

Краткое руководство по применению медицинского изделия

Среда «Лимфоген» по ТУ 20.59.52-025-45171785-2021

Версия 2 от «15» февраля 2024 г.

Наименование медицинского изделия - Среда «Лимфоген» по ТУ 20.59.52-025-45171785-2021,

варианты исполнения:

1. Среда «Лимфоген», Кат №Т11Е, 50 мл, в составе:

- Среда «Лимфоген», Кат №Т11Е, 50 мл во флаконе - 1 шт.;
- Инструкция/Краткое руководство по применению медицинского изделия – 1 шт.;
- Паспорт качества на серию – 1шт.

2. Среда «Лимфоген», Кат №Т12Е, 100 мл, в составе:

- Среда «Лимфоген», Кат №Т12Е, 100 мл во флаконе - 1 шт.;
- Инструкция/Краткое руководство по применению медицинского изделия – 1 шт.;
- Паспорт качества на серию – 1шт.

3. Среда «Лимфоген», Кат №Т13Е, 500 мл, в составе:

- Среда «Лимфоген», Кат №Т13Е, 500 мл во флаконе -1 шт.;
- Инструкция/Краткое руководство по применению медицинского изделия – 1 шт.;
- Паспорт качества на серию – 1шт.

Сокращённое наименование медицинского изделия - Среда «Лимфоген»

Допустимое обозначение изделия при его заказе и в иной документации:

- Среда «Лимфоген», Кат №Т11Е, 50 мл;
- Среда «Лимфоген», Кат №Т12Е, 100 мл;
- Среда «Лимфоген», Кат №Т13Е, 500 мл.

Форма выпуска: в герметично закупоренных ПЭТФ-флаконах, объемом 50 мл (кат. № Т11Е), 100 мл (кат. № Т12Е) и объемом 500 мл (кат. № Т13Е).

Готовая к применению бессывороточная Среда «Лимфоген» представляет собой растворённую покомпонентно в деионизованной воде смесь солей, аминокислот, витаминов, антиоксидантов, глюкозы, фенолового красного, антибиотиков, инсулина и белковой добавки, включающей в себя бычий сывороточный альбумин (БСА) и человеческий трансферрин. Среда «Лимфоген» может быть приготовлена покомпонентно или с использованием предварительно подготовленной сухой смеси из вышеперечисленных ингредиентов.

Назначение. Среда «Лимфоген» предназначена для инкубации и стабилизации *in vitro* мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), полученных из цельной крови человека, с целью их дальнейшего использования в клинико-лабораторных иммунологических исследованиях *in vitro*, проводимых методом IGRA ELISPOT (Interferon Gamma Release Assay Enzyme-Linked ImmunoSpot).

Анализируемым образцом являются мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), выделенные из крови человека.

Среда «Лимфоген» является вспомогательным средством для диагностики *in vitro*.

Применение медицинского изделия не зависит от популяционных и демографических аспектов.

Показания к применению. Среда «Лимфоген» применяется для подготовки МКПК (*ex vivo*) с целью проведения иммунологических исследований *in vitro* для анализа Т-лимфоцитов, секретирующих цитокин IFN γ (интерферон гамма), методом IGRA ELISPOT.

Среда «Лимфоген» используется совместно с наборами реагентов, работающими на вышеуказанном анализе при условии строгого соблюдения конкретного протокола, указанного в Инструкции по применению к используемому набору реагентов.

Среда «Лимфоген» используется при проведении исследований с целью комплексной оценки иммунного ответа организма человека в отношении инфекционных заболеваний.

Информация о потенциальных потребителях: изделие предназначено для использования сотрудниками медицинских учреждений: клинико-диагностических, иммунологических лабораторий (клинико-диагностических, иммунологических лабораторий (врачами клинической лабораторной диагностики, лабораторными техниками (фельдшерами-лаборантами), медицинскими технологами, биологами), научными сотрудниками с высшим и средним специальным образованием, прошедшими специальную профессиональную подготовку в области иммунологии и инструктаж по работе в асептических условиях, ознакомившимися с Инструкцией/Кратким руководством по применению медицинского изделия и Паспортом качества на используемую серию.

Среда «Лимфоген» предназначена только для профессионального применения!

Основные характеристики изделия

Среда «Лимфоген» представляет собой прозрачную жидкость красновато-оранжевого цвета, без опалесценции и выраженного осадка, со следующими характеристиками:

- pH - $7,30 \pm 0,30$;
- осмоляльность - 290 ± 20 мОсм/кг;
- стерильна;
- содержание бактериальных эндотоксинов $\leq 1,0$ ЕЭ/мл;
- *специфическая активность* - количество жизнеспособных клеток клеточной линии Jurkat на 5 сутки культивирования, при «посевной» концентрации 3×10^5 клеток/мл, должно составлять не менее $1,75 \times 10^6$ клеток/мл;
- *функциональные характеристики изделия.*

Поддержание *in vitro* функциональных свойств Т-лимфоцитов - отсутствие способности Т-лимфоцитами экспрессировать IFN- γ в среде (отрицательный контроль) и специфический выброс Т-лимфоцитами IFN- γ при их стимуляции антителом ОКТ-3 (положительный контроль) при проведении IGRA ELISPOT с использованием набора реагентов «ТиграТест® ТВ».

Испытания функциональных свойств Среды «Лимфоген» проводится с использованием МКПК, выделенных из образцов крови, с применением набора реагентов «ТиграТест® ТВ», что не исключает возникновения интерференции, влияющей на результат оценки качества Среды «Лимфоген» по показателю «Поддержание *in vitro* функциональных свойств Т-лимфоцитов». В ходе совместных с «ТиграТест® ТВ» клинических испытаний Среды «Лимфоген» было установлено, что содержание преднизолона (0,1 мкг/мл), циклоспорина (1,0 мкг/мл) и интерферона бета-1b (0,00025 мкг/мл) в клинических образцах не влияет на результат анализа. При содержании в клинических образцах препаратов «Диклофенак» (2,5 мкг/мл) и «Инфликсимаб» (118,0 мкг/мл) может наблюдаться интерференция, выражающаяся в повышении активации Т-клеток.

Внимание! При использовании Среды «Лимфоген» для проведения IGRA ELISPOT необходимо ознакомиться с перечнем ограничений, указанных в инструкции по применению соответствующего набора реагентов. Производитель набора реагентов, исходя из назначения тест-системы, должен устанавливать перечень интерферирующих веществ и других ограничений, потенциально влияющих на результат клинической диагностики.

Указания по эксплуатации

Среда «Лимфоген» должна применяться в строгом соответствии с настоящим руководством по применению изделия.

Изделие предназначено для однократного применения!

Сотрудникам, приступающим к работе со Средой «Лимфоген», перед началом работы необходимо:

- ознакомиться с паспортом на среду и изучить инструкцию/краткое руководство по применению медицинского изделия;
- убедиться, что помещение, в котором будет осуществляться работа, соответствует необходимым требованиям;
- убедиться в наличии необходимых для дальнейшего использования Среды «Лимфоген» реактивов, материалов и оборудования;
- убедиться в соблюдении условий транспортирования и хранения Среды «Лимфоген»;
- проверить срок годности изделия;
- убедиться в целостности упаковки (флакона) и в качестве его укупорки;
- оценить маркировку изделия на соответствие требованиям нормативной документации;
- оценить изделие по внешним признакам на соответствие заявленному производителем внешнему виду.

Среда «Лимфоген» - стерильна. Во избежание контаминации микрофлорой окружающей среды, вскрытие флакона и дальнейшую работу с изделием необходимо проводить в асептических условиях в боксе биологической безопасности, с использованием стерильных пробирок и наконечников с фильтрами для автоматических пипеток. Персонал лабораторий должен осуществлять работу со Средой «Лимфоген», используя медицинскую одноразовую стерильную одежду (шапочку, маску, халат) и одноразовые медицинские перчатки.

Среда «Лимфоген» соответствует общим требованиям безопасности. Класс потенциального риска применения изделия – 2б.

Осторожно!

Пользователи изделия, приступая к работе с ним, должны учитывать наличие в составе Среды «Лимфоген» потенциальных источников биологического риска: антибиотики и компоненты, включающие материалы человеческого и животного происхождения. Указанные вещества, в используемых концентрациях, не несут выявленных рисков и опасностей, связанных с применением Среды «Лимфоген», однако, при работе с изделием необходимо избегать прямого контакта с ним и использовать Среду «Лимфоген» только в строгом соответствии с Инструкцией/Кратким руководством по применению изделия.

Не допускается смешивание Среды «Лимфоген» разных серий.

Запрещено использовать изделие не по назначению.

Способ применения.

Подготовка анализируемых образцов к анализу.

В рамках проведения исследований методом IGRA ELISPOT важно обеспечить правильность процедуры извлечения мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК).

Внимание! Не использовать для сбора крови пробирки с антикоагулянтом ЭДТА!

Как правило, образцы крови забирают у пациентов в вакуумные пробирки, где в качестве антикоагулянта используют натрия-гепарин, лития-гепарин или натрия цитрат, согласно рекомендациям производителя пробирок и набора реагентов, совместно с которым используется изделие.

Описание материалов и оборудования, необходимых для использования медицинского изделия

С целью выделения из цельной крови МКПК дополнительно к Среде «Лимфоген» требуются, но не предоставляются со средой следующие расходные материалы, реактивы и оборудование:

- бокс биологической безопасности 2 класса;

- центрифуга для фракционирования МКПК (min. ускорение 1000g, поддерживающая температуру образцов на уровне 18-25⁰C);

- пробирки центрифужные, 15 мл;

- автоматические пипетки и стерильные наконечники для них;

- Фиколла раствор по ТУ 20.59.52-018-45171785-2017, с плотностью 1,077 г/см³ (ПУ РЗН 2021/15059);

- стерильный фосфатно-солевой буферный раствор (Фосфатно-солевой буфер PBS (ФСБ) без Ca²⁺, Mg²⁺, ООО «ЭКО-СЕРВИС», Кат.№ В-60201, pH 7,4 ± 0,1; (или Фосфатно-солевой буферный раствор Дульбекко (DPBS) по ТУ 20.59.52-019-45171785-2017 без Ca²⁺, Mg²⁺ (Кат.№ P060/ Кат.№ P060E), pH 7,0 - 7,4 (ПУ № РЗН 2022/17645)),

а также другие реагенты, необходимые для дальнейшей диагностики наборам реагентов, необходимым для проведения клинико-лабораторных и иммунологических исследований, указанные в Инstrukциях по применению к используемым наборам реагентов.

Подготовка к работе.

Приступая к работе со Средой «Лимфоген», содержимое каждого флакона необходимо аккуратно перемешать, путём бережного переворачивания флакона.

Непосредственно перед использованием целесообразно поместить Среду «Лимфоген» в СО₂-инкубатор (при 37⁰C) на 20-30 минут, ослабив крышку, для обеспечения газообмена.

Для выделения МКПК используют образцы цельной крови. Образцы крови до выделения МКПК необходимо хранить и транспортировать при температуре от 18 до 25⁰C не более 8 ч. Не охлаждать ниже 18⁰C и не замораживать!

Все манипуляции с реагентами, кровью и клетками (за исключением центрифугирования) должны проводиться в асептических условиях в боксе биологической безопасности с использованием стерильных пробирок и наконечников с фильтрами для автоматических пипеток.

Среды, буферные растворы и реагенты перед использованием предварительно должны быть выдержаны при комнатной температуре в течение не менее 30 мин.

Сбор биологических отходов необходимо осуществлять в специальные контейнеры для сбора отходов класса Б, оснащенные дезинфицирующими средствами, с плотно закрывающимися крышками.

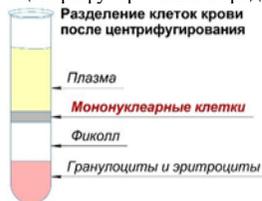
Протокол применения Среды «Лимфоген» в IGRA ELISPOT

Перед использованием необходимо убедиться, что Среда «Лимфоген» была выдержана 20-30 минут при температуре 37⁰C в СО₂-инкубаторе.

Выделить фракцию МКПК из цельной крови методом центрифугирования в градиенте плотности раствора Фиколла, в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов, выбранного для проведения IGRA ELISPOT.

Стерильной пипеткой методом аспирации отобрать мутный слой МКПК (интерфазное кольцо, рис. 1) и перенести в стерильные конические центрифужные пробирки (вместимость пробирок и их вид определяется в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов, выбранного для проведения IGRA ELISPOT). Объем суспензии довести до необходимого уровня с использованием соответствующего разбавителя (рабочий объем суспензии и разбавитель указаны в инструкции по применению набора реагентов.

Рисунок 1. Разделение клеток крови после центрифугирования в градиенте плотности раствора Фиколла.



Удалить супернатант, ресуспендировать и объединить осадок МКПК, при необходимости повторить процесс в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов. Выполнить разведение МКПК в Среде «Лимфоген» до заданной концентрации клеток на мл согласно требованиям инструкции по применению набора реагентов.

Выполнить центрифугирование при условиях, описанных в инструкции по применению набора реагентов.

Примечание. В некоторых случаях интерфазное кольцо может содержать значительную примесь эритроцитов, что обуславливает ярко-красную окраску суспензии МКПК. При возникновении такой ситуации необходимо еще раз внимательно ознакомиться с инструкцией по применению набора реагентов и принять описанные в ней меры. Если в инструкции по применению набора реагентов не предусмотрены действия, предпринимаемые для устранения примеси эритроцитов, то необходимо продолжить исследование, следуя дальнейшим пунктам методики выделения МКПК.

Внимание! Выше описаны общие стадии выделения МКПК из цельной крови с использованием Среды «Лимфоген». Все стадии исследования методом IGRA ELISPOT должны осуществляться в строгом соответствии с конкретным протоколом, неукоснительно действуя согласно Инструкции по применению к используемому набору реагентов!

Противопоказания к применению и побочные эффекты.

Среда «Лимфоген» не имеет непосредственного контакта с человеком с лечебной или диагностической целью, в связи с чем отсутствуют побочные действия, выявленные опасности и противопоказания к ее применению.

Среда «Лимфоген» не подлежит использованию в случае истечения срока годности, при повреждении целостности и герметичности первичной упаковки (флакона), несоблюдении условий хранения и транспортировки, при изменении цвета, появлении осадка, хлопьев или признаков микробиологической контаминации.

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления изделия.

Срок годности после вскрытия первичной упаковки: 1 месяц с даты вскрытия флакона.

Условия хранения и транспортирования Среды «Лимфоген»:

Долгосрочное хранение, хранение после вскрытия первичной упаковки и транспортирование осуществляется в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2 - 8 °С, в холодильных камерах, обеспечивающих данный температурный режим, в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21. При хранении и транспортировании Среда должна быть вдали от источников тепла и света. Среда, хранившаяся и транспортированная с нарушением регламентированных условий применению не подлежит.

Утилизация Среда «Лимфоген» должна быть утилизирована согласно СанПиН 2.1.3684-21 (Раздел X) в порядке, предусмотренном для отходов классов Б (эпидемиологически опасные отходы). Среду «Лимфоген» с истекшим сроком годности, с нарушением целостности и/или герметичности первичной упаковки (флакона), с нарушением условий транспортирования и хранения, с признаками микробиологической контаминации, при появлении осадка, не использованную после вскрытия упаковки, подвергшуюся длительному

воздействию солнечного света или тепла утилизируют в соответствии с требованиями к утилизации медицинских отходов класса Б (эпидемиологически опасные отходы). Утилизацию Среды «Лимфоген», использованной в соответствии с инструкцией/кратким руководством по применению, осуществляют в соответствии с требованиями к утилизации медицинских отходов класса Б (эпидемиологически опасные отходы). Упаковка Среды «Лимфоген» (флаконы) после использования изделия по назначению относится к отходам класса Б.

Адрес места производства ООО НПП «ПанЭко»: Российская Федерация, Московская область, Ленинский муниципальный район, городское поселение Горки Ленинские, поселок Горки Ленинские, промышленная зона «Технопарк», проезд Инновационный, строение 1

С вопросами и предложениями обращаться по адресу:

142712, Московская обл., Видное г., Горки Ленинские, рп, Новое ш., д.79, а/я 829;

Тел/факс: 8-800-550-72-31; E-mail: info@paneco.ru; info@paneco-ltd.ru