

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

26 сентября 2019 г.

Регистрационный № 172-1219



**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ У ЖЕНЩИН С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», учреждение здравоохранения «Гродненская университетская клиника», государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Нечипоренко А.Н., д.м.н., профессор Нечипоренко Н.А., Василевич Д.М., д.б.н., проф., акад. НАН Беларуси Волотовский И.Д., к.б.н. Пинчук С.В., Василевич И.Б.

Гродно, 2019

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод лечения недержания мочи при напряжении у женщин с использованием биомедицинского клеточного продукта на основе смеси аутологичных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани с коллагеновым гелем 7%, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение недержания мочи у женщин.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-урологов, врачей-акушеров-гинекологов, оказывающих медицинскую помощь пациентам с недержания мочи при напряжении в амбулаторных и (или) стационарных условиях, и (или) условиях дневного стационара.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАКТИВОВ И Т.Д.

1. Изделия медицинского назначения и медицинская техника, необходимые для получения крови из периферической вены и выполнения эксплантации жировой ткани;

2. Биомедицинский клеточный продукт – «Культура мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани человека», по ТУ ВУ 100217351.004-2014, или другой клеточный продукт аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (далее – МСК), соответствующий следующим требованиям (далее БМКП):

– внешний вид: прозрачная жидкость беловатого цвета без посторонних включений;

– количество клеток: не менее 6×10^6 ;

– количество жизнеспособных клеток: не менее 85%;

– подлинность клеток (иммунофенотипическая характеристика): CD90⁺, CD44⁺, CD29⁺, CD73⁺, CD45^{low/-}, CD34^{low/-};

– стерильность: стерильно;

3. Изделия медицинского назначения, лекарственные средства, реагенты и расходные материалы, необходимые для подготовки БМКП в соответствии с утвержденными ТНПА:

– питательная среда ДМЕМ;

– 0,1 % раствор коллагеназы;

– сыворотка аутологичная;

– моноклональные антитела к антигенам человека: CD73, CD44, CD90, CD29, CD45, CD34 человека;

– трипсин-ЭДТА (0,25% раствор);

– бензилпенициллина натриевая соль;

– стрептомицина сульфат;

– фосфатно-солевой буфер Дульбекко без кальция и магния (ФСБ);

– раствор натрия хлорида 0,9 % для инфузий;

– 0,4% раствор трипанового синего;

– среда тиогликолиевая и среда Сабуро;

– флаконы для культур клеток T25 и T75 стерильные;

- системы фильтрации 0,45 и 0,2 мкм;
 - фильтр для взвеси клеток 70 мкм;
 - наконечники объемом 1–20 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл, 1–5 мл стерильные;
 - пробирки центрифужные объемом 15 мл и 50 мл стерильные;
 - пробирки стерильные полипропиленовые объемом 1–2 мл;
 - чашки Петри;
 - средства индивидуальной защиты;
 - камера Горяева.
4. Медицинская техника, необходимая для получения БМКП:
- ламинарный шкаф 2 класса защиты;
 - инкубатор углекислотный;
 - проточный цитофлуориметр;
 - микроскоп инвертированный;
 - центрифуга с ротором для пробирок емкостью 15 и 50 мл;
 - автоматические дозаторы переменного объема (0,5–10 мкл, 10–100 мкл, 100–1000 мкл и 0,5–5 мл);
 - холодильник с морозильной и холодильной камерами (+2–8 °С; –20 °С).
5. Изделия медицинского назначения и лекарственные средства, необходимые для применения БМКП:
- коллагеновый гель 7%;
 - повидон-йод;
 - катетер Фолея №18 Ch;
 - шприц 2 мл

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Другие уточненные виды недержания мочи у женщин (39.4 по МКБ-10).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Беременность во все сроки, лактация, острые или хронические заболевания в стадии декомпенсации, иные противопоказания, соответствующие таковым для использования БМКП, изделий медицинского назначения, лекарственных средств, необходимых для реализации метода, изложенного в настоящей инструкции.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1 этап: Взятие, хранение и транспортировка биологического материала.
 Эксплантация жировой ткани для получения БМКП выполняется общепринятыми методами под местной анестезией путем резекции 10–12 г подкожно-жировой клетчатки в околопупочной или надлобковой области в условиях операционной с соблюдением правил асептики. Жировую ткань помещают в стерильный флакон с транспортной средой. Для получения аутологичной сыворотки выполняют получение крови из периферической вены общепринятыми методами, в количестве 40–50 мл, и помещают в стерильную

пробирку. Биологический материал может транспортироваться и храниться при температуре от +2 до +12 °С не более 24-х часов.

2 этап: Получение и контроль качества БМКП. В стерильных условиях выполняют ферментативную обработку жировой ткани в 0,1 % растворе коллагеназы. Затем клеточную суспензию фильтруют через фильтр 70 мкм, осаждают центрифугированием, удаляют супернатант. Клетки суспендируют в ростовой среде ДМЕМ, содержащей 10 % аутологичной сыворотки. Клетки высевают в количестве 1×10^5 кл/см² в культуральные флаконы и инкубируют в течение 24 ч при 37°С в CO₂-инкубаторе во влажной воздушной атмосфере при 5 % CO₂, после чего среду заменяют на свежую.

При образовании монослоя МСК пересевают, для чего монослой промывают ФСБ, обрабатывают 0,25% раствором трипсина. Клетки высевают в культуральные флаконы в количестве 4×10^3 кл/см², накапливают их необходимое количество в течение 2–3 пассажей, смену ростовой среды проводят каждые 72 ч.

На конечной стадии получения БМКП суспендируют в растворе натрия хлорида 0,9 % для инфузий из расчета не менее 6,0 млн клеток в 1,5 мл.

Контроль стерильности осуществляют согласно ст. 2.6.27 «Микробиологический контроль клеточных продуктов» Государственной фармакопеи Республики Беларусь.

Для контроля подлинности осуществляют оценку фенотипического состава БМКП с использованием моноклональных антител к молекулам CD29, CD73, CD44, CD90, CD34, CD45, меченных флуорохромами. Учет проводят на проточном цитофлуориметре.

Для определения жизнеспособности БМКП используют тест на исключение красителя трипанового синего.

БМКП считают прошедшим контроль качества при экспрессии молекул CD29, CD73, CD44, CD90 – более 90%, CD34 – менее 3%, CD45 – менее 2,5%, жизнеспособности – более 85 %, отсутствии контаминации бактериями и дрожжеподобными грибами.

БМКП хранится при температуре от +5 до +10°С в течение не более 12 ч и при температуре от +10 до +37°С не более 4 ч с момента приготовления.

3 этап: Приготовление смеси БМКП с коллагеновым гелем 7%. Приготовленный в соответствии с этапом 2 настоящей инструкции БМКП или аналог в асептических условиях непосредственно перед использованием смешивают с 7% коллагеновым гелем в соотношении 1:1, интенсивно перемешивая до однородной консистенции. Смесь из стерильной пробирки набирают в стерильный шприц, удаляют воздух из шприца. Таким образом в 1 мл смеси содержится не менее 2,0 млн МСК.

4 этап: Применение смеси БМКП с коллагеновым гелем 7%. Перед введением смеси БМКП с коллагеновым гелем пациенту проводится обработка наружных половых органов повидон-йодом. Выполняют катетеризацию уретры. В проекции средней трети уретры на 3, 6 и 9 часах условного циферблата выполняется введение по 1 мл смеси БМКП с коллагеновым гелем в стенку уретры и парауретральную область. Суммарно вводится 3 мл смеси,

содержащей не менее 6 млн МСК. Иглу располагают перпендикулярно оси уретры. После выполнения инъекций устанавливается тампон во влагалище. Катетер Фолея извлекают через 5–24 часа после введения смеси БМКП с коллагеновым гелем 7% в зависимости от состояния пациента.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Аллергическая реакция на повидон-йод. При ее возникновении руководствуются протоколом оказания помощи при возникновении анафилактических состояний (Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 01.06.2017 № 50 «Об утверждении клинических протоколов «Экстренная медицинская помощь пациентам с анафилаксией», «Диагностика и лечение системной токсичности при применении местных анестетиков»).

название
учреждения
здравоохранения

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач

И.О.Фамилия

_____ 201__

МП

А К Т

учета практического использования инструкции по применению

1. Инструкция по применению: «Метод лечения недержания мочи у женщин с использованием аутологичных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани».

2. Утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь № _____

3. Кем предложена разработка: сотрудниками 2-й кафедры хирургических болезней УО «Гродненский государственный медицинский университет» доцентом А.Н.Нечипоренко, профессором Н.А.Нечипоренко, врачом-урологом УЗ "Гродненская университетская клиника" Д.М.Василевичем, сотрудниками ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» академиком НАН Беларуси, заведующим лабораторией молекулярной биологии клетки И.Д.Волотовским, старшим научным сотрудником С.В.Пинчуком, научным сотрудником И.Б. Василевич

4. Материалы инструкции использованы для _____

5. Где внедрено: _____

6. Результаты применения метода за период с _____ по _____ :

общее кол-во наблюдений « _____ »

положительные « _____ »

отрицательные « _____ »

7. Эффективность внедрения – восстановление трудоспособности и повышение качества диагностики.

8. Замечания, предложения: _____

_____ 201__ Ответственные за внедрение

Должность

подпись

И.О.Фамилия

Примечание: акт о внедрении направлять по адресу:

2-я кафедра хирургических болезней УО «Гродненский государственный медицинский университет», ул.Горького, 80
230009, г.Гродно