

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель
генерального директора
ФГБНУ «ФНЦИРИП
им. М.П. Чумакова РАН»



А.Ю. Афонин

« 9 » апреля 2019 г.

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИН ВИТРО**

**Питательная среда 199 (10-кратный концентрат)
для культур клеток**



НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Питательная среда 199 (10-кратный концентрат) для культур клеток (далее по тексту – Среда 199 (10-кратный концентрат)) предназначена для приготовления поддерживающей питательной среды для культивирования перевиваемых культур клеток человека и животных *ин витро* с целью последующего использования в лабораторных исследованиях по диагностике вирусных и бактериальных инфекций в клинических образцах.

1.2. Функциональное назначение.

Среда 199 (10-кратный концентрат) является вспомогательным средством на аналитическом этапе клинических лабораторных исследований по установлению этиологии заболеваний, требующих использования клеточных культур, обеспечивая их жизнеспособность (размножение и выделение инфекционных агентов, идентификация и типирование вирусов, определение цитотоксичности вирусов и нейтрализации их цитопатического действия). Для активного размножения клеток в качестве ростовой среды используется совместно с сывороткой крови, содержащей факторы роста: медицинским изделием Набор реагентов "Сыворотка крови крупного рогатого скота для культур клеток жидкая" или Набор реагентов "Сыворотка крови плодов коровы жидкая" по или аналогичным по качеству.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Клиническая лабораторная диагностика.

3. ТРЕБОВАНИЯ К ПЕРСОНАЛУ, УЧАСТВУЮЩЕМУ В ВЫПОЛНЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Предназначенный пользователь Среды 199 (10-кратный концентрат) - сотрудники клинко-диагностических лабораторий и центров санитарно-эпидемиологического надзора (ЦГСЭН), прошедшие соответствующую профессиональную подготовку.

Среда 199 (10-кратный концентрат) может быть использована в лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждениях.

4. ПРИНЦИП МЕТОДА

Среда 199 (10-кратный концентрат) после разведения согласно инструкции обеспечивает физиологически приемлемые условия для сохранения жизнеспособности клеток в культурах (является поддерживающей средой), а при добавлении в нее сыворотки крови, содержащей факторы роста, обеспечивает формирование монослоя (является ростовой средой).

5. ХАРАКТЕРИСТИКА СРЕДЫ 199 (10-КРАТНЫЙ КОНЦЕНТРАТ)

Среда 199 (10-кратный концентрат) представляет собой раствор, содержащий растворенный в воде для инъекций набор неорганических солей, аминокислот, витаминов, глюкозы и индикатора pH (или без индикатора). Среда 199 (10-кратный концентрат) стерилизована методом мембранной фильтрации с использованием фильтров с конечным размером пор не более 0,22 мкм. Антибиотиков не содержит.

пускается в двух вариантах:

- 1) с индикатором, 1 бутылка, 450 мл;
- 2) без индикатора, 1 бутылка, 450 мл.

5.1. Состав Среды 199 (10-кратный концентрат):

В 1 л Среды 199 (10-кратный концентрат) содержатся следующие ингредиенты:

5.1.1. Для варианта исполнения с индикатором:

Наименование ингредиента:	Количество в г:
Натрия хлорид	80,0
Калия хлорид	4,0
Кальция хлорид дигидрат	1,4
Магния сульфат	2,0
Натрия фосфат двузамещенный	0,6
Калия фосфат однозамещенный	0,6
Железа нитрат 9-водный	0,0072
Д-(+) - глюкоза	10,0
Феноловый красный	0,2
Натрия ацетат	0,5
L-аланин	0,25
L-аргинин моногидрохлорид	0,7
L-аспарагиновая кислота	0,3
L-цистеин гидрохлорид	0,001
L-цистин	0,2
L-глутаминовая кислота	0,75
L-глутамин	1,0
L-гистидин моногидрохлорид	0,2
Гидрокси- L-пролин	0,1
Глицин	0,5
L-изолейцин	0,2
L-лейцин	0,6
L-лизин монохлорид	0,7
L-метионин	0,15
L-фенилаланин	0,25
L-пролин	0,4
L-серин	0,25
L-треонин	0,3
L-триптофан	0,1
L-тирозин	0,4
L-валин	0,25
Аскорбиновая кислота	0,0005
D-биотин	0,0001
Кальциферол (витамин Д)	0,001
Холин хлорид	0,005
Фолиевая кислота	0,0001
Менадион (витамин К ₃)	0,0001
Мио-инозитол	0,0005
Амид никотиновой кислоты	0,00025
Никотиновая кислота	0,00025
Пара-аминобензойная кислота	0,0005
Пантотенат кальция	0,0001
Пиридоксаль гидрохлорид	0,00025
Пиридоксин гидрохлорид	0,00025
Ретинол ацетат (витамин А)	0,001
Рибофлавин	0,0001
DL-альфа-токоферолфосфат натриевая соль (витамин Е)	0,0001
Тиамин гидрохлорид	0,0001
Аденин сульфат	0,1
Аденозин 5'-трифосфат натриевая соль	0,1

Холестерол	0,002
Дезоксирибоза	0,005
Глутатион	0,0005
Гуанин гидрохлорид	0,003
Гипоксантин	0,003
Твин 80	0,2
Рибоза	0,005
Тимин	0,003
Урацил	0,003
Ксантин	0,003
Адениловая кислота	0,002
Вода для инъекций	до 1 л

5.1.2. Для варианта исполнения без индикатора состав Среды 199 (10-кратный концентрат) идентичный, за исключением фенолового красного (отсутствует).

5.2. Комплектность поставки:

- а) Питательная среда 199 (10-кратный концентрат) для культур клеток (вариант исполнения - с индикатором) и инструкция по применению;
- б) Питательная среда 199 (10-кратный концентрат) для культур клеток (вариант исполнения - без индикатора) и инструкция по применению.

5.3. Аналитические (функциональные) характеристики

5.3.1. Внешний вид.

Должна быть прозрачной оранжево-желтого цвета (с индикатором) или бесцветной (без индикатора) без опалесценции и осадка.

5.3.2. Технические характеристики.

5.3.2.1. pH - от 2,9 до 3,3.

5.3.2.2. Буферная емкость - не менее 10 мл.

5.3.2.3. Содержание хлор-иона - от 46,8 до 56,8 г/л.

5.3.2.4. Содержание глюкозы - от 9,0 до 11,0 г/л

5.3.2.5. Аминный азот - не менее 1,3 г/л

5.3.2.6. Стерильность - рост бактерий и грибов в жидкой тиогликолевой среде должен отсутствовать.

5.3.2.7. Специфическая активность - формирование монослоя на 3-4 сутки. Индекс пролиферации после 5-го пассажа – не менее 4.

6. ОБОРУДОВАНИЕ

pH метр;

Магнитная мешалка;

Ламинарный шкаф;

Термостат, поддерживающий температуру от 5 до 50 °C;

Гемоцитометр;

Чашки Петри;

Пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками;

шпательники;

Пипетки пластиковые/стеклянные стерильные культуральные;

Флаконы пластиковые/стеклянные стерильные культуральные.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ

7.1. Среда 199 (10-кратный концентрат) предназначена только для применения *in vitro*.

7.2. Класс потенциального риска применения – 2а.

7.3. Все реагенты, входящие в состав Среды 199 (10-кратный концентрат), являются нетоксичными.

7.4. Работа с культурами клеток должна проводиться в соответствии с требованием пользователя и Методическими рекомендациями «Работа с клеточными культурами (культивирование первичных и перевиваемых клеток)» М., 2009.

7.5. При работе с исследуемым материалом следует соблюдать:

- Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения (N 2455-81, Москва, 1981 г.);
- Требования безопасности по ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;
- ГОСТ ИСО 14971-2011 «Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям».

7.6. Противопоказаний и побочных действий при работе со Средой 199 (10-кратный концентрат) не выявлено. Риски, связанные с применением Среды 199 (10-кратный концентрат), минимальные. Снижение рисков обеспечивается поддержанием необходимых условий хранения на складе готовой продукции и при транспортировании, уведомлением пользователя о том, что изделие предназначено только для профессионального применения квалифицированным персоналом с соблюдением необходимых мер по утилизации (уничтожению) и дезинфицированию в соответствии с требованиями эксплуатационной документации.

8. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

8.1. Для проведения стерильных работ с использованием Среды 199 (10-кратный концентрат) необходимо применение стерильных материалов и оборудования, обеспечивающего асептические условия.

Не подлежат применению изделия с нарушенной целостностью укупорочных пробок или алюминиевых колпачков, маркировкой, при истекшем сроке годности, неправильном хранении, а также при изменении цвета, прозрачности и признаках бактериальной обсемененности среды.

8.2. Среда 199 (10-кратный концентрат) техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

9. ПРИМЕНЕНИЕ

Исследуемые образцы

В качестве исследуемых образцов используются перевиваемые культуры клеток.

9.2. Подготовка к использованию

9.2.1. Среду 199 (10-кратный концентрат) разводят в 10 раз: к 1 части 10-кратного концентрата в асептических условиях добавляют 8,5 частей воды для инъекций. Затем при помощи стерильного Раствора натрия бикарбоната 7,5% по ТУ 9385-006-01895045-2011 корректируют pH полученного раствора до значений от 7,0 до 7,4, после чего объем раствора доводят до конечного стерильной водой для инъекций.

При разведении Среды 199 (10-кратный концентрат) необходимо хорошо перемешивать полученный раствор.

9.2.2. Для приготовления ростовой среды используют разведенную в 10 раз Среду 199 (10-кратный концентрат) с добавлением сыворотки крови, содержащей факторы роста (например, Набор реагентов "Сыворотка крови крупного рогатого скота для культур клеток жидкая" или Набора реагентов "Сыворотка крови плодов коровы жидкая"). Для предотвращения роста посторонних микроорганизмов возможно добавление гентамицина в концентрации 0,5 мл 4% раствора или другого антибиотика в зависимости от типа перевиваемой культуры клеток и по усмотрению пользователя.

9.3. Использование

Клетки перевиваемой культуры при пересеве или восстановлении из замороженного состояния вносят в культуральные флаконы с ростовой Средой 199, предварительно подогретой до температуры $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. В зависимости от типа культуры клеток доза клеточной суспензии для посадки во флакон может быть разной. Объем используемой среды зависит от объема культурального флакона и обычно составляет $1/5 - 1/7$ используемого флакона.

Суспензию клеток перемешивают в культуральном сосуде и инкубируют в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ до образования полного монослоя.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

10.1. Хранение

При температуре от 2 до 8°C в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

Бутылки со Средой 199 следует хранить на складах. Вскрытые бутылки не хранятся.

Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.2. Транспортирование

При температуре от 2 до 8°C в термоконтейнерах любым видом крытого транспорта или в картонных коробах рефрижераторами. Возможно транспортирование при температуре от 9 до 25°C в течение не более 7 суток в картонных коробах любым видом крытого транспорта.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности

Упаковке изготовителя - 1 год.

Не применять изделие по истечении срока годности

11. ПРАВИЛА УТИЛИЗАЦИИ

Среда 199 (10-кратный концентрат) по степени эпидемиологической и токсикологической опасности относится к неопасным (класс А) по классификации отходов лечебно-профилактических учреждений.

Утилизацию или уничтожение использованных и неиспользованных медицинских изделий (Среда 199 (10-кратный концентрат)) с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10. При работе с возбудителями инфекции, относящимися к определенному классу патогенности, руководствоваться правилами безопасности в зависимости от класса патогенности микроорганизмов.

Неинфицированные медицинские изделия уничтожают сливом среды в канализацию и вывозом бутылок как производственный или бытовой мусор. В случае контаминации медицинского изделия инфекционными агентами необходимо перед утилизацией произвести предварительное обеззараживание медицинского изделия в соответствии с требованиями НД потребителя.

12. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортирования и хранения медицинского изделия Среда 199 (10-кратный концентрат) обеспечиваются требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности.

По вопросам, касающимся качества среды, следует обращаться во ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Россия.

По адресу: 108819 г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корп. 1, тел.: (495) 841-90-02, факс (495) 841-93-21.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«29» 09 2019 год

Ген. директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Барнавичус П.К.



Прошито и пронумеровано и
скреплено печатью
7 листа (ов)

Первый заместитель
генерального директора
ФГБУ «ФНЦИРИП им. М.П.
Чумакова РАН»

А.Ю. Афонин

«9» сентября 2019 года

