

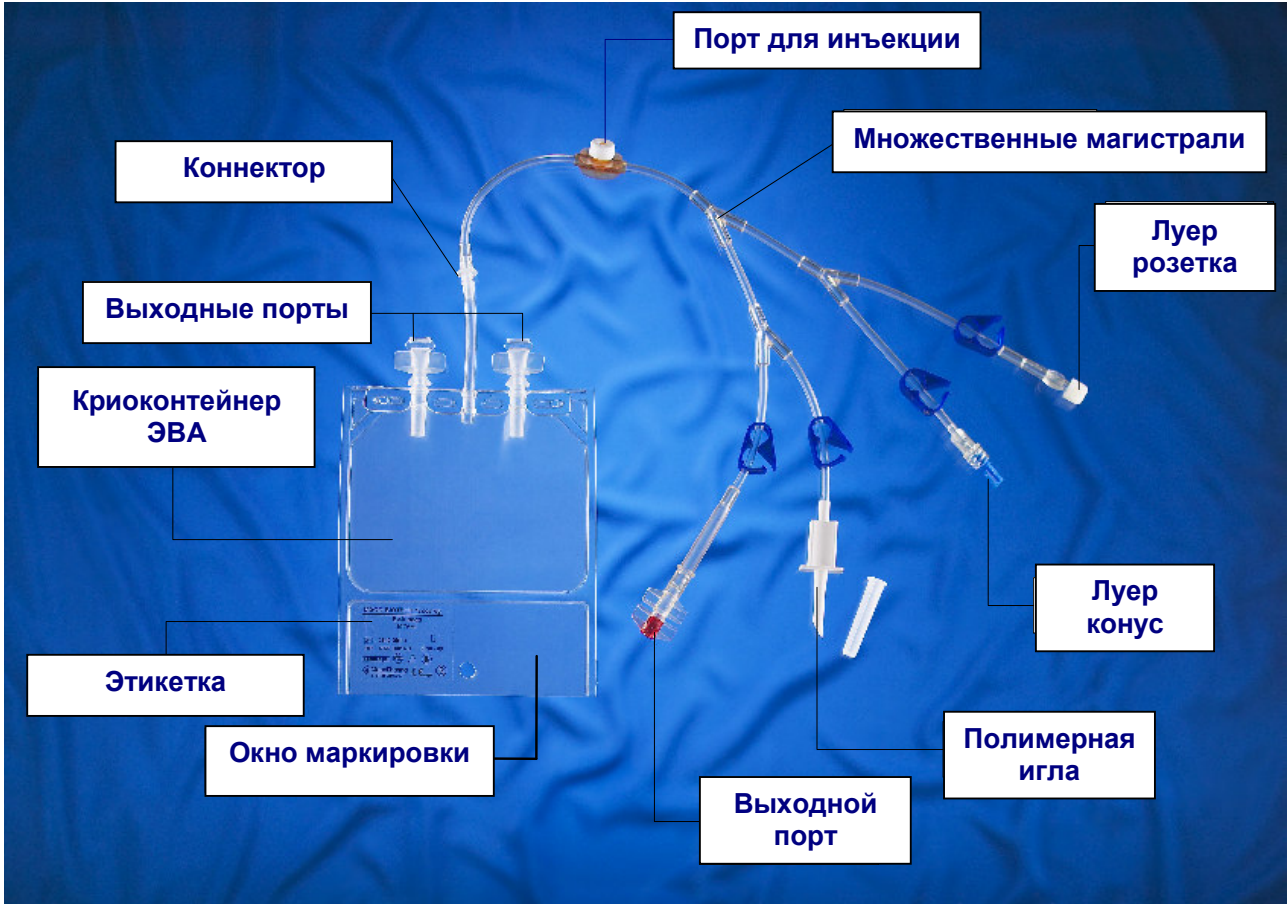
МАКО БИОТЕК *Крио* Контейнеры ЭВА

ПРОТОКОЛ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ КЛЕТОК



ОПИСАНИЕ КРИОКОНТЕЙНЕРОВ

Криоконтейнеры ЭВА – МАКО БИОТЕК предназначены для криоконсервирования при сверхнизких температурах. Выполненные из материала ЭВА (этилвинилацетат), криоконтейнеры разработаны для длительного хранения при -196°C (жидкий азот или его пары).



ЭЛЕМЕНТЫ	ХАРАКТЕРИСТИКИ
Упаковка (набор для замораживания)	
Контейнер	Э.В.А., толщина = 0,35 мм
Выходные трубки	3,9 мм x 5,4 мм, материал Э.В.А.
Выходные порты	Э.В.А. (твердый)
Этикетка	Помещается внутрь окна маркировки, 50 мм x 40 мм
Множественные магистрали (удаляются перед замораживанием)	
Коннектор	Обеспечивает плотность соединения между магистралями и контейнером (полипропилен)
Множ. магистрали	ПВХ, 3 мм x 4,1 мм
Порт для инъекции	Не содержит латекса, для иглы
Выходной порт	Для полимерной иглы
Полимерная игла	Для выходного порта
Луер конус	Для шприца или магистрали, оснащенных соединением Луер розетка
Луер розетка	Для шприца или магистрали, оснащенных соединением Луер конус
Зажим	Для закрытия магистрали

Код изделия	Ширина (мм)	Длина (мм)	Объем раствора* (мл) Мин-Макс
GSR1000AU	75	230	10 – 30
GSR2001AU	130	179	30 – 70
GSR5001AU	130	224	60 – 100
GSR7000AU	150	274	100 – 180
GSR7001AU	130	256	80 – 150
GSR8000AU	150	431	140 – 280
GSR8001AU	130	313	120 – 250

***Объемы растворов являются ориентировочными и должны быть адаптированы к стандартным процедурам, установленным в Вашей организации.**

1. ПОДГОТОВКА КОНТЕЙНЕРОВ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ

- Вынуть упаковку из коробки МакоФарма. Не применять режущих предметов или ножниц в связи с риском повреждения упаковок.
- Перед использованием убедиться, что упаковка не повреждена. В случае повреждения контейнер не использовать.
- Войти в чистое помещение (класс 10 000) с контейнером и всеми компонентами, необходимыми для процесса замораживания.
- В манипуляционной зоне (класс 100, например, бокс с ламинарным потоком) подготовить рабочее место.
- Вскрыть упаковку контейнера ЭВА со стороны угла с лепестками и обеспечить перемещение контейнера на рабочую поверхность путем скольжения.

2. ПЕРЕНОС КЛЕТОК В КОНТЕЙНЕР

- Закрывать все зажимы на магистралях.
- Открыть выходной порт на контейнере с клетками.
- Снять колпачок с полимерной иглы криоконтейнера.
- Подсоединить контейнер ЭВА к контейнеру ПВХ с клетками, вставив полимерную иглу в выходной порт или с помощью устройства для стерильного соединения трубок.
- Открыть зажим.
- Перевести самотоком желаемое количество клеток в контейнер ЭВА.
- Закрывать зажим.
- Вынуть полимерную иглу из контейнера ПВХ или запаять магистраль (если использовалось устройство для стерильного соединения трубок).

3. ДОБАВЛЕНИЕ РАСТВОРА КРИОПРОТЕКТОРА

Состав раствора криопротектора может варьировать в зависимости от используемого протокола и заготавливаемого материала. В большинстве случаев раствор содержит ДМСО (диметилсульфоксид в конечной концентрации 10%) и человеческий альбумин 4% (20% для CD34⁺). Обычно раствор готовится за 30 минут до заготовки клеток и хранится при 4°C.

- Используя одну из магистралей с подходящим типом соединения, открыть соответствующий зажим и осторожно перевести необходимое количество раствора криопротектора в криоконтейнер, находящийся на помешивателе (обычно объемное соотношение составляет 1:1).
- Закрывать зажим и отсоединить набор.
- Осторожно перемешать полученную взвесь.

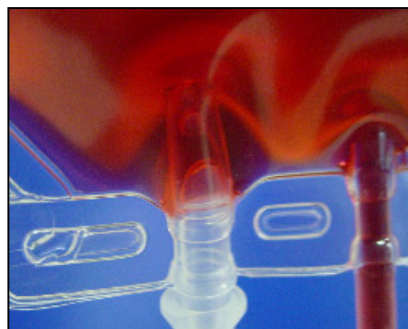
4. УДАЛЕНИЕ ВОЗДУХА

Избыточный объем воздуха негативно влияет на процесс замораживания: пузырьки воздуха в контейнере могут создавать зоны повышенной ломкости пластика. Рекомендуется как можно тщательнее удалять воздух из контейнера.

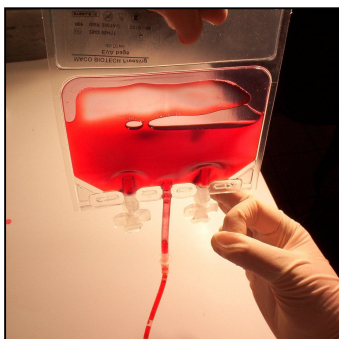
- Расположить контейнер магистралями вниз и, аккуратно постукивая по выходным портам, удалить из них воздух.
- Повернуть контейнер магистралями вверх и направить воздух в отводящую трубку.
- Подсоединить шприц с иглой к инъекционному узлу трубки, либо безыгольный шприц – к луеру. Удалить воздух из контейнера при помощи шприца. При необходимости втянуть жидкость, содержащую пузырьки воздуха, для их удаления, а затем вернуть раствор в контейнер.
- Отсоединить шприц от инъекционного узла или луера.



Пузырьки воздуха в контейнере



Для их удаления расположить контейнер магистралями вниз



Осторожно постучать по выходным портам



Удалить воздух из контейнера, используя шприц

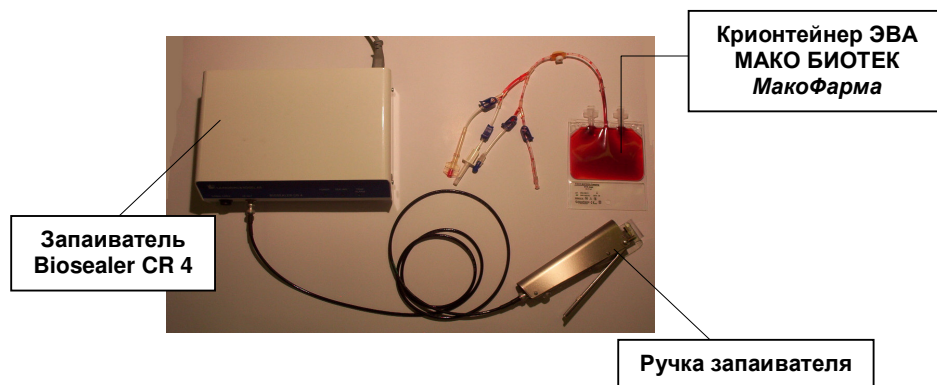


После удаления воздуха запаять магистрали

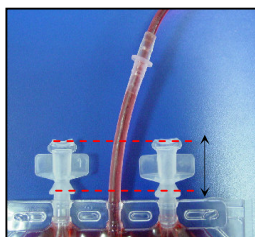
5. ЗАПАИВАНИЕ

Запаивание магистралей должно выполняться с особой тщательностью: герметичная пайка гарантирует наилучшие эксплуатационные качества Криоконтейнеров ЭВА – МАКО БИОТЕК в процессе замораживания и хранения. Хорошая пайка выходных портов – ключ к успешному хранению клеток.

МакоФарма рекомендует использование запаивателя марки Biosealer CR4 (Ljungberg & Kögel) для Криоконтейнеров ЭВА – МАКО БИОТЕК. Пожалуйста, выполняйте нижеследующие рекомендации по пайке.



- Включить запаиватель. Отрегулировать аппарат на работу с трубками ЭВА. При этом требуется больше времени на пайку и охлаждение.
- Приступить к пайке трубок ЭВА: шов должен быть параллельным оси контейнера и находиться в пределах между уровнем основания и уровнем верхушки выходных портов для лучшей защищенности после замораживания.
- Для улучшения пайки трубки ЭВА после образования шва сжимать рукоятку запаивателя еще в течение 3 секунд.
- Осторожно убрать запаивающую головку с трубки.
- Проверить герметичность пайки и с помощью стерильных ножниц отрезать трубку по пунктирной линии шва. Не тянуть за трубку, так как это может привести к нарушению ее целостности.



Шов пайки должен находиться между уровнями основания и верхушки портов



Наложить запаиватель на трубку и произвести пайку



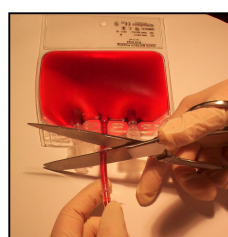
После образования шва пайки сжимать рукоятку запаивателя еще в течение 3 секунд



Для заготовки сегментов трубки произвести пайку тем же способом



Не тянуть за трубку. Следует отрезать ее по шву (пунктирной линии)



Использовать при этом стерильные ножницы

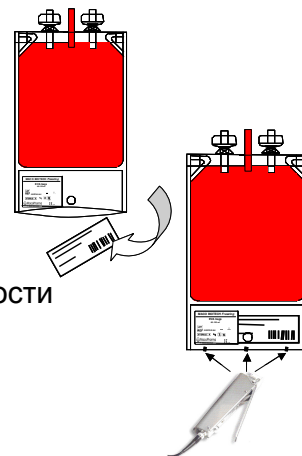


После этого контейнер готов к маркировке и замораживанию

6. МАРКИРОВКА КОНТЕЙНЕРА

Не наклеивайте этикеток на контейнер: в жидком азоте они могут отклеиться! Этикетку следует поместить в специально предназначенное для этого окно маркировки.

- Заранее подготовить этикетки с информацией о доноре.
- Поместить этикетку в окно маркировки.
- Запаять открытую часть окна несколькими швами. Не закрывать полностью окно маркировки. Пузырьки воздуха в нем могут создавать зоны повышенной ломкости пластика в момент оттаивания контейнера.



7. ЗАМОРАЖИВАНИЕ

Широко используемые криозамораживатели обычно содержат металлические кассеты, позволяющие создать тонкий слой клеток по всему объему контейнера.

- На один контейнер требуется одна кассета. Рекомендуется до начала замораживания охладить кассеты до + 4 °С.
- Поместить контейнер в кассету.
- Не бросать, не сгибать контейнер, не делать на нем пометок, избегать контакта с острыми предметами.
- Поместить кассету в замораживатель.
- Выбрать соответствующую программу замораживания.



8. УПАКОВКА КОНТЕЙНЕРА

Рекомендуется помещать контейнер в дополнительную упаковку, чтобы предотвратить риск перекрестной контаминации в резервуаре с жидким азотом и сохранить клетки в случае разрыва контейнера в момент размораживания. Лучше помещать контейнер в упаковку после замораживания, т.к. на данном этапе упомянутую манипуляцию выполнить проще.

- Открыть упаковочный пакет (имеется в линейке продукции компании МакоФарма).
- Вынуть контейнер из кассеты и поместить его в упаковочный пакет.
- Удалить избыток воздуха из упаковочного пакета.
- Запаять дно пакета с помощью запаивателя.

9. ХРАНЕНИЕ В РЕЗЕРВУАРЕ С ЖИДКИМ АЗОТОМ

В резервуаре с жидким азотом контейнер может находиться непосредственно на стеллаже, в упаковке, в коробке или в металлической кассете. Если хранение осуществляется в кассете, она должна быть заранее помещена в резервуар с жидким азотом с целью избежания термического шока.

- Заранее запланировать место для хранения контейнера в резервуаре (стеллаж, полка,...)
- При желании поместить контейнер в криокассету.
- Открыть резервуар.
- Вынуть стеллаж.
- Поместить контейнер на стеллаж.
- Поместить стеллаж в резервуар.
- Закрыть резервуар.

10. РАЗМОРАЖИВАНИЕ

- На стадии размораживания обращаться с контейнерами ЭВА с особой осторожностью: не бросать, не сгибать, не делать на них пометок, избегать контакта с острыми предметами.
- Подготовить водяную баню с температурой в пределах от + 37°C до + 40°C.
- Вынуть контейнер из резервуара с жидким азотом. Если контейнер не был дополнительно упакован, поместить его в стерильную упаковку до помещения в водяную баню.
- После размораживания вынуть контейнер из водяной бани.

11. ПОДГОТОВКА КЛЕТОК ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

После размораживания клетки возвращаются к исходному состоянию и готовы к трансплантации, либо перед трансплантацией должны быть отмыты согласно стандартной процедуре конкретной организации.

При прямой трансплантации:

- У постели пациента вынуть контейнер из упаковки.
- Произвести дезинфекцию одного из двух выходных портов.
- Открыть выходной порт.
- Подсоединить полимерную иглу системы для трансфузии к выходному порту контейнера ЭВА с целью вливания суспензии клеток.

При отмывании клеток:

- В боксе с ламинарным потоком вынуть контейнер из упаковки.
- Произвести дезинфекцию одного из двух выходных портов.
- Открыть выходной порт.
- Подсоединить полимерную иглу системы для отмывания к выходному порту контейнера ЭВА.

Для дополнительной информации, пожалуйста, свяжитесь с местным представителем компании MacoPharma.

Любые замечания или пожелания направляйте, пожалуйста, по адресу:
contact@macopharma.com