 68
D-51429 Bergisch Gladbach

Технический сервис:
Tel.: +49-2204-8306-80
Fax.: +49-2204-8306-89



Содержание

1	Общее	3
1.1.	Введение	3
1.2.	Меры предосторожности	4
1.3.	Техническая информация	6
1.4.	Словарь	10
2	CliniMACS® технология сепарации клеток	16
2.1.	MACS® Магнитная сепарация клеток	16
2.2.	CliniMACS® реагенты	16
2.3.	Маркировка клеток с помощью CliniMACS® реагентов	16
2.4.	Высоко-эффективная магнитная сепарация клеток	17
2.5.	CliniMACS® стратегии сепарации	17
3	Прибор CliniMACS®+	22
3.1.	Распаковка	22
3.2.	Очистка и обслуживание	25
3.3.	Установка	26
3.4.	Описание прибора CliniMACS®+ (модель CS2-CE/UL)	27
3.5.	Главное меню	30
4	Четыре этапа получения различных целевых клеток	
I	Подготовка исходной фракции клеток и магнитная маркировка клеток	
II	Программа CD34 Выделение 1/2	33
III	Заправка магистралей CliniMACS Tubing Set (каталожный номер 161-01) и CliniMACS Tubing Set LS плангов (каталожный номер 162-01).	35
IV	CD34 Выделение 1/2	54



1. Общее

1.1 Введение

Система CliniMACS® - это серия продуктов, предназначенных для высококачественного выделения клеток, применяемых в терапевтических целях.

Система CliniMACS® основана на технологии магнитного выделения клеток (MACS технология) разработанной компанией Miltenyi Biotec.

Компанией Miltenyi Biotec была разработана технология для клинического применения, соответствующая нормативным документам Европейского сообщества.

Система CliniMACS®, включающая прибор CliniMACS⁺, набор магистралей к прибору CliniMACS, CliniMACS реагенты и CliniMACS буфер PBS/EDTA, позволяет получить или удалить определенные клетки из любого обрабатываемого материала в соответствии с GMP.

Перед использованием системы CliniMACS или любого компонента системы CliniMACS для терапевтических целей, необходима их регистрация и официальное разрешение на применение в вашей стране.



1.2 Меры предосторожности

1. Сильное магнитное поле компонентов прибора CliniMACS⁺, чувствительно к другим магнитным полям (таким как часы, кредитные карточки) и может оказать на них влияние (см. рис. 1.1).
2. Внимательно прочтите и изучите все прилагающиеся инструкции по использованию (см. рис. 1.2).
3. Все процедуры выделения клеток должны производиться только обученным, квалифицированным персоналом. Для обучения персонала мы готовы предоставить нашего технического представителя.
4. Прибор CliniMACS⁺ является прибором I-го класса защиты и может подключаться только к сети с заземлением.
5. Перед очисткой или обслуживанием прибора CliniMACS⁺, он должен быть отключен от сети.
6. Для отключения прибора необходимо вынуть вилку из розетки. Использовать только оригинальные вилки поставляемые с прибором.
7. Для избежания удара током не снимайте заднюю панель прибора CliniMACS⁺. Эта деталь может быть снята только специальным техническим персоналом.
8. Безопасность оборудования может быть нарушена при использовании в порядке, отличном от установленного производителем в инструкциях.
9. Движения или вибрации могут повлиять на работу прибора CliniMACS⁺. Не размещайте прибор рядом с вибрирующим оборудованием или с оборудованием, которое может сдвинуть прибор.
10. В приборе отсутствует внутреннее оборудование, которое может обслуживаться или настраиваться оператором.
11. Никогда не оставляйте прибор CliniMACS⁺ без присмотра во время работы. Если во время работы будут допущены какие-либо ошибки, процесс будет приостановлен и у оператора будет 600 секунд на исправление неполадок. Если прибор не будет вновь запущен, рабочий процесс будет прекращен.
12. Насос всегда должен быть закрыт во время работы. Если он открыт более 600 секунд, рабочий процесс будет прекращен.
13. Не открывайте перистальтический насос во время работы. Не прикасайтесь к движущимся частям прибора.



Рис. 1.1.



Рис. 1.2.



14. Аккуратно обращайтесь с жидкостями рядом с прибором CliniMACS⁺, не допускайте пролива жидкости на прибор. Не работайте с прибором во влажном помещении.
15. Все манипуляции по выделению клеток и прикреплению этикеток должны проводиться в помещении при температуре 19°C - 25°C. При температуре выше, качество и чистота выделенных клеток может быть меньше.
16. После процедуры с клетками пациента и до дезинфекции прибор CliniMACS⁺ считается биологически опасным.
17. Прибор CliniMACS⁺ можно использовать повторно. Он не рассчитан на одноразовое использование. Для конечной утилизации, прибор следует вернуть компании Miltenyi Biotec.
18. Производителем допущены к использованию только оригинальные детали (например, набор магистралей CliniMACS) или расходные материалы (например, предохранители).
19. Все магистральи, соединения, клапаны, подготовительная колонка и колонка для выделения, должны быть тщательно проверены перед использованием.
20. Все мешки, включая те, что были использованы при выделении клеток, необходимо хранить до получения положительных результатов исследования выделенных клеток.
21. Перед повторной инфузией фракция выделенных клеток должна быть проверена на идентичность, стерильность или контаминацию.
22. Перед введением в организм пациента, необходимо проверить качество и количество выделенных клеток и убедиться в том, что они пригодны для применения по назначенным показаниям.
23. Все продукты крови и материалы, бывшие в контакте с кровью и продуктами крови, - биологически опасные продукты. Они должны быть соответствующе утилизированы.
24. Существует ряд теоретических опасностей для пациента при использовании системы CliniMACS: трансплантация клеток может быть задержана или же вообще не произойти из-за загрязнения, утечки, манипуляций при выделении, недостаточности количества выделенных клеток.
25. Проведение манипуляций со стволовыми клетками, которые были заморожены, - не допустимо.

**Ограничение условий
гарантийного
обслуживания.**

При использовании системы CliniMACS для любых целей, необозначенных в данной инструкции, все гарантийные обязательства снимаются.



1.3. Техническая информация

Технические спецификации

1. Прибор CliniMACS⁺, модель CS2-CE/UL
(Каталожный номер 151-01)
2. Описание:
Прибор CliniMACS⁺ - электромеханическое оборудование, включает: магнитную ячейку, перистальтический насос, клапаны и электронику
3. Габариты:
70 см (ширина), 60 см (длина), 90-140см. (высота)
4. Вес:
35 кг.
5. Входное напряжение:
100 - 240 VAC
Однофазный переменный ток
6. Потребление энергии
180 VA
7. Источник питания:
Непрерывный источник питания. Надежность, отсутствие помех рекомендуются. Рекомендуемая система бесперебойного электропитания: "Smart UPS 14001, производимая APC (American Power Conversion)"
8. Частота:
50/60 Hz
9. Предохранители:
2 x T4A/250V, 5 x 20 мм
Используйте только предохранители, одобренные для использования в ЕС и соответствующие IEC 127-2/III, EN 60127-2/III, DIN 41662.
10. Стандарты:
Прибор CliniMACS⁺, модель CS2-CE/UL, был протестирован и удовлетворяет требованиям EN 61010-1 по электрической безопасности и требованиям EN 60601-1-2 и CISPR 22 по электромагнитной совместимости. Дополнительно он был протестирован и удовлетворяет требованиям UL 3101-1 (файл № E188423) и CAS/CSA-C22.2 № 1010.1 (файл №98SC02331). Таким образом, прибор является лабораторным оборудованием.
11. Условия для эксплуатации (только прибора CliniMACS⁺):
Температура +10°C до +30°C
Влажность 0 – 85 %
12. Условия хранения (только прибора CliniMACS⁺):
Температура -10°C до +60°C
Влажность 0 – 85 %
упакованный и запечатанный во внешнюю упаковку производителя



13. Отверстие для силового кабеля IEC-320-C13
Номера силовых кабелей:
№25092 Европа (CEE 7/7 European Plug "Schuko")
№25172 Дания (SRAF 1962/DB 16/87 Danish Data Plug)
№25173 Италия (CEI 23-16 Italian Plug)
№25174 Великобритания (BS 1363 U.K. Plug)
№25360 Швейцария (SEV 1011 Swiss Plug)
№25361 Австралия (AS 3112 Australian Plug)
№25362 Израиль (SI 32 Israeli Plug)
№25171 Северная Америка (NEMD 5-15-P North American Plug)
№25408 Япония (JIS 8303 Japanese Plug)
№25409 Индия (BS 546 Indian Plug)

14. Подключение к источнику питания, (см. рис. 1.3):

Разъём для источника питания находится с задней стороны прибора CliniMACS⁺ - располагается на задней части прибора, состоит из трех частей. Левая часть - углубление с тремя винтами для присоединения кабеля источника питания.

Центральная часть - основной выключатель ON/OFF. В левой позиции, он в положении выкл. (0), в правой - вкл. (1).

Правая часть - блок предохранителей. Перед открытием блока предохранителей прибор CliniMACS⁺ следует выключить и отсоединить от источника питания.

Чтобы открыть блок предохранителей, необходимо вставить в разъем плоскую отвертку и повернуть, чтобы открыть защелку. Чтобы заменить предохранители, необходимо удалить старые и вставить новые, затем закрыть крышку до щелчка. Крышка открывается только в одну сторону. Используйте только предохранители UL и сертифицированные в Европе.

15. Прибор CliniMACS⁺ является прибором I-го класса защиты и может подключаться только к сети с заземлением.

16. Уровень защиты прибора CliniMACS⁺ - IPX 0.

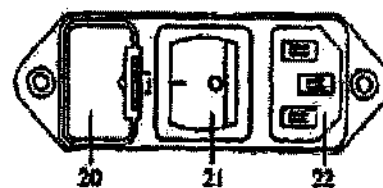


Рис. 1.3. Задняя панель прибора CliniMACS⁺.

- 20 - углубление для присоединения силового кабеля
21 - основной выключатель ON/OFF
22 - блок предохранителей



17. На задней части прибора CliniMACS⁺, рядом с портом для источника питания расположен порт для принтера (см. рис. 1.4). Однако, совместимость с принтером пока не готова. Пожалуйста, **не присоединяйте никаких принтеров.**



Рис. 1.4. Параллельный порт для принтера SUB D 25

18. Оборудование было протестировано и признано совместимым с цифровыми устройствами класса В, в соответствии с параграфом 15 FCC правил. Эти ограничения были введены для предотвращения нанесения вреда оборудованию, расположенному в месте установки прибора CliniMACS⁺. Система CliniMACS может генерировать и излучать радиоактивную энергию. При неправильной установке или при использовании в разрез с инструкцией прибора, может быть нанесен вред радио оборудованию. Однако, мы не гарантируем, что вред не будет нанесен и при тщательной установке. Если данное оборудование мешает работе теле и радио оборудования, которое может быть устранено только выключением прибора, пользователь может попробовать исправить работу следующими мерами:

- перенаправить или переместить антенну;
- увеличить расстояние между приборами;
- подключить прибор к другому источнику питания, отличного от того к которому подключен первый прибор;
- проконсультироваться со специалистом по теле и радио оборудованию.

Предостережение

Изменения или модификации не утвержденные производителем систем CliniMACS могут лишить пользователя права работы с этими системами.



Обслуживание прибора.

1. Информация CliniMACS®

Пожалуйста, заполните ниже модель, серийный номер, написанный сзади прибора. Используйте его каждый раз при обращении за информацией или при обслуживании данного оборудования.

Модель _____

№ серии _____

версия программного обеспечения _____

Номер версии программного обеспечения высвечивается при запуске прибора CliniMACS⁺ (см. экран 3.1, главу 3.3)

2. Техническая служба

Miltenyi Biotec GmbH
Friedrich-Ebert-Strabe 68
D-51429 Bergisch Gladbach
Germany

Tel.: +49-2204-8306-80

Fax.: +49-2204-8306-89



1.4 Словарь

Словарь символов



CE-марка. Знак соответствия европейским требованиям, подтвержденного уполномоченным органом - TUV Product Service, идентификационный номер уполномоченного органа



Прибор CliniMACS⁺ соответствует по каталогу UL, лабораторному оборудованию



См. инструкцию к применению



Сильное постоянное магнитное поле



Не использовать дважды

STERILE

Стерильно



Стерилизовано сухим или влажным паром



Стерилизовано оксидом этилена





Срок хранения



Температура хранения, от +2С° до +8С°



Дата выпуска



Аппарат выключен



Аппарат включен



Каталожный номер



Серийный номер



Номер детали



Номер лота



Словарь терминов

Аферез	Метод очистки крови, при котором из крови удаляется определенный компонент, после чего вся оставшаяся кровь возвращается донору.
Отсек для мешков	Отверстие в приборе CliniMACS [®] +, куда помещаются мешок для несорбированной фракции клеток и мешок для использованного буфера.
Держатели для мешков	Штативы, на которых установлены крепления для: мешка с исходной фракцией клеток, мешка с буфером для сепарации клеток. мешка для использованного буфера для сепарации
Мешок для сбора слива	Мешок для сбора сливной жидкости, получаемой при выделении клеток на приборе CliniMACS [®] +
Антиген CD3	CD3 антиген является высокоспецифичным маркером Т-лимфоцитов. Он связан с рецептором Т клеток (TCR) и отвечает за сигнальную трансдукцию TCR. Антиген CD3 это комплекс тяжелых цепей: γ , δ , ϵ , ξ и η . Антитело CD3 узнает все Т клетки, например, он реагирует с 70-80% периферических кровяных лимфоцитов человека и с 65-85% тимоцитов. Антигенная детерминанта узнаваемая антителом находится в ϵ -цепочке комплекса CD3.
Антиген CD14	53-55 kDa клеточномембранный гликопротеин моноцитов. в моноцитах. Антиген CD14 известен как рецептор для комплексов LPS и LPS-протеин (LBP).
Антиген CD19	CD19 молекула критического сигнала трансдукции, которая регулирует развитие, активацию и дифференциацию В-лимфоцитов. Являясь маркером В-клеток, CD19 выражается и на ранних В-клетках и на В-лимфоцитах, экспрессия антигена регулируется в переходом В-клеток в клетки плазмы. Антиген CD19 наиболее выражен в злокачественных В-клетках.
Антиген CD34	Гликозилированный трансмембранный белок, 115kD антиген. CD34 экспрессирован от 1 до 4% в нормальных клетках костного мозга и менее 0,2% - в нормальных лейкоцитах периферической крови, в стромальных клетках костного мозга, и в мелких сосудах эндотелия разных тканей.
Антиген CD56	Антиген CD56 является изоформой молекулы семейства адгезивных молекул NCAM (Nuclear Cell Adhesion Molecule), масса его 140 kDa. Антиген экспрессируется NK-клетками, NKT-клетками
Антиген CD133 (ранее Антиген AC133)	Эта новый 5-трансмембранный антиген клеточной поверхности с молекулярным весом 117 kDa. Экспрессируется на 30-75% всех CD34 ⁺ клетках
Мешок для сбора клеток	Мешок, в который поступают выделенные клетки после сепарации.



Мешок для исходной фракции клеток	Мешок в который помещается материал после <i>лейкцитоофереза</i> , в котором происходит магнитная маркировка и промывка клеток.
CliniMACS®	CliniMACS® - зарегистрированная торговая марка компании Miltenyi Biotec.
Прибор CliniMACS®+	Прибор для магнитной сепарации клеток.
CliniMACS® PBS/EDTA буфер	Буфер используемый для приготовления и сепарации клеток системой CliniMACS®: фосфатно-солевой буферный раствор с 1 мМ ЭДТА, pH 7.2. Перед использованием буфера CliniMACS® PBS/EDTA, необходимо дополнить его фармацевтическим сывороточным альбумином сыворотки человека (HSA) до концентрации 0,5% (вес/объем например 5 г HSA на литр буфера)
Реагент CliniMACS® Anti-Biotin	Реагент CliniMACS® для выделения клеток меченых биотином
Реагент CliniMACS® CD3	Реагент для магнитной маркировки клеток CD3
Реагент CliniMACS® CD14	Реагент для магнитной маркировки клеток CD14
Реагент CliniMACS® CD19	Реагент для магнитной маркировки клеток CD19
Реагент CliniMACS® CD34	Реагент для магнитной маркировки клеток CD34
Реагент CliniMACS® CD56	Реагент для магнитной маркировки клеток CD56
Реагент CliniMACS® CD133 (ранее реагент AC133)	Реагент для магнитной маркировки клеток CD133
CliniMACS® набор магистралей для негативной хроматографии	Набор магистралей, соединений, колонок и мешков через которые проходит меченная клеточная суспензия, и где происходит процесс клеточной сепарации. Набор разработан специально для негативной хроматографии
CliniMACS® набор магистралей	Набор магистралей, соединений, колонок и мешков через которые проходит меченная клеточная суспензия и где происходит процесс клеточной сепарации.
CliniMACS® набор магистралей LS Соединительный катетер	Соединительный катетер с пластиковым острием
Криогенный консерватор	Криогенный консерватор для замораживания при очень низких температурах
EDTA x g	Этилендиаминтетрауксусная кислота Усиление земного притяжения



Термо-запайватель	Устройство для термозапайки полимерных магистралей
Гемопозитические клетки-предшественники HSA	Клетки-предшественники лимфоидного, миелоидного и эритроидного происхождения. Сывороточный альбумин сыворотки человека. Для приготовления буфера необходимо иметь утвержденного поставщика HSA
Маркировка	Реакция клеток с магнитным реагентом, например реагента CliniMACS® CD34 и клеток CD34.
Лейкоцитоферез	Процедура выделения лейкоцитов из донорской крови
Сенсор жидкости	Компонент системы CliniMACS®+ который обнаруживает жидкость в магистралах
Соединитель Люера	Специальный переходник для соединения магистралей
Суперпарамагнитные частицы с антителами	Суперпарамагнитные частицы имеющие в составе высокоспецифичные моноклональные антитела
Моноклональные антитела	Антитела к определенному антигену, продуцируемые одной клеткой
Мешок для фракции не целевых клеток	Мешок, являющийся частью магистралей Tubing Set и Tubing Set LS, используемый для сбора фракции клеток, не сорбированных в колонке
Мешок для отрицательной фракции клеток	Мешок, являющийся частью магистралей CliniMACS® Depletion для негативной селекции, используемый для сбора фракции клеток, не сорбированных в колонке
Роторная мешалка	Устройство для смешивания продуктов лейкоцитофереза с реагентом
Перистальтический насос	Насос используемый в приборе CliniMACS®+ для контроля потока жидкости по магистралам
Плазмаэкстрактор	Устройство для извлечения жидкости из мешка с исходной фракцией клеток во время промывки
Мешок для отходов плазмы	Мешок для сбора слива излишков плазмы перед процедурой маркировки клеток
Пре-колонка	Первая колонка в наборе магистралей CliniMACS® и LS CliniMACS®, служит фильтром для удаления клеток с неспецифичным взаимодействием с матрицей
Держатель пре-колонки	Устройство для размещения на приборе пре-колонки
Пре-фильтр	Фильтр (40 микрон) между Мешком с исходной фракцией клеток и пре-колонкой. Используется для очистки исходной фракции от разрушенных клеток.
Заполнение магистралей	Стадия, предшествующая клеточной сепарации, при которой буферный раствор для сепарации пропускается через магистралы



Мешок для слива буфера после промывки	Мешок в который попадает буферный раствор после заполнения и промывки магистралей
Сенсор безопасности насоса	Сенсор, отключающий насос при открывании крышки
Мешок для повторного применения	Мешок, являющийся частью магистралей CliniMACS® для истощения, в который временно помещаются немаркированные клетки во время сепарации. Немаркированные клетки из этого мешка дважды поступают в колонку для сепарации, для увеличения чистоты фракции целевых клеток.
Удерживающее устройство	Часть насоса, удерживающая магистрали в насосе
Об/мин	Оборотов в минуту
Селективный буфер	См. CliniMACS® PBS/EDTA буфер
Колонка для сепарации	Колонка для выделения магнитно-маркированных клеток в магнитном поле
Держатель для колонки для сепарации	Устройство для размещения на приборе колонки для сепарации
Реагент для сепарации	Реагент для магнитной маркировки клеток, например, CliniMACS® CD34 реагент
Программа сепарации	Программное обеспечение, разработанное для позитивной / негативной хроматографии магнитно-маркированных клеток. В зависимости от цели применения, Оператор может выбрать из меню Программ Сепарации требуемую процедуру
Мешок для целевых клеток	Мешок, являющийся частью магистралей CliniMACS®, в который поступают целевые клетки после сепарации.
Т-соединение	Т образное соединение магистралей CliniMACS®
Мешок для слива после промывки	Мешок для сбора промывки, полученной при седиментации осадка клеточной массы.
WBS	Лейкоциты



2. CliniMACS® технология сепарации клеток.

2.1 MACS® Магнитная сепарация клеток

MACS® Магнитная сепарация клеток, согласно лабораторным и клиническим исследованиям — это мощный инструмент выделения клеток различных типов. Фракции клеток могут быть разделены в условиях магнитного поля с использованием иммуномагнитного маркера, специфичного для определенного вида клеток, например, клеток CD34 - гемопоэтических клеток-предшественников периферической крови человека.

Система CliniMACS® состоит из:

- прибора (прибор CliniMACS®),
- набора магистралей (Магистрالی CliniMACS®),
- стерильного, магнитно-маркирующего реагента (Реагент CliniMACS®)
- стерильного буфера (CliniMACS® PBS/EDTA буфер).

2.2 CliniMACS® реагенты

Реагенты CliniMACS® представляют собой темно-желтые, не густые, коллоидные буферные растворы, содержащие специфичные конъюгаты антител. Конъюгаты состоят из антител, химически закрепленных на супер-парамагнитных частицах.

2.3 Маркировка клеток с помощью CliniMACS® реагентов.

Обычно клетки напрямую маркируются антителом (связанным с магнитной частицей) и специфичным к антигену (См. рис. 2.1), либо с помощью системы непрямого маркировки («обратимая система маркировки»).

Обратимая система маркировки использует антитело против биотина, соединенное с железной декстрановой частицей. На начальной стадии клетки маркируются антителами с биотином или лигандом (по выбору), а на второй стадии — клетки магнитно маркируются антителом против биотина, соединенным с супер-парамагнитной частицей (См. рис.. 2.2).



Рис. 2.1. Магнитная маркировка клеток



Рис. 2.2. Обратимая система маркировки



2.4 Высокоэффективная магнитная сепарация клеток

Мешок с магнитно-маркированной клеточной суспензией подсоединяется к магистралям CliniMACS, заправленным в прибор CliniMACS^{®+}. Основой системы высокоэффективной клеточной сепарации являются магнитная ячейка и колонка для сепарации с ферромагнитной матрицей.

Высокоэффективная система позволяет получить сильное магнитное поле и быстро размагнитить среду. Когда мелкие ферромагнитные структуры, например матрица колонки, попадают под действие магнитного поля, нарушается гомогенность магнитного поля, результатом чего является появление магнитных градиентов. Высоко-градиентное поле притягивает маркированные клетки к матрице и эффективно удерживает их. После удаления колонки из магнитной ячейки, быстрое размагничивание колонки позволяет освободить сорбированные клетки.

2.5. CliniMACS[®] стратегии сепарации.

Система CliniMACS[®] позволяет пользователю выбирать из имеющихся программ сепарации. Программы сепарации в основном могут быть разделены по двум направлениям:

- позитивная селекция (программы: CD34 Selection 1, CD34 Selection 2, CD133 Selection 1, CD133 Selection 2, Enrichment 1.1.);
- негативная селекция (напр. Depletion 2.1).

А) Позитивная селекция

Выбирая стратегию обогащения, магнитно-маркированные клетки (предварительно помеченные реагентом CliniMACS[®]) сорбируются на колонке, а немаркированные - проходят через нее.

Маркированные клетки собираются в Мешок для сбора клеток, а немаркированные клетки – в Мешок для отрицательной фракции клеток (См. рис 2.3).

Б) Негативная селекция

MACS[®] технология так же очень эффективна для выделения специфических клеточных популяций. Как и при положительной хроматографии, клетки специфично метятся супер-парамагнитными частицами и отделяются от немаркированных клеток, проходя через магнитную колонку. Однако, в отличие от позитивной хроматографии, немаркированные клетки собираются в Мешок для сбора клеток, а Маркированные клетки - в Мешок для отрицательной фракции клеток (см. рис. 2.4) или в Мешок не целевых клеток (см. рис. 2.5. или 2.6).



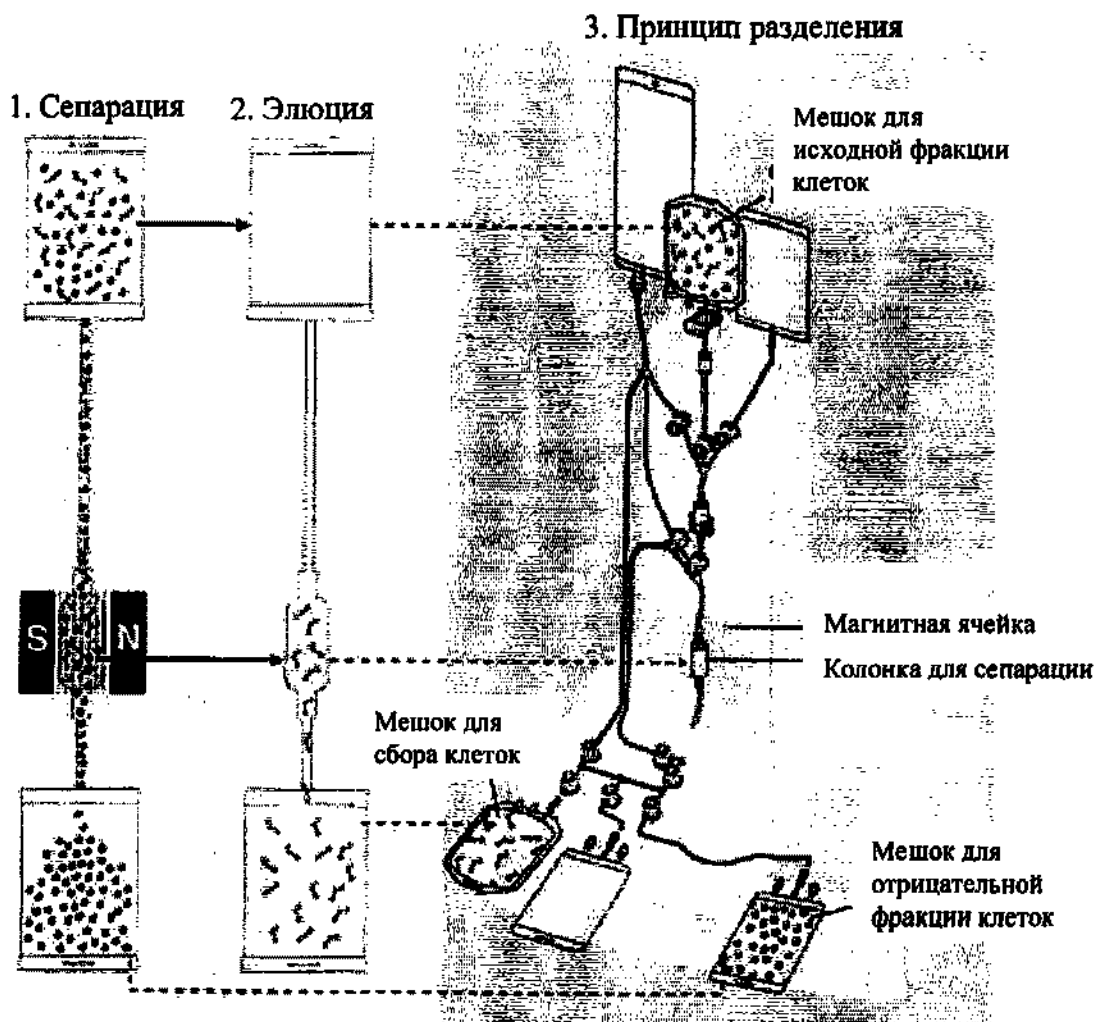


Рис. 2.3. Принцип разделения клеток при позитивной хроматографии

1. Магнит в позиции «ВКЛЮЧЕН». Магнитно-маркированные клетки удерживаются в колонке для сепарации, немаркированные клетки - нет.

2. Магнит в позиции «ВЫКЛЮЧЕН». Магнитно-маркированные клетки элюируются из колонки.

3. Маркированные клетки сорбируются в колонке, немаркированные клетки поступают в Мешок для отрицательных фракций клеток.

Когда магнит переводится в позицию «ВЫКЛЮЧЕН» магнитно-маркированные целевые клетки (положительные фракции) элюируются и поступают в Мешок для сбора клеток.

Замечание.

Фракция целевых клеток поступает в Мешок для сбора клеток.



Негативная селекция с использованием магистралей LS CliniMACS®

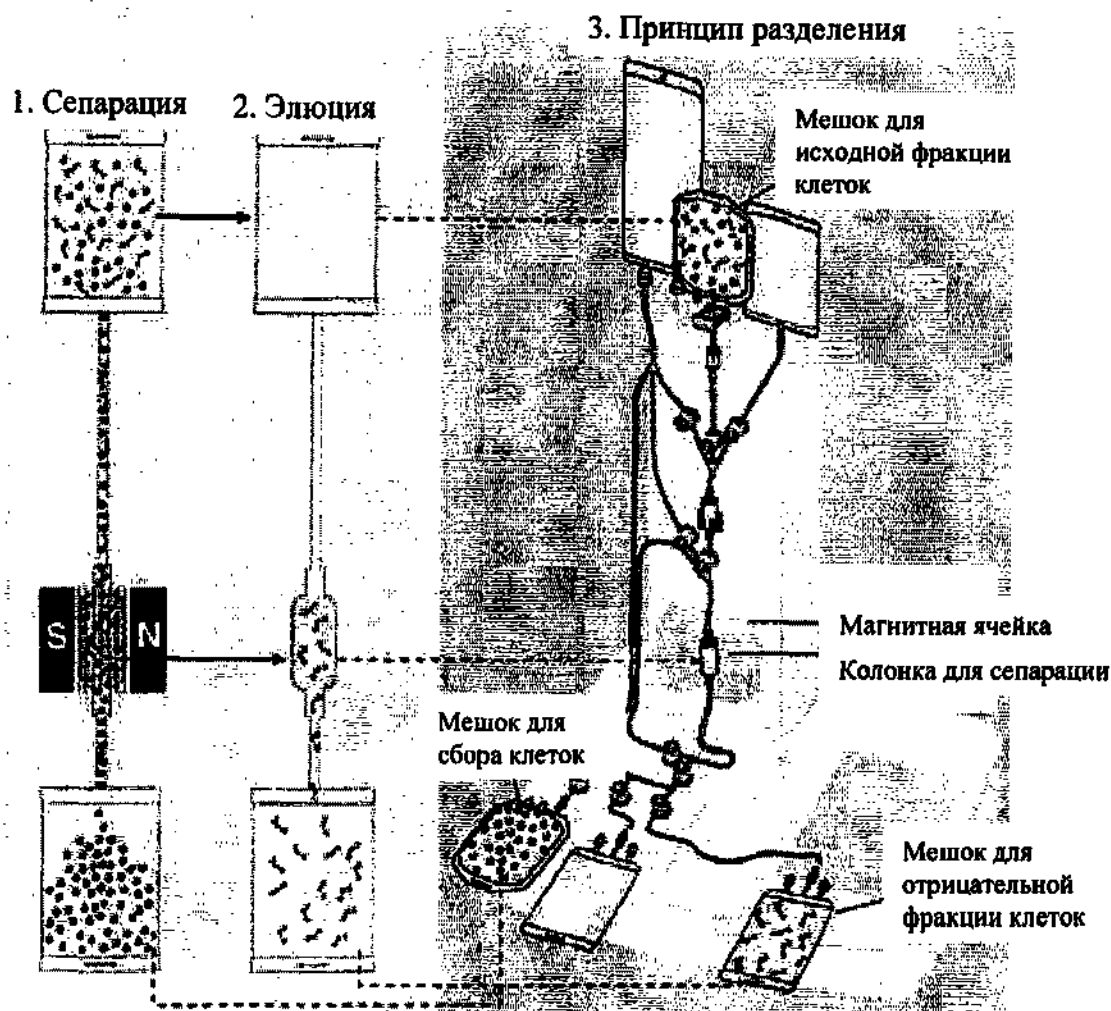


Рис. 2.4. Принцип разделения клеток при негативной хроматографии

1. Магнит в позиции «ВКЛЮЧЕН». Магнитно-маркированные клетки удерживаются в колонке для сепарации, немаркированные клетки - нет.

2. Магнит в позиции «выключен». Магнитно-маркированные клетки элюируются из колонки.

3. Маркированные клетки сорбируются в колонке, немаркированные клетки поступают в Мешок для сбора клеток. Когда магнит переводится в позицию «ВЫКЛЮЧЕН» магнитно-маркированные целевые клетки (положительные фракции) элюируются и поступают в Мешок для отрицательных фракций клеток.

Замечание.

Фракция целевых клеток поступает в Мешок для сбора клеток.



Негативная селекция с использованием магистралей CliniMACS® для негативной хроматографии (1 стадия).

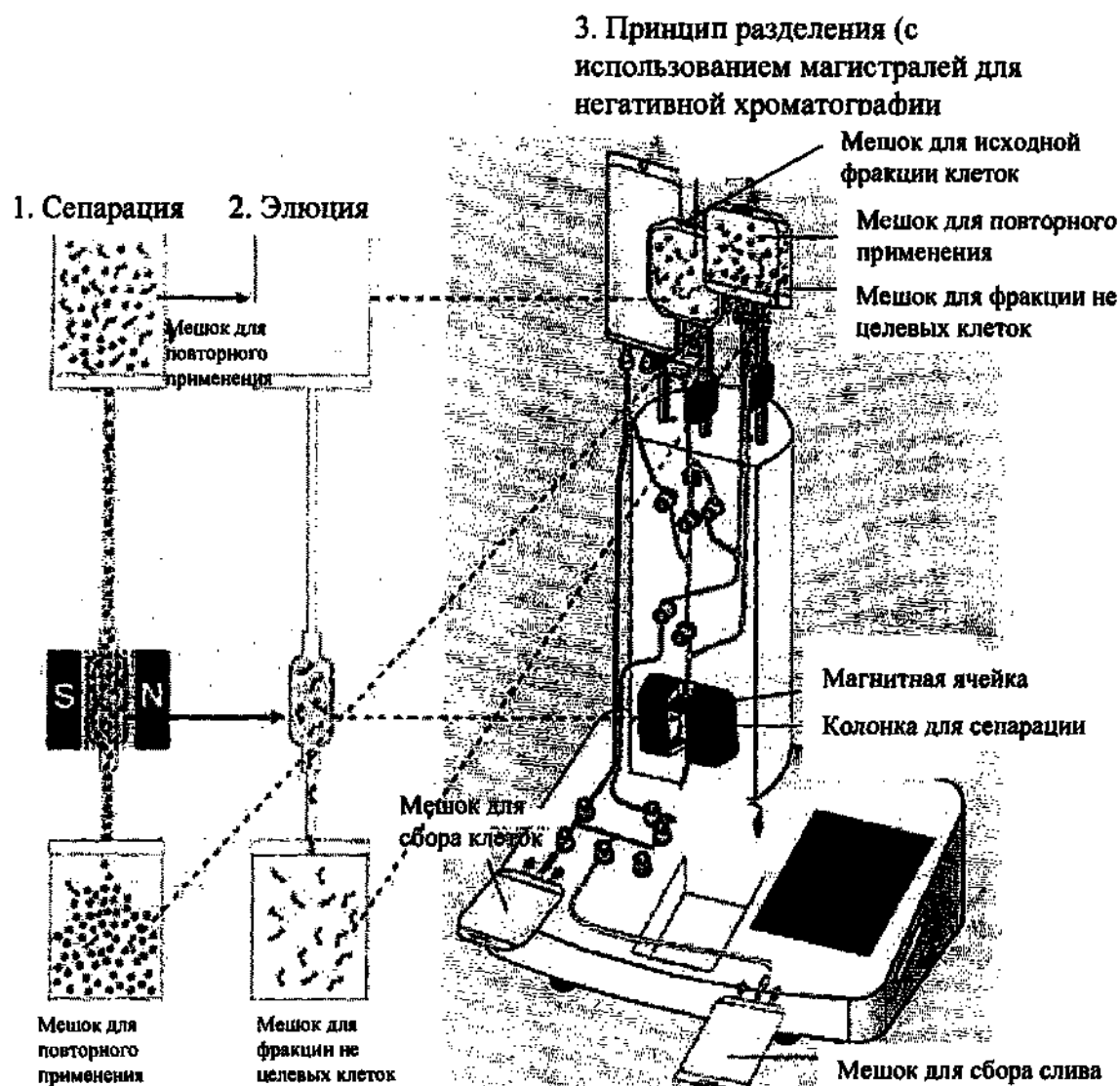


Рис.2.5. Принцип разделения клеток при негативной хроматографии (1 стадия)

1. Первая стадия
Магнит в позиции «ВКЛЮЧЕН».
Магнитно-маркированные клетки удерживаются в колонке для сепарации, немаркированные клетки - проходят через колонку и поступают в Мешок для повторного применения.

2. Магнит в позиции «ВЫКЛЮЧЕН».
Магнитно-маркированные клетки элюируются из колонки и поступают в Мешок для фракции не целевых клеток.

3. Маркированные клетки сорбируются в колонке, немаркированные клетки поступают в Мешок для повторного применения, и затем повторно поступают в колонку - это Стадия доистощения. Когда магнит находится в позиции «ВЫКЛЮЧЕН», магнитно-маркированные клетки элюируются из колонки и поступают в Мешок для фракции не целевых клеток.



Негативная селекция с использованием магистралей CliniMACS® для негативной хроматографии (2 стадия).

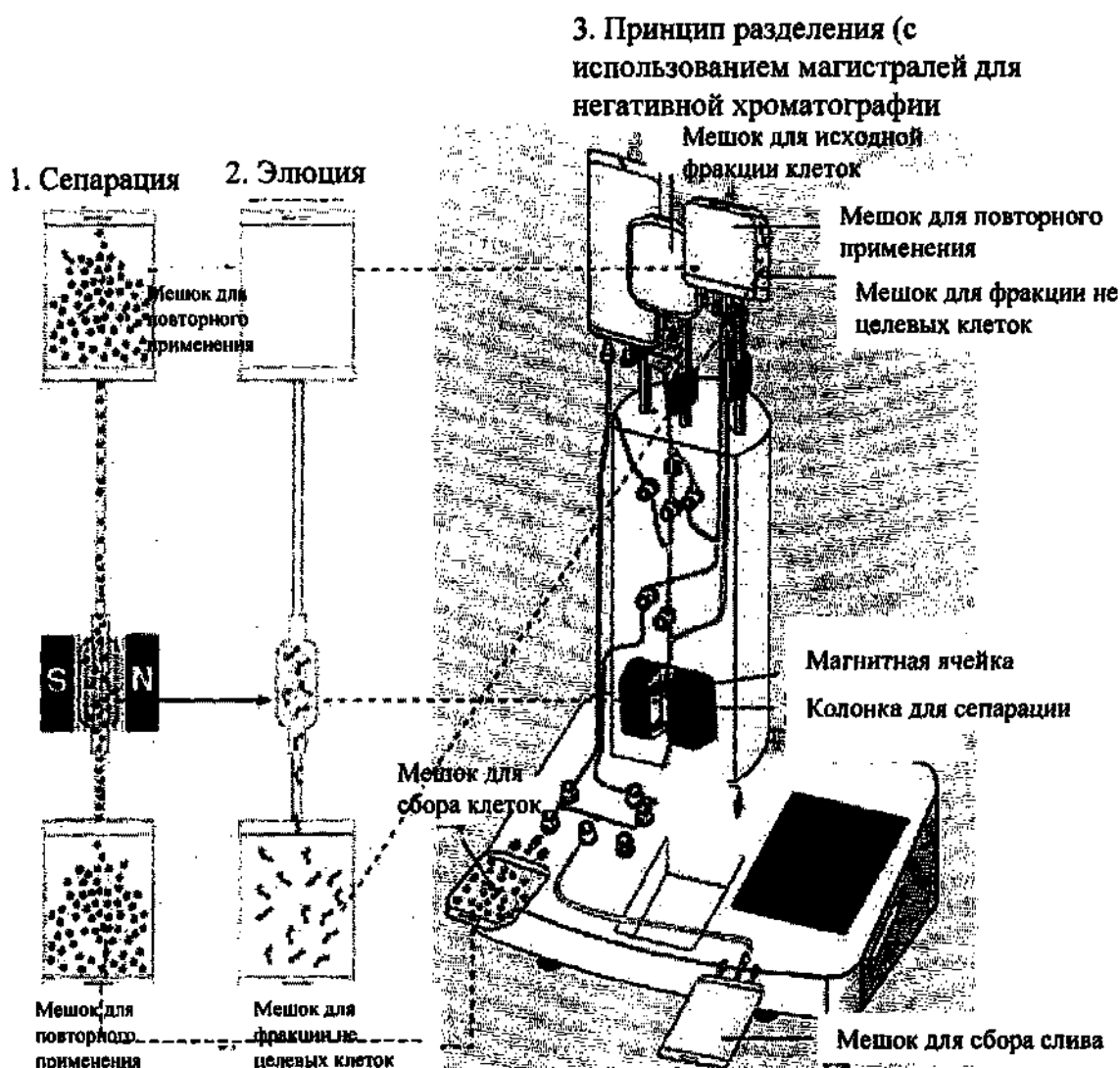


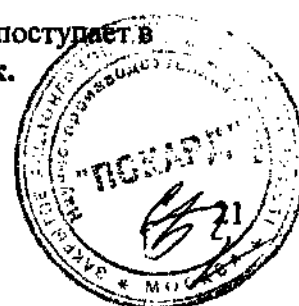
Рис.2.6. Принцип разделения клеток при негативной хроматографии (2 стадия)

1. Вторая стадия
Магнит в позиции «ВКЛЮЧЕН».
Клетки из Мешка для повторного применения поступают в колонку. Оставшиеся магнитно-маркированные клетки удерживаются в колонке для сепарации, немаркированные клетки - проходят через колонку и поступают в Мешок для сбора клеток.

2. Магнит в позиции «ВЫКЛЮЧЕН».
Магнитно-маркированные клетки элюируются из колонки и поступают в Мешок для фракции не целевых клеток.

3. По окончании сепарации маркированные клетки находятся в Мешке для фракции не целевых клеток, немаркированные клетки - в Мешке для сбора клеток.

Замечание.
Фракция целевых клеток поступает в Мешок для сбора клеток.



3. Прибор CliniMACS^{®+}.

3.1 Распаковка.

Замечание

- Перед распаковкой проверьте визуально наличие видимых повреждений упаковки. Повреждения могут вызвать инспекцию сотрудником компании поставщика.

Распаковку прибора CliniMACS^{®+} должны проводить два человека, согласно данной инструкции.

1. Разрежьте ножницами пластиковые ремни (см. рис. 3.1).

Осторожно

Ремни под натяжением.

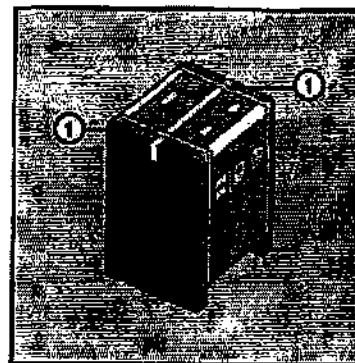


Рис. 3.1.

2. Разрежьте липкую ленту и откройте картонную крышку (см. рис. 3.2).

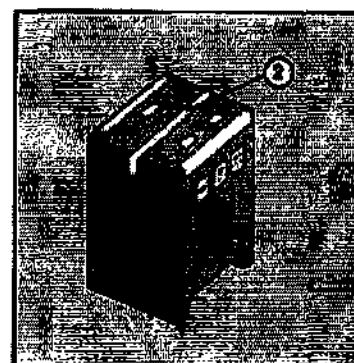


Рис. 3.2.



3. Откройте картонную коробку, достаньте из ложементов шнур для подключения и держатели мешков (см. рис. 3.3)

4. Удалите ложемент (см. рис. 3.3).

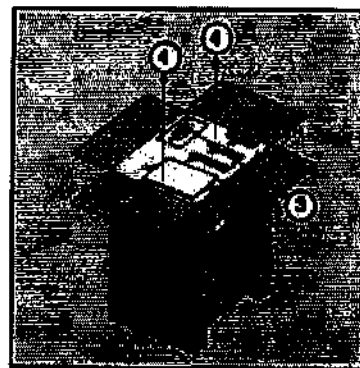


Рис. 3.3.

5. Поставьте коробку вертикально относительно паллета (см. рис. 3.4)

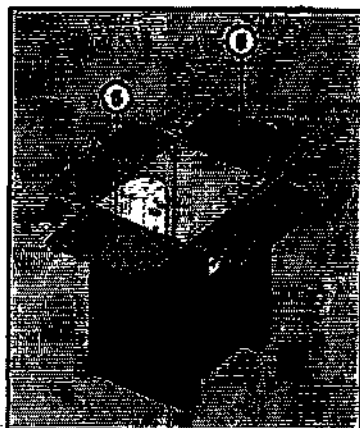


Рис. 3.4.

6. Удалите внутренний картон (см. рис. 3.5)

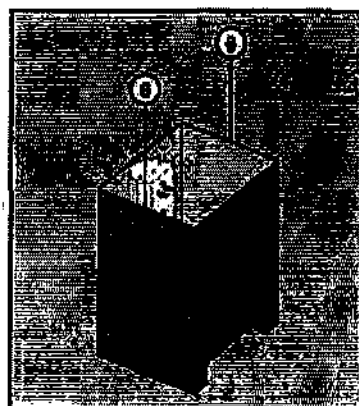


Рис. 3.5.



7. Разверните большую тарную коробку (см. рис. 3.6)

8. Два человека должны осторожно поставить прибор CliniMACS®+ на ровную твердую поверхность, которая может выдержать 100 кг. Низ прибора должен быть приподнят со всех сторон.

9. Прибор должен быть расположен на расстоянии от стены как минимум 10 см (для обеспечения вентиляции)

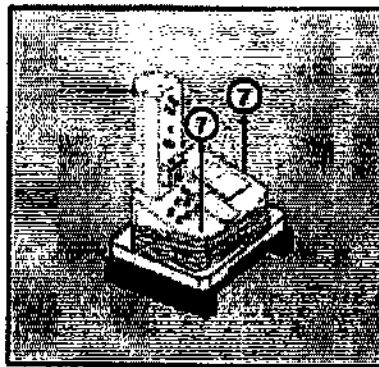


Рис. 3.6.

Замечание

□ Не располагайте прибор рядом с каким-либо вибрирующим оборудованием, которое может привести прибор в движение.

10. Прикрепите держатели мешков. Прочно закрепите их по часовой стрелке (см. рис. 3.7), высота штативов может быть отрегулирована нажатием на хомуты (см. рис. 3.7).

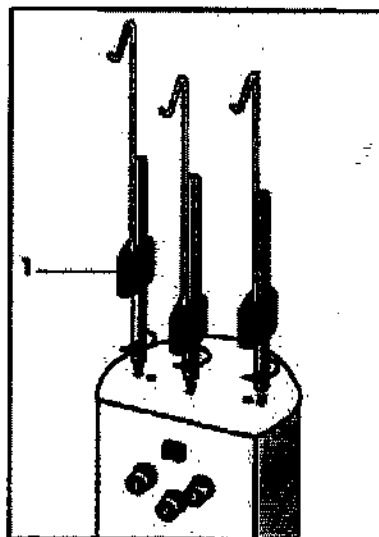


Рис. 3.7.

11. В набор входят стабилизаторы высоты (см. рис. 3.8.1). Пожалуйста, сохраните эти стабилизаторы для последующей установки прибора нашим техническим персоналом. Ножки будут прикручены к нижней части прибора (см. рис. 3.8).

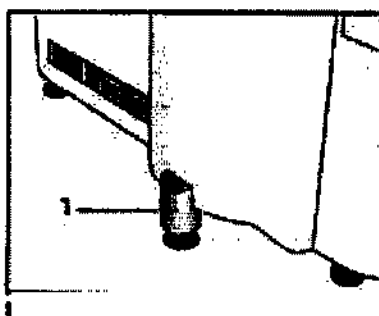


Рис. 3.8.



3.2 Очистка и обслуживание

Очистка

Поверхность прибора CliniMACS^{®+} следует регулярно очищать. После каждого применения необходимо проводить стандартную очистку прибора, используя антисептические растворы, напр. Bacillol^{®1} plus или Meliseptol^{®2}.

Предостережение

- ❑ Не используйте другие очищающие средства или избыточное количество воды. После очистки, удалите остатки влаги с клапанов, крышки насоса и т.п.
- ❑ Не допускайте попадания влаги в клапаны.
- ❑ Прибор необходимо очищать только, когда он выключен и отсоединен от сети.

Обслуживание

В приборе CliniMACS^{®+} нет частей, обслуживаемых пользователем. Текущее и превентивное обслуживание должно проводиться только персоналом фирмы-изготовителя, как минимум раз в год. Калибровка прибора не требуется.

¹ Bacillol[®] - зарегистрированная торговая марка Bode Chemie Hamburg, Hamburg.

² Meliseptol[®] - зарегистрированная торговая марка B.Braun Melsungen AG, Melsungen



3.3 Установка

При установке прибора включает следующие этапы:
Соедините силовым кабелем прибор CliniMACS[®] с источником питания.

Включите прибор, нажав кнопку ВКЛ/ВЫКЛ, находящуюся справа на задней панели прибора (см. рис. 3.9).

На дисплее загорится картинка экрана № 3.1 и №3.2.

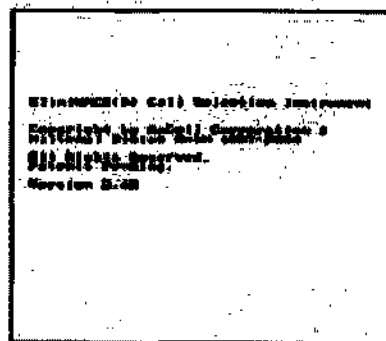
Если прибор не включается, выключите кнопку ВКЛ/ВЫКЛ и отсоедините прибор от источника питания. Проверьте кабель и предохранители, которые находятся справа на задней панели (см. главу 1.3). Затем снова включите прибор.

Если прибор не работает правильно или на дисплее висит сообщение об ошибке, запишите номер ошибки, выключите прибор и свяжитесь с нашим представителем технической службы.

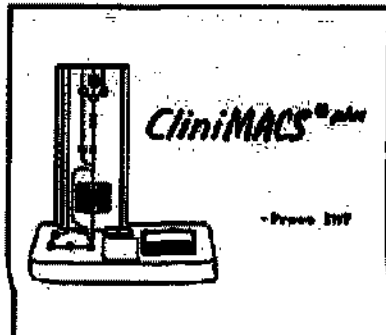
Необходимо предварительное обучение работе на приборе CliniMACS[®]. Внимательно прочтите инструкцию. Возможно вам понадобится дополнительное обучение техническим персоналом Miltenyi Biotec или авторизованным персоналом, включающее теоретические вопросы работы на приборе и практическое обучение.



Рис. 3.9. Включение прибора



Экран 3.1.



Экран 3.2.



3.4 Описание прибора CliniMACS^{®+} (модель CS2-CE/UL)

Прибор CliniMACS^{®+} (Ref. No. 151-01, см. Рис.3.10) электромеханическое оборудование, предназначенное в комбинации с CliniMACS[®] реагентами, например, CliniMACS[®] CD 34 реагентом (Ref. No. 171-01), магистралями CliniMACS[®] (Ref No 161-01) и CliniMACS[®] PBS/EDTA буфером (Ref No 700-25) для выделения определенного типа клеток из смешанного материала.

Ключевыми компонентами прибора CliniMACS^{®+} являются встроенный компьютер, магнитная ячейка, перистальтический насос, сенсор жидкости и клапаны.

Встроенный микрокомпьютер контролирует все электромеханические компоненты прибора и управляет проведением процессов в определенной последовательности. Клавиатура и дисплей помогают оператору отслеживать и контролировать автоматическое проведение выбранных процедур (См. рис. 3.10.).

Магнитная ячейка представляет собой подвижный постоянный магнит и держатель для колонки. Перистальтический насос контролирует скорость жидкости по магистралям CliniMACS в процессе сепарации.

Сенсор жидкости является индикатором протекания по магистрали магнитно-маркированной фракции клеток. Прекращение постоянного течения жидкости через сенсор автоматически переводит процесс выделения на следующую стадию.

Одиннадцать сужающихся клапанов контролируют течение буфера и клеточной суспензии во время процесса.

Прибор CliniMACS^{®+} укомплектованный магистралями CliniMACS позволяет оператору проводить процедуры клеточной сепарации в условиях закрытой стерильной системы.

Программное обеспечение к прибору CliniMACS^{®+} позволяют оператору выбирать между различными программами сепарации. Больше информации об этом вы найдете в гл. 4.

Рис 3.10

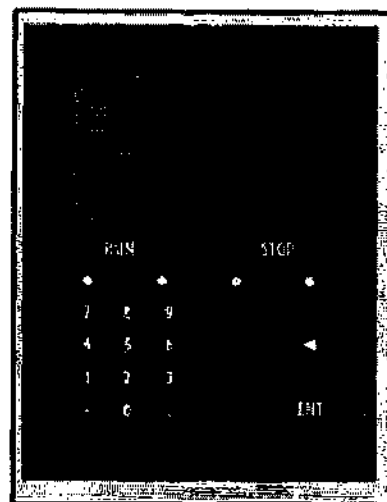


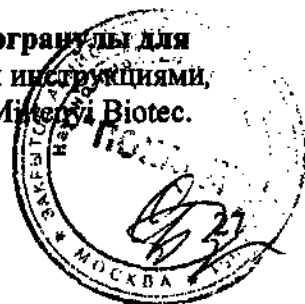
Рис. 3.10. Клавиатура прибора

- 7 Дисплей
- 8 Клавиатура
- 16 Кнопка «Стоп»
- 17 Кнопка "Отмена"
- 18 Кнопка "Ввод"
- 19 Кнопка "Запуск"

Замечание

- Данный файл содержит инструкции только к клиническому применению реагентов CliniMACS.

Для неклинического применения используйте CliniMACS Микрогранулы для проведения исследований. При этом руководствуйтесь Основными инструкциями, протоколами и данными, предоставляемыми технической службой Miltenyi Biotec.



Перед выбором процедуры, оператор должен выбрать соответствующую программу клеточной сепарации из меню. Это поможет оператору правильно заправить магистрали CliniMACS. Когда все магистрали заправлены, оператор подтверждает выбор соответствующего клапана и функцию магнита, присоединяет к прибору CliniMACS® PBS/EDTA буфер (в который предварительно добавлено 0,5% HSA) и запускает систему. Система начинает заполнять магистрали, позволяя оператору проверить правильность заполнения до загрузки магнитно-маркированных клеток. После этого оператор должен присоединить Мешок с исходной фракцией клеток и запустить автоматический процесс сепарации.

Прибор CliniMACS® автоматически проводит процесс клеточной сепарации, включающий сорбцию магнитно-маркированных клеток в колонке, удаление остатков несорбированных клеток и конечный сбор фракции целевых клеток.

По окончании процесса сепарации, оператор отсоединяет мешок с фракцией целевых клеток от прибора.



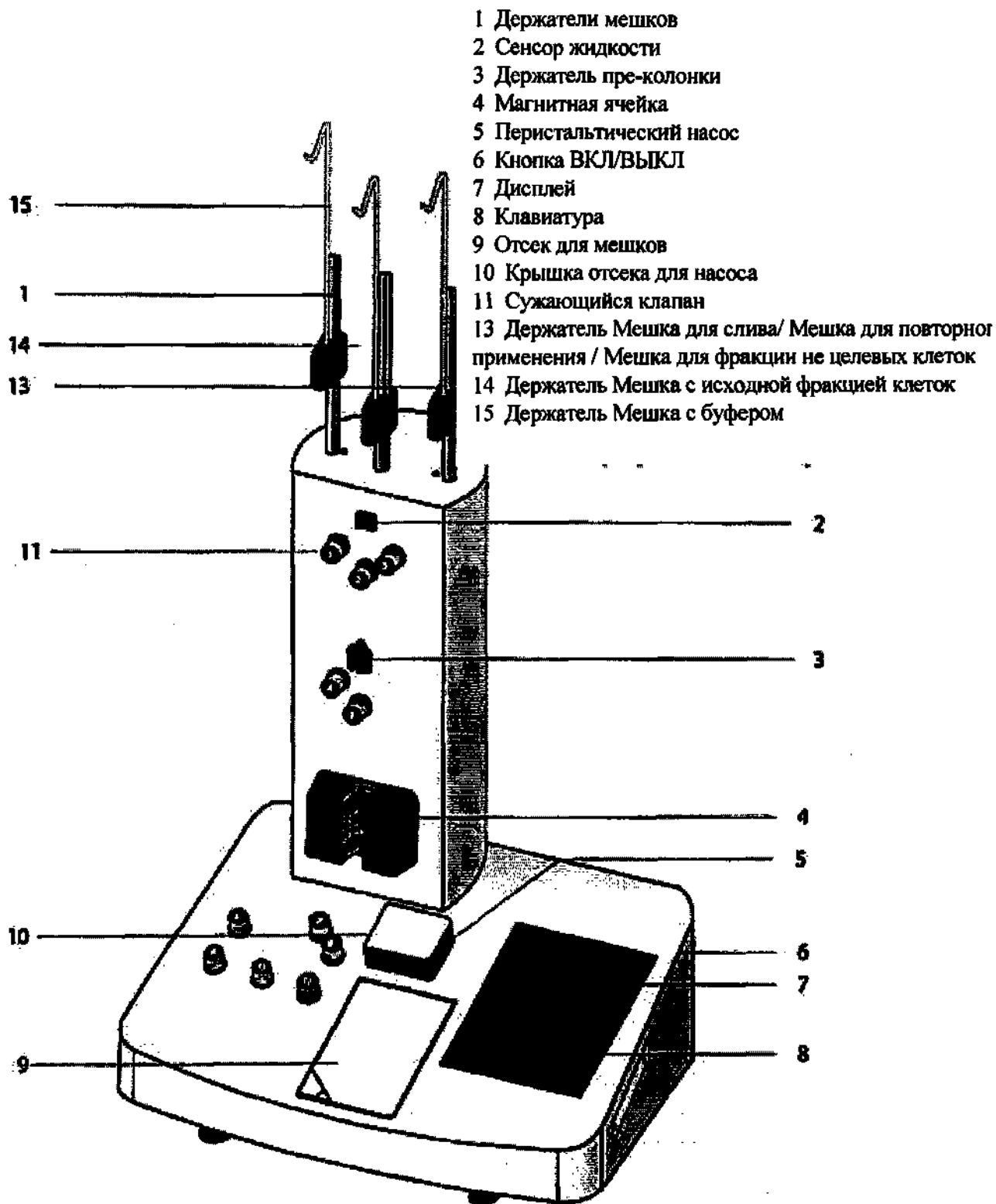
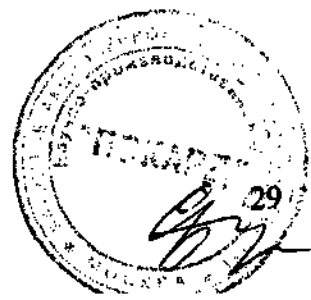


Рис. 3.11. Прибор CliniMACS[®]+ модель CS2-CE/UL

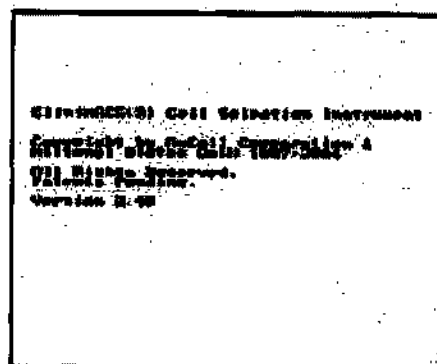


3.5 Главное меню

Включение прибора CliniMACS®+

Включите прибор, нажав кнопку ВКЛ/ВЫКЛ, расположенную на задней панели прибора (см. рис. 3.8).

В целях обеспечения безопасности после каждого применения прибор следует выключать. Во время очистки прибора силовой кабель должен быть отсоединен от сети.



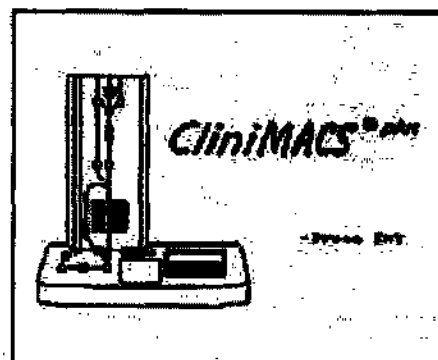
Экран 3.1.

После включения прибор проводит самопроверку, при этом на дисплее отражается экран 3.1.

После тестирования будет автоматически запущена программа, и на дисплее появится экран 3.2.

Замечание

- Номер используемого программного обеспечения высвечивается на экране 3.1



Экран 3.2.



Выбор языка

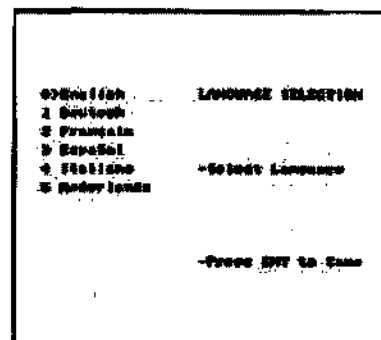
Меню выбора языка, позволяет оператору выбрать язык текста, отображаемого на дисплее. Предусмотрены следующие языки: английский, немецкий, французский, испанский, итальянский и датский. Чтобы изменить язык, дождитесь, пока на дисплее не появится экран 3.2

Чтобы выбрать язык, нажмите Кнопку 2

На дисплее покажется экран 3.3 «выбор языка». Чтобы выбрать нажмите соответствующий номер.

Чтобы сохранить нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)

На дисплее снова высветится экран 3.2 на выбранном языке.



Экран 3.3.

Сервисное меню

Сервисное меню содержит некоторые программы, которые могут быть полезны оператору.

Чтобы открыть папку сервисного меню дождитесь, пока на дисплее не появится экран 3.2.

Затем нажмите Кнопку 5

На дисплее покажется экран 3.4. «Сервисное меню».

□ УСТАНОВКА ВРЕМЕНИ И ДАТЫ.

Чтобы установить время и дату нажмите Кнопку 0

Следуйте инструкциям, приведенным на экране 3.5.

Время и дата могут быть изменены, когда соответствующее поле подсвечено черным курсором.

Чтобы передвинуть черный курсор между параметрами "Дата" и "Время", нажмите кнопку «Ввод».

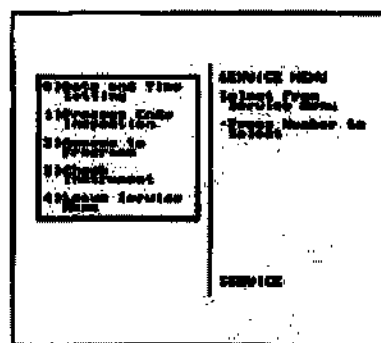
Введите текущую дату (в порядке день/месяц/год) и время (в порядке часы/минуты/секунды).

Неправильный ввод может быть отменен нажатием клавиши "Отмена" (◀) (17, рис. 3.10).

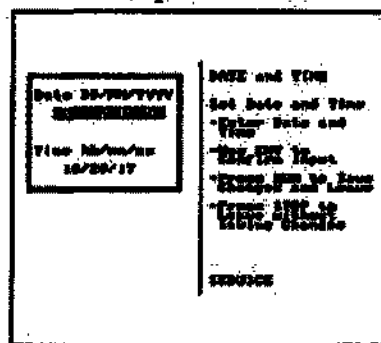
Чтобы сохранить параметры даты и времени нажмите кнопку «Запуск» (RUN)

Если вы хотите покинуть программу, без сохранения изменений, нажмите кнопку «Стоп» (STOP).

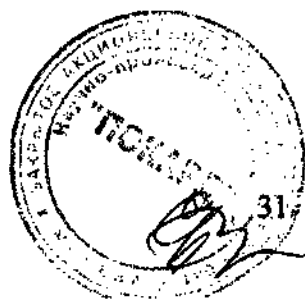
После того как вы нажали кнопку «Запуск», программа автоматически вернется в Сервисное меню.



Экран 3.4.



Экран 3.5.



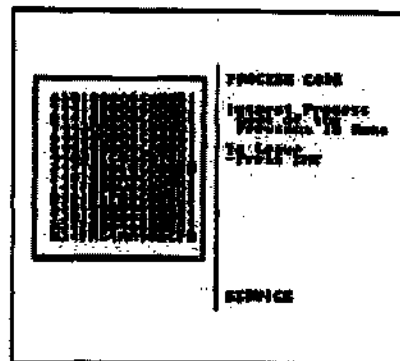
□ ПРОВЕРКА КОДОВ ПРОЦЕССОВ.

Оператор может вызвать коды последних 15 операций проводимых на приборе CliniMACS^{®+}. Код процесса сохраняется в момент заправки магистралей в прибор или при запуске АВАРИЙНОЙ ПРОГРАММЫ (см. аварийный запуск). Сохранение кода не зависит от того был ли прерван процесс сепарации или проведен до конца.

Чтобы вызвать код, нажмите Кнопку 1

Коды последних 15 операций прибора высветятся на экране в хронологическом порядке, как это показано на рис. 3.6. Список начинается с кода последней операции, проведенной на приборе.

Чтобы вернуться в сервисное меню нажмите Кнопку «Ввод».



Экран 3.6.

□ ДОСТУП К ПРОГРАММАМ

Активация дополнительных программ. Свяжитесь с нашей службой Сервиса для получения информации и инструкций по данному вопросу.

Если вы случайно выбрали такую программу, нажмите кнопку «СТОП», чтобы выйти из нее.

□ ПРОВЕРКА ПРИБОРА

При подозрении на неисправности прибора CliniMACS^{®+} свяжитесь с нашей службой технической поддержки. Если необходима проверка, наш специалист поможет вам ее провести.

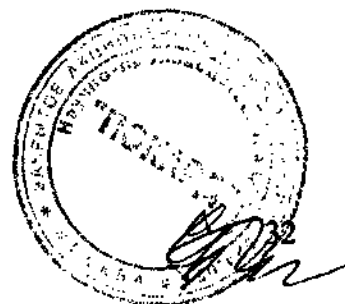
Если вы случайно выбрали программу проверки, нажмите кнопку «СТОП», чтобы выйти из нее.

Чтобы покинуть сервисное меню, нажмите кнопку 4

На дисплее появится начальный экран 3.2.

Замечание

- Сохраняемые коды операций, проводимых на приборе, содержат важную информацию данные по работе прибора.
- Строго рекомендуется записывать коды процессов.



Этап 2

Выбор программы CD34 Выделение 1/2

Включение прибора ClineMACS[®]

Включите прибор, нажав кнопку ВКЛ/ВЫКЛ, находящуюся справа на задней панели прибора (см. рис. 3.9).

На дисплее высветится экран № 3.1 и №3.2.

Чтобы перейти в меню программ нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)

Выбор программы CD34 Выделение 1/2

На экране высветится окно № 4.2-1.

В зависимости от цели, выберите программу CD34 Выделение 1 (CD34 SELECTION 1) или CD34 Выделение 2 (CD34 SELECTION 2).

Чтобы выбрать соответствующую программу, пометьте название программы курсором. Чтобы двигать курсор вверх и вниз, нажимайте кнопки 0 и 8.

Чтобы перейти в меню программ нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)

Подтверждение выбранной программы

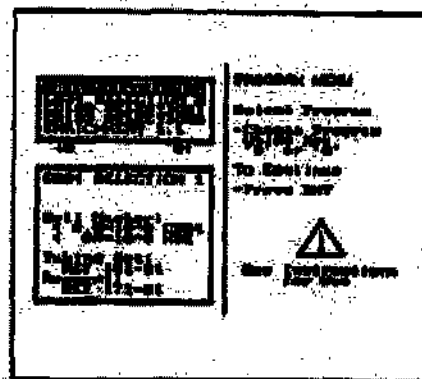
На дисплее высветится экран № 4.2-3.

Убедитесь, что вы выбрали правильную программу. Если нет, нажмите клавишу «Отмена» (см. рис. 3.10.), чтобы вернуться к предыдущему меню.

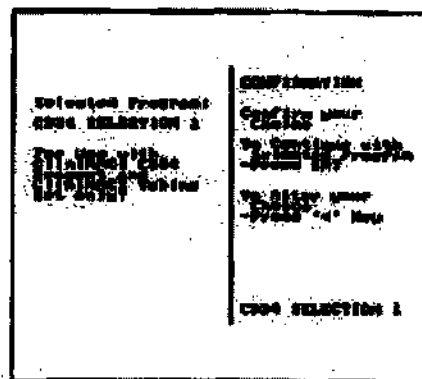
Чтобы подтвердить выбор, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)

Замечание

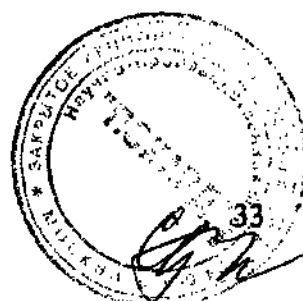
□ На дисплее высвечиваются диаграммы, контролирующие процесс. Необходимо контролировать и проверять соответствие каждого этапа настоящей инструкции.



Экран 4.2-1



Экран 4.2-2



Проверка материалов

На дисплее высветится экран № 4.2-3.

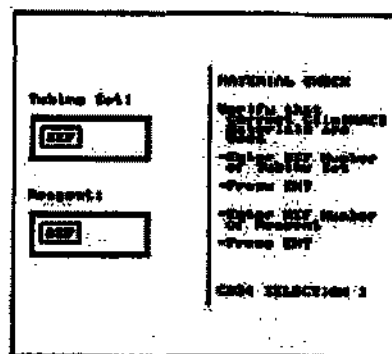
Программы CD34 Выделение 1 (CD34 SELECTION 1) и CD34 Выделение 2 (CD34 SELECTION 2) используются для позитивной селекции клеток CD34+.

Для обеспечения уверенности в правильности проведения процедуры, необходимо подтвердить выбор соответствующих магистралей CliniMACS и реагента CliniMACS.

1. Введите каталожный номер используемых магистралей CliniMACS. Нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)
2. Введите каталожный номер используемого реагента CliniMACS. Нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)

Если коды были введены не правильно, на дисплее появится сообщение. Нажмите Кнопку «Ввод» (ENT) и введите правильный номер. Если введенный номер неправильный, сообщение появится снова. После нажатия Кнопки «Ввод» программа вернется в Меню Программ (окно 4.2-1).

Если проверка данных прошла успешно программа продолжит свою работу автоматически.

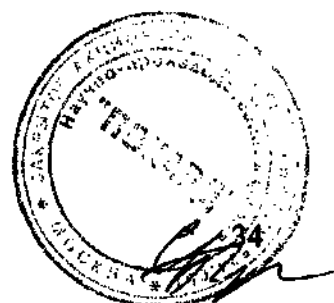


Экран 4.2-3

Замечание

□ Внимательно проверяйте магистраль перед их заправкой в прибор. Программа CD34 Выделение 1 (CD34 SELECTION 1) может использоваться в комбинации только с магистральями CliniMACS Tubing Set, каталожный номер 161-01. Программа CD34 Выделение 2 (CD34 SELECTION 2) может использоваться в комбинации только с магистральями CliniMACS Tubing Set LS, каталожный номер 162-01.

□ Чтобы исправить ошибку, совершенную при вводе данных, нажмите клавишу «Отмена» (см. рис. 3.10.).



Этап 3

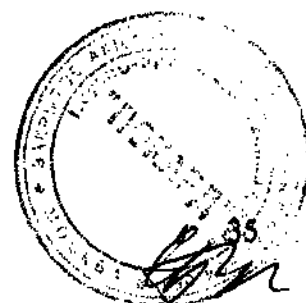
Заправка магистралей CliniMACS Tubing Set (каталожный номер 161-01) и CliniMACS Tubing Set LS шлангов (каталожный номер 162-01).

Подготовка к заправке магистралей.

Набор магистралей CliniMACS Tubing Set и CliniMACS Tubing Set LS поставляются в запечатанной стерильной упаковке.

Каждый набор содержит шланги и колонки для одной процедуры клеточной сепарации (рис. 4.3-2).

1. Отметьте номер серии и срок годности в протоколе. Распакуйте стерильный набор магистралей в асептических условиях, например под ламипаром.
2. Перед заправкой магистралей в прибор CliniMACS взвесьте пустой Мешок для сбора клеток и запишите вес в протоколе. В асептических условиях удалите колпачки и присоедините к Льюер-соединению магистралей Мешок для сбора клеток. Убедитесь, в правильности и герметичности соединения.



Прикрепление Мешка для слива буфера после промывки и Пре-колойки.

На дисплее высветится экран № 4.3-1.

Инструкция расположена справа на дисплее, а диаграмма к инструкции – слева. Необходимо обращать внимание на мигающие строки.

1. Прикрепите Мешок для слива буфера после промывки на правый штатив – держатель, как это показано на рис. 4.3-1.
2. Поместите Пре-колону в держатель.
3. Отрегулируйте высоту держателя Мешка для слива. Убедитесь в том, что она расположена достаточно высоко, чтобы избежать перегиба шлангов.

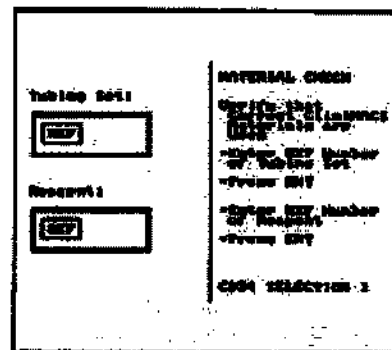
Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)

Замечание

- На любой стадии заправки магистралей, нажатие кнопки «Отмена» (см. рис. 3.10.) вернет оператора в предыдущее меню (см. рис. 3.9)
- Держатели мешков рассчитаны на максимальный вес 3 кг. Перегрузка держателей может повредить прибор.

Замечание

- Прибор CliniMACS® показывает название выбранной программы (например, CD34 SELECTION 1) на дисплее внизу.



Экран 4.2-3

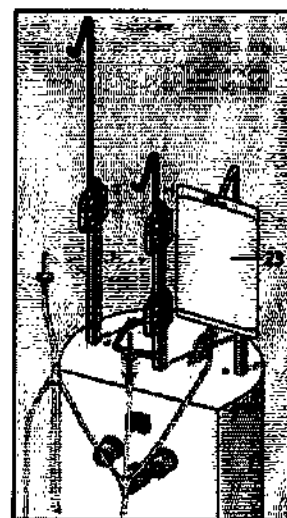
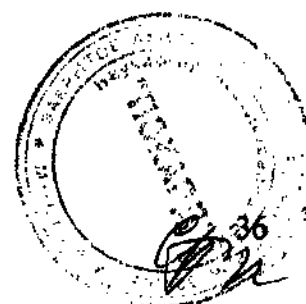


Рис. 4.3-1

- Когда Пре-колону помещена в держатель, необходимо убедиться в том, что пластиковые держатели внизу обращены к оператору.



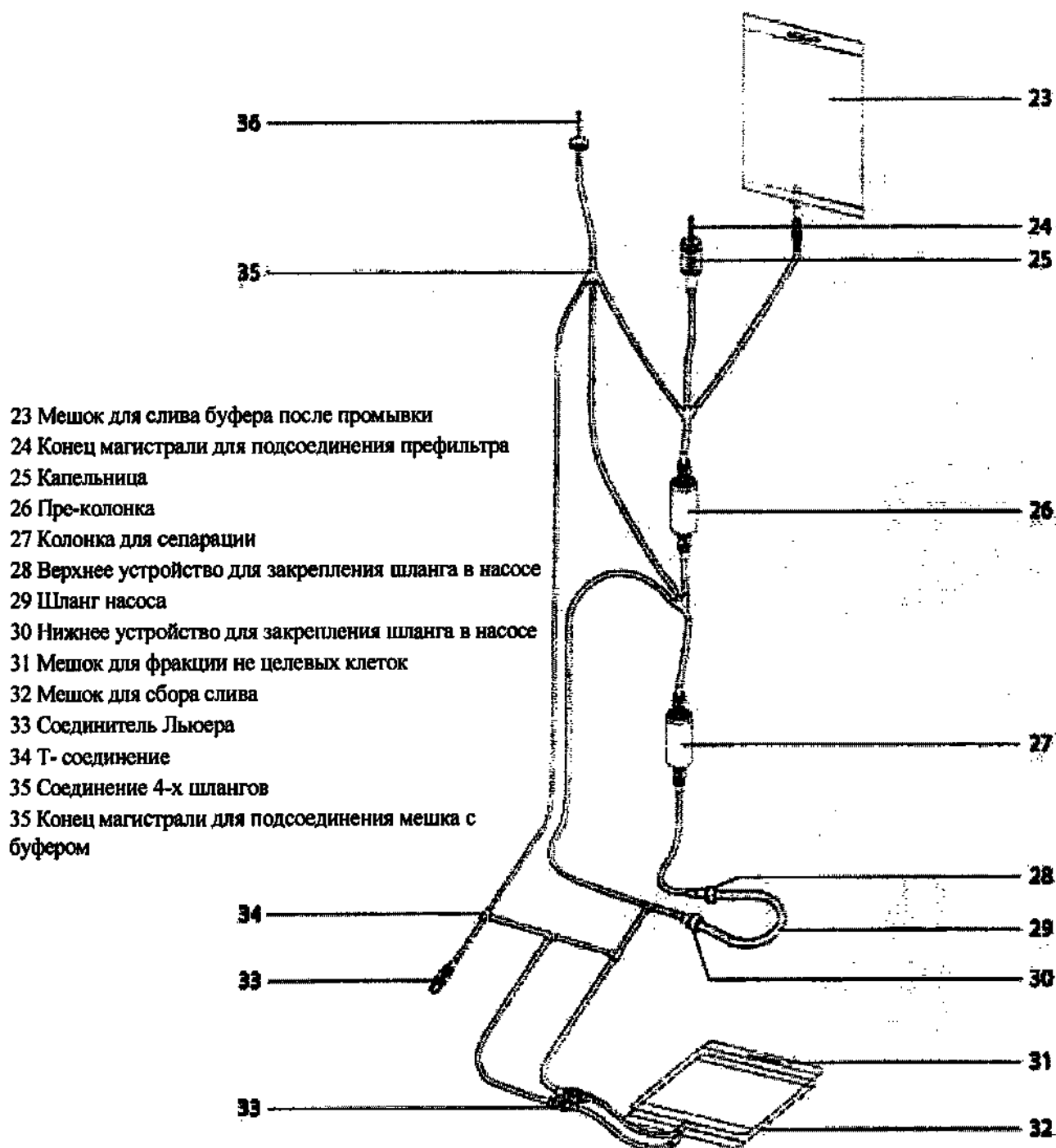


Рис. 4.3-2. Схема магистралей ClinMACS Tubing Set (каталожный номер 161-01).



Прикрепление Колонки для селекции и заправка шланга в клапан №5

На дисплее высветится экран № 4.3-2.

1. Вставьте колонку для сепарации в держатель колонки, как это показано на рис. 4.3-2.

Замечание

- Чтобы избежать возможного повреждения, вставляйте колонку, взяв ее сверху и снизу большим и указательным пальцами, затем аккуратно поместите ее в держатель (рис. 4.3-3)

2. Поместите шланг в клапан №5.

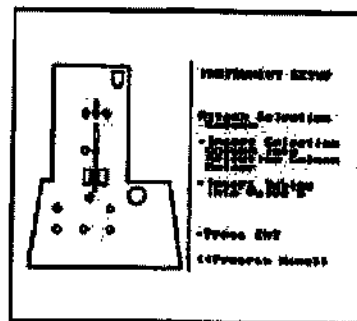
Замечание.

- Будьте внимательны, проверяйте все соединения и шланги, избегайте любых узлов или перегибов магистралей, которые могут нарушить поток жидкости. Проверяйте все клапаны, чтобы убедиться, что все шланги надежно закреплены.

- При нажатой кнопке клапана, помещайте шланги в клапаны.

- Чтобы отрегулировать шланги после закрытия клапана, необходимо предварительно нажать на кнопку клапана. (рис. 4.3-4).

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)



Экран 4.3-2

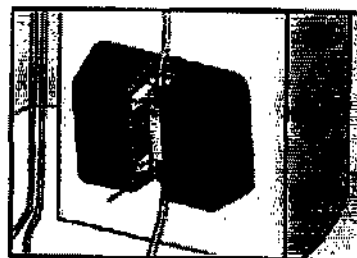


Рис. 4.3-3

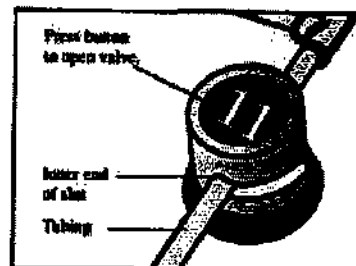


Рис. 4.3-4

Заправка шлангов в Клапаны № 2, 3 и 4.

На дисплее высветится экран № 4.3-3.

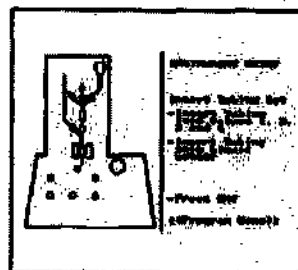
Клапаны автоматически откроются.

1. Вставьте шланг в клапан №4. Убедитесь в том, что шланг надежно закреплен в клапане (рис. 4.3-4) Обратите особое внимание на расположение шлангов между клапанами №4 и 5. (рис. 4.3-5).
2. Вставьте шланг в клапан №1.
3. Поместите **соединение 4-х шлангов** прямо под клапан №2 . Обратите особое внимание на расположение шлангов под клапаном №2. (рис. 4.3-5).
4. Вставьте шланг в клапан №2 и 3.
5. Вставьте шланг между клапаном №2 и капельницей в сенсор жидкости (рис. 4.3-5). Убедитесь в том, что шланг надежно закреплен в сенсоре.

Замечание.

□ Для нормальной работы, и сенсор, и шланг **ДОЛЖНЫ БЫТЬ СУХИМИ**. При обнаружении на них влаги, необходимо очистить поверхность сухой салфеткой.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)



Экран 4.3-3

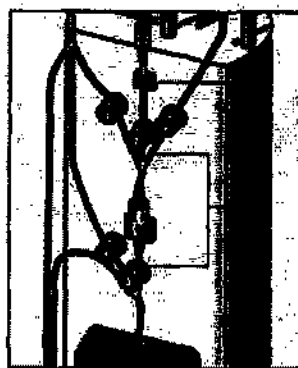


Рис. 4.3-5

2 – сенсор жидкости
37 – шланг между
клапаном 4 и 5, под
клапаном 2

Заправка шланга в насос

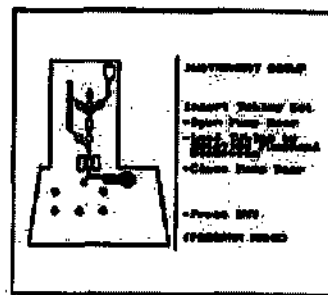
На дисплее высветится экран № 4.3-4.

1. Откройте дверцу насоса, потянув наверх левый край.
2. Вставьте **Верхнее устройство для закрепления шланга в насосе** в специальное отверстие (38) на самом насосе (рис. 4.3-6).
3. Вращайте ролик насоса по часовой стрелке (рис. 4.3-6) пока шланг не закрепится. Убедитесь в том, что шланг вставлен в горизонтальные держатели. Если шланг необходимо отрегулировать, необходимо повернуть ролик насоса против часовой стрелки.
4. Вставьте **Нижнее устройство для закрепления шланга в насосе** в специальное отверстие (40) на самом насосе (рис. 4.3-6).
5. Повторите вращение по часовой стрелке ролика насоса, чтобы убедиться, что ролик ходит свободно.
6. Закройте дверцу насоса.

Замечание

□ Во время процедуры клеточной сепарации насос прекратит работу, если он открыт. Если крышка насоса открыта более 600 секунд, прибор прекратит свою работу.

Чтобы продолжить, нажмите **Кнопку «Ввод» (ENT)**



Экран 4.3-4

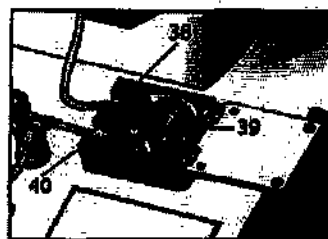


Рис. 4.3-6

**38 - верхнее устройство для
закрепления шланга в
насосе**

39 – ролик насоса

**40 - нижнее устройство для
закрепления шланга в
насосе**

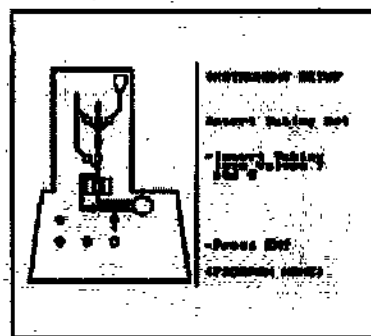


Заправка шлангов в клапаны №, 7 и 8.

На дисплее высветится экран № 4.3-5.

1. Вставьте шланг в клапан №7.
2. Вставьте шланг в клапан №8.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)



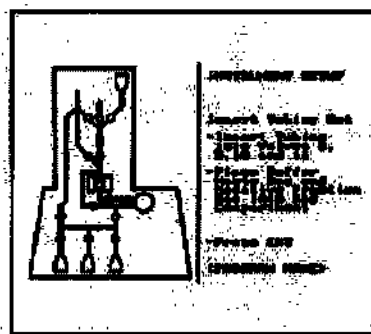
Экран 4.3-5

Заправка шлангов в клапаны №, 6, 9, 10, 11

На дисплее высветится экран № 4.3-6.

1. Вставьте шланг в клапан №, 6,9,10 и 11.
2. Вставьте Мешок для фракции не целевых клеток и Мешок для сбора слива в отсек для мешков.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)



Экран 4.3-6



Повторная проверка заправки шлангов и их соединений.
На дисплее высветится экран № 4.3-7.

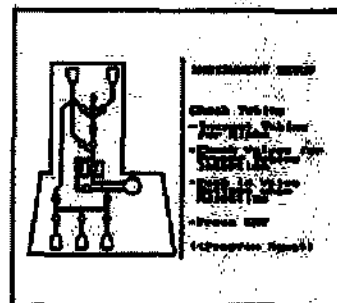
Прежде чем начать работу, еще раз проверьте все шланги и соединения.

Замечание

□ Проверьте правильность размещения шлангов в клапанах. Убедитесь в том, что все шланги расположены правильно, согласно схеме, отсутствуют узлы, перегибы и растяжки. Обратите особое внимание на расположение шлангов рядом с Пре-колонкой, и между насосом и клапанами №7 и №8 (рис. 4.3-7), а так же между №4 и №5 (рис. 4.3-5).

□ Чтобы отрегулировать шланги после закрытия клапана, необходимо предварительно нажать на кнопку клапана, открыв его.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)



Экран 4.3-7

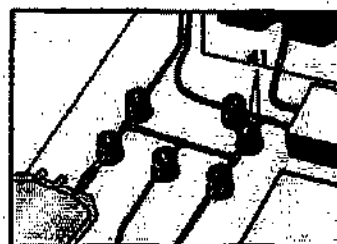


Рис. 4.3-7

41 – шланг между
клапанами 7 и 8



Проверка клапанов

На дисплее высветится экран № 4.3-8.

Чтобы убедиться в правильности заправки магистралей в прибор, прибор дважды проверит все клапаны.

Если какой-либо клапан работает неправильно, см. раздел «Неполадки в работе».

Движение магнита так же будет протестировано во время этой проверки.



Экран 4.3-8



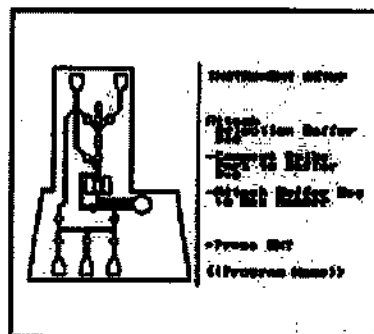
Присоединение Мешка с буфером

На дисплее высветится экран № 4.3-9.

Рекомендуемый буфер для отбора – **CliniMACS PBS/EDTA буфер с 0,5% HAS** (альбумин сыворотки человека).

1. Подсоединение магистралей к Мешку с буфером (рис. 4.3-2) необходимо проводить в асептических условиях.
2. Повесьте мешок с буфером на крючок держателя (рис. 4.3-8).
4. Отрегулируйте высоту держателя мешка. Убедитесь в отсутствии перегибов магистралей (рис. 4.3-8).

Чтобы продолжить, нажмите **Кнопку «Ввод» (ENT)**



Экран 4.3-9

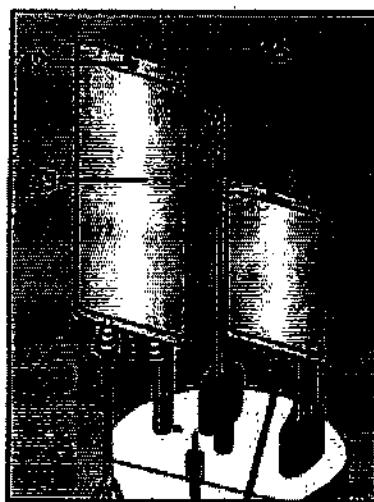


Рис. 4.3-8

15 – держатель Мешка с буфером
42 – крючок держателя
43 – CliniMACS PBS/EDTA буфер



Заполнение магистралей

На дисплее высветится экран № 4.3-10.

Чтобы начать заполнение магистралей, нажмите **Кнопку «Запуск» (RUN)**

На дисплее высветится экран № 4.3-11.

На начальном этапе проводится заполнение магистралей буфером CliniMACS PBS/EDTA. Буфером заполняются **магистраль, Пре-колонка и Колонка для селекции**. Смыв после промывки собирается в **Мешок с буфером после промывки магистралей (23)** и **Мешок для слива (32, рис. 4.3-2)**. Промывка длится примерно 1 минуту.

Проверка во время заполнения магистралей

Во время заполнения необходимо проверять все шланги, соединения, фильтры и колонки на предмет появления каких-либо протечек или заторов, мешающих свободному прохождению жидкости.

Если какие-либо протечки или нарушения в работе обнаружены, остановите процедуру, нажав **Кнопку «Стоп» (STOP)**.

На решение проблемы дается время 600 секунд.

Для возобновления процесса нажмите **Кнопку «Запуск» (RUN)**.

Через 600 секунд процесс будет прерван.

Если устранить препятствие невозможно, или если набор магистралей CliniMACS поврежден, необходимо начать процесс снова с другими магистральями.

Замечание.

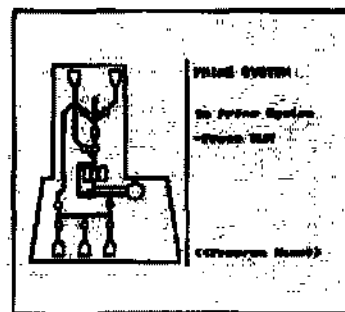
- После начала заполнения магистралей, вернуться в меню установки невозможно.

Последняя проверка заполнения магистралей

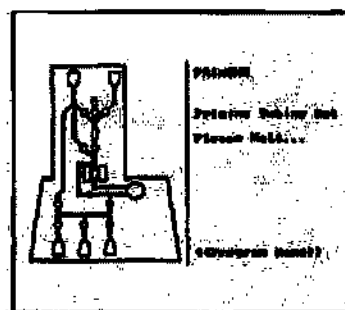
На дисплее высветится экран № 4.3-12.

Перед началом процедуры проверьте следующее:

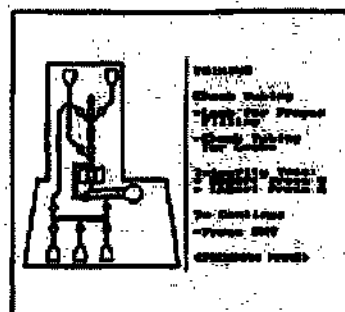
- наличие раствора во всех частях магистрالي
- отсутствие воздуха в магистралах
- наличие раствора в **Мешке с буфером после промывки магистралей** и **Мешке для слива**
- отсутствие раствора в **Мешке для фракции не целевых клеток** и **Мешке для сбора клеток**



Экран 4.3-10



Экран 4.3-11



Экран 4.3-12



Проверка герметичности.

Программное обеспечение CliniMACS позволяет провести дополнительный тест на герметичность установленных в прибор магистралей.

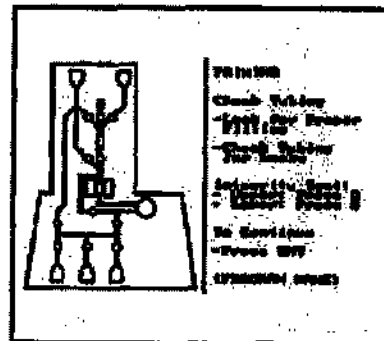
Тест состоит из двух последовательных частей, позволяющих независимо проверить верхнюю и нижнюю часть магистралей.

Проверка герметичности верхней части магистралей.

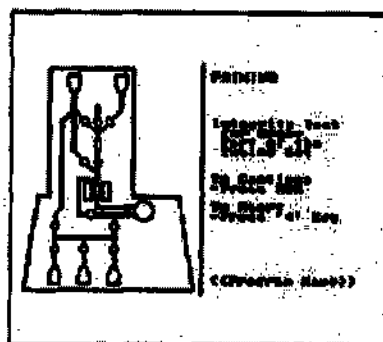
1. Когда оператор проводит Последнюю проверку заполнения магистралей, на дисплее высветится экран № 4.3-12.
2. После завершения последней проверки, **НЕ** нажимайте Кнопку «Ввод» (ENT).
3. Чтобы начать проверку на герметичность нажмите кнопку 9.
4. На дисплее высветится экран 4.3-13.
5. Чтобы начать тест, нажмите Кнопку «Запуск» (RUN).
Чтобы вернуться к окну 4.3-12, нажмите кнопку "Отмена" (◀).
6. После нажатия Кнопки «Запуск» (RUN), прибор автоматически начинает проверку верхней части магистралей. На дисплее высветится экран № 4.3-14. Насосом будет создано дополнительное давление в магистралах, которое будет держаться в течении 2 минут. В это время необходимо тщательно осмотреть все соединения над и под Пре-колонок и Колонок для селекции, а также верхнюю часть насоса.

В любой момент проверка может быть приостановлена нажатием Кнопки «Ввод» (ENT)

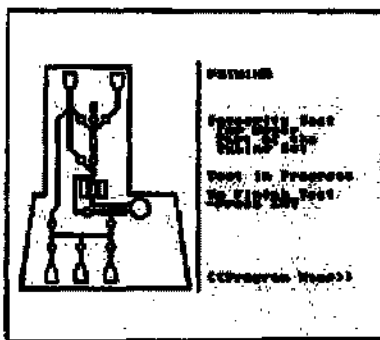
7. Через 2 минуты давление в магистрали уменьшится, а на дисплее высветится экран 4.3-12. С помощью сухой салфетки необходимо проверить, не появились ли какие-либо протечки во время проверки. Если на каких-либо соединениях обнаруживаются утечки, необходимо заменить магистрали. Испорченные магистрали необходимо переслать в офис Miitenui Boites в вашей стране или вашему дистрибьютору CliniMACS.
8. Если протечек не обнаружено, продолжите проверку на герметичность нижней части магистралей.



Экран 4.3-12



Экран 4.3-13



Экран 4.3-14



Проверка герметичности нижней части магистралей.

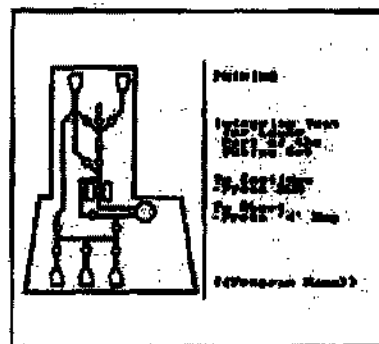
1. Когда оператор проводит **Последнюю проверку** заполнения магистралей, на дисплее высветится экран № 4.3-12.
2. Чтобы начать проверку на герметичность нажмите кнопку 6.
3. На дисплее высветится экран 4.3-15.
4. Чтобы начать тест, нажмите **Кнопку «Запуск» (RUN)**.

Чтобы вернуться к окну 4.3-12, нажмите кнопку "Отмена" (◀).

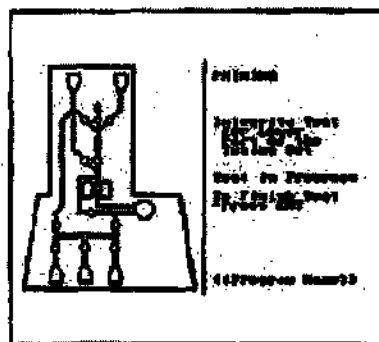
5. После нажатия **Кнопки «Запуск» (RUN)**, прибор автоматически начинает проверку нижней части магистралей. На дисплее высветится экран № 4.3-14. Насосом будет создано дополнительное давление в магистралах, которое будет держаться в течении 30 секунд. В это время необходимо тщательно осмотреть Т-соединение между клапанами 6, 8, 9, 10, 11, а также нижнюю часть насоса.

В любой момент проверка может быть приостановлена нажатием **Кнопки «Ввод» (ENT)**

6. Через 30 секунд давление в магистрали уменьшится, а на дисплее высветится экран 4.3-17. С помощью сухой салфетки необходимо проверить, не появились ли какие-либо протечки во время проверки. Если на каких-либо соединениях обнаруживаются утечки, необходимо заменить магистрали. Испорченные магистрали необходимо переслать в офис Miltenyi Biotec в вашей стране или вашему дистрибьютору CliniMACS.
7. Если протечек не обнаружено, нажмите **Кнопку «Ввод» (ENT)**



Экран 4.3-15



Экран 4.3-16



Присоединение Мешка с исходной фракцией клеток

На дисплее высветится экран № 4.3-17.

После окончания стадии заполнения магистралей, если никаких протечек или повреждений обнаружено не было, можно присоединить **Мешок с исходной фракцией клеток** (рис. 4.3-9). Любое соединение магистралей и Мешков необходимо проводить в асептических условиях.

Присоедините **Мешок с исходной фракцией клеток**, содержащий меченные магнитными частицами, промытые клетки к Пре-фильтру:

1. Снимите колпачок с **Конца магистрали** для подсоединения префильтра (24, рис. 4.3-2).
2. Снимите колпачок с нижнего конца **Префильтра** (44, рис. 4.3-9). Плотнo соедините магистраль с префильтром. НЕ снимайте верхнюю колпачок Префильтра.
3. Снимите колпачок с верхнего конца **Префильтра** (47, рис. 4.3-9).
4. Соедините **Мешок с исходной фракцией клеток** и Префильтр. Убедитесь в том, что жидкость может свободно протекать – для этого аккуратно сожмите Мешок с исходной фракцией клеток
5. Проверьте соединения между магистралями и префильтром
6. Поместите **Мешок с исходной фракцией клеток** на крючок держателя (14, рис. 4.3-9).
7. Отрегулируйте высоту держателя таким образом, чтобы **Мешок с исходной фракцией клеток** располагался вертикально.

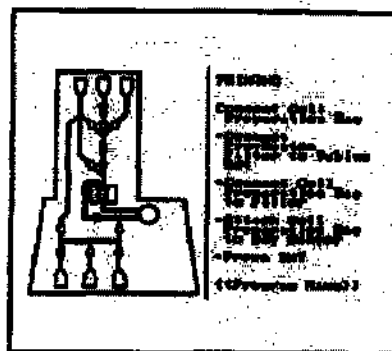
Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)

Окончательная проверка Сенсора жидкости.

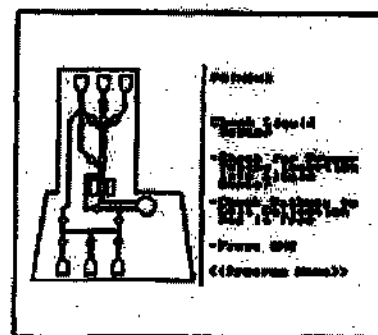
На дисплее высветится экран № 4.3-18.

1. Проверьте наличие шланга в сенсоре жидкости. Убедитесь в том, что шланг правильно вставлен и что снаружи на нем нет жидкости.
2. Убедитесь в беспрепятственном протекании жидкостей в **Мешок для сбора клеток**.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT).



Экран 4.3-17



Экран 4.3-18



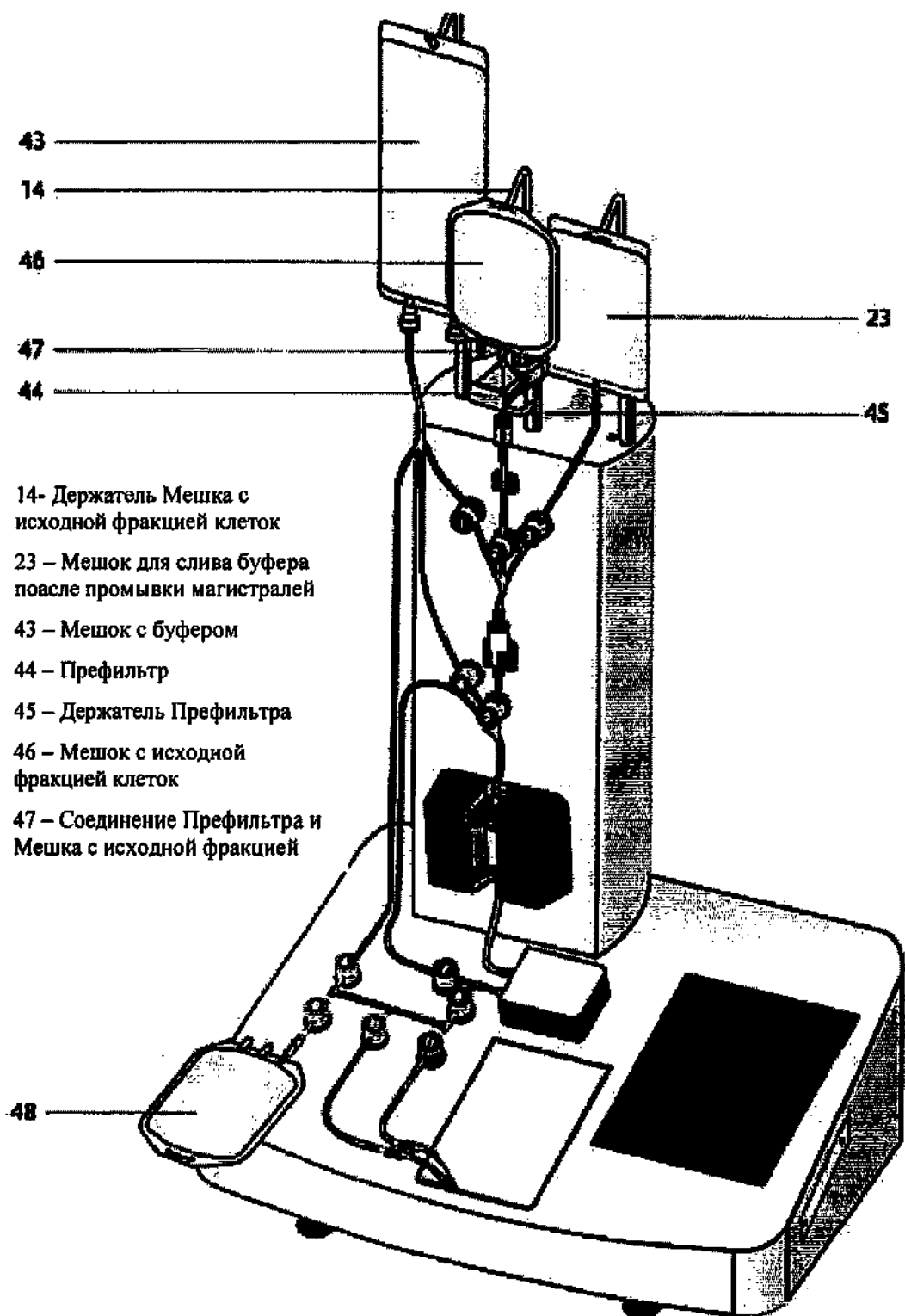


Рис. 4.3-9. Прибор CliniMACS^{®+}, с:

- заправленными магистральями CliniMACS Tubing Set,
- подсоединенным Мешком с буфером CliniMACS PBS/EDTA,
- подсоединенным Мешком с исходной фракцией клеток,
- подсоединенным Мешком для сбора клеток.



Альтернативный вариант заправки магистралей в прибор.

В инструкциях к этапу 3 и на дисплее прибора CliniMACS⁺, описана заправка магистралей в асептических условиях.

Сама по себе система CliniMACS, является закрытой системой, которая не требует работы в асептических условиях. Однако, при работе в не стерильном помещении, заправка магистралей должна проходить таким образом, чтобы обеспечить стерильность проведения процесса клеточной сепарации.

Следующие стадии подсоединения магистралей являются критическими с точки зрения нарушения стерильности:

- присоединение **Мешка с буфером**;
- присоединение **Префильтра**;
- присоединение **Мешка с исходной фракцией клеток**.

Чтобы обеспечить стерильность системы, данные компоненты, необходимо прикреплять к магистралям в асептических условиях (например, под ламинаром).

После присоединения перечисленных компонентов к магистралям, необходимо предпринять следующие изменения и действия в соответствии инструкциям к прибору, описанные для 3-го этапа.

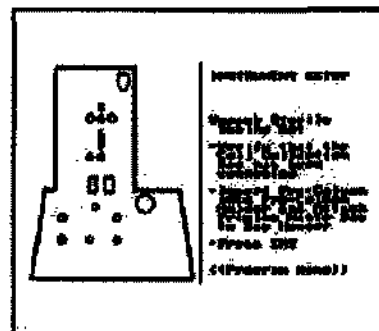
4. ИТОГО (1+2+3)	Срок выплаты средств на заработную плату и выплаты социального характера	_____ / _____ / 20__
	Руководитель предприятия	_____
	Главный бухгалтер	_____
	М.П.	_____



Подготовка к заправке магистралей в прибор.

На дисплее высветится экран 4.3-1.

Буфер CliniMACS PBS/EDTA, Префильтр и Мешок с исходной фракцией клеток необходимо в асептических условиях прикрепить магистралям до их заправки в прибор.



Экран 4.3-1

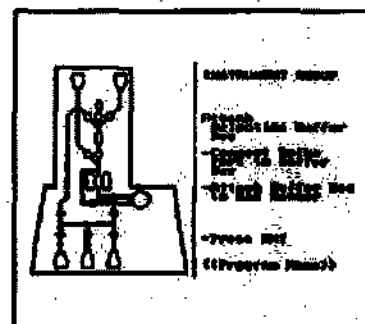
1. Распакуйте набор магистралей в стерильных условиях и прикрепите следующие компоненты в асептических условиях.
 2. Присоединение CliniMACS PBS/EDTA буфера:
С помощью асептических инструментов удалите колпачок с конца магистрали для подсоединения буфера и соедините его с Мешком с буфером. Убедитесь в том, что буфер свободно протекает через магистрали, для чего аккуратно сожмите Мешок с буфером.
 3. Присоединение Префильтра:
Снимите колпачок с нижнего конца Префильтра. Плотно соедините магистраль с префильтром. НЕ снимайте верхнюю колпачок Префильтра.
Пережмите магистраль под Префильтром с помощью зажима (см. (Б) рис. 4.3-2).
 4. Присоединение Мешка с приготовленными клетками:
Присоедините Мешок с исходной фракцией клеток с Префильтром. Убедитесь в том, что жидкость свободно протекает через магистрали, для чего аккуратно сожмите Мешок с исходной фракцией клеток.
 5. Повесьте Мешок с буфером на левый держатель, Мешок с исходной фракцией – на средний держатель, Мешок для слива буфера после промывки магистралей – на правый держатель прибора.
- Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT).

ОКУД	БИК
0408027	044579203

Наименование показателя	Кол-во	Единица измерения	Тыс. руб.
1	2	3	4
ПОСТУПЛЕНИЕ НАЛИЧНЫХ ДЕНЕГ (кроме наличных денег, получаемых в банке)			
1. Торговая выручка			
2. Выручка предприятий пассажирского транспорта			
3. Квартирная плата и коммунальные платежи			
4. Выручка зрелищных предприятий			
5. Выручка предприятий, оказывающих прочие услуги			
6. Прочие поступления			
7. ИТОГО (1+2+3+4+5+6) в том числе			
7.1 Расходы из выручки			
7.2 Сдается в предприятия Госкомсвязи России			
7.3 Сдается в учреждения Сбербанка России			
7.4 Сдается в кассы учреждений банков			
РАСХОДЫ			
1. Выплата заработной платы, выплаты социального характера, стипендии, расходы не относящиеся к фонду заработной платы и выплаты социального характера			
2. На выплаты пенсий и пособий соцстраха			
3. Выплата на другие цели			

Следуйте следующим инструкциям:

- Прикрепление Мешка для слива буфера после промывки и Пре-колопки;
- Прикрепление Колонки для селекции и заправка шланга в клапан №5;
- Заправка шлангов в клапаны №1, 2,3 и 4;
- Заправка шланга в насос;
- Заправка шлангов в клапаны №, 7 и 8;
- Заправка шлангов в клапаны №, 6, 9, 10, 11;
- Проверка клапанов;
- Повторная проверка заправки шлангов и их соединений.



Экран 4.3-9

Присоединение Мешка с буфером.

На дисплее высветится экран 4.3-9.

1. Мешок селекционного буфера присоединяется во время «Подготовки к заправке магистралей в прибор». Таким образом, на данном этапе следует отрегулировать только высоту держателя мешка и убедиться в отсутствии перегибов магистралей.
2. Откройте зажим со шланга под Мешком с буфером.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT).

Следуйте следующим инструкциям:

- Повторная проверка заправки шлангов и их соединений;
- Заполнение магистралей;
- Проверка во время заполнения магистралей;
- Последняя проверка заполнения магистралей;
- Проверка герметичности.

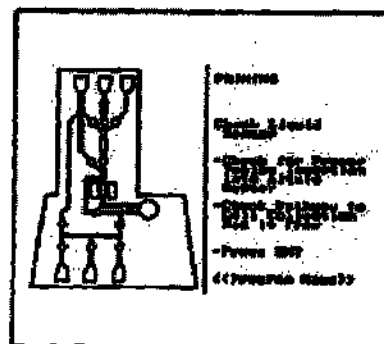
АКБ "НАШ ДОМ" (ЗАО) направляет в Ваш адрес бланк кассовой заявки на 2 квартал 2008 г. Заполненную кассовую заявку необходимо предоставить в Банк до начала квартала.
При возникновении вопросов звоните по тел. (499) 973-27-60 (Наталья Котельникова)



На дисплее высветится экран 4.3-18.

1. Мешок с исходной фракцией клеток и Префильтр присоединяется во время «Подготовки к заправке магистралей в прибор».
3. Откройте зажим со шланга под капельницей.

Чтобы продолжить, нажмите **Кнопку «Ввод» (ENT).**



Экран 4.3-18

Следуйте следующим инструкциям:

- **Последняя проверка сенсора жидкости**



Этап 4

CD34 Выделение 1/2

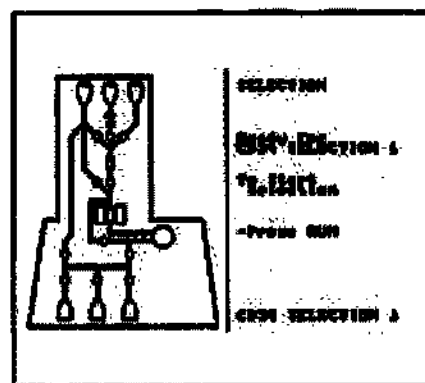
После завершения последней проверки

Когда прибор CliniMACS⁺ готов к началу процедуры клеточной сепарации, на дисплее высветится кран 4.4-1. Еще раз проверьте все магистрали и соединения.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Запуск» (RUN)

После того как Вы нажали Кнопку «Запуск» (RUN), прибор автоматически начнет выбранную процедуру клеточной сепарации. В конце каждой фазы сепарации на дисплее будет появляться экран, подобный экрану 4.4-2, подтверждающий ход процедуры.

Когда магнит включен, он выдвинут вперед и индикатор магнита высвечивается на дисплее в виде двух черных квадратиков рядом с Колонкой для сепарации. Если магнит выключен, то индикатор прозрачен (например, экран 4.4-1), а сам магнит отодвинут назад и Колонка для сепарации находится вне его действия.



Экран 4.4-1

Замечание

□ В самом начале процедуры, буфер поступает в Префильтр. Необходимо слегка встряхнуть Префильтр, чтобы удалить пузырьки воздуха.

Последовательность процедуры Сепарации

Основные этапы обсих программ селекции CD34 (CD34 ВЫДЕЛЕНИЕ 1 и CD34 ВЫДЕЛЕНИЕ 2) подобны.

ЗАГРУЗКА КЛЕТОК

Процедура селекции начинается с заполнения Префильтра. Затем, начинается отбор помеченных клеток.

С помощью насоса содержимое Мешка с исходной фракцией поступает в магистрали (экран 4.4-2).

Помеченные магнитным маркером клетки сорбируются в Колонке для сепарации, находящейся в магнитном поле, в то время как немеченные клетки попадают в Мешок для отрицательной фракции клеток.

Когда Мешок с исходной фракцией клеток пуст (автоматически определяется сенсором жидкости), Префильтр дважды промывается буфером.

ПРОМЫВКА КОЛОНКИ I

Чтобы очистить от немеченных клеток Пре-колонку и Колонку для сепарации, происходит их промывка буфером.

Буфер после промывки поступает в Мешок для слива.

В начале «Промывки колонок I», на дисплее высвечивается время процедуры (экран 4.4-3).



ЭЛЮЦИЯ КЛЕТОК I

Магнит перемещается назад (позиция «выключен»). Сорбированные в Колонке для сепарации клетки удаляются из колонки, но остаются при этом во внутреннем кольце магистралей.

РЕ-ЗАГРУЗКА КЛЕТОК I

Магнит переведен в положение «включен», Колонка для сепарации находится под действием магнитного поля, меченые клетки снова сорбируются в колонке.

ПРОМЫВКА КОЛОНКИ II

Это вторая стадия промывки для удаления оставшихся немеченых клеток. Несколько раз промываются все магистрали.

ЭЛЮЦИЯ КЛЕТОК II, РЕ-ЗАГРУЗКА КЛЕТОК II, ПРОМЫВКА КОЛОНКИ III

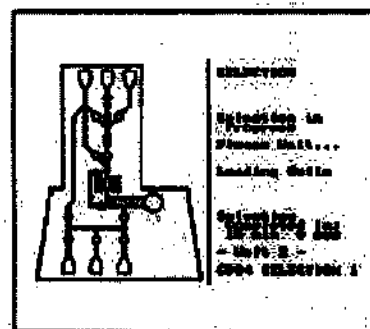
Меченные клетки удаляются из Колонки для сепарации и загружаются в нее еще раз. Затем Колонка для сепарации еще раз промывается.

СМЫВ КЛЕТОК III, РЕ-ЗАГРУЗКА КЛЕТОК III, ПРОМЫВКА КОЛОНКИ IV

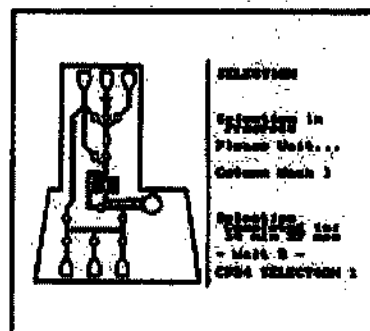
Данные стадии включает программа сепарации CD34 ВЫДЕЛЕНИЕ 2.

КОНЕЧНАЯ ЭЛЮЦИЯ КЛЕТОК

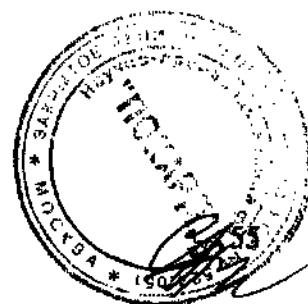
Магнит передвинут в положение «включен», помеченные магнитным маркером клетки CD34 смываются в Мешок для целевых клеток (48, рис. 4.3-9).



Экран 4.4-2



Экран 4.4-3



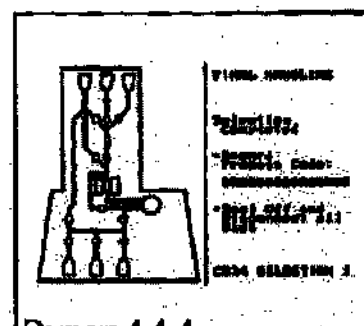
Отсоединение Мешков и работа с протоколом процедуры.

Когда процесс завершен, на дисплее прибора высветится экран 4.4-4.

1. Запишите код процесса в протокол (С7).
2. Пережмите шланг над соединением Мешка для целевых клеток и магистрали (49, рис. 4.4-1). С помощью запаивающего прибора сделайте три герметичных шва прямо под клапаном №9. Аккуратно отделите средний шов, чтобы отсоединить Мешок с целевыми клетками от магистрали. Поместите мешок под ламинар.
3. Взвесьте наполненный Мешок с целевыми клетками. Запишите вес в протокол. Определите вес целевой фракции, вычитая вес пустого Мешка из веса Мешка с целевыми клетками. Запишите вес в рабочий лист.
4. Аккуратно перемешайте фракцию целевых клеток, переворачивая мешок. Отберите примерно 0,5 мл для анализа.
5. Пережмите шланг над соединением Мешка для отрицательной фракции клеток (50, рис. 4.4-1). С помощью запаивающего прибора сделайте три герметичных шва на магистрали. Аккуратно отделите средний шов, чтобы отсоединить Мешок с отрицательной фракцией от магистрали.
6. Отсоедините Мешок для слива вышеописанным способом (51, рис. 4.4-1).
7. Удалите Мешок с отрицательной фракцией и Мешок для слива буфера.

Целевые клетки далее могут использоваться согласно медицинским показаниям.

Чтобы продолжить, нажмите Кнопку «Ввод» (ENT)



Экран 4.4-4

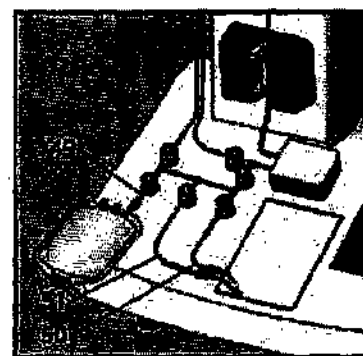
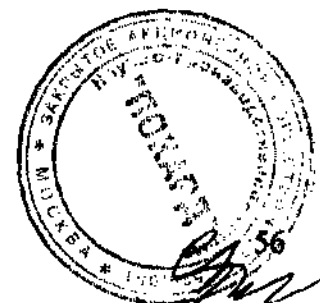


Рис.4.4-1 Отсоединение шлангов.

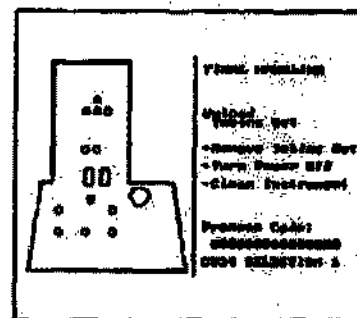
49 – Отсоединение Мешка для сбора целевой фракции
50 – Отсоединение Мешка с нецелевой фракцией
51 – Отсоединение Мешка для слива



Отсоединение Набора магистралей, выключение

На дисплее высветится экран 4.4-5.

1. Удалите магистрали из прибора:
Начиная с клапанов 6, 9, 10 и 11, следуйте далее вверх, вынимая магистрали из зажимов клапанов, нажимая на кнопку с номером клапана. Выньте колонки с держателей для колонок. Использованные магистрали - биологически опасный продукт, их необходимо утилизировать в соответствии с инструкцией.
2. Выключите прибор CliniMACS^{®+}.
3. Очистите прибор, согласно инструкции по очистке и обслуживанию (глава 3.2).



Экран 4.4-5

Анализ

Перед применением выделенные клетки CD34, необходимо проанализировать по следующим параметрам:

- Общее число лейкоцитов
- Жизнеспособность и общее количество положительных клеток CD34
- Чистоту и выход клеток CD34

Данные анализа должны быть занесены в протокол.

Кроме того, рекомендуется вычислить общее число лейкоцитов и жизнеспособность фракции не целевых клеток.

Приведенный список, является примером и должен включить в себя прочие тесты и анализы, соответствующие целям применения и научным рекомендациям.

